

## **B.5.1. CONSIDERACIONES SOBRE LA MICROBIOTA INDIGENA DEL HOMBRE**

*Dr. Leonardo J. Mata*

División de Microbiología Inst. de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP)

### **INTRODUCCION.—**

Bajo condiciones normales, el niño nace libre de microorganismos. Sin embargo, inmediatamente después del nacimiento ocurre una invasión por numerosas especies, algunas de las cuales colonizan diversas áreas del cuerpo, como la piel, el tracto gastrointestinal, ciertas áreas del tracto respiratorio superior, y parte de las vías genito-urinarias inferiores (Rosebury, 1962; Marples, 1965).

Estudios en animales gnotobióticos han revelado el significado biológico de la microbiota intestinal. Se ha demostrado que la microflora (a) ejerce efectos morfológicos y fisiológicos sobre la mucosa intestinal (Miyakawa, 1959; Gordon, 1959; Luckey, 1965); (b) determina parcialmente el desarrollo de la competencia inmunológica (Thorbecke, 1959; Bauer et al., 1963); (c) representa un mecanismo de defensa contra la infección (Dubos et al., 1963); y (d) contribuye a la nutrición del huésped mejorando la utilización de los alimentos o sintetizando nutrimentos (Westmann, 1959; Dubos y Schaedler, 1962; Levenson y Tennant, 1963).

Por otro lado, observaciones hechas en pacientes hospitalizados han permitido evaluar el significado de la microbiota en la naturaleza y evolución de ciertos síndromes (Donaldson, 1964). Las relaciones de la microbiota con los procesos patológicos han sido ilustradas en el caso de la diarrea (Weijers y van de Kamer, 1965; Thomson, 1955; Dammin, 1965); malabsorción (Goldstein et al., 1961; Tabaqchali y Booth, 1967); enfermedad de Whipple (Kok et al., 1964); y fenómenos de autoinmunidad (Taylor, 1965; Bregman y Kirshner, 1965).

Aunque existe suficiente información científica acerca de la relación de la microbiota con estados de buena salud y enfermedad, es necesario conocer mucho más acerca de ella. En primer lugar, ciertos componentes de la microflora sólo pueden ser cultivados aplicando métodos desarrollados recientemente (Hungate, 1950; Schaedler et al., 1965; Moore, 1966; Brewer y Allgeier, 1966). Por otro lado, las técnicas para caracterizar los organismos no son perfectas o no están disponibles todavía. Una proporción considerable de las bacterias intestinales no han sido aisladas o caracterizadas debido a que sus propiedades nutricionales son exigentes y a su susceptibilidad exagerada al oxígeno. Aparte de las consideraciones metodológicas, sólo existe información limitada sobre la microflora del hombre (Gorbach et al., 1967; Mata et al., 1969a) en áreas desarrolladas. No hay información sobre el desarrollo de la flora en niños bajo condiciones naturales en países preindustrializados, y en relación con salud y enfermedad. Estas son preguntas fundamentales, dado que las diarreas contribuyen significativamente a la morbilidad total, interaccionando con la desnutrición, y resultando en una alta mortalidad en regiones preindustrializadas del globo.

### **DESARROLLO DE LA MICROFLORA INTESTINAL.—**

Las especies de microorganismos que se cultivan del intestino humano son típicas del hombre y otras especies animales y no son características del ambiente exterior; ésto es, no se encuentran generalmente en forma saprofítica en la naturaleza (Rosebury, 1962). Los microorganismos intestinales humanos provienen de seres

de la misma especie o especies relacionadas, y su adquisición se inicia inmediatamente después del nacimiento.

Como lo indica el Dr. R. Schaedler (comunicación personal, 1968), la flora autóctona se compone de especies de microbios que han logrado un estado simbiótico con el huésped a través de una larga asociación evolucionaria. El desarrollo de la microflora ha sido estudiado en pocas especies animales (Smith y Crabb, 1961; Schaedler et al., 1965). Por ejemplo, se han podido implantar ciertas bacterias aisladas de ratones ordinarios en ratones sin gérmenes, demostrándose que existe cierta especificidad del órgano, así como la naturaleza simbiótica que caracteriza a la flora, y el efecto protector contra las bacterias invasoras del exterior.

Por razones éticas y metodológicas se ha dificultado este tipo de investigación en humanos. El papel protector de la flora ha sido demostrado, sin embargo, en estudios sobre colonización iatrogénica de la piel del recién nacido, posterior a la inoculación de la cepa 502A de estafilococo que induce interferencia bacteriana hacia las variedades patogénicas nosocomiales (Shinefield et al., 1963).

El desarrollo de la microflora intestinal de niños indígenas de Guatemala, alimentados al seno materno, fue estudiado en una comunidad rural, bajo condiciones de mínima perturbación del ecosistema (Mata y Urrutia, 1968). Se demostró en este estudio que el meconio y las heces recolectadas dentro de las 3 horas del nacimiento eran estériles. La mitad de las muestras recolectadas de 3 a 11 horas después del nacimiento tenían un promedio de  $10^5$  bacterias por gramo de material fresco y húmedo. A las 24 horas todos los niños habían sido colonizados con bacterias alcanzando concentraciones entre  $10^{10}$  y  $10^{11}$  por gramo.

Durante la primera semana de vida, se observó una gran variedad en la flora, que incluyó lactobacilos, bifidobacterias, bacilos anaerobios Gram-negativo no esporulados (bacteroides), clostridios, y una variedad de cocos aerobios. La flora varió de niño a niño, pero tendió a estabilizarse al final de la primera semana, en que predominaron las bifidobacterias con un promedio de  $10^{11}$  por gramo, representando más del 99% del total de bacterias cultivables, Cuadro I. Los coliformes se encontraron en concentraciones menores ( $10^6$  a  $10^{10}$  por gramo). Los clostridios, bacteroides, lactobacilos y otras bacterias fueron aislados raramente en grandes concentraciones después de la estabilización de la flora.

Además, se demostró que la microflora intestinal es estable durante los períodos de buena salud, observándose cambios al inicio de la diarrea, o uno o dos días después. Dichos cambios consistieron en la proliferación de coliformes que alcanzaron niveles de  $10^{11}$  por gramo, y en una disminución relativa o absoluta del componente anaerobio.

Con el destete progresivo, que en la región rural de Guatemala se completa a los 2 o 3 años de edad, la flora cambia. Por ejemplo, en el segundo año de vida, las bifidobacterias se vuelven menos numerosas que en los primeros 6 meses, aunque continúan predominando. Otros anaerobios, principalmente los bacteroides, aparecen regularmente y casi siempre en cantidades comparables a las de bifidobacterias. El destete se acompaña de cambios en la flora, consistentes en una proliferación progresiva de otros anaerobios como bacteroides, y en un aumento relativo de los coliformes. Cuadros I y II. Tales cambios en la flora van paralelos a la introducción progresiva de alimentos, al mayor contacto con el ambiente contaminado, y al desarrollo de la "diarrea del destete".

La flora de los niños alimentados al seno materno es simple comparada con la que se observa en el período de destete y con la del adulto. El niño destetado

tiene una flora de transición entre la del niño amamantado y la del adulto. En éste, los bacteroides predominan con cuentas del orden  $10^9$  a  $10^{11}$  por gramo, mientras que las bifidobacterias son menos frecuentes y menos numerosas, Cuadro II.

#### LA MICROFLORA COMO UN MECANISMO DE DEFENSA.—

En animales experimentales se ha demostrado el efecto protector de la microflora contra varios tipos de stress, incluyendo la infección. La vulnerabilidad del animal sin gérmenes a la invasión bacteriana, aún por especies de bajo potencial patogénico, ha sido bien documentada (Rayniers et al., 1959). El efecto protector de la flora está relacionado a ciertas acciones específicas microbianas *in situ*, a la capacidad inmunológica del huésped bajo condiciones normales o resultante del estímulo bacteriano, y a otros mecanismos.

En animales convencionales, ciertas manipulaciones inducen a cambios en la flora que se acompañan de un aumento en la susceptibilidad a la infección (Dubos y Schaedler, 1959). Por ejemplo, el tratamiento con antibióticos resulta en cambios acentuados en la proporción relativa de varios componentes bacterianos (Miller et al., 1954; Dineen, 1961; Bohnhoff et al., 1964a; Bohnhoff et al., 1964b), haciendo que el huésped se torne más susceptible a ciertas infecciones y a sus manifestaciones clínicas asociadas.

Los estudios *in vitro* e *in vivo* constituyen una base para comprender la clase de interacción que las bacterias muestran en sistemas dinámicos como el tracto intestinal. En 1967, el Dr. de la Cruz describió efectos antagónicos entre las bacterias intestinales patógenas y las bacterias autóctonas o indígenas. Para los estudios *in vitro*, de la Cruz cultivó bacteroides y bifidobacterias (*Lactobacillus bifidus*) en chemostatos (cultivos continuos). El crecimiento de las diferentes especies fue de  $10^7$  a  $10^8$  organismos por ml. de fluido. Si se introducía *Shigella flexneri* 2a en el chemostato conteniendo un cultivo activo de bifidobacterias y *Bacteroides fragilis*, ocurría una inhibición de la *Shigella*. Los números relativos de bacteroides y bifidobacterias fueron básicamente los mismos en todo el experimento. Las bifidobacterias y el *B. fragilis* fueron examinados independientemente para determinar su acción inhibitoria sobre la *Shigella*: el *B. fragilis* sólo mostró un efecto antagónico contra el bacilo disentérico, aunque en grado menor al inducido por las dos especies mezcladas (de la Cruz, 1967).

Estos estudios fueron complementados con experimentos *in vivo* en asas intestinales ligadas de conejo. Una reacción tisular típica con producción de exudado se observó en las asas después de la inoculación de  $10^8$  bacilos de *Sh. flexneri* 2a. A continuación, se practicaron experimentos consistentes en la inoculación de *Shigella* en conjunción con varias especies de bacteroides y bifidobacterias: solamente *B. fragilis* disminuyó el efecto biológico incitado por la *Shigella*. No sólo se redujo la respuesta tisular cuando se inoculó *B. fragilis*, sino que el número de bacilos disentéricos disminuyó 200 veces en comparación con los controles.

Los estudios *in vitro* e *in vivo* que se han descrito mostraron, por lo tanto, antagonismo bacteriano. Es posible que las acciones antagonísticas de ciertas bacterias intestinales sean responsables parcialmente de la resistencia intestinal hacia las shigelas que presentan los niños alimentados al seno. Se han demostrado infecciones esporádicas por *Shigella* en neonatos amamantados (Mata et al., 1969c), que varían en comportamiento clínico a las que se observan en niños alimentados artificialmente (Haltalin, 1967). Se ha comprobado también la excreción fecal de otros agentes patógenos aún en una edad temprana de la vida (Mata et al., 1967). Sin embargo,

la infección que se establece en niños alimentados exclusivamente al seno materno es rara, y cuando ocurre es usualmente asintomática y transitoria (Mata et al., 1967). Las infecciones por *Shigella* aumentan abruptamente durante el proceso del destete y los organismos tienden a persistir en el intestino por semanas o meses (Mata et al., 1969b). Los factores responsables de la resistencia parecen ser las grandes cantidades de ácido láctico y acético producidas por las bifidobacterias y responsables del pH muy ácido en el intestino de los niños amamantados. Inhibidores bacterianos y anticuerpos presentes en la leche materna pueden ser también factores de importancia.

La significación de la microbiota resulta evidente cuando es modificada o suprimida por antibióticos. Bajo estas condiciones, se establecen otros microorganismos como estafilococos coagulasa positiva, *Pseudomonas*, y *Candida albicans*, a menudo con resultados desastrosos.

### **SIGNIFICACION DE LA MICROFLORA EN LA DIARREA CRONICA Y EN LA MALABSORCION.—**

El papel de las bacterias en la diarrea crónica y en la malabsorción merece especial consideración. Primero, porque ya ha sido demostrado en el síndrome del asa ciega (Goldstein et al., 1968), y además, porque la patogénesis de la malabsorción y la diarrea en este síndrome puede ser similar a la del sprue tropical y al de las diarreas no específicas prevalentes en las regiones tropicales y subtropicales. Se ha demostrado, además, que los antibióticos ejercen un efecto beneficioso en pacientes que presentan malabsorción (Wirts y Goldstein, 1963; Sheehy y Pérez-Santiago, 1961).

El síndrome del asa ciega en su definición más amplia incluye condiciones en las cuales existe estancamiento del contenido del intestino delgado, incremento en la población bacteriana, y diarrea y malabsorción. Por lo tanto, se incluye no sólo el síndrome clásico, sino también las anastomosis y estricturas, esteatorrea de la post-gastrectomía, escleroderma intestinal, y diverticulosis intestinal.

La mayoría de los investigadores están de acuerdo en que en el duodeno y el intestino delgado proximal, los microorganismos no son abundantes, mientras que la colonización es prolífica en el intestino grueso. Goldstein y colaboradores (1968), mostraron mediante técnicas bacteriológicas especiales que los aspirados del intestino delgado de la mitad de las personas examinadas contenían números insignificantes de bacterias. En la otra mitad de pacientes, los aerobios fueron más abundantes que los anaerobios. El total de bacterias promedió  $10^{3.6} \pm 1.4$  por ml. El valor normal máximo esperado sería del orden de  $10^6$  bacterias por ml.

Por otro lado, los aspirados de pacientes con enfermedad de intestino delgado, mostraron en general un crecimiento excesivo que excedía el número anterior. La supresión de la flora bacteriana anormal del yeyuno mediante antibióticos generalmente se acompañó de una mejora en la absorción y la diarrea. La absorción de vitamina B12, grasa, y xilosa regresó a lo normal. Los pacientes empezaron a ganar peso con corrección de la desnutrición.

El efecto perjudicial de la superpoblación bacteriana del intestino delgado sobre los fenómenos de absorción ha sido verificado en animales experimentales. En ratas, para mencionar un ejemplo, se ha demostrado que los microorganismos entéricos interfieren con la absorción de vitamina B12 y de lípidos (Donaldson, 1967). El mecanismo parece ser hidrólisis de los conjugados de sales biliares, o deshidroxilación de la molécula de la sal biliar, perjudicándose la formación de micelas necesarias para la absorción de lípidos. Además, las bacterias pueden competir con el hués-

ped por nutrimentos específicos (Goldstein et al., 1965; Goldstein et al., 1968), o pueden liberar productos como ácidos orgánicos que son fuente de irritación para el intestino (Donaldson, 1964).

#### **MICROORGANISMOS CON POTENCIAL PATOGENICO.—**

Bajo condiciones normales, los microorganismos intestinales se mantienen en un balance con el huésped por medio de interacciones metabólicas (Rosebury, (1962). Los microorganismos que así se comportan constituyen la "microbiota indígena", característica de un huésped en un ambiente determinado. La microbiota indígena está formada por microorganismos típicamente comensales o saprofiticos, algunos de los cuales tienen funciones simbióticas o anfibióticas.

Por otro lado, existen microorganismos con potencial patogénico que pueden invadir el tracto intestinal y establecerse sin causar daños clínicos. Estos no son considerados indígenas, y comprenden especies como *Entamoeba histolytica*, *Dieta-moeba fragilis*, *Giardia lamblia*, *Shigella*, *Salmonella*, enterovirus y adenovirus. A estos microorganismos se les puede llamar arbitrariamente "indeseables". La frecuencia con que son encontrados en el tracto intestinal depende de ciertos factores como higiene personal, saneamiento ambiental, y estado nutricional. En países industrializados, los microorganismos indeseables son esporádicos o de baja prevalencia; en regiones preindustrializadas tropicales y subtropicales, existe un porcentaje alto de infección con estas especies.

Estudios en Centro América (Lizano y de Abate, 1953; Brooke et al., 1963; Mata et al., 1965; Kotcher et al., 1967; INCAP, 1969) indican una alta prevalencia de *Entamoeba histolytica* y otros protozoos en la población general, al igual que de bacterias patógenas, Cuadro III. Frecuentemente, los niños se infectan con *Giardia* y otros protozoos por períodos prolongados (INCAP, información no publicada). También las infecciones por *Shigella*, que se creyó eran transitorias, tienden a persistir por semanas o meses, así como las de *Salmonella*, a menudo sin manifestaciones clínicas (Mata et al., 1969b). Por lo tanto, la persistencia de protozoos y bacterias patógenas en el tracto intestinal las hace aparecer como indígenas.

En este sentido, la situación de los virus es similar. La naturaleza patógena de los virus resulta de su existencia parasítica y de la destrucción celular que resulta de su replicación. Además, los virus entéricos (y otros virus excretados en las heces) frecuentemente son la causa de síntomas y enfermedades. Sin embargo, niños de regiones preindustrializadas presentan una alta excreción fecal de virus, como se ha demostrado en estudios longitudinales realizados por el INCAP (información no publicada). En general, las infecciones virales duran poco tiempo, aunque muchos enterovirus perduran por varias semanas. Bajo estas circunstancias, es atrayente el hablar de una flora viral entérica (Gelfand et al., 1957).

La persistencia de bacterias, protozoos, y de virus sin manifestaciones clínicas asociadas, en el intestino de niños que viven en malas condiciones ambientales, permitiría clasificar a estos agentes como "indígenas". Por otro lado, la prevalencia exagerada de estos microorganismos en el tracto intestinal se correlaciona con la diarrea y otros problemas gastrointestinales. Numerosos estudios clínicos y de campo han demostrado una asociación entre estos agentes y la diarrea. Por las razones mencionadas, es que se propone denominarlos "indeseables".

#### **METODOS DE ESTUDIO DE LA MICROFLORA INTESTINAL.—**

Hasta hace poco se había restringido el conocimiento de la flora a los componentes aerobios. Las razones fueron problemas técnicos encontrados para estudiar

- GOLDSTEIN, F., L.E. CRIDEN, E.R. JENNER, y C.W. WIRTS, 1965: Bacterial utilization of d-xylose. (Abstract). *Gastroenterology*, **48**: 818-819.
- GOLDSTEIN, F., C.W. WIRTS, y S. KRAMER, 1961: The relationship of afferent limb stasis and bacterial flora to the production of postgastrectomy steatorrhea. *Gastroenterology*, **40**: 47-54.
- GOLDSTEIN, F., C.W. WIRTS, R.J. MANDLE, O.D. KOWLESSAR, y E. HERSCHMAN, 1968: The relationship of the bacterial flora of the small intestine to diarrhea and malabsorption in variants of the blind loop syndrome. Presentado como parte de la Mesa Redonda sobre la Microbiota Intestinal del Hombre, II Congreso Centro Americano de Microbiología, Diciembre 2-6. Ciudad de Panamá.
- GORBACH, S.L., L. NAHAS, P.I. LERNER, y L. WEINSTEIN, 1967: Studies of intestinal microflora. I. Effects of diet, age, and periodic sampling on numbers of fecal microorganisms in man. *Gastroenterology*, **53**: 845-855.
- GORDON, H.A., 1959: Morphological and physiological characterization of germfree life. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **78**: 208-220.
- HALTALIN, K.C., 1967: Neonatal Shigellosis: Report of 16 cases and review of the literature. *Am. J. Dis. Child.*, **114**: 603-611.
- HUNGATE, R.E., 1950: The anaerobic mesophilic cellulolytic bacteria. *Bacteriol. Rev.*, **14**: 1-49.
- INSTITUTO DE NUTRICION DE CENTRO AMERICA Y PANAMA (INCAP), Ministerio de Salud Pública de El Salvador, y la Oficina de Investigaciones Internacionales de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de América (OIR), 1969: Informe Final de la Encuesta Nutricional de El Salvador, Guatemala, INCAP.
- KOK, N., R. DYBKAER, y J. ROSTGAARD, 1964: Bacteria in Whipple's disease. I. Results of cultivation from repeated jejunal biopsies prior to, during, and after effective antibiotic treatment. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **60**: 431-449.
- KOTCHER, E., G.W. HUNTER, V.M. VILLAREJOS, J. CLYDE SWARTZWELDER, D. DE LA CRUZ, R. ESQUIVEL, M. ALFARO, C. RODRIGUEZ, y J.A. ZUNIGA, 1967: Estudios epidemiológicos de protozoos intestinales en Costa Rica. *Bol. Ofic. Sanit. Panamá*, **63**: 430-436.
- LEE, A., J. GORDON, y R. DUBOS, 1968: Enumeration of the oxygen sensitive bacteria usually present in the intestine of healthy mice. *Nature*, **220**: 1137-1139.
- LEVENSON, S.M., y B. TENNANT, 1963: Some metabolic and nutritional studies with germfree animals. *Fed. Proc.*, **22**: 109-119.
- LIZANO, C., y J. DE ABATE, 1953: Incidencia de parásitos intestinales en los niños de la Sección de Pediatría del Hospital San Juan de Dios. *Rev. Biol. Trop.*, **1**: 223-233.
- LUCKEY, T.D., 1965: Gnotobiologic evidence for functions of the microflora. *Ernährungsforschung*, **10**: 192-250.
- MARPLES, M.J., 1965: *The Ecology of the Human Skin*. Springfield, Illinois, Charles C. Thomas (Pub.) 970 pp.
- MATA, L.J., C. ALBERTAZZI, A. NEGREROS, y R. FERNANDEZ, 1965: Prevalence of *Shigella*, *Salmonella* and enteropathogenic *Escherichia coli* in six Mayan villages. *Am. J. Pub. Health*, **55**: 1396-1402.
- MATA, L.J., C. CARRILLO, y E. VILLATORO, 1969a: Fecal microflora in healthy persons of a preindustrial region. *Appl. Microbiol.*, **17**: 596-602.

los anaerobios. Además, el significado de ciertas enterobacteriáceas (*Shigella*, *Salmonella*) en la etiología de las enfermedades diarreicas llevaron a una concentración de esfuerzos en el estudio de este grupo. Los avances técnicos en gnotobiología, nutrición animal, y fisiología animal, el descubrimiento de los antibióticos, así como también ciertos avances en técnicas bacteriológicas, han permitido un mejor estudio de la flora intestinal *in toto*.

A nivel de laboratorio clínico se recomienda la inoculación de medio de tioglicolato por un lado; y por otro, placas de agar sangre con discos conteniendo 30 mcg. de kanamicina o 10 unidades de bacitracina, bajo anaerobiosis. Existen métodos más modernos como los de Hungate (1950), Schaedler *et al.*, (1965), y Brewer y Allgeier (1966). El último mencionado es uno de los mejores sistemas para obtener anaerobiosis y ofrece gran potencialidad en el trabajo con la flora del hombre. La mayoría de las técnicas aún implican la dañina exposición de las muestras a cultivar al oxígeno atmosférico. El sistema de Hungate evita el contacto con el aire y ha sido utilizado para cultivar aspirados del intestino delgado, y para otros materiales clínicos. Este y otros métodos (Moore, 1966; Lee *et al.*, 1968) ofrecen grandes ventajas para el estudio de la flora.

## **R E S U M E N .—**

Este trabajo toca una variedad de aspectos sobre la microbiota intestinal. El enfoque clásico ha sido sobre los microorganismos indígenas no patógenos de la flora. También se consideraron, aunque superficialmente, los agentes "indeseables", por su presencia frecuente en el tracto intestinal de niños de regiones preindustrializadas. Se han hecho referencias a la metodología necesaria para el estudio de la flora. Se describió el desarrollo de la flora fecal en niños estudiados bajo condiciones naturales, y se especificó la composición de la flora de niños amamantados, destetados, y de adultos. Se hizo referencia a la flora como mecanismo de defensa, y a las capacidades patógenas de ciertos protozoos, bacterias, y virus. La colonización anormal del intestino delgado proximal y su relación con la malabsorción y la diarrea crónica se ilustró tomando como ejemplo un síndrome específico.

Es evidente que el estudio y comprensión del papel de la microbiota intestinal en la salud y enfermedad es imprescindible para comprender la etiología de las diarreas. El problema es intrincado debido a que la microbiota es una unidad compleja formada por una variedad de microorganismos (muchos de los cuales aún no han sido aislados o caracterizados), que interaccionan continuamente entre sí y con el huésped, y que está sujeta a influencias del huésped y del medio ambiente.

Indudablemente, se requiere de más investigación para llegar a una comprensión adecuada de las funciones de la microbiota. Es necesario investigar los siguientes aspectos: (a) caracterización de las especies indígenas del hombre, para lo cual es necesario el desarrollo de nuevos métodos, y el estudio de los microorganismos predominantes por métodos cromatográficos, inmunológicos, y de otra índole; (b) estudio de la microbiota en los diversos segmentos del tracto gastrointestinal, tanto de individuos normales como de pacientes con diarrea no específica, malabsorción, o desnutrición proteínico-calórica; (c) estudio de las interrelaciones entre los agentes indígenas y los indeseables; y (d) estudio de la relación huésped-parásito a nivel de la mucosa, en biopsias humanas, material de autopsia, y en animales experimentales. El conocimiento que pueda derivarse de tales estudios servirá como base para el mejor control y prevención de la diarrea, la malabsorción, y otros desórdenes intestinales.

## REFERENCIAS

- BAUER, H.R.E. HOROWITZ, S.M. LEVENSON, y H. POPPER, 1963: The response of the lymphatic tissue to the microbial flora. *Studies on germfree mice. Am. J. Pathol.*, **42**: 471-483.
- BROOKE, M.M., N. GLEASON, y F. MONTERO-GEI, 1963: Intestinal parasites in a rural community of Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, **11**: 47-56.
- BOHNHOFF, M., C.P. MILLER, y W.R. MARTIN, 1964a: Resistance of the mouse's intestinal tract to experimental *Salmonella* infection. I. Factors which interfere with the initiation of infection by oral inoculation. *J. Exp. Med.*, **120**: 805-816. ....
- BOHNHOFF, M., C.P. MILLER, y W.R. MARTIN, 1964b: Resistance of the mouse's intestinal tract to experimental *Salmonella* infection. II. Factors responsible for its loss following streptomycin treatment. *J. Exp. Med.*, **120**: 817-828.
- BREGMAN, E., y J.B. KIRSHNER, 1965: Amino acids of colon and rectum. Possible involvement of diaminopimelic acid of intestinal bacteria in antigenicity of ulcerative colitis colons. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **118**: 727-731.
- BREWER, J.H., y D.L. ALLGEIER, 1966: Safe self-contained carbon Dioxide-Hydrogen anaerobic system. *Appl. Microbiol.*, **14**: 985-988.
- DAMMIN, G.J., 1965: Pathogenesis of acute clinical diarrheal disease. *Fed. Proc.*, **24**: 35-38.
- DE LA CRUZ, E., 1967: In vitro and in vivo effects of *Lactobacillus bifidus* and five species of *Bacteroides* on *Shigella flexneri* 2a. Ph. D. Thesis. Stanford University.
- DINEEN, P., 1961: The effect of alterations in intestinal flora on host resistance to systemic bacterial infection. *J. Infect. Dis.*, **109**: 280-286.
- DONALDSON, R.M., 1964: Normal bacterial populations of the intestine and their relation to intestinal function. *New England J. Med.*, **270**: 938-945; 994-1001; 1050-1056.
- DONALDSON, R.M., 1967: Role of enteric microorganisms in malabsorption. *Fed. Proc.*, **26**: 1426-1431.
- DUBOS, R.J., y R.W. SCHAEGLER, 1959: Effect of nutrition on the resistance of mice to endotoxin and to the bactericidal power of their tissues. *J. Exp. Med.*, **110**: 935-950.
- DUBOS, R., y R.W. SCHAEGLER, 1962: Some biological effects of the digestive flora. *Am. J. Med. Sci.*, **244**: 265-271.
- DUBOS, R., R.W. SCHAEGLER, y R. COSTELLO, 1963: Composition, alteration and effects of the intestinal flora. *Fed. Proc.*, **22**: 1322-1329.
- GELFAND, H.M., J.P. FOX, y D.R. LEBLANC, 1957: The enteric viral flora of a population of normal children in Southern Louisiana. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **6**: 521-531.

- MATA, L.J., R. FERNANDEZ, y J.J. URRUTIA, 1969b: Infección del intestino por bacterias enteropatógenas en niños de una aldea de Guatemala, durante los tres primeros años de vida. *Rev. Lat-amer. Microbiol. Parasitol.*, **11**: 102-109.
- MATA, L.J., J.J. URRUTIA, y B. GARCIA, 1967: Effect of infection and diet on child growth: experience in a Guatemalan village. In: *Nutrition and Infection*, Wolstenholme, G.E.W., and M. O'Connor (Eds.). London, J. & A. Churchill Ltd. p. 112-126. (Ciba Foundation Study Group N° 31).
- MATA, L.J., J.J. URRUTIA, B. GARCIA, R. FERNANDEZ, y M. BEHAR, 1969c: Shigella infection in breast-fed Guatemalan Indian neonates. *Am. J. Dis. Child.*, **117**: 142-146.
- MILLER, C.P., M. BOHNHOFF, y B.L. DRAKE, 1954: The effect of antibiotic therapy on susceptibility to an experimental enteric infection. *Trans. Ass. Amer. Physicians*, **67**: 156-161.
- MIYAKAWA, M., 1959: The lymphatic system of germfree guinea pigs. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **78**: 221-236.
- MOORE, W.E.C., 1966: Techniques for routine culture of fastidious anaerobes. *Internat. J. Systematic. Bacteriol.*, **16**: 173-190.
- RAYNIERS, J.A. et al., 1959: Germfree vertebrates: present status. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **78**: 1-400.
- ROSEBURY, T., 1962: *Microorganisms indigenous to man*. New York, McGraw-Hill Book Company, Inc. 453 pp.
- SCHAEDLER, R.W., 1968: Experimental implantation of the microflora. Presentación como parte de la Mesa Redonda sobre la Microbiota Intestinal del Hombre, II Congreso Centro Americano de Microbiología, Diciembre 2-6. Ciudad de Panamá.
- SCHAEDLER, R.W., R. DUBOS, y R. COSTELLO, 1965: The development of the bacterial flora in the gastrointestinal tract of mice. *J. Exp. Med.*, **122**: 59-66.
- SHEEHY, T., y E. PEREZ-SANTIAGO, 1961: Antibiotic therapy in tropical sprue. *Gastroenterology*, **41**: 208-214.
- SHINEFIELD, H.R., J.C. RIBBLE, M. BORIS, y H.F. EICHENWALD, 1963: Bacterial interference: Its effect on nursery-acquired infection with *Staphylococcus*. I. Preliminary observations on artificial colonization of newborns. *Am. J. Dis. Child.*, **105**: 646-654.
- SMITH, H.W., y W.E. CRABB, 1961: The faecal bacterial flora of animals and man: its development in the young. *J. Pathol. Bacteriol.*, **82**: 53-66.
- TABAQCHALI, S., y C.C. BOOTH, 1967: Relationship of the intestinal bacterial flora to absorption. *Brit. Med. Bull.*, **23**: 285-290.
- TAYLOR, K.B., 1965: Role of immune responses in the gastrointestinal tract. *Fed. Proc.*, **24**: 23-28.
- THOMSON, S., 1955: The role of certain varieties of bacterium coli in gastroenteritis of babies. *J. Hyg. (Camb.)*, **53**: 357-367.
- THORBECKE, G.J., 1959: Some histological and functional aspects of lymphoid tissue in germfree animals. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **78**: 237-246.
- WEIJERS, H.A., y J.H. VAN DE KAMER, 1965: Causes of diarrheal in disturbed digestion. *Nutritio et Dieta*, **7**: 233-242.
- WIRTS, C.W., y F. GOLDSTEIN, 1963: Studies of the mechanism of postgastrectomy steatorrhea. *Ann. Internal Med.*, **58**: 25-36.
- WOSTMANN, B.S., 1959: Nutrition of the germfree mammal. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **78**: 175-182

CUADRO I

FLORA BACTERIANA FECAL DE NIÑOS ALIMENTADOS AL SENO MATERNO,  
ESTUDIADOS DURANTE EL PRIMER AÑO DE VIDA

Santa María Cauqué, Guatemala, 1967-1969

Grupo de Bacterias	Edad en Semanas						
	1-4	9-12	17-20	25-28	33-36	41-44	49-52
Bifidobacterias	11.4*	10.7	11.5	11.3	11.2	11.1	11.1
Enterobacteriáceas	5.7	7.4	8.9	9.0	9.7	9.0	9.2
ANAEROBIAS	11.5	11.6	11.7	11.4	11.6	11.1	11.1
AEROBIAS	7.6	8.4	9.0	9.4	9.7	9.4	9.4
Proporción	7900	1600	500	100	80	50	50
ANAEROBIAS/AEROBIAS	1	1	1	1	1	1	1
% ANAEROBIAS EN LA FLORA TOTAL	> 99.9	> 99.9	99.8	99.0	98.8	98	98

(\*) Promedio (log10) de bacterias por gramo de heces húmedas.

CUADRO II

FLORA BACTERIANA FECAL EN PERSONAS SANAS \*

Santa María Cauqué, Guatemala.

Grupo de Bacterias	Niños Lactantes, 2 a 4 meses	Niños Destetados, 2 a 3 años	Adultos, 23 a 37 años
Bifidobacterias	11.4** (19/19)	10.6 (12/12)	9.4 (9/12)
Bacteroides	10.7 (3/19)	9.2 (3/12)	10.3 (12/12)
Clostridios	10.0 (3/19)	10.0 (2/12)	9.3 (7/12)
Veillonellas	9.8 (16/19)	9.6 (7/12)	9.2 (6/12)
Enterobacteriáceas	8.3 (17/19)	8.0 (12/12)	8.7 (12/12)
ANAEROBIOS	11.5+0.5***	11.0+0.4	10.5+0.7
AEROBIOS	8.3+1.1	8.0+1.0	8.8+0.6

(\*) Adaptado de Mata et al., 1969.

(\*\*) Promedios (log10) de bacterias por gramo de heces húmedas. Las fracciones indican los casos en los cuales se encontraron esas bacterias en el total de cultivos practicados.

(\*\*\*) Promedios (log10) + una desviación estándar.

CUADRO III

EXCRECION FECAL DE AGENTES "INDESEABLES" EN NIÑOS  
DE PAISES EN VIAS DE DESARROLLO \*

<b>A g e n t e</b>	<b>País</b>	<b>Edad en años</b>	<b>Porcentaje Prevalente</b>
Entamoeba histolytica	Nicaragua	5 - 9	25.0
Giardia lamblia	El Salvador	1 - 4	29.0
Shigelas	Guatemala	5 - 9	7.2
Enterovirus	Guatemala	0 - 2	60.0

(\*) Estudios realizados por el INCAP.