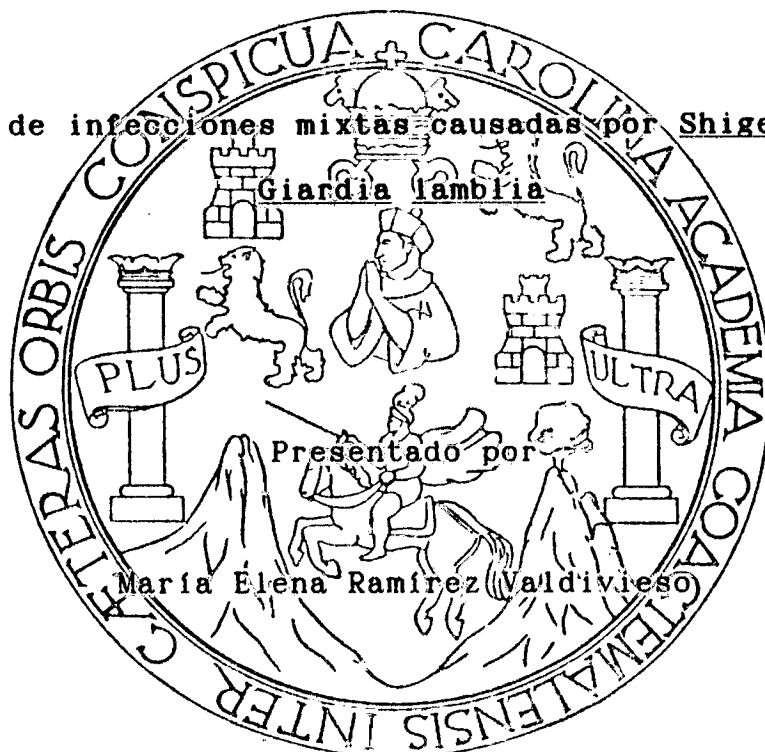


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

Prevalencia de infecciones mixtas causadas por Shigella sp. y



Para optar al título de

Químico Biólogo

Guatemala, octubre de 1996.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

DL  
06  
T(1758)

JUNTA DIRECTIVA DE LA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DECANO	Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Secretario	Lic. Oscar Federico Nave Herrera
Vocal I	Lic. Miguel Angel Herrera Gálvez
Vocal II	Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
Vocal III	Lic. Rodrigo Herrera San José
Vocal IV	Br. Ana María Rodas Cardona
Vocal V	Br. Hayro Oswaldo García García

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

## DEDICATORIA

A DIOS Por permitirme llegar a este momento

A mis padres Por el apoyo, comprensión, esfuerzo y cariño.

A mis hermanas Por su paciencia y cariño

A mi familia Con cariño

A Carlos Curiel Por su amor y apoyo

A mis amigas y amigos Por brindarme su amistad

## AGRADECIMIENTOS

Lic. Ingrid Tabarini      Por la valiosa asesoría prestada para  
la realización del presente trabajo.

Lic. Juan Carlos Quevedo      Por la colaboración y apoyo brindados,

Lic. Aída de Cifuentes      Jefe de Laboratorio Clínico del  
Instituto Guatemalteco de Seguridad  
Social Dr. Juan José Arévalo Bermejo.

Al personal de Laboratorio Clínico del Instituto Guatemalteco de  
Seguridad Social, Dr. Juan José Arévalo Bermejo.

A los Licenciados Gustavo Gini, Martín Gil y Evelyn Rodas, por la  
valiosa revisión de este trabajo.

## INDICE

	Página
I. Resumen	1
II. Introducción	3
III. Antecedentes	5
A. Familia <u>Enterobacteriaceae</u>	5
B. Género <u>Shigella</u>	5
C. Clase <u>Mastigophora</u>	11
D. Género <u>Giardia</u>	12
E. Gastroenteritis	16
F. <u>Giardia lamblia</u> asociada a enterobacterias	18
IV. Justificaciones	20
V. Objetivos	21
VI. Hipótesis	22
VII. Materiales y métodos	23
A. Universo de trabajo	23
B. Muestra	23
C. Medios	23
D. Procedimiento	25
E. Diseño Estadístico	26
VIII. Resultados	27
IX. Discusión	29
X. Conclusiones	31
XI. Recomendaciones	32
XII. Referencias	33
XIII. Anexos	38

## I. RESUMEN

La infección causada por Giardia lamblia es una de las más frecuentes en países en vías de desarrollo; produce trastornos gastrointestinales al adherirse a la mucosa intestinal. Al igual que G. lamblia, la shigellosis es una infección frecuente y es una causa importante de epidemias comunitarias.

En estudios realizados sobre la ultraestructura de Giardia lamblia, se observaron endosimbiontes bastante similares a los bacilos Gram negativo, aunque no han sido plenamente identificados.

En el presente trabajo se realizó un estudio de la unión de Giardia lamblia con el Género Shigella, en 131 muestras de heces en las que se observaron quistes o trofozoítos de G. lamblia, de pacientes que asistieron durante los meses de marzo a julio de 1996 a la Consulta Externa del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, Dr. Juan José Arévalo Bermejo. Se realizó coprocultivo de rutina en los siguientes medios de cultivo: Salmonella-Shigella (SS), Xilosa-Lactosa-Dextrosa (XLD) y Hecktoen a todas las muestras en que se observaron quistes o trofozoítos de Giardia lamblia. Estos medios se incubaron por 24 horas a 37°C, posteriormente se observó con ayuda de microscopio estereoscópico si habían colonias sospechosas de Shigella sp., a las cuales se realizó la siguiente batería de pruebas: TSI, LIA, UREA, CITRATO y MIO, las que luego de haberse incubado se interpretaron según la Tabla para Enterobacterias.

No fué posible determinar la prevalencia de infecciones mixtas

en la población bajo estudio, ya que el porcentaje de muestras que presentaron infecciones de Giardia lamblia unida a Shigella sp. fué de cero por ciento.

Las bacterias aisladas de los coprocultivos analizados son las siguientes Escherichia coli (70.99 por ciento) y Proteus sp. (29.01 por ciento).

## II. INTRODUCCION

La shigellosis es una enfermedad diarréica de distribución mundial, especialmente en países en vías de desarrollo. El agente etiológico es el género Shigella que se clasifica en cuatro subgrupos o especies de acuerdo a características bioquímicas y serológicas. Las especies del género Shigella son: S. dysenteriae (serogrupo A), S. flexneri (serogrupo B), S. boydii (serogrupo C) y S. sonnei (serogrupo D).

La giardiasis es una infección parasitaria, el agente etiológico es Giardia lamblia, la cual adopta dos fases morfológicamente: trofozoíto y quiste. La transmisión ocurre por la ingestión de alimentos y aguas contaminadas. El diagnóstico se realiza por medio de la demostración de quistes y/o trofozoítos en las heces de pacientes sintomáticos o asintomáticos.

En Guatemala no existen estudios sobre la incidencia de la giardiasis, aunque en base a las estadísticas realizadas en Hospitales Nacionales, se ha encontrado una incidencia de hasta 5.6 por ciento.

Se ha reportado que existe asociación entre giardiasis y la proliferación de enterobacterias, pudiendo ser posible la observación de inclusiones intracitoplasmáticas de bacterias en Giardia lamblia.

Debido a que en nuestro país las enfermedades diarréicas son muy frecuentes, la posible existencia de una asociación entre Giardia lamblia y Shigella sp., hace necesario realizar el presente



estudio, para determinar la presencia de esta asociación y de esa forma realizar un mejor diagnóstico y por ende un tratamiento al paciente para evitarle así posibles complicaciones.

Se analizó un total de 131 muestras de heces positivas para Giardia lamblia, en pacientes que asistieron durante los meses de marzo a julio de 1996 a la Consulta Externa del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, Dr. Juan José Arévalo Bermejo; de las cuales ninguna fué positiva para Shigella sp., por lo que no fué posible determinar la prevalencia de infecciones mixtas en la población bajo estudio.

Probablemente la asociación entre microorganismos no ocurra durante la época del año en que se realizó el muestreo debido a las condiciones ambientales existentes en esos meses, que incluyen elevadas temperaturas y baja humedad, lo que no permite que los quistes de Giardia lamblia que son la forma infectiva sobrevivan en elevado porcentaje. Es posible también que algunos de los pacientes estuvieran bajo tratamiento de antibióticos, los que inhibieron el crecimiento de microorganismos.

Las bacterias aisladas de muestras de pacientes con Giardia lamblia fueron Escherichia coli y Proteus sp.

Se recomienda realizar muestreos en otras áreas del país y en los meses de agosto a octubre, en los que la época lluviosa es más copiosa, por lo que la humedad en el ambiente es mayor, hay presencia de agua estancada y el agua de lluvia lava la tierra, arrastrando los microorganismos presentes en ella y contaminando de esta forma los ríos, que son fuente de agua para muchos habitantes

### III. ANTECEDENTES

#### A. FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE

La familia Enterobacteriaceae está formada por un grupo diverso de bacterias que tienen como habitat natural el intestino del hombre y otros animales. Estos microorganismos Gram negativo con forma bacilar, pueden o no ser móviles, algunos forman cápsulas, casi todos forman pilis o fimbrias, algunos son flagelados, no forman esporas, reducen los nitratos a nitritos y fermentan la glucosa con producción de ácido y algunos también gas y son oxidasa negativo (1,3).

Shigella spp., Yersinia enterocolitica, y Salmonella spp., son las enterobacterias patógenas que causan infecciones intestinales al hombre. Se encuentra también Escherichia spp., que dependiendo de la especie y serotipo (E. coli enteropatógena) causa patología intestinal (2). La identificación presuntiva de las especies se hace por un sistema bioquímico que se confirma con pruebas serológicas por tipificación de los antígenos K, H y O, utilizando para la misma antisueros específicos para cada uno, esta prueba se realiza en la identificación de Salmonella y Shigella (4,5).

#### B. GENERO SHIGELLA

##### 1. Historia:

En 1886 Klebs, reporta que en las heces de pacientes con disenteria aguda, aisla una bacteria. Chantemesse y Widal, en 1888, Kiyoshi Shiga en 1898 y en 1890 Flexner, descubren en muestras similares una bacteria (2).

En 1903 Villar y Dopter estudiaron las colonias aisladas por Chantemesse y Widal, con lo que descubrieron que se trataba de la misma bacteria descrita por Shiga en 1898, es por ello que a este género se le denominó género Shigella (2).

## 2. Género Shigella:

Las bacterias del género Shigella son pequeños bastoncillos que miden de 0.4 a 0.6 por 1.0 a 3.0 micras, Gram negativo, inmóviles (1,6). Su desarrollo óptimo es a 37°C en condiciones de aerobiosis, las Shigellas no licúan la gelatina ni producen ácido sulfídrico, fermentan varios carbohidratos ( con excepción de la lactosa ), producen ácido sin gas (1 - 3), (Anexo 1).

Las técnicas de identificación de las especies del género Shigella son básicamente reacciones bioquímicas y pruebas de aglutinación con los antisueros respectivos para cada especie (1 - 3, 7), (Anexo 2).

## 3. Nomenclatura y Clasificación:

El género Shigella está formado por cuatro subgrupos o especies, en el que se encuentran cuarenta y cuatro serotipos. Además el serotipo "O" se ha adicionado al esquema de clasificación como un serotipo provisional de Shigella (2).

Shigella dysenteriae es el subgrupo productor de la toxina de Shiga (Bacilo de Shiga), la cual se conoce como una toxina bacteriana muy potente. Shigella flexneri y Shigella sonnei, producen una toxina semejante a la de Shiga pero en menores cantidades.

Las características bioquímicas de Shigella permiten diferenciar a las 4 especies del género (2,8,10-12), (Anexo 3).

#### 4. Shigellosis

La Shigellosis tiene una distribución mundial, pero es más frecuente en países en vías de desarrollo (14).

La transmisión se dá por vía feco-oral, algunas veces directamente de persona a persona (p. ej., hombres con actividad homosexual); o indirectamente por ingestión de agua y alimentos contaminados (14,15). La mala higiene es un factor de alto riesgo en la transmisión de la enfermedad, se cree que las moscas tienen un papel importante en la transmisión ya que la dosis infectiva asociada a la shigelosis es baja ( 10 a 100 UFC/ml) (15 - 17).

Tradicionalmente la shigellosis es considerada una enfermedad de niños, aunque puede afectar a toda edad, sin embargo el grupo en mayor riesgo a ser infectado son los niños en edad pre-escolar (uno a cuatro años), es rara en niños menores de un año ya que generalmente han sido alimentados con leche materna (15,17).

Durante el período de 1974 - 1980, 93,516 casos de aislamiento de Shigella en humanos fueron reportados al Centro para el Control de Enfermedades en Atlanta (CDC), aunque en América del Norte y Europa, la shigellosis no se considera una enfermedad común, durante los primeros veinticinco años de este siglo fueron un problema importante que se redujo al mejorar considerablemente las condiciones de vivienda, higiene y nutrición (14 - 16).

En Centro América y México hubo epidemias de shigellosis en 1939 y 1943, y en 1968 ocurrió una epidemia en la región (17).

En Guatemala, las enfermedades diarréicas se encuentran dentro de las causas principales de mortalidad infantil (15,17).

La epidemia ocurrida en 1968 tuvo su inicio en Guatemala, en 1969 se elevó el número de ciudades afectadas por ésta hasta llegar a países vecinos (17,18).

La mitad de las shigellas aisladas en la epidemia fueron S. dysenteriae 1, a ella se debió la mortalidad alcanzada durante la misma, ya que de 112,000 casos de disentería, cerca de 8,300 murieron a causa de este microorganismo. La mortalidad fué bastante elevada al inicio debido a que los casos se diagnosticaron como disenteria amebiana (18).

En marzo de 1991 ocurrió un brote en Rabinal, Baja Verapaz; en el que se reportaron varios casos de disenteria bacilar, al igual que en 1968 al inicio se dió un diagnóstico equivocado por lo que para abril quinientas cuarenta personas desarrollaron la enfermedad. De coprocultivos de cuarenta y seis pacientes se aisló S. dysenteriae, 8.33 por ciento muestras; se administró el tratamiento y el número de casos disminuyó a finales del mismo mes (19).

##### 5. Patología

La manifestación clínica clásica es la presencia de diarrea líquida, característica de disentería (heces con moco y sangre, ocasionalmente pus), en algunas ocasiones se presenta como una

diarrea leve (4). Estas manifestaciones duran generalmente de cinco a siete días, algunas veces desaparecen en cuarenta y ocho horas y en raras ocasiones pueden durar varios meses (4,17).

La enfermedad inicia con fiebre alta, malestar general y diarrea acuosa, que luego se convierte en disentería, en algunas ocasiones hay presencia de calambres y tenesmo. En casos graves pueden presentarse de diez a cuarenta evacuaciones por día (14,17).

#### 6. Mecanismos de Patogenicidad

La infección por Shigella spp., está caracterizada por inflamación aguda de la lámina propia del intestino y degeneración del epitelio, posteriormente ocurre descamación y ulceración en la mucosa, lo cual trae como consecuencia liberación de sangre, y secreción de moco dentro del lumen intestinal (5,8,9).

Uno de los mecanismos de patogenicidad es la producción de la llamada toxina de Shiga por parte de S. dysenteriae 1 (8). Además de ésta, se conocen algunos serotipos de S. sonnei y S. flexneri que producen una toxina bastante similar a la de Shiga, pero con una actividad citotóxica  $10 \times 10^{10}$  menor (6,8).

A la toxina de Shiga se le considera como cito, entero y neurotoxina, esto último debido a que provoca desórdenes neurológicos, ya que afecta el sistema vasoular del cerebro y la médula espinal (8,13).

Otro mecanismo patogénico es la endocitosis, en la que las células fagocitan la bacteria dentro de la vesícula, ésta se multiplica intracelularmente y posteriormente se disemina a células vecinas (1,6).

## 7. Diagnóstico

La presencia de fiebre con diarrea o disentería sugiere que se trata de una shigellosis. La observación de una muestra diarréica con leucocitosis ayuda a eliminar la posibilidad de una disentería amebiana, en la cual se observarían pocos leucocitos y además la presencia de trofozoitos. El diagnóstico final se realiza por medio de coprocultivos en medios selectivos (agar SS, XLD, etc.), además sumamente importantes en la identificación de la cepa en cuestión (19).

## 8. Tratamiento

La decisión de administrar o no antibióticos a pacientes con shigellosis, depende de los siguientes factores: 1) estado clínico del paciente, 2) sensibilidad del microorganismo a los antibióticos y 3) posibilidad o no de realizar un control sanitario (20).

Aunque algunas cepas de Shigella spp. resultan multiresistentes, los antibióticos de elección son: ampicilina, trimetropim-sulfametoxasole, norfloxacin. (21 - 23).

Es importante tratar la deshidratación y restablecer el balance de agua y electrolitos. Si el paciente vomita deben administrarse líquidos por vía Intra Venosa (solución glucosada al 5 por ciento, con solución salina fisiológica) (24).

### C. CLASE MASTIGOPHORA

A esta clase pertenecen los protozoarios flagelados que es la mayor de las clases del Phylum Protozoa (23,25).

Los protozoarios agrupan a los flagelados parasitarios junto con las amebas y ciertas especies similares a ellas en el Phylum Sarcomastigophora, Subphylum Mastigophora, Clase Zoomastigophora (25).

Los flagelados se distinguen fácilmente de las amibas debido a que su citoplasma se encuentra rodeado por una película bien definida, la cual le dá forma al organismo, éste presenta organelos externos, como flagelos y membranas ondulantes que le permiten además de alimentarse, desplazarse. Los flagelos son variables en número y posición dependiendo de la especie, la reproducción de estos tiene lugar por división longitudinal del trofozoito o el estado vegetativo (25,26).

La mayoría de los flagelados intestinales tienen un estadio de trofozoito y uno de quiste, el último constituye el estadio capaz de infestar o ser transmitido al ser humano (25).

Básicamente son cuatro especies de flagelados los que se encuentran en el tracto intestinal : Giardia lamblia, Chilomastix mesnili, Trichomonas hominis y Dientamoeba fragilis. Otra pequeña variedad de flagelados raramente vistas son: Enteromonas hominis y Retortamonas intestinalis (25,26).



#### D. Género Giardia

Este género pertenece a la familia Hexamitidae, estos difieren de los demás flagelados por poseer dos núcleos adyacentes en el mismo plano transversal, seis y ocho flagelos (26). Las especies del género Giardia, son parásitos morfológicamente similares que habitan el tubo digestivo de vertebrados (26).

##### 1. Giardia lamblia

###### a. Historia:

Se le atribuye a Leuwenhoek haber sido el primero en observarla en sus propias heces, en 1681. Este fué el primer protozoo al que se atribuyó ser causante de enfermedades diarreica en humanos (27).

Stiles lo describió como protozoo flagelado, que habita en el intestino humano y causa diarrea, síndrome de mala absorción, flatulencia y anorexia (28).

###### b. Morfología:

G. lamblia morfológicamente adopta dos fases: trofozoito y quiste, la primera denominada vegetativa y la última forma de resistencia, es más pequeña y se llama así debido a que esta fase resiste las condiciones ambientales adversas (23,27).

El trofozoito posee simetría bilateral, su longitud promedio es de 15  $\mu\text{m}$  y la anchura de 9  $\mu\text{m}$ , es piriforme, visto por su superficie más plana, con un extremo anterior ancho y uno posterior más estrecho. Presenta cuatro pares de flagelos, en posiciones

anterior, lateral, ventral y posterior; un disco cóncavo ventral en la porción anterior, además de 2 - 4 núcleos, cuerpos parabasales y citoplasma retraído de la pared. En cada uno de los núcleos hay un endoplasma grande y central, sin gránulos de cromatina, en la membrana nuclear existen estructuras baciliformes, que se forman debido a la fusión de los flagelos ventrales y grupos asociados a microtúbulos, estas estructuras se conocen como axóstilos. La motilidad de los trofozoitos es errática, con una ligera oscilación del eje mayor, es por ello que este movimiento se conoce como el de "Una hoja al caer sin dirección" (25,26,29).

El quiste es una estructura ovalada más pequeña, con un tamaño promedio de 8 um, posee una pared gruesa, la cual proporciona la característica de resistencia y dentro de su citoplasma el cual es granuloso, contiene núcleos que son generalmente 4 y algunas veces hasta 8. Presenta además cuerpos parabasales bien desarrollados (25,29).

#### c. Ciclo de Vida:

Las formas infectantes son los quistes, que al ser eliminados con las materias fecales de los individuos, contaminan el agua y los alimentos, al ser ingerido el quiste es eclosionado en el duodeno y el trofozoito se fija por medio de su disco succionador a las células epiteliales, lo que impide que los trofozoitos aparezcan en las heces, por lo que aparecen solo cuando la diarrea es intensa (25,28,29), (Anexo 3).

#### d. Epidemiología:

La distribución de G. lamblia es cosmopolita, debido a que su transmisión se ve afectada por factores socioeconómicos, ya que ésta se efectúa por la ingestión de quistes viables a partir de aguas y alimentos contaminados. Las infecciones son más frecuentes en niños que en adultos y en hombres homosexuales (30).

Se ha demostrado que los quistes de Giardia sp. sobreviven mayor tiempo en agua fría que en caliente, por lo que se considera este un dato muy importante y explica además la razón de muchas epidemias, como en Leningrado (1974), Washington y New York (1977) (31).

En Guatemala no existen estudios acerca de la incidencia de esta infección, aunque en base a las estadísticas realizadas en Hospitales Nacionales se ha encontrado una incidencia que oscila entre 2.4 por ciento a 5.6 por ciento.

#### e. Patología:

Existen abundantes signos del potencial patógeno de G. lamblia, las manifestaciones clínicas en la fase aguda son náuseas, anorexia, defecaciones acuosas y explosivas, esteatorrea, mala absorción, flatulencia, retortijones y dolores epigástricos. Además que debido al síndrome de mala absorción se producen heces mal olientes (29).

#### f. Mecanismos de Patogenicidad:

Giardia lamblia puede adherirse a la pared intestinal mediante una estructura rígida que le permite penetrar un poco en la mucosa, éste es el mecanismo de daño de la giardiasis, ya que al adherirse

firmemente a la pared intestinal bloquea una pequeña superficie, además de la irritación que produce este disco suctor en la pared, hace que esta secrete moco, quedando éste también en la superficie, tiene la misma una doble obstrucción para la absorción, esto conlleva una deficiencia del transporte de glicina y glucosa, los que son activamente absorbidos; además de los mecanismos de transporte que se han visto afectados por el daño en las células de maduración. La cantidad de lesiones que hay en la mucosa se han relacionado con el grado de severidad del síndrome de mala absorción (31,32).

g. Diagnóstico:

El diagnóstico se hace generalmente demostrando la presencia de quistes o trofozoitos en la materia fecal, mediante estudios coproparasitológicos, la excreción de quistes no es permanente, por lo que se recomienda realizar pruebas seriadas, para la observación de trofozoitos son útiles las coloraciones de Giemsa y la tricrómica (APV). Se utilizan también la intubación duodenal y la cápsula de Beal o de la cuerda encapsulada.

El efecto de la infección en la mucosa del intestino delgado puede ser detectado por evaluación de síntomas por la prueba de absorción, medición de enzimas de la mucosa y por examen histopatológico de una o más biopsias en donde se evalúa la arquitectura alterada de la mucosa con acortamiento o ausencia de las microvellosidades, lo cual produce el síndrome de mala absorción. Puede también obtenerse a partir de cultivos axénicos, material para pruebas inmunológicas como inmunofluorescencia

indirecta y ELISA (25 - 27).

#### h. Tratamiento:

Para el tratamiento existen varios fármacos y diferentes esquemas, a base de metronidazol; tinidazol, hemezol, secnidazol, ornidazol, furzolidona, nifurzina, nifurozazida y albendazol (25,32).

Es importante examinar contactos caseros, si están infectados debe darse tratamiento en especial a los niños. Deben informarse además medidas sanitarias para evitar el contagio (33).

### E. GASTROENTERITIS

Síndromes clínicos manifestados, especialmente por síntomas del tracto Gastrointestinal superior (34,35).

#### 1. Etiología

Gastroenteritis implica muchas veces etiología inespecífica, o desconocida, aunque existen ciertas enfermedades de origen bacteriana, viral, parasitaria o tóxica conocida que pueden incluirse dentro de la misma. Ciertos tipos de gastroenteritis bacteriana, tales como cólera, salmonellosis y shigellosis comparten mecanismos patogénicos similares y se pueden considerar como prototipos de los síndromes de menor especificidad.

#### 2. Fisiopatología

##### a. Diarreas bacterianas debido a exotoxinas:

Ciertas especies bacterianas elaboran toxinas que alteran la absorción intestinal y pueden provocar secreción de electrolitos y agua.

b. Diarreas bacterianas debidas a invasión o ulceración de la mucosa:

Algunas especies de Shigella, Salmonella y E. coli penetran en la mucosa del intestino delgado o del colón y producen ulceraciones microscópicas, hemorragia y secreción de electrólitos y agua (34).

c. Síndromes de gastroenteritis clasificadas de modo incompleto:

La influencia intestinal o "gripe intestinal" y algunos tipos de "diarrea del viajero" (de aparición y desaparición repentina), se encuentran dentro de esta categoría. En algunos casos pueden estar implicadas enterotoxinas bacterianas, infecciones virales (34,35).

d. Intoxicaciones alimentarias no bacterianas:

Puede producirse una gastroenteritis después de la ingestión de productos tóxicos contenidos en plantas, pescado y mariscos o cualquier otro alimento contaminado (34).

e. Causas diversas:

Puede ocurrir debido a incapacidad de digerir y absorber los carbohidratos, esto puede causar síntomas abdominales (34).

### 3. Síntomas y signos generales

La gravedad de los síntomas dependen de la naturaleza y dosis de la sustancia irritante, la duración de su acción, la resistencia del paciente y la extensión de la alteración gastrointestinal. El inicio suele ser repentino, con anorexia, náuseas o vómitos, espasmos abdominales; diarrea, con sangre y moco o sin ellos. El abdomen puede estar distendido y doloroso a la

presión (34,35).

#### 4. Diagnóstico:

Es recomendable realizar un exámen en fresco y cultivo de las heces, a menos que los síntomas cedan en 48 horas. La sigmoidoscopia ayuda a diagnosticar la colitis ulcerosa y la disentería amebiana (34,35).

#### 5. Tratamiento:

El tratamiento de sostén es de gran importancia, es indispensable la reposición de electrolitos. Además es necesario administrar antibióticos adecuados según las pruebas de sensibilidad, cuando es de origen bacteriano (34,35).

### F. GIARDIA LAMBLIA ASOCIADA A ENTEROBACTERIAS

Giardia lamblia es un protozoo patógeno que causa diarrea en la población y la patogenicidad del mismo se encuentra ampliamente comprobada (36).

Durante los últimos años se ha observado un rápido aumento en el número de brotes de diarrea producidos por ingestión de los quistes de G. lamblia, ya que los mismos son resistentes a la clorinación y altas temperaturas, y que al ser consumidos a través de agua potable y alimentos pueden ser distribuidos y causar epidemias (37,38).

Los pacientes con Giardia lamblia presentan reacción inflamatoria en la mucosa intestinal, por lo que se considera que este protozoario puede estar asociado en el lumen intestinal a una

proliferación excesiva de bacterias. Esta relación se ha obtenido en personas con deficiente absorción intestinal, la giardiasis se asocia a una proliferación de enterobacterias que sobrepasa en magnitud la que normalmente existe en el mismo (39).

La asociación de microorganismos para diseminarse no es muy frecuente, en estudios realizados para comparar la ultraestructura de Giardia muris y Giardia lamblia fué posible observar por microscopía electrónica la presencia intracitoplasmática de bacterias con apariencia bacilar (40).

La unión de la toxina de cólera a quistes y trofozoítos de G. lamblia fué demostrada por dos técnicas un poco diferentes: inmunofluorescencia utilizando anticuerpos contra la toxina del cólera y la otra técnica es fluorescencia (no se utilizaron anticuerpos contra la toxina). Aunque el fenómeno de la interacción de la toxina de cólera es interesante, aún no se ha identificado el papel que juega. Se ha observado la interacción de G. lamblia con bacterias toxigénicas como Campylobacter sp., Aeromonas sp., Salmonella sp. y Escherichia sp. (41).

En estudios epidemiológicos retrospectivos que se efectuaron durante un año consecutivo en Guatemala, se encontró que existía una fuerte asociación en heces de Giardia y Shigella, únicamente en las épocas lluviosas (42).



## IV. JUSTIFICACIONES

En nuestro país, una causa muy importante de mortalidad es debida a enfermedades diarreicas. Entre los microorganismos que ocasionan esta situación se encuentran los del género Shigella, muy importante debido a la toxina que produce.

Se ha reportado con cierta frecuencia, en muestras diarreicas la presencia de Shigella asociada con Giardia lamblia. Por ello se ha considerado que G. lamblia puede ser foronte de Shigella sp.

Para investigar si realmente G. lamblia sirve de transporte a Shigella sp., debe establecerse en que porcentaje de muestras se encuentra la presencia de ambas, para que en un estudio posterior se profundice en el mecanismo de transmisión.

## V. OBJETIVOS

1. Realizar coprocultivo de rutina a toda muestra en que se compruebe la presencia de a Giardia lamblia.
2. Establecer la prevalencia en El Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, Dr. Juan José Arévalo, de infecciones mixtas por Shigella sp. y Giardia lamblia.
3. Establecer la especie más frecuentemente aislada del género Shigella en muestras con presencia de G. lamblia.

## VI. HIPOTESIS

Es posible encontrar infecciones mixtas por Shigella sp. y Giardia lamblia, en pacientes que asisten a Consulta Externa del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, Dr. Juan José Arévalo.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

## VII. MATERIALES Y METODOS

## A. Universo de Trabajo :

Pacientes que asisten a la Consulta Externa el Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, Dr. Juan José Arévalo Bermejo. con muestra positiva para Giardia lamblia.

## B. Muestra:

125 muestras de heces con presencia de Giardia lamblia.

## C. Medios:

## 1. Recursos Humanos:

- Tesista: María Elena Ramírez Valdivieso
- Asesora de trabajo de tesis: Licda. Ingrid Tabarini
- Colaboradores, personal de Laboratorio Clínico del IGSS  
Dr. Juan José Arévalo Bermejo

## 2. Recursos Institucionales:

- Laboratorio clínico, Instituto Guatemalteco de Seguridad Social , Dr. Juan José Arévalo.

### 3. Materiales:

#### a) Cristalería

- Tubos de ensayo 13 x 100 con tapón de rosca.
- Gradilla para 40 tubos
- Láminas porta objetos
- Láminas cubre objetos
- Tubos cónicos de 15 x 100
- Pipetas

#### b) Equipo

- Incubadora de 35°C - 37°C
- Mechero
- Estereóscopo
- Centrífuga
- Microscopio
- Cajas de petri de 100 x 150 mm
- Asas bacteriológicas
- Palillos

#### d) Medios de Cultivo

- TSI
- LIA
- MIO
- UREA
- CITRATO
- Agar SS

- Agar HT
- Agar XLD

NOTA: Todos los medios de cultivo se prepararán según indicaciones del productor.

d) Reactivos Y Colorantes

- Lugol
- Solución salina 0.85%
- Antisueros comerciales monovalentes y polivalentes para la identificación de Shigella sp.

D. Procedimiento

A todas las muestras de heces en las que se observaron quistes y/o trofozoítos de G. lamblia se les realizó un coprocultivo, con el fin de aislar Shigella sp. Para ello las muestras fueron inoculadas en los siguientes medios de cultivo: Salmonella-Shigella (SS), Xilosa-Lactosa-Dextrosa (XLD) y Hecktohen. Estos fueron incubados por 24 y 48 horas a 36°C transcurrido este tiempo todas las cajas fueron evaluadas con microscopio estereoscópico en busca de colonias características de Shigella spp. A las colonias sospechosas se les realizó las siguientes pruebas: TSI, LIA, UREA, CITRATO Y MIO, las que presentaran pruebas bioquímicas típicas de Shigella serían evaluadas con antisueros específicos, para conocer la especie a la que pertenece.

## E. Diseño Estadístico

### 1. Diseño de Muestreo

El cálculo de la muestra se realizó en base a la fórmula

$$n = \frac{NC^2 r^1}{\Delta}$$

En donde:

\* NC = Nivel de confianza,  $Z = 1.96$   
(95% de confianza)

\*  $r^1$  = Varianza

$$r^1 = pq$$

Asumiendo que:

$$p = 0.5$$

$$q = 0.5$$

$$\} r^1 = 0.25$$

\*  $\Delta$  = Límite de error (0.10)

Entonces:

$$n = 97 \text{ muestras}$$

Para mayor seguridad se redondeará la muestra a 131 pacientes.

### 2. Análisis Estadístico

- Se estimaría la prevalencia de infecciones mixtas con un Intervalo de Confianza de 95 por ciento.
- Se realizaría estadística descriptiva sobre las especies más frecuentes.

## VIII. RESULTADOS

A todas las muestras de heces en que se observó quistes o trofozoítos de Giardia lamblia en pacientes que asistieron durante los meses de marzo a julio de 1996 a la Consulta Externa del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, Dr. Juan José Arévalo Bermejo, se les realizó coprocultivo en los medios de cultivo Salmonella - Shigella (SS), Xilosa - Lactosa - Dextrosa (XLD) y Hecktoen (Ht). Luego de haber incubado dichos medios, se observó si había presencia de colonias características y se realizó una serie de pruebas bioquímicas para determinar si presentaban las reacciones propias del género Shigella.

En base al cálculo de la muestra con un nivel de confianza del 95 por ciento, se observó que era necesario tomar de la población bajo estudio un número de 97 muestras de heces positivas para Giardia lamblia, siendo indiferente si presentaban quistes o trofozoítos, para probar la hipótesis planteada en este estudio. Se analizó un total de 131 muestras para lograr una mayor cobertura y por ende disminuir con ello el grado de error.

Del total de muestras analizadas solamente una pequeña porción (20 por ciento) presentaba sangre y moco al ser observadas, siendo estas características de disentería probablemente bacteriana. Además de haberse aislado Giardia lamblia, se aisló Entamoeba coli (15 por ciento) y Entamoeba histolytica (22 por ciento).

No fué posible establecer la prevalencia de infecciones



mixtas en la población bajo estudio en las muestras evaluadas, el porcentaje que presentó infección de Giardia lamblia asociada a Shigella sp., fué de cero por ciento.

No se obtuvo aislamiento de Shigella sp., tanto en muestras iniciales como en las enriquecidas en caldo Selenito, aislándose únicamente Escherichia coli ( 70.99 por ciento ) y Proteus sp., ( 29.01 por ciento ) (Anexo 5).

## IX. DISCUSION

En estudios retrospectivos que se realizaron durante un año en Guatemala (1989), se encontró que existía una fuerte asociación en heces de Giardia lamblia y Shigella sp. (42) .

Sin embargo, en el presente estudio no fué posible observar dicha asociación, aún habiéndose realizado un muestreo mayor al calculado en el diseño estadístico. Todas las muestras analizadas fueron positivas para Giardia lamblia pero negativas para Shigella sp., el agente que se esperaba encontrar asociado a la misma.

Es posible que durante la época del año en que se realizó el muestreo (marzo a julio) esta asociación entre microorganismos no se dé debido a las condiciones ambientales que existen durante esos meses, que incluyen elevadas temperaturas y baja humedad, lo que no permite que los quistes de G. lamblia que son la forma infectiva no sobrevivan en elevado porcentaje y por lo mismo las condiciones necesarias para que G. lamblia sirva como foronte de Shigella sp. no ocurran.

Debido a que en el momento de recepción de las muestras no se realizó una encuesta a los pacientes, cabe la posibilidad de considerar que algunos de ellos se encontraran bajo tratamiento de antibióticos, razón por la cual fué inhibido el crecimiento de bacterias enteropatógenas.

Cabe mencionar que para cada nuevo lote de medios de cultivo utilizados, se realizó una verificación de la calidad de los

mismos, empleando para ello una cepa control de Shigella, evaluando con ello su funcionamiento, descartándose de esta manera que no haberse aislado Shigella de las muestras haya sido causado por la mala calidad de los mismos. Durante el período en que se realizó el muestreo, fueron aisladas cepas de Shigella sp., de otras muestras de pacientes que no estaban bajo el estudio realizado; estos aislamientos fueron hechos en los mismos lotes de medios de cultivo empleados en el estudio.

## X. CONCLUSIONES

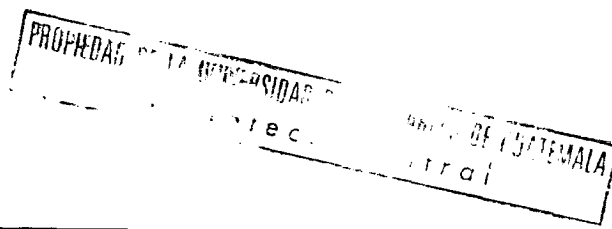
- No se determinaron infecciones mixtas de Giardia lamblia y Shigella sp., en los pacientes que asistieron a la Consulta Externa del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, Dr. Juan José Arévalo Bermejo, durante los meses de marzo a julio de 1996.
  
- Las bacterias aisladas de muestras de pacientes con Giardia lamblia fueron: Escherichia coli (70.99 por ciento) y Proteus sp. (29.01 por ciento).

## XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar muestreos en otras áreas del país, para conocer si en diferentes condiciones ambientales ocurre la asociación entre G. lamblia y Shigella sp.
2. Realizar el muestreo en otra época del año, especialmente de agosto a octubre, ya que por ser en estos meses cuando la época lluviosa es más copiosa, la transmisión de microorganismos es más frecuente.
3. Realizar el estudio en otra vía, es decir que a las muestras de heces que resulten positivas para Shigella sp., realizarles un exámen en fresco para investigar si presentan quistes o trofozoítos de Giardia lamblia.

## XII. REFERENCIAS

1. Lennette E, et al. Manual of Clinical Microbiology. 4 th. ed. Washington D.C.: American Society for Mifcrobiology. 1149 p (256-275 p.), 1985.
2. Ewing W. Identification of Enterobacteriaceae. 4 th. ed. Atlanta: Elsevier. 536p (1 - 16, 135 - 172), 1988.
3. Beck M. Revisión General de la bacteriología entérica en relación con las enfermedades diarréicas. Rev Col Médicos (Guatemala). X:161 -179, 1959.
4. River P. Laboratory diagnosis of enteric and other febrile diseases. New York: American Cynamid Company. Doc. Tec. 13p.
5. Ogata R. Factores determing bacterial pathonicity. Clin Phys and Bioch. 1:145-149, 1983.
6. Cabello R. Microbiología y Parasitología Humana. 1 ed. Editorial Médica Panamericana. 1991.
7. Erwing W, Redvis R, Davis B. Provisional Shigella serotypes. Canadian J Microbiol. 4:89-107, 1958.
8. O'Brien A, Holmes R. Shiga and Shiga-like toxins. Microbiol Rev. 51:206-220, 1987.
9. Bartlett A, et al. Production of Shiga toxin and other citotoxines by serogroups of Shigella. J Infect Dis 154:996-1002, 1986.
10. Wathen-Grady H, Davis B, Morris G. Adittion of three new serotypes of Shigella boydii. J Clin Microbiol 21:129-132, 1985.



11. Gross R, et al. Four New Provisional Serovars of Shigella. J Clin Microbiol 27:829-831, 1989.
12. Brenner D. Recomendations on recent proposals for the classification of Shigella. Int J Syst Bacteriol. 34:87-88, 1984.
13. Mata L. et al. Shigella infection in Breast-fed Guatemalan indian neonates. Amer J Dis Child. 117:142-146, 1969.
14. Mata L. Estudio sobre la incidencia de Shigelas en Guatemala. Rev Biol Trop. 5:211-230, 1957.
15. Beck D, Muñoz J, Scrishaw N. Estudio de las enfermedades diarréicas en Centro América. Bol of Sanit. Panam. XLV:7-16, 1958.
16. Gangarosa E. et al. Epidemic Shiga bacillus dysentery in Central América I. Epidemiologic studies en 1969. J Inf Dis. 122:170-180, 1970.
17. Mata L, et al. Epidemic Shiga bacillus dysentery in Central América I. Etiologic investigations in Guatemala, 1969. J Inf Dis. 122:170-180, 1970.
18. Cruz J, Cano F, Rodríguez L. Shigella dysenteriae type 1, Guatemala. MMWR. 40:421-428, 1991.
19. Keush G, Bennish M. Shigellosis: recent progress, persisting problems and research issues. Pediatr Infect Dis J. 8(10):713-719, 1988.
20. Krugman S, Katz S. Enfermedades Infecciosas. 7 ed. México: Interamericana S.A., P 580 (301-303). 1984.

21. Matsushita S, et al. Species and serovar-distribution, and drug-resistance of Shigella strains isolated from imported and domestic cases from 1990 through 1994 in Tokyo. *Kansenshogaku-Zasshi*. 69(2):1336-1341, 1995.
22. Dupont-HL. Diarrhoeal Disease: current concepts and future challenges. *Antimicrobial therapy and prophylaxis. Soc-Trop.* 3:31-34, 1993.
23. Brown H. *Parasitología Clínica*. México: Interamericana S.A. de C.V., p 120-121, 1969.
24. Tierney L, Mc Phee S., et al. *Diagnóstico Clínico y Tratamiento*. 29 ed. México: El Manual Moderno S.A. de C.V., p 1483 (1189-1190), 1994.
25. García L, et al. *Diagnostic Medical Parasitology*. Second ed. P. 183-186, 1993.
26. Gordts B, et al. Evaluation of a New Method for Routine in vitro cultivation of Giardia lamblia from human duodenal fluid. *J Clin Microbiol.* 22(5):702-704, 1985.
27. Hautus MA, et al. In vitro excystation and subsequent axenic growth of Giardia lamblia. *Trans Roy Soc Trop Med H y G.* 82:858-866, 1988.
28. Beck JW, Davies JE. *Parasitología Médica*. México Interamericana S.A. de C.V., p 41-46, 1984.
29. Einfield DA, Sibbs HN. Identification and characterization of Major antigenic of Giardia lamblia. *Infect Immun.* 46(2):377-383, 1984.



30. Bingham AK, Jarrol EL, Meyer EA. Giardia sp : Physical factores of excystation in vitro and excystation vrs eosin exclusion as determinants of viability. Exp Parasitol. 47:284-291, 1979.
31. Roberts-Thomson IC, et al. Acquired resistance to infection a Animal model to Giardiasis. J Inmunol. 115(5) 2:2036-2037, 1979.
32. Craig y Faust. Parasitología Clínica. España: Salvat. p 888 (61). 1982.
33. Morecki R, Parker JG. Ultra-Structural studies of the human Giardia lamblia and subjacen yeyunal mucosa in a subject with steatorrhea. Gastroenterol. 1967; 52(2) 1: 151-164.
34. Anderson K, et al. Introduction to Medical Sciences for Clinical Practice. Unit X Gastrointestinal System. Year Book Medical Publishers. P 313 (121-126). 1976. USA.
35. Berkow R, Fletcher A. El Manual Merck de Diagnóstico y Terapia. Edic. Doyma. P 2944 (870-876). 1989.
36. Anderson J. Porsell J. and Sterner G. Outbreak of Giardiasis Effect o a New Antiflagellate Drug: Timidazole. Br Med J. 2:449-451, 1972.
37. Regmier D, et al. Viability of Giardia cysts suspended in lake, river and tap water. Appl Environ Microbiol. 55:1223-1229, 1989.
38. Kong L, et al. Inactivation ofr Giardia lamblia and Giardia canis cysts by combined and free chlorine. Appl Environ Microbiol. 54:2580-2582, 1988.

39. Vega L, et al. Favorece la Giardia lamblia la proliferación intestinal de bacterias?. Bol Med Hosp Inf Mex 43: 618-621, 1986.
40. Nemanic P, et al. Ultraestructural Observations on Giardiasis in a mouse model II. Endosymbiosis and Organella Distribution in Giardia muris and Giardia lamblia. J Infect Dis. 140:222-228, 1979.
41. Mc Gardell B, et al. Binding of Cholera Toxin to Giardia lamblia. J Clin Microbiol. 25:1786-1788, 1987.
42. Gini G. Demostración de la transmisión de la shigellosis y otras enterobacterias a través del quiste de Giardia lamblia. Informe de Investigación. DIGI. USAC. Guatemala, 1991.

XIII. ANEXOS

## ANEXO No. 1

REACCIONES BIOQUIMICAS PARA *Shigella* sp.

PRUEBA	RESULTADO	% +	PRUEBA	RESULTADO	% +
-Sulfuro de hidrógeno	-	0	-Arabinosa	d	67.8
-Ureasa	-	0	-Rafinosa	d	20.7
-Indol	-/+	37.8	-Ramnosa	d	16.6
-Rojo de metilo (37 C)	+	100	-Malonato	-	0
-Voges-Proskauer	-	0	-Mucato	-	0
-Citrato	-	0	-Citrato de Christensen	-	0
-KCN	-	0	-Tartrato de Jordan	-/+	29.4
-Movilidad	-	0	-Acetato de sodio	-	0
-Gelatina(22C)	-	0	-Maltosa	d	26.6
-Lisina des-carboxilasa	-	0	-Xilosa	d	4.3
-Arginina des-carboxilasa	d	7.6	-Trealosa	d	76.4
-Ornitina des-carboxilasa	d	20	-Celobiosa	-	2.9
-Glucosa			-Glicerol	d	13.8
* Acido	+	100	-Esculina	-	0
* Gas	-	2.1	-Oxidasa	-	0
-Lactosa	d	0.3	-Beta galactosidasa	-/+	13.7
-Sucrosa	d	0.9	-Nitratos a nitritos	+	99.8
-Manitol	+/-	80.9	-Oxidación - fermentación	+	100 F
-Dulcitol	d	5.4	-Salicina	-	0
-Adonitol	-	0	-Sorbitol	d	29.

## CLAVE:

- % + 90% o más son positivos dentro de los días 1 y 2 de incubación.
- No reacciona (90% o más son negativo).
- +/- La mayoría de las cepas son positivo, algunas son negativo.
- /+ La mayoría de las cepas son negativo, algunas son positivo.
- d Diferentes reacciones: +, -.
- F Fermentativo.

Ewing W. Identification of *Enterobacteriaceae*. 4 th. ed. Atlanta: Elsevier. 1988. 536 p. (141)

Anexo No. 2 NOMENCLATURA Y TAXONOMIA DE SHIGELLA sp.

ESPECIES	SUBGRUPOS
A <u>Shigella dysenteriae</u>	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
B <u>Shigella flexneri</u>	1a, 1b 2a, 2b 3a, 3b, 3c 4a, 4b 5a, 5b 6 X Y
C <u>Shigella boydii</u>	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
D <u>Shigella sonnei</u>	<u>Shigella sonnei</u>

Ewing WH. Identification of Enterobacteriaceae. 4th. ed.

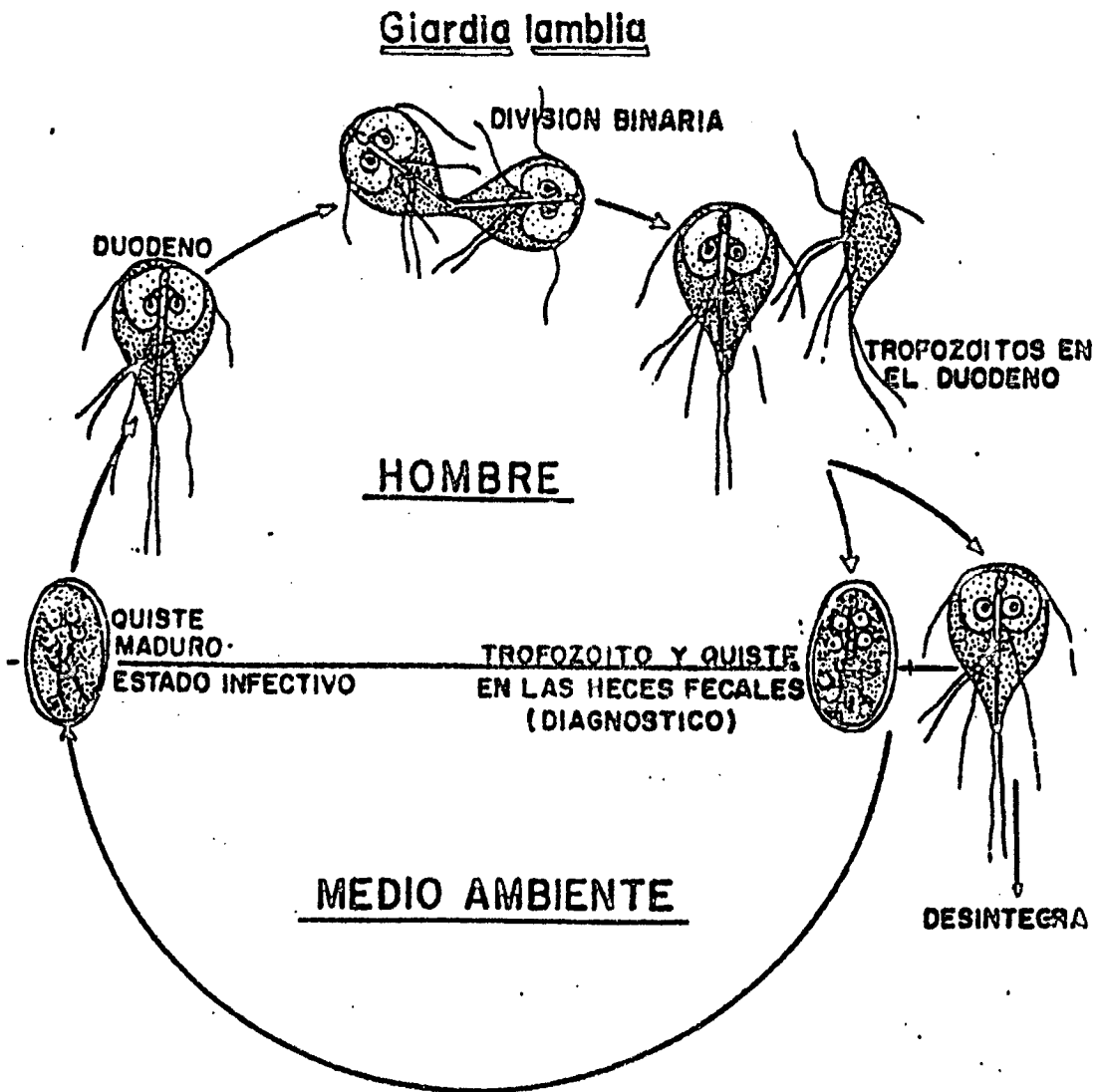
CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS DE LAS 4 ESPECIES DE Shigella sp.

SUBGRUPO	ESPECIE	CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS		
		ONPG	ORNITINA	MANITOL
A	<u>S. dysenteriae</u>	+	-	-
B	<u>S. flexneri</u>	+	-	+
C	<u>S. boydii</u>	+	-	+
D	<u>S. sonnei</u>	+	-	+

\* : 45 por ciento de cepas son positivas

Anexo No. 4

CICLO DE VIDA Giardia lamblia:




PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES Y REFERENCIAS EN SALUD PUBLICA DE GUATEMALA

## Anexo No. 5

Prevalencia de microorganismos aislados conjuntamente con Giardia lamblia

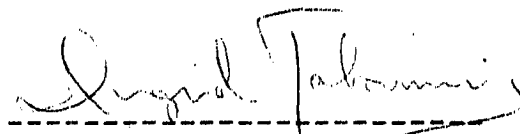
MICROORGANISMO	FRECUENCIA (F)	PORCENTAJE (%)
- <u>Escherichia coli</u>	93	70.99
- <u>Proteus sp.</u>	38	29.01





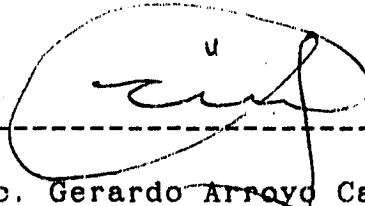
Br. María Elena Ramírez Valdivieso

TESISTA



Lic. Ingrid Tabarini

ASESORA



Lic. Gerardo Arroyo Catalán

DIRECTOR



Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar

DECANO