

ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE LA DIARREA AGUDA EN NIÑOS PERTENECIENTES A UNA COMUNIDAD URBANA DE BAJOS RECURSOS DE LA CIUDAD DE SAO PAULO - BRASIL

*Arelis Lleras de Torres**
*Luiz R. Trabulsi***

RESUMEN

Con la finalidad de identificar los microorganismos responsables por la diarrea aguda infantil en un barrio de Sao Paulo, se estudian las heces de 224 niños menores de 5 años de edad, 107 diarreicos y 117 no diarreicos (controles), en el barrio "Cidade Leonor", comunidad caracterizada por presentar condiciones desfavorables de higiene ambiental y alto grado de promiscuidad. El estudio microbiológico se realiza por métodos convencionales (coprocultivos) y la detección de Rotavirus mediante el test inmunoenzimático. También se estudia el comportamiento "in vitro" de las bacterias enteropatógenas frente a 12 drogas antimicrobianas. Se detectan microorganismos enteropatógenos en 46.7% de los niños diarreicos y en 32.5% de los controles. *E. coli* enteroinvasora es el enteropatógeno más frecuente, sobre todo en niños diarreicos, aislándose con mayor frecuencia los serotipos 028ac:H⁻ y 0136:

* Cátedra de Microbiología. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Venezuela.

** Disciplina de Microbiología. Escuela Paulista de Medicina. Sao Paulo. Brasil.

H. *Campylobacter* ocupa el segundo lugar, siendo *C. jejuni* la especie más frecuentemente aislada. Enteropatógenos tales como *E. coli* enteropatógena clásica, *Salmonella* y Rotavirus son aislados con baja frecuencia, a pesar de que los mismos se encuentran ampliamente difundidos en São Paulo. La mayoría de las muestras de enterobacterias enteropatógenas fueron sensibles a los agentes antimicrobianos utilizados, llamando la atención la elevada sensibilidad de *E. coli* enteropatógena clásica y de *Salmonella*. Los barrios parecen constituir un medio adecuado para la proliferación de organismos patógenos, por lo que sería conveniente realizar mayor número de estudios microbiológicos y epidemiológicos en este tipo de población.

ABSTRACT

In order to identify the microorganisms involved in infant acute diarrhoea in a Sao Paulo slum, stools from 224 children, 107 with diarrhoea and 117 mondiarrhoeic (controls), were studied. All children were aged under five-year old and lived at "Cidade Leonor" slum, a community characterized by its poor conditions of ambiental hygiene and high degree of promiscuity. Microbiologic study was performed by conventional methods (fecal cultures) and Rotavirus detection by immunoenzymatic assay. "In vitro" development of enteropathogenic bacteria against twelve antimicrobial drugs was also studied. Enteropathogenic microorganisms were found in 46.7% of diarrhoeal children and in 32.5% of controls. Enteroinvasive *E. coli* was the most frequently isolated enteropathogen, principally from diarrhoeal children and O28ac:H⁻ and O136:H⁻ were the most frequent serotypes. *Campylobacter* was second in frequency and *C. jejuni* was the most frequently isolated species. Enteropathogens such as classic enteropathogenic *E. coli*, *Salmonella* and Rotavirus were isolated low in frequency, although they are very spread in Sao Paulo. Most of enteropathogenic enterobacterium samples were sensible to antimicrobial drugs used. It is important to remark that classic enteropathogenic *E. coli* and *Salmonella* were very sensitive. Slums seem to be adequate places for proliferation of pathogenic germs. Then, more microbiologic and epidemiologic studies must be done in this kind of population.

INTRODUCCION

La ciudad de Sao Paulo es el centro dinámico de Brasil, donde la producción industrial y el ingreso per cápita presentan niveles superiores a los observados en otras regiones del país. Estas condiciones, aparentemente favorables, hacen que personas de otros estados menos privilegiados migren para esa región, buscando solución a sus innumerables problemas. En consecuencia, a partir de las últimas tres o cuatro décadas surgieron y se expandieron los barrios periféricos, en los cuales se concentran la mayor parte de los trabajadores de bajo poder adquisitivo.

Las "Favelas" (Barriadas) frecuentemente se localizan en áreas en litigio, fondos de terrenos abandonados, al lado de vías marginales y cañadas. Generalmente en estos locales no existe iluminación, red de cloacas ni abastecimiento de agua potable; además son frecuentes las inundaciones y la basura es botada a campo abierto. Es fácil, por lo tanto, comprender la intensa contaminación ambiental existente en los barrios, donde las enfermedades infecciosas y los índices de desnutrición contribuyen en forma importante con la mortalidad precoz (38). Se observa también alto grado de promiscuidad, ya que la mitad de los ranchos no poseen paredes internas, existiendo siempre un promedio superior a cuatro personas por ambiente (35). En 1973 la ciudad de Sao Paulo tenía alrededor de 5 millones de habitantes, de los cuales 100.000 vivían en barrios. En 1978, los habitantes de los barrios representaban el 6% de la población paulista. Este porcentaje se ha incrementado exageradamente en los últimos años.

Según Kowarick, 1979 (38), 45% de los habitantes de la ciudad de México vive en "favelas" o aglomeraciones de características semejantes. En Caracas más de la tercera parte de la población vive en ranchos. 25% de la población de Santiago de Chile vive en comunidades "callampas" y en Lima la mitad de los habitantes mora en barriadas. De tal forma que, las condiciones sanitario-ambientales de los barrios brasileños se repiten en otros países latino-americanos.

El ambiente agresivo de los barrios, donde se juntan una serie de factores socio-culturales, económicos y ecológicos negativos, pueden traer como consecuencia la producción de las enfermedades diarreicas.

Según Ferrari (30), dos componentes del subdesarrollo son importantes factores predisponentes para la producción de diarrea infecciosa: a) el propio ambiente agresivo y b) la desnutrición que aún siendo subclínica, afecta los mecanismos de resistencia del huésped, condicionan-

do un estado inmunitario incapaz de responder adecuadamente a la permanente agresión del medio.

Estudios realizados en América Central (68) muestran que la frecuencia de diarrea entre los niños aumenta en progresión lineal con el grado de desnutrición. Existe, por lo tanto, una estrecha correlación entre desnutrición y diarrea, constituyendo prácticamente un binomio inseparable.

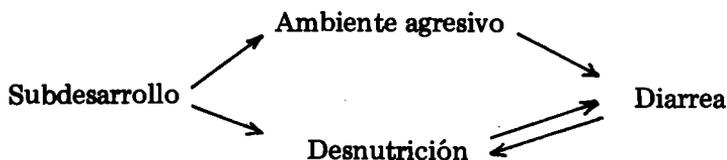


Fig. 1. Factores predisponentes en la producción de diarrea.

La enfermedad diarreica constituye un importante problema de salud pública en los países en vías de desarrollo. Mientras que en los países desarrollados la enfermedad entérica bacteriana ha disminuido acentuadamente en relación al siglo pasado, debido principalmente a mejores condiciones de higiene personal y ambiental, en los países subdesarrollados los índices de morbilidad y mortalidad continúan siendo muy elevados (1, 47, 57, 70).

En la mayoría de los países de América Latina y de la región del Caribe, las diarreas ocupan los primeros lugares como causa de morbilidad y mortalidad, principalmente en niños menores de 5 años de edad y en las comunidades donde las condiciones económicas y sociales son precarias. En estos casos, en los cuales la desnutrición es una constante, las tasas de mortalidad infantil son extremadamente elevadas (48).

La Investigación Interamericana de Mortalidad en la Infancia, realizada bajo el patrocinio de la Organización Panamericana de la Salud, en 10 países americanos, demostró que las diarreas constituyen la principal causa de muerte entre las enfermedades infecciosas y parasitarias en las distintas ciudades estudiadas (54). El anuario de Estadísticas Mundial de 1977 reportó que en países como Paraguay, Ecuador, Nicaragua, El Salvador y México se observaron tasas de mortalidad por diarrea que variaron entre 10 a 16 por mil nacidos vivos (16).

En un estudio comparativo sobre la incidencia de diarrea en varios países subdesarrollados, Snyder y Merson (67) observaron que esta era mayor en Asia que en África y América, afectando todas las edades, pe-

ro sobre todo a los niños menores de dos años, con una mortalidad promedio de 20 por mil habitantes.

Para 1976, la enfermedad diarreica constituyó la principal causa de mortalidad infantil en el Estado de Sao Paulo. 43% de las muertes ocurridas en niños menores de un año tuvieron a la Gastroenteritis como causa básica o asociada (49). Según los Anuarios Estadísticos del Estado de Sao Paulo, en el año 1979 ocurrieron 10.356 muertes en menores de un año, de las cuales 8.349 fueron debidas a diarrea (62); en 1980 las cifras fueron 8.721 y 6.868 respectivamente (63) y en 1981 fueron registradas 7.975 muerte en el mismo grupo etario, de las cuales 6.330 eran causadas por diarrea (64).

Los conocimientos epidemiológicos indican que las diarreas, en su gran mayoría son de naturaleza infecciosa y pueden ser causadas por una gran variedad de microorganismos.

A comienzos de los años 70, agentes patógenos tales como: *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia coli* eran responsables por menos de 10% de los casos de gastroenteritis infantil en los países desarrollados y por menos del 50% en los países en vías de desarrollo (15, 44). Actualmente ya fueron descritos como responsables por cuadros de diarrea aguda, por lo menos 25 agentes etiológicos, muchos de los cuales fueron descubiertos recientemente, tales como Rotavirus, *E. coli* enterotoxigénica y *Campylobacter* (7, 20, 45).

La utilización de nuevas técnicas para la detección de agentes bacterianos y virales ha permitido la identificación de enteropatógenos en prácticamente la mitad de los casos de diarrea (5). Los niños de los países en vías de desarrollo presentan usualmente varios episodios de diarrea por año (32, 36, 40, 45). Estas crisis diarreicas pueden ser causadas por una amplia variedad de agentes bacterianos, parasitarios y virales, siendo necesaria la identificación de aquellos que con mayor frecuencia la producen, lo cual permite decidir la conducta terapéutica, y podría servir de base para la futura producción de una vacuna.

Actualmente *Escherichia coli* enteropatógena clásica, enteroinvasora y enterotoxigénica, *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni* y Rotavirus son universalmente considerados como los agentes etiológicos más importantes de la diarrea infantil (75).

En los programas de control de las infecciones entéricas, el laboratorio de Microbiología tiene una participación importante, prestando servicio de apoyo, tales como identificación de los agentes causales, investigación de su distribución en el medio ambiente, determinación de sus mecanismos de patogenicidad y patrones de susceptibilidad ante los

agentes antimicrobianos, así como de la respuesta inmune del huésped (45).

En vista de que en Sao Paulo ya fueron realizados varios estudios sobre la diarrea en ambientes hospitalares y en ambulatorios (consultas externas), consideramos conveniente realizar el estudio microbiológico de las heces de niños que habitan en un tipo particular y aberrante de comunidad: "La Favela". Nuestro estudio fue realizado con los siguientes objetivos:

1. Identificar los microorganismos enteropatógenos aislados con mayor frecuencia.
2. Determinar el número de portadores.
3. Estudiar el comportamiento "in vitro" de las muestras bacterianas frente a doce drogas antimicrobianas, estableciendo sus patrones de sensibilidad y resistencia.

MATERIALES Y METODOS

AREA ESTUDIADA

El área estudiada es el barrio "Cidade Leonor", localizado en las proximidades al aeropuerto de Congoñas en la ciudad de Sao Paulo. El barrio se extiende a lo largo de la cañada "Agua Espraiada", desde la calle Profesor Francisco Emidio Telles hasta la calle Pedro Bueno.

La cañada tiene su origen en la región de Diadema, desembocando en el río "Pinheiros". A lo largo de todo su curso fueron construidos numerosos barrios intercalados con áreas residenciales urbanizadas.

El barrio "Cidade Leonor", según informaciones obtenidas entre sus moradores, existe desde hace aproximadamente 30 años estando su población constituida por 3.684 habitantes, procedentes en su mayoría (73%) de las regiones norte y nordeste del Brasil. Entre las características socio-ambientales de la comunidad sobresalen las siguientes: predominan las construcciones de madera y zinc (98.3%), 37.2% de la población no tiene suministro de agua potable, la eliminación de excretas es a campo abierto y va a desembocar en la cañada donde también es depositada la basura, el número promedio de personas por rancho es de 5 a 6, con un porcentaje de desempleados del 8% y un alto índice de analfabetismo (35).

El Departamento de Gastroenterología Pediátrica de la Escuela Paulista de Medicina (E.P.M.) mantiene en el barrio un dispensario para atender a los niños. El equipo de trabajo está constituido por médicos

pediatras, un microbiólogo, una auxiliar de enfermería y un grupo de nutricionistas.

POBLACION ESTUDIADA

Se estudian 224 niños de ambos sexos con edades inferiores a 5 años atendidos en el puesto de salud del barrio durante el período comprendido entre marzo de 1982 y junio de 1983.

Estos niños se dividen en dos grupos:

Grupo Diarréico: Constituido por 107 niños los cuales presentaron cuadro clínico de diarrea. La diarrea aguda fue definida como evacuaciones líquidas o semilíquidas en número de 3 o más al día con una duración de 17 horas a 8 días, acompañadas o no de moco y sangre.

Grupo Control: Constituido por 117 niños, los cuales en el momento de la consulta, no presentaban diarrea, ni referían haberla presentado en los últimos 30 días.

Los integrantes de los grupos no guardaban ninguna relación de parentesco, ni vivían en el mismo rancho.

INFORMACION EPIDEMIOLOGICA

A todos los niños se les llena una encuesta conteniendo informaciones generales sobre edad, sexo, inicio y duración de la diarrea, sintomatología concomitante (fiebre, vómito), hospitalización previa y tratamiento con antimicrobianos.

RECOLECCION DE MUESTRAS

Las muestras de heces se envían al laboratorio dentro de un período máximo de tres horas después de emitidas. No se utiliza medio de transporte.

COPROCULTIVO

1. Medios de Cultivo.

1.1. Medios para aislamiento de Enterobacterias.

- Agar MacConkey (MC), Difco.
- Agar Shigella-Salmonella (SS), Difco.
- Agar Verde brillante (VB), Difco.

1.2. Medios para aislamiento de Campylobacter.

- Medio de Skirrow modificado (59)
- Medio de Butzler (12)
- 1.3. Medios de enriquecimiento.
 - Caldo Tetracionato, Difco. Medio de enriquecimiento selectivo, empleado en el aislamiento de microorganismos del género *Salmonella*. Al caldo se le adiciona Noviobiocina a concentración final de 40 mcg/ml y Verde brillante a fin de aumentar la selectividad (34).
- 1.4. Medios para identificación de Enterobacterias.
 - Medio E.P.M. (72).
Informa sobre la producción de gas a partir de la fermentación de glucosa, producción de H₂ S, ureasa y L-triptofano desaminasa.
 - Medio Mili (73).
Informa sobre motilidad, producción de indol, y lisina descarboxilasa.
 - Agar citrato de Simmons, Difco.
- 1.5. Otros medios
 - Agar Mueller Hinton - Difco.
 - Medio de Evans - CYE (24, 33).

2. Procedimiento

Una vez recibida la muestra, se prepara una suspensión (1 gr. de heces en 3 ml. de solución fisiológica estéril) y el resto del material es congelado a -20°C.

Para el aislamiento de Enterobacterias se siembran los siguientes medios de cultivo: MacConkey, S.S y caldo Tetracionato, los cuales son incubados a 37°C por 18-24 horas. Transcurrido ese tiempo, a partir del medio de enriquecimiento (caldo Tetracionato), se realiza un repique secundario en medio Verde brillante, el cual es incubado a 37°C. por 18-24 horas.

Para el aislamiento de *Campylobacter* se siembran los medios de Butzler y Skirrow modificado. Ambos medios son incubados a 42°C. durante 48 horas; el medio de Butzler en atmósfera reducida de oxígeno, utilizando el sistema de Gaspak (BBL) sin catalizador y el medio de Skirrow modificado, en CO₂ al 10%.

2.1. Identificación bioquímica de Enterobacterias.

A partir de cada uno de los medios de aislamiento se seleccionan 5 colonias fermentadoras de lactosa y todas las colonias no fermentado-

ras con características morfológicas diferentes. Cada colonia es inoculada en medios EPM, Mili y Citrato e incubada a 37°C. durante 20 a 24 horas. La fermentación o no, de lactosa, en los medios de aislamiento es una información utilizada para la caracterización bioquímica de las muestras (72, 73).

Las placas de MC y SS son reincubadas por 24 horas más a 28°C para investigar colonias puntiformes, no fermentadoras de lactosa, sospechosas de *Y. enterocolítica*. Las colonias con estas características son posteriormente sembradas por duplicado en medios de identificación e incubadas a 28°C. y 37°C. durante 24 horas.

2.2. Investigación de *Escherichia coli*

2.2.1. Identificación serológica

Las muestras identificadas bioquímicamente como *E. coli* se someten a identificación serológica mediante pruebas de aglutinación en lámina, con antisueros polivalentes y monovalentes "OK" contra diferentes serogrupos clásicos e invasores.

Para los serogrupos clásicos se utilizan los antisueros: 026, 055, 086, 1011, 0114, 0119, 0125, 0126, 0127, 0128ab, y para los serogrupos invasores, los antisueros: 028ac, 029, 0112ac, 0124, 0136, 0143, 0144, 0152, 0164, 0167 y "Sao Paulo 2". Estos antisueros son preparados en el laboratorio de la "Disciplina de Microbiología de la EPM".

Cuando se obtiene resultado positivo con alguno de los antisueros monovalentes, la reacción es confirmada por aglutinación cuantitativa en tubo, utilizando antisueros "O" y antígenos calentados a 100°C. durante una hora. La lectura de la prueba se realiza después de 24 horas de incubación en baño María a 48°C. La preparación de los antisueros, así como la ejecución y lectura de la prueba se realizan de acuerdo a las recomendaciones de Edwards y Ewing (22).

En las muestras que dieron motilidad positiva, se determina el antígeno flagelar "H" por el método recomendado por Ewing y col. (26), después de activada la motilidad (22). Los antisueros H₁ a H₄, fueron gentilmente cedidos por la Dra. Betty R. Davis del "Center for Disease Control" de Atlanta, Ga.

2.2.2. Prueba de invasividad (Test de Sereny)

El Test de invasión en ojo de Cobayo se practica de acuerdo a la técnica empleada por Trabulsi y Col. (74) y sirve para confirmar la pro-

riedad de invasión de aquellos aislamientos de *E. coli* que son ubicados, mediante serología, en alguno de los serogrupos invasores.

2.2.3. Detección de Enterotoxinas

Las muestras de *E. coli* que no pertenecen a los serogrupos clásicos o invasores son sometidas a pruebas para detección de las enterotoxinas termoestable (ST) y termolabil (LT). Para eso, las muestras son sembradas en Erlenmeyer de 50ml, conteniendo 3 ml de medio CYE (Evans) e incubadas a 37°C. por 18 a 20 horas en agitación (130 rpm) y luego centrifugadas a 3.000 rpm durante 30 minutos a 4°C. Los sobrenadantes son transferidos para frascos estériles y mantenidos en congelación (-20°C.) hasta el momento de la prueba.

2.2.3.1. Detección de la Producción de Enterotoxina termoestable (ST).

Para este fin se utiliza la prueba del ratón recién nacido descrita por Dean y Col. (17), la cual se basa en la dilatación intestinal producida por el acúmulo de líquido provocado por la acción de la enterotoxina ST.

Los sobrenadantes de los cultivos se mezclan con una solución de Azul de Evans (Merck) al 2%, en la proporción de 1 gota de colorante por ml de sobrenadante. 0.1 ml de esta solución se inyecta directamente en el estómago de ratones recién nacidos (2-4 días) recientemente amamantados.

Para cada muestra se utilizan 3 a 4 animales. Después de un período de 4 horas a temperatura ambiente, los animales son sacrificados con éter y abiertos en la región abdominal para retirar la totalidad del intestino.

El intestino y el resto del cuerpo de los animales, cuyo estómago contiene colorante, se pesan separadamente, estableciéndose la relación entre sus pesos. La prueba se considera positiva cuando la relación entre el peso del intestino y el peso del cuerpo es igual o superior a 0,09. Este valor se considera como indicativo de acúmulo de líquido en la luz intestinal. Para cada muestra se incluyen un control positivo y uno negativo.

2.2.3.2. Detección de la Producción de enterotoxina termolábil (LT).

Se utiliza el método descrito por Donta y col. (19): que consiste en dejar actuar el sobrenadante del cultivo sobre células Y₁, originarias

de tumor adrenal de ratones. Si la enterotoxina LT está presente en el sobrenadante, las células sufren alteración morfológica, pasando de la forma alargada para la forma redonda.

Las células Y_1 son mantenidas en la sección de cultivos celulares de la "Disciplina de Microbiología de la EPM", de acuerdo a la metodología previamente descrita (42, 61).

Para la prueba se usan microplacas especiales para cultivo de tejidos, que contienen 96 cámaras de fondo plano (58). En cada cámara se inoculan 0,25 ml de una suspensión que contiene 1.5×10^5 células por ml de medio y las placas son incubadas a 36°C durante 48 horas. A cada cámara de la microplaca se agregan 0,025 ml de los sobrenadantes obtenidos de acuerdo a como fue descrito en el ítem 2.2.3. Las lecturas se realizan en microscopio invertido (Nikon) después de 24 horas de incubación a 37°C. En cada placa siempre se incluyen un control positivo y uno negativo.

2.3. Investigación de *Shigella*

Las muestras identificadas bioquímicamente como *Shigella* se someten a identificación serológica mediante pruebas de aglutinación en lámina, utilizando antisueros contra las diferentes especies de *Shigella*.

2.4. Investigación de *Salmonella*

Las muestras identificadas bioquímicamente como *Salmonella* se someten a identificación serológica mediante pruebas de aglutinación en lámina, utilizando antisueros polivalentes para los serogrupos de *Salmonella* de A a E₄; posteriormente las muestras se envían a la sección de Bacteriología del Instituto Adolfo Lutz para la tipificación completa.

2.5. Investigación de *Yersinia enterocolitica*

Las muestras identificadas bioquímicamente como *Yersinia enterocolitica* se someten a identificación serológica mediante pruebas de aglutinación en lámina, utilizando los antisueros 03, 05, 08, 09, preparados en la "Disciplina de Microbiología de la EPM".

2.6. Investigación de *Campylobacter*

Después del período de incubación, se examinan las placas de Butzler y Skirrow modificado. Las colonias sospechosas de *Campylobacter*

se identifican presuntivamente por medio de pruebas de catalasa y oxidasa (41) y luego en forma definitiva mediante las siguientes pruebas: crecimiento a 25°C y 43°C, sensibilidad al ácido nalidíxico, hidrólisis del hipurato y producción de H₂S (28, 66).

INVESTIGACION DE ROTAVIRUS

Para la investigación de Rotavirus se emplean las heces que son mantenidas a -20°C. (Item2). Se prepara una suspensión de heces al 10% en Bufer Tris/HCL PH 7, 3, 0,01M y se centrifuga a 3.000 g durante 15 minutos. Se descarta el sedimento y el sobrenadante se utiliza para realizar el test inmunoenzimático para Rotavirus, mediante el Kit Rotazime (Abbot Laboratories N. Chicago, IL, USA).

DETERMINACION DE LA SENSIBILIDAD A DROGAS ANTIMICROBIANAS EN LAS MUESTRAS DE ENTEROBACTERIAS ENTEROPATOGENAS.

El antibiograma se realiza de acuerdo a las recomendaciones de Bauer y col. (3), utilizando discos fabricados por CEFAR que contienen los siguientes antimicrobianos: Acido Nalidíxico (AN) 30 mcg., Amikacina (AM) 30 mcg., Ampicilina (Ap) 10 mcg., Cefalotina (CP) 30 mcg., Cloramfenicol (CO) 30mcg., Estreptomina (ET) 10 mcg., Gentamicina (GN) 10mcg., Kanamicina (KN) 30mcg., Polimixina B (PL) 300 mcg., Sulfazotrim (ST) 25mcg., Sulfonamida (SF) 300 mcg. y Tetraciclina (TT) 30 mcg. La selección de estos antimicrobianos se debe a intereses clínicos y por ser utilizados como marcadores epidemiológicos.

Los diámetros de las zonas de inhibición se comparan con los valores "standard" que permiten establecer criterios de sensibilidad o resistencia a los antimicrobianos (31). En cada test se incluye una muestra control de *E. coli* K12 de sensibilidad conocida frente a las drogas empleadas.

METODO ESTADISTICO

Para analizar la frecuencia de enteropatógenos en los grupos diarreico y control, así como en los diferentes grupos etarios, se utilizó la prueba de Chi cuadrado. Para el análisis de cada enteropatógeno en particular no fueron aplicadas pruebas estadísticas, debido al bajo número de muestras.

RESULTADOS

ETIOLOGIA

Se observa positividad para gérmenes enteropatógenos en (46, 50, 7%) de los 107 niños con diarrea y en (32, 38, 5%) de los 117 niños del grupo control. Los niños de ambos grupos (diarréico y control) se subdividen en 3 grupos etarios: 0-11 meses, 12 a 23 meses y 24 meses o más. La positividad en los diferentes grupos etarios se aprecia en la tabla I. En los niños diarréicos se obtiene 42,9%, 50% y 47,3% de positividad en los respectivos grupos etarios: 0 a 11, 12, a 23 y 24 meses o más. En el grupo control, en las mismas edades, se obtiene positividad de 26%, 35% y 38,3% respectivamente.

En el grupo diarréico, los microorganismos enteropatógenos encontrados son *Escherichia coli* clásica, *Escherichia coli* invasora, *Escherichia coli* enterotoxigénica, *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter* y Rotavirus, observándose 6,5% de infecciones mixtas. En el grupo control se observan los mismos enteropatógenos, excepto *Yersinia enterocolitica*, siendo el porcentaje de infecciones mixtas de 4,3% (tabla II).

La frecuencia de aislamientos de *E. coli* clásica es de 3,7% en los diarréicos y de 6,8% en los no diarréicos. La distribución según edad es la siguiente: En el grupo diarréico en niños de 0-11 meses 3,6%, de 12 a 23 meses 4,2% y de 24 meses o más 3,6%. En el grupo control *E. coli* clásica se aísla en 12% de los niños de 0 a 11 meses y en 10% de 12 a 23 meses (tabla III).

Los serotipos de *E. coli* clásica más frecuentemente aislados son 0119 : H6, 0125 : H21 y 0127 : H21 (tabla IV). Los serotipos 055 : H7, 0111 : H10 y 0125 : H9 son también encontrados pero sólo en el grupo control.

Muestras de *E. coli* invasora se aíslan en 15,9% de los niños con diarrea y en 6% de los niños del grupo control. En el grupo diarréico, la distribución según edad es de 7,1%, 16,7% y 20,0% en los niños de 0 a 11 meses, 12 a 23 meses y de 24 meses o más respectivamente. En el grupo control no se aísla ninguna muestra de *E. coli* invasora hasta los 23 meses de edad, mientras que en los de 24 meses o más el porcentaje de aislamiento es de 14,9% (tabla V).

Los serotipos de *E. coli* invasora más frecuentemente aislados son 028ac : H⁻ y 0136 : H⁻. También se aíslan otros serotipos como 029 : H⁻, 0112ac : H⁻, 0124 : H30, 0144 : H⁻, 0152 : H⁻ y OND : H⁻ (tabla VI).

TABLA I - FRECUENCIA DE ENTEROPATOGENOS EN LOS GRUPOS DIARREICO Y CONTROL, SEGUN GRUPO ETARIO.

EDAD (MESES)	GRUPO DIARREICO			GRUPO CONTROL		
	N° CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS*		N° CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS	
		Nº	%		Nº	%
0-11	28	12	42,9	50	13	26,0
12-23	24	12	50,0	20	7	35,0
≥ 24	55	26	47,3	47	18	38,3
TOTAL	107	50	46,7	117	38	32,5

* Casos positivos: aquellos donde se encontraron uno o más enteropatógenos.
 Grupo diarreico: X^2 calculado = 0,28; X^2 crítico (2 gL; 0,05) = 5,99.
 Grupo control: X^2 calculado = 1,74.

TABLA II - BACTERIAS ENTEROPATOGENAS Y ROTAVIRUS EN LAS HECEs DE NIÑOS DE LOS GRUPOS DIARRÉICO Y CONTROL, SEGUN EDAD.

ENTEROPATÓGENO	GRUPO DIARRÉICO						GRUPO CONTROL									
	0-11 m (28)*		12-23 m (24)*		≥24 m (55)*		Total (107)*		0-11 m (50)*		12-23 m (20)*		≥24 m (47)*		Total (117)*	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>E. coli</i> clásica	1	3,6	1	4,2	2	3,6	4	3,7	5	10,0	1	5,0	0	0,0	6	5,1
<i>E. coli</i> invasora	1	3,6	3	12,5	7	12,7	11	10,3	0	0,0	0	0,0	5	10,6	5	4,3
<i>E. coli</i> enterotoxigénica	1	3,6	0	0,0	6	10,9	7	6,5	1	2,0	2	10,0	3	6,4	6	5,1
<i>Shigella</i>	2	7,1	2	8,3	3	5,5	7	6,5	1	2,0	0	0,0	3	6,4	4	3,4
<i>Salmonella</i>	0	0,0	0	0,0	1	1,8	1	0,9	1	4,0	0	0,0	0	0,0	2	1,7
<i>V. enterocolitica</i>	0	0,0	1	4,2	0	0,0	1	0,9	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<i>Campylobacter</i>	3	10,7	3	12,5	4	7,3	10	9,3	2	4,0	3	15,0	3	6,4	8	6,8
Rotavirus	2	7,1	0	0,0	0	0,0	2	1,9	1	2,0	0	0,0	1	2,1	2	1,7
Infecciones mixtas	2	7,1	2	8,3	3	5,5	7	6,5	1	2,0	1	5,0	3	6,4	5	4,3
TOTAL	12	42,9	12	50,0	26	47,3	50	46,7	13	26,0	7	35,0	18	38,3	38	32,5

* Número de casos estudiados.

TABLA III - FRECUENCIA DE E. COLI ENTEROPATOGENICA CLASICA EN LOS GRUPOS DIARRHEICO Y CONTROL, SEGUN EDAD.

EDAD (MESES)	GRUPO DIARRHEICO		GRUPO CONTROL	
	N° CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS N° %	N° CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS N° %
0-11	28	1 3,6	50	6 12,0
12-23	24	1 4,2	20	2 10,0
≥ 24	55	2 3,6	47	0 0,0
TOTAL	107	4 3,7	117	8 6,8*

* Incluidos 2 casos de infecciones mixtas.

TABLA IV - SEROTIPOS DE E. COLI ENTEROPATOGENICA CLASICA AISLADOS DE LAS HECE DE NIÑOS DE LOS GRUPOS DIARRHEICO Y CONTROL.

SEROTIPOS	Nº DE MUESTRAS
0119:H6	4
0125:H21	3
0127:H21	2
055:H7	1
0111:H10	1
0125:H9	1
TOTAL	12

La frecuencia de aislamiento de *E. coli* enterotoxigénica es de 10,3% en el grupo diarreico y de 6,8% en el grupo control. La distribución en los diferentes grupos etarios es la siguiente: para el grupo diarreico, de 0 a 11 meses 10,7%, de 12 a 23 meses 8,3% y de 24 meses o más 10,9%. En el grupo control la frecuencia de aislamiento es de 2.0%, 10% y 10,6% respectivamente (tabla VII).

Los fenotipos enterotoxigénicos se distribuyen de la manera siguiente: En el grupo diarreico LT/ST⁻ 5(45.5%), LT⁻/ST⁺ 5(45,5%) y LT⁺/ST⁺ 1(9.0%). En el grupo control LT⁺/ST⁻ 6(75%), LT⁻/ST⁺ 1(12,5%) y LT⁺/ST⁺ 1(12,5%). Tabla VIII).

Shigella se aísla en 7.5% de los diarreicos y en 3.4% de los controles. En el grupo diarreico, la distribución por edad fue la siguiente: de 0 a 11 meses 10,7%, de 12 a 23 meses 8,3% de 24 meses o más 5,4%. En el grupo control se aíslan muestras de *Shigella* en 2.0% de los niños

TABLA V - FRECUENCIA DE E. COLI INVASORA EN LOS GRUPOS DIARREICO Y CONTROL, SEGUN EDAD.

EDAD (MESES)	GRUPO DIARREICO		GRUPO CONTROL			
	N° CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS %	N° CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS %		
	0-11	28	2	7,1	0	0,0
12-23	24	4	16,7	20	0	0,0
≥ 24	55	11	20,0	47	7	14,9
TOTAL	107	17*	15,9	117	7**	6,0

* Incluidas 6 infecciones mixtas.
 ** Incluidas 2 infecciones mixtas.

TABLA VI - SEROTIPOS DE E. COLI INVASORA AISLADOS DE LAS HECES DE NIÑOS DE LOS GRUPOS DIARREICO Y CONTROL.

S E R O T I P O S	Nº DE MUESTRAS
0136:H ⁻	8
028ac:H ⁻	4
OND*:H ⁻ (E. coli São Paulo 2)	2
029:H ⁻	2
0124:H30	2
0167:H ⁻	2
0112ac:H ⁻	1
0143:H ⁻	1
0144:H ⁻	1
0152:H ⁻	1
TOTAL	24

*ND: ninguno de los serogrupos invasores conocidos.

de 0 a 11 meses y en 6,4% de los niños de 24 meses o más, mientras que no hubo aislamientos en el grupo de 12 a 23 meses. (Tabla IX).

La especie más frecuentemente aislada fue *Shigella flexneri*. También se aíslan *Shigella sonnei* y *Shigella dysenteriae* serotipo 2; mientras que no se observa *Shigella boydii* (tabla X).

Se aíslan 4 muestras del género *Salmonella*. En el grupo diarreico, 1(3,6%) en niños de 0 a 11 meses y 1 (1,8%) de 24 meses o más; y en el grupo control, 2 (4%) en niños de 0 a 11 meses. (Tabla XI).

Los serotipos de *Salmonella* encontrados: *S. agona* y *S. anatum* en el grupo diarreico y *S. saint paul* y *S. wangata* en el grupo control.

TABLA VII - FRECUENCIA DE E. COLI ENTEROTOXIGENICA EN LOS GRUPOS DIARREICO Y CONTROL, SEGUN EDAD.

EDAD (MESES)	GRUPO DIARREICO		GRUPO CONTROL	
	Nº CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS Nº %	Nº CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS Nº %
0-11	28	3 10,7	50	1 2,0
12-23	24	2 8,3	20	2 10,0
≥ 24	55	6 10,9	47	5 10,6
TOTAL	107	11* 10,3	117	8** 6,8

* Incluidas 3 infecciones mixtas.

** Incluidas 2 infecciones mixtas.

TABLA VIII - FENOTIPOS DE LAS MUESTRAS DE E. COLI ENTEROTOXIGENICA EN LOS GRUPOS DIARREICO Y CONTROL.

FENOTIPOS ENTEROTOXIGENICOS	GRUPO DIARREICO		GRUPO CONTROL		TOTAL	
	Nº (%) DE CASOS POSITIVOS		Nº (%) DE CASOS POSITIVOS		Nº (%) DE CASOS POSITIVOS	
LT ⁺ /ST ⁻	5	(45.5)	6	(75.0)	11	(57.9)
LT ⁻ /ST ⁺	5	(45.5)	1	(12.5)	6	(31.6)
LT ⁺ /ST ⁺	1	(9.0)	1	(12.5)	2	(10.5)
TOTAL	11	(100.0)	8	(100.0)	19	(100.0)

TABLA IX - FRECUENCIA DE SHIGELLA EN LOS GRUPOS DIARREICO Y CONTROL, SEGUN EDAD.

EDAD (MESES)	GRUPO DIARREICO		GRUPO CONTROL	
	N° CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS %	N° CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS %
	0-11	28	3 10,7	50
12-23	24	2 8,3	20	0 0,0
≥ 24	55	3 5,4	47	3 6,4
TOTAL	107	8* 7,5	117	4 3,4

* Includa 1 infección mixta.

TABLA X - ESPECIES DE SHIGELLA AISLADAS DE LAS HECEES DE NIÑOS DE LOS GRUPOS DIARREICO Y CONTROL.

E S P É C I E S	N° D E M U E S T R A S		TOTAL
	GRUPO DIARREICO	GRUPO CONTROL	
<i>S. dysenteriae</i>	0	1	1
<i>S. flexneri</i>	5	2	7
<i>S. sonnei</i>	3	1	4
TOTAL	8	4	12

TABLA XI - FRECUENCIA DE SALMONELLA EN LOS GRUPOS DIARREICO Y CONTROL, SEGUN EDAD.

EDAD (MESES)	GRUPO DIARREICO		GRUPO CONTROL	
	N° CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS Nº %	N° CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS Nº %
0-11	28	1 3,6	50	2 4,0
12-23	24	0 0,0	20	0 0,0
≥ 24	55	1 1,8	47	0 0,0
TOTAL	107	2 1,9	117	2 1,7

Yersinia enterocolitica, serogrupo O3, solamente se aísla a partir de un niño diarréico de 1 año y 5 meses de edad.

Como puede ser visto en la tabla XII, 13 (12,1%) de los niños con diarrea y 10 (8,5%) de los controles presentan coprocultivo positivo para *Campylobacter*. La distribución por grupos etarios en el grupo diarréico es la siguiente: 10,7% en niños de 0 a 11 meses, 20,8% en los de 12 a 23 meses y 9,1% en los de 24 meses o más. En el grupo control la distribución es 4,0%, 20,0% y 8,5% respectivamente.

En la tabla XIII se puede observar que tanto *Campylobacter jejuni* como *Campylobacter coli* son aislados en los dos grupos estudiados, siendo *C. jejuni* la especie más frecuente. En 8 de los casos, en que se aísla *Campylobacter*, no es posible hacer la diferenciación entre las 2 especies.

La frecuencia de Rotavirus se presenta en la tabla XIV. 2.8% de los casos se observan en niños con diarrea y 3,4% en los controles. En el grupo diarréico, Rotavirus aparece en 7.1% de los niños de 0 a 11 meses y en 1,8% de los de 24 meses o más. En el grupo control aparece en 4% de los niños de 0 a 11 meses y en 4,3% de 24 meses o más.

SENSIBILIDAD A LAS DROGAS ANTIMICROBIANAS

En la tabla XV se muestra la sensibilidad de las enterobacterias aisladas a los antimicrobianos estudiados.

100% de las cepas de *E. coli* clásica son sensibles a Amikacina, Polimixina B y Acido nalidíxico. Frente a otros antimicrobianos la sensibilidad es menor: 92% para Gentamicina, 75% para Cloramfenicol, 58% para Kanamicina, 50% para Cefalosporinas y Trimetoprim-sulfa, 33% para Ampicilina y Streptomocina, 25% para Tetraciclina y 17% para Sulfa.

E. coli invasora se muestra 100% sensible a Cefalosporinas, Kanamicina, Gentamicina, Amikacina, Acido nalidíxico y Polimixina B, 96% a Cloramfenicol, 92% a Ampicilina, 88% a la combinación Trimetoprim-sulfa. Los porcentajes más bajos son para Streptomocina (58%), Tetraciclina (33%) y sulfa (12%).

100% de las muestras de *E. coli* enterotoxigénica se muestran sensibles a Gentamicina, Amikacina, Polimixina B y Acido nalidíxico, 89% a Cloramfenicol, 79% a Kanamicina, 58% a Trimetoprim-sulfa, 63% a Ampicilina, 32% a Streptomocina y Sulfa y 26% a Tetraciclina.

100% de las muestras de *Shigella* se muestran sensibles a Polimixina B, Gentamicina, Amikacina y Acido nalidíxico, 92% a Kanamicina, 83% a Cefalosporinas, 75% a Trimetoprim-sulfa, 58% a Cloramfe-

TABLA XII - FRECUENCIA DE CAMPYLOBACTER EN LOS GRUPOS DIARREICO Y CONTROL, SEGUN EDAD.

EDAD (MESES)	GRUPO DIARREICO		GRUPO CONTROL	
	N° CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS N° %	N° CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS N° %
0-11	28	3 10,7	50	2 4,0
12-23	24	5 20,8	20	4 20,0
≥ 24	55	5 9,1	47	4 8,5
TOTAL	107	13* 12,1	117	10** 8,5

* Incluidas 3 infecciones mixtas.

** Incluidas 2 infecciones mixtas.

TABLA XIII - ESPECIES DE CAMPYLOBACTER AISLADAS DE LAS HECES DE NIÑOS DE LOS GRUPOS DIARRÉICO Y CONTROL.

E S P E C I E S	N° D E M U E S T R A S		TOTAL
	GRUPO DIARRÉICO	GRUPO CONTROL	
C. jejuni	6	5	11
C. coli	1	3	4
C. jejuni/coli	6	2	8
TOTAL	13	10	23

TABLA XIV - FRECUENCIA DE ROTAVIRUS EN LOS GRUPOS DIARREICO Y CONTROL, SEGUN EDAD.

EDAD (MESES)	GRUPO DIARREICO		GRUPO CONTROL	
	Nº CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS Nº %	Nº CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS Nº %
0-11	28	2 7,1	50	2 4,0
12-23	24	0 0,0	20	0 0,0
≥ 24	55	1 1,8	47	2 4,3
TOTAL	107	3* 2,8	117	4** 3,4

* Includa 1 infección mixta.

** Includas 2 infecciones mixtas.

TABLA XV - FRECUENCIA DE MUESTRAS SENSIBLES A LOS AGENTES ANTIMICROBIANOS ENTRE LAS ENTEROBACTERIAS ENTEROPATOGENAS AISLADAS.

AGENTES	ENTEROBACTERIAS ENTEROPATOGENAS											
	EPEC (12)*		EIEC (24)*		ETEC (19)*		Shigella (12)*		Salmonella (4)*		Y. enterocolitica (1)*	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Ampicilina	4	33	22	92	12	63	6	50	4	100	0	0
Cefalosporinas	6	50	24	100	17	89	10	83	4	100	0	0
Cloramfenicol	9	75	23	96	17	89	7	58	3	75	1	100
Polimixina B	12	100	24	100	19	100	12	100	4	100	1	100
Kanamicina	7	58	24	100	15	79	11	92	4	100	1	100
Streptomomicina	4	33	14	58	6	32	3	25	4	100	1	100
Gentamicina	11	92	24	100	19	100	12	100	4	100	1	100
Amikacina	12	100	24	100	19	100	12	100	4	100	1	100
Tetraciclina	3	25	8	33	5	26	4	33	3	75	1	100
Sulfa	2	17	3	12	6	32	2	17	3	75	1	100
Trimetoprim/sulfa	6	50	21	88	11	58	9	75	4	100	1	100
Ácido nalidixico	12	100	24	100	19	100	12	100	4	100	1	100

* Total de aislamientos incluyendo infecciones mixtas.
 EPEC: E. Coli enteropatogénica clásica; EIEC: E. coli enteroinvasora;
 ETEC: E. Coli enterotoxigénica.

nicol, 50% a Ampicilina, 25% a Streptomycin, 33% a Tetraciclina y 17% a Sulfa.

La mayoría (75%) de las muestras de *Salmonella* son sensibles a Cloramfenicol, Tetraciclina y Sulfa, y 100% a los demás antimicrobianos.

La única muestra de *Yersinia enterocolitica* aislada se muestra sensible a la mayoría de los antimicrobianos probados, siendo resistente a Ampicilina y Cefalosporinas.

No se determina la sensibilidad a los antimicrobianos para el género *Campylobacter*.

DISCUSION

La enfermedad diarreica continúa siendo un problema de real magnitud. Se calcula que en 1980 ocurrieron cerca de un billón de episodios de diarrea, que produjeron 4.6 millones de muertes, en niños menores de 5 años de edad en países subdesarrollados, excluyendo China (45).

El barrio que se estudia, así como los demás barrios que proliferan no sólo en Brasil, sino en otras ciudades latinoamericanas, presentan condiciones favorables para el desarrollo de diarreas, tales como malas condiciones higiénico-ambientales, promiscuidad, ausencia de sistemas adecuados de disposición de excretas y de recolección de basuras y falta de agua potable.

Los principales agentes etiológicos de la diarrea infecciosa se transmiten por la vía fecal-oral. Esta propagación y la consecuente infección de un nuevo huésped dependen del número de microorganismos excretados, de la influencia del medio ambiente y de la susceptibilidad del huésped.

En el presente trabajo se aislan gérmenes enteropatógenos en 46,7% de los niños diarreicos y en 32,5% de los controles, diferencia estadísticamente significativa. Sin embargo, no se observan diferencias significativas entre los diferentes grupos etarios. Resultados diferentes son reportados por Kitagawa (37), quien observa una disminución del porcentaje de aislamiento de gérmenes enteropatógenos a medida que aumenta la edad de los niños diarreicos atendidos en diferentes Centros Ambulatorios de la ciudad de Sao Paulo.

El elevado número de portadores (32,5%) refleja el alto índice de contaminación existente en esta comunidad, en la cual las malas condiciones higiénicas y el alto grado de promiscuidad y hacinamiento pue-

den favorecer la ocurrencia de infecciones en los primeros meses de vida, con el consecuente desarrollo de relativa inmunidad.

ETIOLOGIA DE LAS DIARREAS

La diarrea puede ser producida por diferentes agentes enteropatógenos. Sin embargo, agentes específicos pueden presentar patrones más o menos característicos de acuerdo con la edad del huésped, estación del año y localización geográfica.

En el presente estudio, *E. coli* enteroinvasora es el agente enteropatógeno aislado con mayor frecuencia, observándose en 15,9% de los niños con diarrea y en 6% de los controles. En el grupo diarréico se observa un aumento de la frecuencia a partir de los 12 meses de edad, mientras que en el grupo control, los aislamientos ocurren solamente en el grupo de 24 meses o más.

La frecuencia de aislamiento de *E. coli* invasora reportada en la literatura es menor que la nuestras. Así, Sakasaki y col. (60) en Japón aislan colibacilos invasores en las heces de 3,2% de los 1.700 pacientes diarréicos estudiados. En diferentes centros ambulatorios de Sao Paulo-Brasil, Trabulsi y col. (77) reportan colibacilos invasores en 5,8% de los niños diarréicos y en 2,2% de los controles; Faria (27), 1,6% en diarréicos y 1,3% en controles y Kitagawa (37), 2,3% y 0,9% respectivamente.

Los serotipos de *E. coli* enteroinvasora más frecuentemente aislados son 028ac: H⁻ y 0136: H⁻, siendo el primero, también el más frecuente en estudios realizados por otros autores en Sao Paulo (27, 37, 77).

Es oportuno mencionar el encuentro de 2 muestras de un nuevo sero-grupo de colibacilo invasor (*E. coli* Sao Paulo 2) todavía no descrito en la literatura*.

La alta frecuencia de *E. coli* enteroinvasora, observada en el presente trabajo, puede estar relacionada con el tipo de población estudiada, donde la promiscuidad y las condiciones desfavorables de higiene parecen favorecer la contaminación directa de persona a persona.

La frecuencia de aislamiento de *Campylobacter* en los países subdesarrollados es elevada (4 - 11) cuando se compara con la casuística de

*Toledo, M.R.F. y col. "Escola Paulista de Medicina", Sao Paulo, Brasil. Comunicación Personal.

países industrializados, donde estas bacterias se aíslan con poca frecuencia (10).

En el presente estudio el género *Campylobacter* ocupa el segundo lugar entre los enteropatógenos, aislándose en 12,1% de los niños diarreicos y en 8,5% de los controles. Frecuencia más baja ha sido observada por Fernández (28) en Sao Paulo, reportando aislamiento de *Campylobacter* en 7,4% de los niños con diarrea y en 6,9% de los controles.

La circulación de *Campylobacter* en los barrios puede estar asegurada por el estrecho contacto de la población con pacientes diarreicos y con animales. La importancia de los animales como fuente de infección para los humanos ha sido demostrada por varios autores (28, 56). Fernández (28), en Sao Paulo, encuentra porcentajes de positividad de 86,8% en gallinas, 42,8% en perros y 31,7% en gatos. Estos animales se observan con bastante frecuencia en íntimo contacto con los habitantes de los barrios.

Campylobacter se aprecia con mayor frecuencia en el grupo etario de 12 a 23 meses, tanto en el grupo diarreico como en los controles. Fernández (28) observa frecuencias ligeramente mayores en niños de 12 meses o más de edad, mientras que Ricciardi y Ferreira (56), en Río de Janeiro, encuentran 92,8% de las muestras en menores de un año.

La especie que se aísla con mayor frecuencia es *Campylobacter jejuni*, coincidiendo con las observaciones de otros autores (28, 56).

E. coli enterotoxigénica se aísla frecuentemente a partir de las heces de niños con diarrea en varios países subdesarrollados (6, 25). En nuestro estudio estos colibacilos se aíslan en 10,3% de los niños con diarrea y en 6,8% de los controles. Reis y col. (55), en 2 ambulatorios de la ciudad de Sao Paulo, observan *E. coli* enterotoxigénica en 13,4% de los niños diarreicos y en 11,4% de los controles. Posteriormente Kitagawa (37), también en ambulatorios de Sao Paulo, encuentra frecuencias de 10,2% en diarreicos y 7,6% en no diarreicos. Frecuencias mayores han sido observadas en comunidades rurales: Black y col. (7), en una villa rural de Bangladesh, encuentran colibacilos toxigénicos en 20% de los niños diarreicos menores de 2 años. Guerrant y col. (32), en la villa rural de Pacatuba, Ceará - Brasil, aíslan *E. coli* enterotoxigénica con mayor frecuencia en individuos diarreicos (21,5%).

LT⁺/ST⁻ es el fenotipo más frecuentemente encontrado en el presente estudio, sobre todo en los niños no diarreicos. Reis y col. (55), también encuentran este fenotipo con mayor frecuencia en los controles (11,4%) que en los diarreicos (3,3%), sugiriendo que posiblemente el fenotipo LT⁺/ST⁻ no constituye un agente etiológico importante en la producción de diarrea. El fenotipo LT⁻/ST⁺ se observa con mayor

frecuencia en los niños con diarrea, hecho también observado por otros autores (7, 37, 55). El fenotipo LT⁺/ST⁺ sólo se encuentra en un niño del grupo diarréico y en otro del grupo control, mientras que algunos autores observan este fenotipo con mayor frecuencia en los casos con diarrea (37, 55).

Las cuatro especies de *Shigella* son patógenas para el hombre, pudiendo aparecer en individuos de cualquier edad, principalmente después de los 6 meses de vida (5, 21). Se estima que *Shigella* puede ser responsable por 10 a 20% de los casos de diarrea aguda en niños, particularmente en verano (44, 75).

En el presente trabajo *Shigella* se aísla con más frecuencia en los niños diarréicos (7.5%) que en los controles (3.4%). Kitagawa (37), reporta 9% de aislamientos en los niños diarréicos atendidos en diferentes ambulatorios de la ciudad de Sao Paulo, observando porcentajes más elevados en los niños mayores de 6 meses.

En la literatura mundial *Shigella flexneri* se aísla con mayor frecuencia en los países en vías de desarrollo, mientras que *Shigella sonnei* es más frecuente en los países industrializados (5, 9, 43, 44). En nuestro estudio *S. flexneri* fue la especie más frecuente, aislándose también *S. sonnei* y *S. dysenteriae*.

E. coli enteropatógena clásica ha sido considerada en los últimos años como la bacteria más frecuentemente aislada en las heces de los niños diarréicos, en el primer año de vida, en la ciudad de Sao Paulo. Así, Toledo y col., 1983 (71), estudiando 550 niños, observaron que 30% de los aislamientos correspondieron a *E. coli* enteropatógena clásica, porcentaje mayor que el observado para el resto de los enteropatógenos considerados conjuntamente (21.9%). Kitagawa, 1984 (37), reportó *E. coli* enteropatógena clásica en 27.4% de los niños con diarrea y en 6.1% de los controles, siendo mayor el porcentaje de aislamientos en niños menores de 6 meses de edad, sobre todo en recién nacidos (47.4%).

Datos contrastantes se obtienen en nuestro estudio, donde se aíslan muestras de *E. coli* enteropatógena clásica en 3.7% de los niños diarréicos y en 6.8% de los controles. La frecuencia de aislamientos en los niños diarréicos menores de un año resultó muy baja (3.6%); no obstante, se debe mencionar que en este grupo etario sólo estaban incluido un recién nacido.

Los serotipos O111:H2 y O111:H⁻ no fueron encontrados en nuestro estudio, mientras que estos serotipos junto con el O119:H6 son los más frecuentemente involucrados en la diarrea infantil en Sao Paulo (37, 71, 75). El aislamiento de estos serotipos en retenes de hospitales, así como la observación de patrones característicos de resistencia a los an-

timicrobianos, sugieren que estos locales pueden representar importantes fuentes de infección para la comunidad infantil (37, 49, 50).

La baja frecuencia de colibacilos enteropatógenos clásicos, en la comunidad de esta barriada, puede estar relacionada con el bajo número de niños estudiados en los primeros meses de vida y con el poco contacto de los niños con el ambiente hospitalar.

El género *Salmonella* estuvo presente en 1.9% de los niños con diarrea y en 1.7% de los controles, valores bastante bajos si se comparan con los obtenidos por Kitagawa (37) en ambulatorios de la ciudad de Sao Paulo, quien reporta frecuencias de 10.4% en niños diarreicos y 4.7% en los controles, observando porcentajes mayores en los niños diarreicos de 1 a 5 meses de edad (14.6%).

Nunca pudimos aislar *S. typhimurium*, a pesar de que este serotipo es el más frecuente en Sao Paulo. Algunos autores consideran que *S. typhimurium* tiene asegurada su permanencia en la comunidad como consecuencia de su alta prevalencia en el medio hospitalar (14, 49, 76). *S. agona* se aisló en una sola oportunidad, a partir de un niño con diarrea. Este serotipo ha surgido recientemente en Sao Paulo, considerándose actualmente como el segundo más frecuente en el humano (13), presentando generalmente gran capacidad de colonización extraintestinal (14).

Semejante a lo comentado para *E. coli* enteropatógena clásica, el bajo número de aislamientos de *Salmonella* pudiera estar relacionado con el pequeño número de niños estudiados en los primeros meses de vida y con el poco contacto de los niños con el ambiente hospitalar, ya que *Salmonella* ha sido asociada a cuadros diarreicos, sobre todo en niños menores de un año (75) y el hospital, según algunos autores, constituye una fuente de infección para la comunidad (76).

Y. enterocolitica solamente se aisló a partir de un niño con diarrea. Esta baja frecuencia coincide con otros estudios realizados en Brasil, en los cuales *Y. enterocolitica* aparece como una causa rara de infección intestinal (37, 51, 69, 75).

Rotavirus ha sido reconocido mundialmente como uno de los enteropatógenos más frecuentes en niños diarreicos menores de 2 años de edad (6, 21, 23, 79). En el presente trabajo los porcentajes observados fueron de 2.8% en el grupo diarreico y de 3.4% en los controles. Esta frecuencia es baja si se compara con la obtenida por otros autores en Sao Paulo: Baldacci y col. (2), estudiando menores de un año internados en el "Hospital das Clínicas" de la ciudad de Sao Paulo, encontraron Rotavirus en 35.2% de los niños, siendo más afectado el grupo etario menor de 6 meses. Kitagawa (37), estudió niños atendidos en ambu-

latorios de Sao Paulo, observando Rotavirus en 15.8% de los individuos diarreicos, sobre todo en el grupo etario de 6 a 11 meses, y en 12.3% de los controles.

La baja frecuencia de Rotavirus, que se observa en nuestro estudio, puede estar relacionada con el desarrollo de inmunidad por parte de los niños, debido a infecciones previas.

SUSCEPTIBILIDAD DE LAS BACTERIAS ENTEROPATOGENAS A LOS AGENTES ANTIMICROBIANOS

La mayoría de las personas con diarrea infecciosa presentan un cuadro clínico autolimitado y de corta duración (2 a 3 días). Sin embargo, el estudio de la sensibilidad a las drogas antimicrobianas permite establecer relaciones epidemiológicas.

Las bacterias enteropatógenas aisladas en nuestro estudio se mostraron bastante sensibles a la mayoría de los antimicrobianos utilizados.

Las muestras de *E. coli* enteroinvasora, *E. coli* enterotoxigénica y *Shigella* presentaron bajos porcentajes de sensibilidad para Sulfa, Tetraciclina y Estreptomocina. Elevados porcentajes de resistencia para Sulfa y Tetraciclina fueron también observados por Kitagawa (37) en estos mismos microorganismos. Trabulsi (75) refiere que aproximadamente 90% de las muestras de *Shigella* en Sao Paulo son resistentes a Sulfa.

Es resaltante mencionar que *E. coli* enteropatógena clásica y *Salmonella* fueron altamente sensibles a los antimicrobianos, contrario a los resultados obtenidos por otros autores. Pessoa y col., 1980 (50), en retenes de hospitales y casas de cuidado diario, aislan *E. coli* enteropatógena clásica altamente resistente a los antimicrobianos a partir de las heces de niños recién nacidos. En el mismo estudio, 94.6% de las muestras de *S. typhimurium* presentaron resistencia múltiple a 7 u 8 antimicrobianos. Kitagawa, 1984 (37), observa que las muestras de *E. coli* enteropatógena clásica presentan elevados porcentajes de resistencia para Sulfa (80%), Tetraciclina (75.7%) y Kanamicina (72.8%), mostrando los serotipos O111:H2 y O119:H6 resistencia para 10 u 11 drogas antimicrobianas. El mismo autor reporta que *Salmonella* también presenta altos porcentajes de resistencia, de tal forma que 94.6% de las muestras del serotipo *S. typhimurium* presentan resistencia múltiple a 7-12 drogas antimicrobianas.

CONCLUSIONES

Se encuentran microorganismos enteropatógenos en 46.7% de los niños diarreicos y en 32.5% de los controles.

Los enteropatógenos identificados son: *E. coli* enteroinvasora, *Campylobacter*, *E. coli* enterotoxigénica, *Shigella*, *E. coli* enteropatógena clásica, *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica* y Rotavirus.

E. coli enteroinvasora es el agente más aislado, sobre todo en niños diarreicos (15.9%), siendo los serotipos O28ac : H⁻ y O136 : H⁻ los más frecuentes.

Campylobacter es el segundo en frecuencia (12.1% en niños diarreicos y 8.5% en controles), siendo *C. jejuni* la especie más aislada.

El elevado número de aislamientos de *E. coli* enteroinvasora y *Campylobacter* puede haber sido favorecido por las condiciones de promiscuidad y por el estrecho contacto de la población con individuos diarreicos y con animales.

E. coli enterotoxigénica se aísla en 10.3% de los niños diarreicos y en 6.8% de los controles. LT⁺ST⁻ es el fenotipo más frecuente, sobre todo en individuos no diarreicos.

Shigella se encuentra en 7.5% de los diarreicos y en 3.4% de los controles. *S. flexneri* es la especie más frecuente, aislándose también *S. sonnei* y *S. dysenteriae*.

Enteropatógenos tales como *E. coli* enteropatógena clásica, *Salmonella* y Rotavirus se aíslan con baja frecuencia, a pesar de que los mismos se encuentran ampliamente difundidos en Sao Paulo.

Yersinia enterocolitica serogrupo O3 solamente se aísla en un niño diarreico, coincidiendo con otros estudios realizados en Brasil, en los cuales *Y. enterocolitica* se considera una causa rara de infección intestinal.

La mayoría de las muestras de enterobacterias enteropatógenas aisladas son sensibles a los antimicrobianos utilizados. Un hecho de especial relevancia es la alta sensibilidad mostrada por *E. coli* enteropatógena clásica y *Salmonella*, si se toma en cuenta que las muestras encontradas en Sao Paulo, por otros autores, son altamente resistentes.

La alta frecuencia de enteropatógenos en los niños con diarrea y el elevado número de portadores reflejan el grado de contaminación de la población estudiada, sugiriendo que el barrio constituye un medio adecuado para la proliferación de organismos patógenos. Por lo tanto, sería conveniente la realización de nuevos estudios microbiológicos y epidemiológicos en este tipo de población.

LITERATURA CITADA

1. AKINTERINWA, M. O.; PAUL, M. O.: Bacteriological investigations of infantile gastroenteritis in Ife, Nigeria. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 85: 139-41, 1982.
2. BALDACCI, E. R.; CANDEIAS, J. A.; BREVIGLIERI, J. C.; ELERO, S. J.: Etiologia viral e bacteriana de casos de gastroenterite infantil: uma caracterizacao clinica. *Revista de Saude Publica*, 13: 47-53, 1979.
3. BAUER, S. W.; KIRBY, W. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M.: Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45: 493-6, 1966.
4. BILLINGHAM, J. D.: Campylobacter enteritis in the Gambia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 75: 641-4, 1981.
5. BLACK, R. E.; BROWN, K. H.; BECKER, S.; ALIM, A. R.; HUQ, I.: Longitudinal studies on infectious diseases and physical growth of children in rural Bangladesh. II. Incidence of diarrhea and association with known pathogens. *American Journal of Epidemiology*, 115: 315-24, 1982.
6. BLACK, R. E.; MERSON, M. H.; RAHMAN, A. S.; YUNUS, M.; ALIM, A. R.; HUQ, I.; YOLKEN, R. H.; CURLIN, G. T.: A two-year study of bacterial, viral and parasitic agents associated with diarrhea in rural Bangladesh. *Journal of Infectious Diseases*, 142: 660-4, 1980.
7. BLACK, R. E.; MERSON, M. H.; HUQ, I.; ALIM, A. R.; YUNUS, M.: Incidence and severity of Rotavirus and *Escherichia coli* diarrhoea in rural Bangladesh. *Lancet*, 1: 141-3, 1981.
8. BLASER, M. J.; BERKOWITZ, I. D.; LAFORCE, F. M.; CRAVENS, J.; RELLER, L. B.; WANG, W. L.: *Campylobacter* enteritis: Clinical and epidemiologic features. *Annals of Internal Medicine*, 91: 179-85, 1979.
9. BLASER, M. J.; POLLARD, R. A.; FELDMAN, R.: *Shigella* infections in the United States, 1974-1980. *Journal of Infectious Diseases*, 147: 771-5, 1983.
10. BLASER, M. J.; RELLER, L. B.: *Campylobacter* enteritis. *New England Journal of Medicine*, 305: 1444-52, 1981.
11. BOKKENHEUSER, V. D.; RICHARDSON, N. J.; BRYNER, J. H.; ROUX, D. J.; SCHUTE, A. B.; KOORNHOF, H. J.; FREIMAN, I.; HARTMAN, E.: Detection of enteric campylobacteriosis in children. *Journal of Clinical Microbiology*, 9: 227-32, 1979.
12. BUTZLER, J. P.; SKIRROW, M. B.: *Campylobacter* enteritis. *Clinical Gastroenterology*, 8: 737-65, 1979.
13. CALZADA, C. T.; NOGUEIRA, S.; IRINO, K.; KANO, E.; DIAS, A. M.; PESSOA, G. V.: Sorotipos de *Salmonella* identificados nasecao de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz no período 1977-1982. In: *Congresso Latino Americano de Microbiologia*, 9º, Sao Paulo, 1983. Resumos, p. 260.
14. CEBALLOS, B. S.; CARVLHO, E.; FARHAT, C. F.; TRABULSI, L. R.: Estudo de colonizacao multipla por *Salmonella* em crianas menores de um año. In: *Congresso Latino Americano de Microbiologia*, 9º, Sao Paulo, 1983. Resumos, p. 261.
15. CRAMBLETT, H. G.; AZIMI, P.; HAYNES, R. E.: The etiology of infectious diarrhea in infancy, with special reference of enteropathogenic *E. coli*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 176: 80-92, 1979.

16. CORTEGUERA, R. R.; VARGAS, L. C.; LAZO, V. F.: Enfermedades diarreicas agudas en Cuba. *Archivos Dominicanos de Pediatria*, 17: 55-68, 1981.
17. DEAN, A. G.; CHING, Y. C.; WILLIAMS, R. G.; HARDEN, L. B.: Test for *Escherichia coli* enterotoxin using infant mice: application in a study of diarrhea in children in Honolulu. *Journal of Infectious Diseases*, 125: 407-11, 1972.
18. DEBOY II, J. M.; WACHSMUTH, I. K.; DAVIS, B. R.: Antibiotic resistance in enterotoxigenic and non-enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Journal of Infectious Diseases*, 125: 407-11, 1972.
19. DONTA, S. T.; MOON, H. W.; WHIPP, S. C.: Detection of heat-labile *Escherichia coli* enterotoxin with the use of adrenal cells in tissue culture. *Science*, 188: 334-6, 1974.
20. Donta, S. T.; Wallace, R. B.; Whipp, S. C.; OLARTE, J.: Enterotoxigenic *Escherichia coli* and diarrheal disease in mexican children. *Journal of Infectious Diseases*, 135: 482-5, 1977.
21. EDELMAN, R.; LEVINE, M.: Acute diarrheal infection in infants. II. Bacterial and viral causes. *Hospital Practice*, 15: 97-104, 1980.
22. EDWARDS, P. R.; EWING, W. H.: Identification of Enterobacteriaceae, 3rd. ed. Burgess Publishing. Co., Minneapolis, 1972.
23. ESPARZA, J.; VIERA, B.; PINERO, A.; CARMONA, F. O.; MAZZALI, R.: Rotaviruses in Venezuelan children with gastroenteritis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 26: 148-51, 1977.
24. EVANS, D. J.; EVANS, D. G.; GORBACH, S. L. Production of vascular permeability factor by enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from man. *Infection and Immunity*, 8: 725-30, 1973.
25. EVANS, D. G.; OLARTE, J.; DUPONT, H. L.; EVANS, D. J.; GALINDO, E.; PORTNOY, B. L.; CONKLIN, R. H. Enteropathogens associated with pediatric diarrhea in Mexico City. *Journal of Pediatrics*, 91: 65-8, 1977.
26. EWING, W. H.; TATU, H. W.; DAVIS, B. R.; REAVIS, R. W. Studies on the serology of the *Escherichia coli* group. *Center for Disease Control*. Atlanta-Georgia, 1956.
27. FARIAS, R. L.: Frequencia de colibacilos invasores em crianas normais e com diarréia na cidade de Sao Paulo: caracterfsticas das amostras e descricao de um novo sorogrupo. *Tese de Mestrado, Escola Paulista de Medicina*, Sao Paulo, 1983.
28. FERNANDEZ, J. H. Espécies termofilas de *Campylobacter*: Aspectos bacteriológicos, patogénicos. *Tese de Doutorado, Escola Paulista de Medicina*, Sao Paulo, 1983.
29. FERNANDEZ, H.; TOLEDO, M. R.; FAGUNDES NETO, U.; TRABULSI, L. R.: Aislamiento de *Campylobacter Jejuni* en niños con diarrea aguda y controles sanos. *Revista Médica de Chile*, 112: 238-41, 1984.
30. FERRARI, H. Consideraciones sobre diarrea aguda infecciosa. *Acta Gastroenterológica Latinoamericana*, 12: 261-91, 1982.
31. FINEGOLD, S.; MARTIN, W.; SCOTT, E.: Determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents; assay of antimicrobial agents. In: Bailey and Scott's *Diagnostic Microbiology*. 5th. Ed. Saint Louis. C. V. Mosby Company. 1978, p. 385.
32. GUERRANT, R. L.; KIRCHHOFF, L. V.; SHIELDS, D. S.; NATIONS, M. K.; LESLIE, J.; SOUSA, M. A.; ARAUJO, J. G.; CORREIA, L. L.; SAUER, K.

- T.; McCLELLAND, K. E.; TROWBRIDGE, F. L.; HUGHES, J. M.: Prospective study of diarrheal illness in northeastern Brazil: patterns of disease, nutritional impact, etiologies and risk factors. *Journal of Infectious Diseases*, 148: 986-97, 1983.
33. GUTH, B. E. C.: *Escherichia coli* enterotoxigenica: detecção através de características antigênicas e bioquímicas. *Tese de Mestrado, Escola Paulista de Medicina*, Sao Paulo, 1983.
34. JEFFRIES, L.: Novobiocin-Tetrathionate broth: a medium of improved selectivity for the isolation of *Salmonella* from faeces. *Journal of Clinical Pathology*, 12: 568-71, 1959.
35. KALLAS, M. E. E.: Características ambientais, sociais e culturais de uma comunidade de favelado. Avaliação do estado nutricional de crianças de 0-9 anos. *Tese de Mestrado, Instituto de Estudos e Pesquisas em Gastroenterologia*, Sao Paulo, 1984.
36. KAMATH, K. R.; FELDMAN, R. A.; SUDARRAO, P. S.; WEBB, J. K.: Infection and disease in a group of south Indian families. *American Journal of Epidemiology*, 89: 375-83, 1969.
37. KITAGAWA, S.: Contribuição ao estudo da etiologia da diarreia infantil. Sao Paulo, 1984. *Tese de Doutorado, Escola Paulista de Medicina*.
38. KOWARICK, L.: A expolição urbana. Paz e Terra, Rio de Janeiro, 1979.
39. LAM, S. K.: Current concepts on etiology and pathogenesis of diarrhoea caused by viruses. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 13: 325-30, 1982.
40. LEVINE, M. M.; EDELMAN, R.: Acute diarrheal infections in infants. I. Epidemiology treatment and prospects for immunoprophylaxis. *Hospital Practice*, 14: 89-100, 1979.
41. LUECHTFELD, N. W.; WANG, W. L.; BLASER, M. J.; RELLER, L. B.: *Campylobacter fetus* subsp. jejuni: background and laboratory diagnosis. *Laboratory Medicine*, 12: 481-7, 1981.
42. MARQUES, L. R. M.: *Edwardsiella tarda*: estudo da capacidade invasora e produção de toxinas. *Tese de Mestrado, Escola Paulista de Medicina, Sao Paulo*, 1983.
43. MARTINEZ, A. E.: Resistencia plasmidial en *Shigella*. Prevalencia y Evolución. *Trabajo de Ascenso. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia*, 1979.
44. MENDONÇA, J. S.: Diarreias infecciosas de etiologia viral e bacteriana. *Revista Paulista de Medicina*, 100: 24-9, 1982.
45. MERSON, M. H.: The global problem of acute diarrheal diseases and the W. H. O. diarrhoeal diseases control programme. In: *International Symposium on Bacterial Diarrheal Diseases*, Osaka, 1982. Resumos, P. 1-3.
46. OBERLE, M. W.; MERSON, M.; ISLAM, M.; RAHMAN, A. S.; HUBER, D. H.; CURLIN, G.: Diarrhoeal disease in Bangladesh. Epidemiology, mortality averted and cost at a rural treatment centre. *International Journal of Epidemiology*, 9: 341-8, 1982.
47. ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD: Higiene del Medio y prevención de enfermedades diarreicas. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 90: 549-57, 1981.
48. ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD: Estudios y estrategias necesarias para reducir la morbilidad y la mortalidad por infecciones entéricas: Informe de las discusiones técnicas. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 78: 281-93, 1975.

49. OSMO, A.; ARAUJO, M.; BARISON, E.; GILIO, A.; BERNABE, A.; CARNEIRO, R.; DA COSTA, M.; MANISSADJIAN, A.; MAMIZUKA, E.: Estudo etiológico de 252 casos de diarreia aguda internados no Hospital Universitario da Universidade de Sao Paulo. *Pediatrics*, 5: 175-83, 1983.
50. PESSOA, G. V.; SUGUMORI, R. T.; IRINO, K.; RASKIN, M.; CALZADA, C. T.: Isolamento de enterobactérias patogênicas em berrários do município de Sao Paulo. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 40: 107-27, 1980.
51. PIZSOLITTO, A. C.; FALCAO, D. P.; SHIMIZU, M. T.; GALVAO, S. H.; GIRALDINI, W.: The first isolation of human *Yersinia enterocolitica* in Brazil: case report. *Contr. Microbiology and Immunology*, 5: 169-73, 1979.
52. PRIETO, G.: Etiología Bacteriana de la diarrea aguda, bacterias enteropatógenas tradicionales en nuestro medio. *Memorias del III Congreso Venezolano de Microbiología*. Barquisimeto, 1982.
53. PRIETO, G.; MARTINEZ, A.; CEPEDA, I.: Epidemiología y clínica de la Campylobacteriosis intestinal en Venezuela. Un estudio de 100 casos observados en los años 1983-1984. *Resúmenes de las II Jornadas Científicas de la Facultad de Medicina*, 26: 46, 1985.
54. PUFFER, R.; SERRANO, C. V.: Infant mortality. In: *Patterns of Mortality in Childhood*. Scientific publication of Panamerican Health Organization, 262: 73-90, 1973.
55. REIS, M. H.; GUTH, B. E.; GOMES, T. A.; MURAHOVSKI, J.; TRABULSI, L. R.: Frequency of *Escherichia coli* strains producing heat-labile toxin or heat-stable toxin or both in children with and without diarrhea in Sao Paulo. *Journal of Clinical Microbiology*, 15: 1062-4, 1982.
56. RICCIARDI, I. D.; FERREIRA, M. C. S.: The age distribution in children with *Campylobacter* enteritis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 74: 687, 1980.
57. RUOCO, G.; MOURIGAN, H.: Diarrea aguda infantil (aspectos epidemiológicos). *Acta Gastroenterológica Latinoamericana*, 9: 101-6, 1979.
58. SACK, D. A.; SACK, R. B.: Test for enterotoxigenic *Escherichia coli* using Y₁ adrenal cells in miniculture. *Infection and Immunity*, 11: 334-6, 1975.
59. SACK, B.; TILTON, R.; WEISSFELD, A.: Laboratory diagnosis of bacterial diarrhea. *Cumitech 12, American Society for Microbiology*, 1980.
60. SAKAZAKI, R.; TAMURA, K.; SAITO, M.: Enteropathogenic *Escherichia coli* associated with diarrhea in children and adults. *Japanese Journal of Medical Sciences and Biology*, 20: 387-99, 1967.
61. SCHIMIDT, N. J.: Cell culture techniques for diagnosis virology. In: LENNETTE, E. H.; SCHIMIDT, N. J. ed. *Diagnostic procedures for viral, rickettsial and Chlamydial infections*. 5th. ed. Washington, D. C., APHA, 1979. P. 65-139.
62. SEADE. Fundacao Sistema Estadual de Análise de dados. *Anuario Estatístico do Estado de Sao Paulo*, 1980. P. 85.
63. SEADE. Fundacao Sistema Estadual de Análise de dados. *Anuario Estatístico do Estado de Sao Paulo*, 1981. P. 82.
64. SEADE. Fundacao Sistema Estadual de Análise de dados. *Anuario Estatístico do Estado de Sao Paulo*, 1982. P. 106.
65. SHIRROW, M. B.: *Campylobacter* enteritis: a "new" disease. *British Medical Journal*, 2: 9-11, 1977.
66. SKIRROW, M. B.; BENJAMIN, J.: Differentiation of enteropathogenic *Campylobacter*. *Journal of Clinical Pathology*, 33: 1122, 1980.

67. SNYDER, J. D.; MERSON, M. H.: The magnitude of the global problem of acute diarrhoeal disease: a review of active surveillance data. *Bulletin of the World Health Organization*, 60: 605-13, 1982.
68. SORIANO, H.: Epidemiology and the significance of different climates. In: Etiology, Pathophysiology and treatment of acute gastroenteritis. *Proceedings of the Seventy-Fourth Ross Conference on Pediatric Research*, Columbus, 1977, p. 13.
69. STUMPP, M.; RICCIARDI, I. D.; OLIVEIRA, N.; SABRA, A.; BERNHOEFT, M.: *Yersinia enterocolitica* as a cause of infantile diarrhoea in Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Pesquisas Medicas e Biologicas*, 11: 383-4, 1978.
70. SUNOTO: Diarrhoeal problems in southeast Asia. *Southeastern Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 13: 306-18, 1982.
71. TOLEDO, M. R. F.; ALVARIZA, M. C.; MURAHOVSKI, J.; RAMOS, S. R. T.; TRABULSI, L. R.: Enteropathogenic *Escherichia coli* serotypes and endemic diarrhea in infants. *Infection and Immunity*, 39: 586-9, 1983.
72. TOLEDO, M. R. F.; FONTES, C. F.; TRABULSI, L. R.: EPM-Modificacao do meio de Rugai e Araujo para a realizacao simultanea dos testes de producao de gás a partir de glicosa, H₂S, urease e triptófano desaminase. *Revista de Microbiologia*, 13: 309-15, 1982.
73. TOLEDO, M. R. F.; TRABULSI, L. R.: MILI. Um meio para a realizacao dos testes de motilidade, indol e lisina descarboxilase. *Revista de Microbiologia*, 13: 230-5, 1982.
74. TRABULSI, L. R.: Experimental Keratoconjunctivitis of the guinea-pig by enterobacteria. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 7: 16-23, 1965.
75. TRABULSI, L. R.: *Microbiologia das infeccoes intestinais*. Rio de Janeiro, Atheneu, 1981.
76. TRABULSI, L. R.; RILEY, L. W.; CEBALLOS, B. S.; TOLEDO, M. R.: O hospital como fonte de infeccao por *Salmonella typhimurium* multiresistente. In: *Congresso Latino Americano de Microbiologia*, 9º, Sao Paulo, 1983. Resumos. P. 249.
77. TRABULSI, L. R.; FERNANDEZ, M. R.; ZULIANI, M. E.: Novas bactérias patogénicas para o intestino do homem. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 9: 31-9, 1967.
78. WHO. Scientific Working Group.: Enteric infections due to *Campylobacter*, *Yersinia*, *Salmonella* and *Shigella*. *Bulletin of the World Health Organization*, 58: 519-37, 1980.
79. WYATT, R. G.; YOLKEN, R. H.; URRUTIA, J. J.; MATA, L.; GREENBERG, H. B.; CHANOCK, R. M.; KAPIKIAN, A. Z.: Diarrhea associated with Rotavirus in rural Guatemala: a longitudinal study of 24 infants and young children. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 28: 325-28, 1979.