

**Colonización del intestino de niños lactantes
por Virus, Bacterias y Levaduras**

**Dr. Leonardo J. Mata
Dr. Carlos E. Beteta**

COLONIZACION DEL INTESTINO DE NIÑOS LACTANTES POR VIRUS, BACTERIAS Y LEVADURAS *

Leonardo J. Mata** y Carlos E. Beteta***

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP),

Guatemala, C. A.

Los estudios llevados a cabo por el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) y los de otros investigadores en diversas regiones del mundo, han revelado que las infecciones y las deficiencias nutricionales actúan sinérgicamente, con la consiguiente intensificación de efectos (1).

Entre los procesos infecciosos, es un hecho reconocido que la enfermedad diarreica constituye uno de los principales flagelos de nuestras poblaciones desnutridas. Desafortunadamente, sin embargo, se desconoce la significación de los diversos agentes etiológicos en los procesos diarreicos, y ello imposibilita el diseño de medidas de control y de prevención de los mismos.

Por las razones expuestas es que los estudios en que el INCAP está empeñado en la actualidad con referencia a la etiología de las diarreas, tienen como objetivos primordiales: a) investigar una posible asociación causal entre ciertos microorganismos (virus, bacterias y parásitos) y las diarreas, y b) determinar el efecto de las infecciones (principalmente cuando son causa desencadenante de la enfermedad diarreica) sobre el estado nutricional del huésped.

La alta prevalencia de enterovirus, enterobacterias y parásitos intestinales es característica de nuestro medio, y se sabe también que un agente puede infectar al huésped repetidas veces sin que necesariamente guarde asociación con la patología gastrointestinal. Resulta, pues, obvio que la investigación de los aspectos etiológicos de las diarreas no puede efectuarse en poblaciones sujetas a estudios transversales.

De esto se deduce que, aparentemente, la única manera de enfrentar este problema es valiéndose de un diseño longitudinal, en el que

los individuos (niños) son incluidos en el programa desde su nacimiento, y se les sigue, mediante un plan determinado, a través de un largo periodo, durante el cual se someten regularmente a exámenes clínico-microbiológicos.

Es así como, de acuerdo con estas consideraciones, el INCAP está llevando a cabo un estudio de esta índole en Santa María Cauqué, población de aproximadamente 1,100 habitantes de ascendencia Maya, que se encuentra a una distancia de 36 km. de la capital de Guatemala y está situado a una altura de 6,500 pies sobre el nivel del mar aproximadamente. Los miembros de la comunidad están íntimamente relacionados entre sí por lazos familiares, hecho que se traduce en que más del 50% de ellos llevan uno de los cinco apellidos en la localidad. La mayoría de los adultos son analfabetos y de bajo nivel socioeconómico. El pueblo no cuenta con servicio de electricidad, ni con abastecimiento de agua dentro de las casas; tampoco existe un sistema adecuado de alcantarillado para la eliminación de excretas y desperdicios

*Trabajo presentado al XV Congreso Nacional de Medicina celebrado en la ciudad de Guatemala del 24 al 28 de noviembre de 1964.

**Jefe del Servicio de Microbiología del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá.

***Oficial Médico de la misma unidad.

A. Cohorte de Niños

La cohorte de lactantes principió a integrarse en febrero de 1964 valiéndose de la clínica de consulta general, especialmente de control prenatal, que la Dirección General de Sanidad Pública y el INCAP mantienen en Santa María Cauqué, y en la que se prestan servicios médicos gratuitos a toda la comunidad. Esto tiene dos ventajas, ya que permite la inclusión de los niños en el programa desde su nacimiento y facilita, a la vez, la obtención de datos relativos a los antecedentes nutricionales e infecciosos de las madres.

B. Partos

Hasta el momento la mayoría de partos han sido atendidos por dos comadronas indígenas y dos, por el personal médico que labora en el programa. Los partos han ocurrido en el propio hogar, en presencia de una de las enfermeras de la clínica a quien previamente se le ha dado aviso del evento al iniciarse el trabajo del parto.

Todos los recién nacidos han sido examinados por el médico encargado, dentro de las doce horas después del parto, y luego se les ha sometido a la siguiente serie de exámenes rutinarios:

1. Determinación del peso corporal y análisis de las heces fecales, diariamente si posible, durante la primera semana de vida.
2. Examen semanal de heces fecales a partir de la segunda semana de vida.
3. Examen clínico semanal completo y determinación de medidas antropométricas (peso, talla y circunferencia de la cabeza y del tórax) durante el primer mes, y cada dos semanas posteriormente.
4. Durante el curso de una enfermedad el niño se somete a tratamiento médico y su evolución es controlada diariamente si posible hasta su curación, después de lo cual se reanuda el programa regular de exámenes. El peso y la talla se determinan al inicio y al final del proceso mórbido.
5. Siempre que un miembro de la cohorte sufra diarrea se recogen dos o tres muestras adicionales de heces fecales del niño y se practican exámenes de heces fecales en todos los familiares.

Además de los exámenes clínico-microbiológicos, dos veces por semana se visitan los hogares de los niños del estudio, con el fin de recolectar información sobre los hábitos alimentarios y prácticas del destete.

Las muestras de heces fecales colectadas se inoculan directamente en el campo dentro del término de una hora de haberse recibido en la clínica, de acuerdo con el siguiente procedimiento:

1. Inoculación en agares (SS. MacConkey, Levine con aureomicina y Chapman) y en caldos (selenito y tetracionato).
2. Suspensión en una solución amortiguadora con leche descremada y antibióticos para la preservación de virus (2, 3).

En el presente estudio, las *Candida*, los estafilococos y los bacilos aeróbicos Gram-negativo se investigaron de acuerdo con procedimientos estándar (4-6).

Los virus se aislaron mediante la inoculación de extractos de las muestras fecales (centrifugación de la suspensión de heces a 3,000 x g. a 4°C durante 30 minutos) en cultivos primarios de células de amnios y riñón humanos y en células HEp-2 (2, 7).

RESULTADOS

Los resultados que a continuación se presentan son de carácter preliminar ya que se refieren a un periodo de siete meses (febrero a septiembre) desde que se inició el estudio.

La serie de niños investigada desde febrero hasta septiembre de 1964 incluye: 24 nacidos vivos, 2 de los cuales fallecieron a los pocos minutos del nacimiento; 2 mortinatos y 2 abortos aparentemente espontáneos. Tres niños fueron prematuros (por peso y edad), uno de los cuales murió a la edad de dos meses y los otros 2 tienen hasta la fecha de este análisis, 6 y 18 semanas de edad, respectivamente, y todo parece indicar que gozan de buena salud. Todos los niños que han nacido en el pueblo desde que se inició el estudio, salvo uno perteneciente a una familia que no desea cooperar, están incluidos en el programa.

A. Nacimiento

Se han observado costumbres muy primitivas con referencia a los partos en Santa María

Cauqué. Las comadronas carecen de conocimientos adecuados, desconocen la existencia y significación de las contracciones uterinas y, no menos importante, las condiciones de higiene bajo las cuales trabajan son bastante precarias. Según se pudo observar, sin embargo, el cordón umbilical de 6 de los 22 niños incluidos en el estudio fue cauterizado con un instrumento metálico candente y se cree que esta práctica, de estar generalizada en los grupos indígenas de Guatemala, sea un factor relacionado con la baja incidencia de tétanos neonatal.

B. Alimentación

Todos los niños son alimentados con leche materna y no es corriente la administración de suplementos alimenticios hasta la edad de siete meses. A los recién nacidos se les amamanta desde el primer día de vida aun cuando la madre todavía no secrete leche; en algunas ocasiones otra mujer, o la abuela inclusive, puede dar de mamar al niño temporalmente. Varios niños han recibido agua azucarada o agua de arroz por períodos cortos o largos, que en algunos casos se les administra valiéndose de un pedazo de tela humedecida en el líquido.

Un prematuro con reflejo de succión casi ausente fue alimentado artificialmente y falleció a los dos meses de edad, a consecuencia de una diarrea aguda asociada a *Salmonella* y a un virus.

C. Crecimiento Ponderal

El peso promedio de los niños nacidos a término fue de 5 libras y 10 3/8 onzas (2.6 kg.), esto es, mucho más bajo del que se observa en sociedades con mejores condiciones de vida. Se ha podido determinar que la pérdida de peso post-natal es baja, con un promedio de 3 onzas (87 g.); esta pequeña pérdida de peso generalmente se recupera durante los primeros cinco días de vida.

Los 2 prematuros, que viven todavía, tuvieron pérdidas de 4 1/4 y 6 onzas (123 y 174 g.), las cuales recuperaron a los 23 y 15 días de nacidos, respectivamente.

Las curvas de peso, durante los primeros meses de vida, fueron muy similares a las curvas de Iowa, las cuales han sido adoptadas por el INCAP como estándares de peso normal de los niños centroamericanos, indicando así que los

niños indígenas de esta comunidad crecen al mismo ritmo que los niños norteamericanos durante los primeros meses de vida. Sin embargo, a veces entre los 2 y 3 meses y usualmente entre los 4 y 6 meses de edad, ocurre una separación de las curvas que en algunos casos es muy marcada (Figs. 1-6).

D. Incidencia de Enfermedades

Hasta el momento se ha registrado un total de 65 episodios de enfermedad, definidos de acuerdo a una clasificación preestablecida y cuya distribución es como sigue:

1. Enfermedad de las vías respiratorias superiores	20
2. Bronconeumonía	3
3. Bronquitis	1
4. Conjuntivitis	15
5. Faringitis	2
6. Estomatitis	3
7. Diarrea	14
8. Exantema	1
9. Impétigo	2
10. Celulitis	1
11. Onfalitis	2
12. Orquitis	1

Si se consideran sólo los niños de 14 semanas de edad o mayores, y se analiza la enfermedad diarrea, los trastornos de las vías respiratorias superiores, conjuntivitis, bronquitis, y bronconeumonía, estos niños representan un total de 183 semanas-niño de observación clínico-microbiológica. El número de días de enfermedad en las 183 semanas fue: diarrea = 48 días; enfermedad de las vías respiratorias superiores = 60 días; conjuntivitis = 16 días; bronquitis = 8 días; bronconeumonía = 12 días; haciendo así un total de 144 días ó 20 semanas (10.9% del tiempo de observación).

E. Colonización Microbiana

El aislamiento de una levadura, bacteria o virus de los especímenes fecales, con dos o más semanas de separación, ha sido interpretado arbitrariamente como el producto de dos colonizaciones diferentes.

1. Levaduras

Cuatro niños excretaron *Candida albicans* en sus heces por unas pocas semanas y siempre, una semana previa a, o durante o después de que se observara estomatitis. La *C. albicans* no se encontró en los demás niños, mientras que otras especies, agrupadas como *Candida* sp., fueron frecuentes (Figs. 2 y 4).

2. Bacterias

Se aislaron sólo 7 cepas de «bacterias patógenas» en más de 450 cultivos practicados en muestras fecales recolectadas de estos niños. Uno de ellos, de dos meses de edad, excretó *Escherichia coli* 0126:B16 (Fig. 2) y una niña de tres meses excretó durante dos semanas consecutivas *Shigella flexneri* 6 (Fig. 4), sin que ni en uno ni en otro se evidenciaran síntomas de enfermedad. Cuatro muestras obtenidas también de niños que no mostraban síntomas resultaron positivas para *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva.

Se encontró *Salmonella senftenberg* en tres exámenes consecutivos de heces a que se sometió el niño prematuro citado antes (Fig. 6), al inicio de un episodio diarreico que lo llevó a la muerte a los dos meses de edad.

La colonización por microbios no-patógenos varió de un niño a otro ya que a excepción de *Escherichia coli*, *Providencia* y *Staphylococcus*, las colonizaciones fueron de corta duración. Las bacterias que primero se hacen presentes en las muestras (debe tenerse en mente que sólo se investigaron ciertos grupos de la flora aeróbica), son la *Escherichia coli* (no-patógena) y los *Staphylococcus* (coagulasa negativa). Otras bacterias, tales como *Alcaligenes* y *Providencia* pueden aparecer a muy temprana edad pero, en general, son raras. La introducción de éstos y de otros grupos ocurre más tardíamente y con ciertas variaciones. Los niños que en este estudio han mostrado *Providencia* de manera persistente también han excretado *Proteus* con mayor frecuencia.

Los *Cloacae*, *Citrobacter*, *Pseudomonas* y *Serratia* fueron raros y se encontraron una vez cada uno.

3. Virus

Solamente dos de los 22 niños hasta ahora sometidos a estudio han mostrado virus (no-polio) en las muestras de heces fecales en la primera semana de vida. Las muestras de heces de los restantes han sido negativas a virus durante la primera semana, y algunas veces hasta por el término de 13 semanas (Figs. 1-6).

Los poliovirus han producido siete diferentes colonizaciones a partir de las 4, 6, 13, 16, 18, 21 y 22 semanas de vida. Por lo general, las colonizaciones por poliovirus han prevalecido por una o dos semanas, y en un niño durante un periodo de cinco semanas.

Los enterovirus no-polio se aislaron a más temprana edad que los poliovirus, en algunas ocasiones durante la primera y segunda semanas de vida. Estos virus fueron excretados por el término de una o dos semanas.

La excreción de adenovirus en las muestras de heces fecales se pudo determinar en semanas aisladas o en periodos de dos semanas a lo sumo.

F. Asociación de los Virus con las Enfermedades

Se aislaron virus en el 23% de las 143 semanas en que los niños estuvieron sanos, mientras que el porcentaje fue de 37.5% en las 40 semanas de enfermedad. Excluyendo a los poliovirus, los porcentajes corresponden a 15.4 y 20 respectivamente (Cuadro No. 1).

Si se considera significativa la excreción de virus en las muestras de heces fecales una semana antes y una después del episodio diarreico, se llega a la conclusión de que aproximadamente dos tercios de las enfermedades se encontraron asociadas a algún virus (Cuadro No. 2).

La *C. albicans* se encontró en las heces de 4 niños, siempre asociada con estomatitis y, en 2 de ellos, con diarrea. La levadura apareció en 2 niños una semana antes de que presentaran los síntomas característicos del muguet, y en todos ellos, durante y después de la enfermedad.

G. Agentes Infecciosos y Diarrea

En el curso de la enfermedad diarreica, 8 de los 9 casos en los cuales se ha completado ya el estudio microbiológico (salvo la inoculación de ratones lactantes) excretaron por lo menos un agente considerado como patógeno (Cuadro No. 3).

En un caso, sin embargo, sólo se encontró *Endolimax nana** y *Aerobacter cloacae*. Cabe destacar que las muestras de heces fecales obtenidas de ese niño habían sido negativas para estos dos agentes. La *E. nana* apareció durante la enfermedad, mientras que *A. cloacae* fue excretada durante la misma y en las dos semanas siguientes.

La *Entamoeba histolytica* se presentó asociada con diarrea en 5 de los 9 casos en cuestión y siempre con otros protozoarios. La *Candida albicans* se encontró en 2 casos, una vez asociada a virus no-polio, y otra, a *Giardia lamblia*. La *Pseudomonas* sp. también se encontró en asociación con un virus no-polio en el curso de un episodio diarreico. Hay que señalar que ésta ha sido la única instancia en que se aisló *Pseudomonas* de muestras de heces fecales de los niños incluidos en el estudio.

H. Relación entre la Infección y el Aumento de Peso

Las enfermedades de las vías respiratorias superiores, de corta duración y con virus fecales asociados, no tuvieron un efecto apreciable sobre el peso. Por el contrario, una enfermedad respiratoria superior prolongada asociada con virus, así como un episodio de bronconeumonía, detuvieron el aumento de peso. En algunos casos la diarrea tuvo como resultado el estancamiento o pérdida de peso, mientras que en otros no se notó ningún cambio aparente en el mismo (Figs. 1-5).

En una niña se pudo comprobar que un episodio de muguet produjo estancamiento en los valores ponderales, lo que bien pudo haberse

debido en parte a que durante la enfermedad la ingesta de alimentos se redujo como consecuencia de la lesión bucal.

DISCUSION

De acuerdo con los resultados preliminares aquí expuestos, parece ser que los niños pequeños constituyen sujetos ideales para investigar el significado de la colonización del intestino por virus y otros agentes, así como la relación entre éstos con las enfermedades y con el estado nutricional.

Durante las primeras semanas de vida se aislaron muy pocos virus, lo que bien pudiera ser debido a las menores oportunidades que los niños pequeños ofrecen para la contaminación con gérmenes. La barrera mecánica que representa la alimentación al seno materno, los anticuerpos de la leche, la inmunidad materna y la resistencia intestinal, podrían ser también factores determinantes de importancia, de la baja implantación de virus durante la primera etapa de la vida.

Solamente se aislaron 7 cepas de bacterias patógenas en un total de más de 450 exámenes de muestras fecales. De nuevo hay que tener en cuenta que los niños examinados eran todos menores de 8 meses. En niños clínicamente sanos se encontró *Shigella*, *Escherichia coli* enteropatógena y *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva.

La colonización del intestino por bacilos aeróbicos Gramnegativo «no patógenos» fue frecuente y mostró una gran variabilidad e irregularidad. Se desconoce el significado de este hallazgo, y una mejor comprensión del problema precisa la realización de un análisis semicuantitativo de este grupo de bacterias en comparación con otros.

Los virus aislados, excluyendo los de polio, fueron más frecuentes durante los episodios de enfermedades diarreica y respiratoria que durante los periodos en que los niños gozaron de buena salud. Se espera observar algo similar en el caso de las bacterias patógenas, cuando los niños se expongan más a los agentes infecciosos y al medio ambiente, esto es, después de los 6 meses de edad.

Se ha tratado de dilucidar el efecto que las colonizaciones y las enfermedades que les acompañan pueda tener sobre el estado nutricional. En este sentido, a menudo se observó

*Los resultados parasitológicos que se incluyen en este trabajo para ampliar la información fueron practicados en cooperación con el Dr. Emil Kotcher, miembro del Centro Internacional de Investigaciones Médicas y Adiestramiento (ICMRT), Costa Rica.

que colonizaciones e infecciones afectaban el desarrollo somático al detener el aumento de peso e, incluso, al inducir una pérdida del mismo. Se espera que cuando la cohorte de niños cumpla el primer año de edad, se hayan observado aproximadamente 100 episodios de diarrea y un número similar de casos de enfermedad de las vías respiratorias, con los cuales se pueda hacer un análisis más completo.

Antes de concluir, debe hacerse énfasis en que no se pretende generalizar estos resultados a otras comunidades de Guatemala o de otros países. Sin embargo, tales hallazgos son representativos y significativos para la población de Santa María Cauqué, ya que prácticamente se

está examinando al universo entero. La investigación reviste mayor importancia por desenvolverse en una comunidad rural subdesarrollada en la cual se han tomado suficientes precauciones para no perturbar la ecología del medio.

RECONOCIMIENTO

Este trabajo ha sido financiado, en su mayor parte, por los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de América (Subvención No. A1-05405).

La Dirección General de Sanidad Pública de Guatemala y la CARE han prestado, asimismo, su valiosa cooperación.

REFERENCIAS

- 1 Scrimshaw, N. S., Taylor, C. E. y Gordon, J. E.: Interactions of nutrition and infection. *Am. J. Med. Sci.*, 237: 367-403, 1959.
- 2 Mata, L. J.: Manual de Procedimientos y Técnicas de los Laboratorios de la Unidad de Microbiología del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. (En prensa).
- 3 Paul, J. R. y Melnick, J. L.: Poliomyelitis. En: *Diagnostic Procedures for Virus and Rickettsial Diseases*, 2nd ed., American Public Health Association, New York, 1956. p. 53-90.
- 4 Weld, J. T.: *Candida albicans*; rapid identification in pure cultures with carbon dioxide on modified eosin-methylen blue medium. *Arch. Dermat. Syph.*, 66: 691-694. 1952.
- 5 Schaub, I. G. y Foley, M. K.: *Diagnostic Bacteriology*. C. V. Mosby Co., Saint Louis, Mo., 1952
- 6 Edwards, P. R. y Ewing, W. K.: *Identification of Enterobacteriaceae*. Burgess Publishing Co., Minneapolis, Minn., 1962.
- 7 Toolan, H. W.: Transplantable human neoplasms maintained in cortisone-treated laboratory animals: H.S. No. 1; H.Ep. No. 1; H.Ep. No. 2; H.Ep. No. 3; and H. Emb. Rh. No. 1. *Cáncer Res.*, 14: 660-666, 1954.

CUADRO No. 1

DISTRIBUCION DE VIRUS DE ACUERDO CON LOS PERIODOS DE SALUD Y ENFERMEDAD*

Categoría	Semanas Número	Virus		
		No-polio adeno	+	Polio Total
Sano	143	22(15.4%)		11(7.6%) 33(23%)
Enfermo	40	12(30%)		3(7.5%) 15(37.5%)
Total	183	34		14 48

*Los resultados relativos a virus están sujetos a cambios. La inoculación de ratones lactantes está aún pendiente.

CUADRO No. 2

VIRUS EN MUESTRAS FECALES, AJENOS AL DEL POLIO, DE ACUERDO CON LA ENFERMEDAD *

Enfermedad	No. de casos	Aislamiento positivo de virus												
		Durante la enfermedad			Semana previa a la iniciación de la enfermedad			Semana después del término de la enfermedad			Por lo menos en uno de los tres periodos			
		Adeno polio	No polio	Total	Adeno polio	No polio	Total	Adeno polio	No polio	Total	Adeno polio	No polio	Total	
Diarrea	9	2	1	3	1	1	0	1	2	2	3**	3	3	6 (66%)
Enfermedad respiratoria superior	13	2	2	3**	2	5**	4	0	2	2	2	4	6	8** (61%)
Conjuntivitis	6	1	2	2**	2	2**	1	0	0	0	0	3	3	4** (66%)
Total	28	5	5	8**	5	8**	5	2	4	5**	10	12	18** (64%)	

* Los resultados relativos a virus están sujetos a cambios. La inoculación de ratones lactantes está aún pendiente.

** Las discrepancias se deben a la presencia de dos virus en el mismo sujeto o bien a la excreción de virus durante varios periodos.

CUADRO No. 3
ENFERMEDAD DIARREICA DE ACUERDO CON CIERTAS VARIABLES

Niño	Edad del niño al inicio de la diarrea (semanas)		Duración de la diarrea (días)	Agentes infecciosos			
				Protozoarios	Levaduras	Bacterias	Virus *
V.A.S.	14		5	E. histolytica, E. coli, E. nana, I. butschlii			Polio
	26		4	E. histolytica, E. coli			
M.A.Ch.	9		6		Candida albicans		No polio
	24		8	E. histolytica, E. coli		Proteus	Polio
E.G.Q.	10		4	E. histolytica, E. coli, E. nana			
	15		3	E. nana		A. cloacae	
S.A.T.	6		17	E. histolytica, E. coli, E. nana		Proteus, Salmonella senftenberg	Polio, adeno
F.Ch.A.	6		20	E. coli, E. nana, G. lamblia	Candida albicans	Proteus, Citrobacter	
A.A.M.	2		1			Pseudomonas	No polio

* Los resultados, relativos a virus están sujetos a cambios. La inoculación de ratones lactantes está aún pendiente.

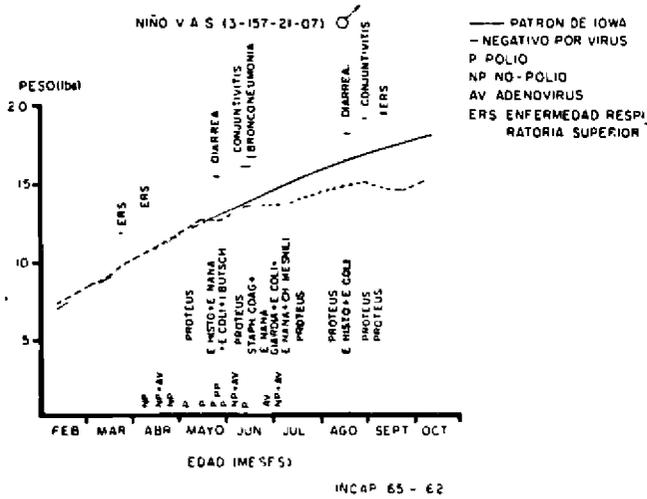


Fig. 1—Peso, enfermedad y colonizaciones microbianas y parasitarias. Obsérvese la separación de la curva de peso de la del patrón de Iowa, a los 4 ó 6 meses de edad.

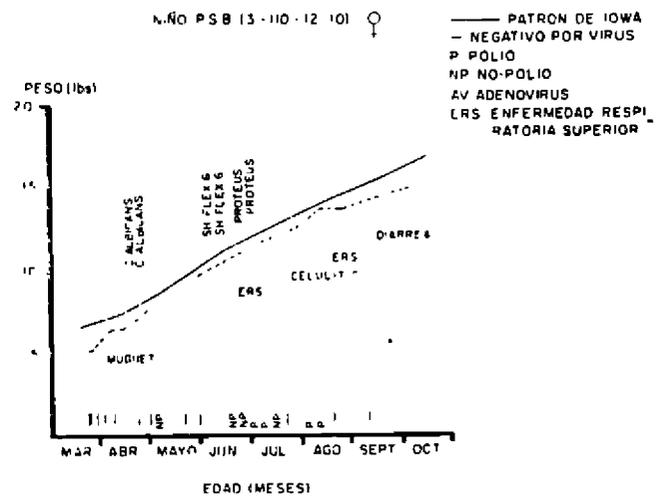


Fig. 4—Peso, enfermedad y colonizaciones microbianas y parasitarias.

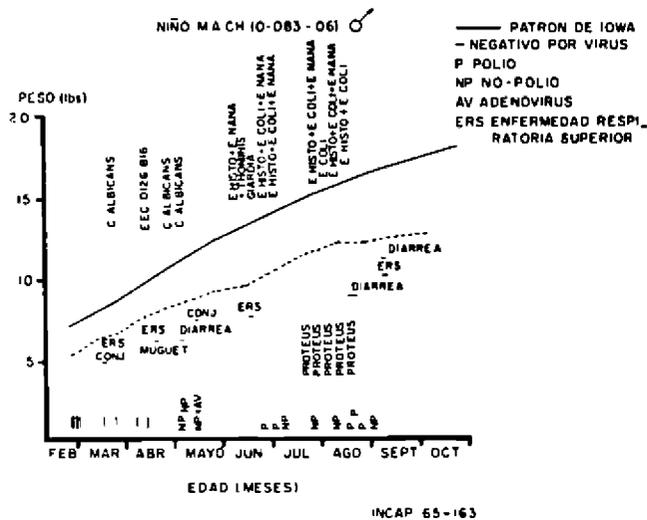


Fig. 2—Peso, enfermedad y colonizaciones microbianas y parasitarias.

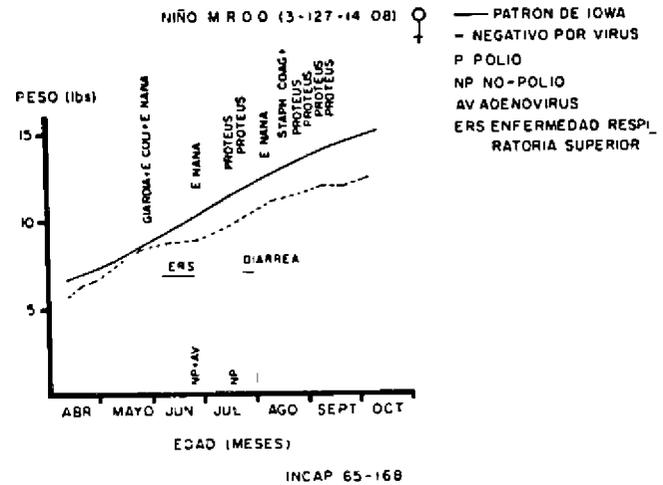


Fig. 5—Peso, enfermedad y colonizaciones microbianas y parasitarias.

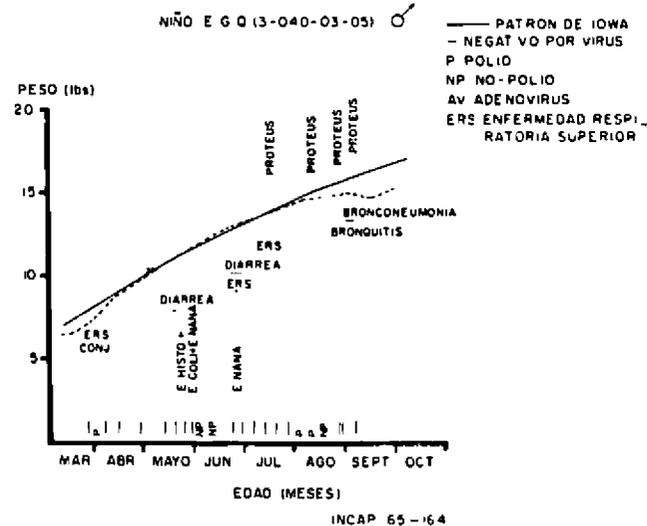


Fig. 3—Peso, enfermedad y colonizaciones microbianas y parasitarias.

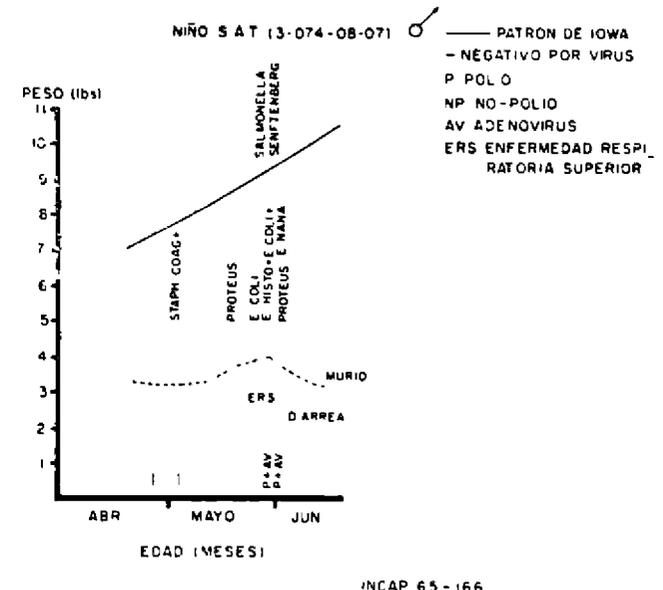


Fig. 6—Peso, enfermedad y colonizaciones microbianas y parasitarias.