

ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA ASOCIADA A CAMPILOBACTERIAS EN CUMANÁ, VENEZUELA

ACUTE DIARRHEAL DISEASE ASSOCIATED TO CAMPILOBACTERIUM IN CUMANÁ, VENEZUELA

YUDI M. FIGUEROA¹, LUZ B. VILLALOBOS², ROSA E. MARTÍNEZ², ANTONIO J. MALDONADO², JESÚS W. BASTARDO²

*Departamento de Biología, ¹Universidad de Oriente. Núcleo de Sucre
Grupo de Gastroenteritis Infecciosa, ²Postgrado en Biología Aplicada.
E-mail: jwbastardo@cantv.net*

RESUMEN

Se investigó la presencia de *Campylobacter* en 208 niños menores de 5 años con enfermedad diarreica aguda y 43 niños asintomáticos en Cumaná, Venezuela. *Campylobacter* se aisló en medio sin sangre Oxoid adicionado con cefoperazona y anfotericina, realizándose la identificación bacteriana por pruebas bioquímicas diferenciales y serológicas. Se detectó *Campylobacter* en 65 casos de diarrea (31,25%) y 12 controles (27,90%). En los casos con diarrea se aisló *Campylobacter* como único patógeno bacteriano en un 52,31%, y el mayor porcentaje de asociación fue con *Klebsiella pneumoniae* (26,15%). En estos pacientes el 61,04% correspondió a *C. jejuni*, 29,87% a *C. coli* y 9,09% a *C. lari* (previamente *C. laridis*). Se observó asociación muy significativa ($p < 0,01$) entre los casos de diarrea positivos a *Campylobacter* y la edad, correspondiendo al grupo de edad de 0-6 meses la mayor frecuencia (50,5%). Con respecto al sexo, nivel socioeconómico y estado nutricional de los niños no se observó asociación significativa. La resistencia a la eritromicina fue de 64,44% para *C. jejuni*, 68,18% para *C. coli* y 42,86% para *C. lari*. En conclusión, *Campylobacter* es un importante agente etiológico de la enfermedad diarreica en niños menores de 5 años en Cumaná, lo que amerita su búsqueda rutinaria en los coprocultivos.

PALABRAS CLAVE: *Campylobacter*, diarrea aguda, niños.

ABSTRACT

The presence of *Campylobacter* was investigated in 208 children under 5 years with acute diarrheal disease and 43 asymptomatic children, in Cumaná, Venezuela. *Campylobacter* was isolated in the Oxoid medium without blood added with cefoperazone and amphotericin, making the bacterial identification through differential biochemical tests and serology. *Campylobacter* was detected in 65 (31.25%) cases of diarrhea and 12 (27.90%) controls. In cases with diarrhea *Campylobacter* was isolated as the only bacterial pathogen in 52.31% and the largest percentage of association (26.15%) was with *K. pneumoniae*. In these patients, 61.04% corresponded to *C. jejuni*, 29.87% to *C. coli* and 9.09% to *C. lari* (previously *C. laridis*). Significant association ($p < 0,01$) was observed among cases of diarrhea by *Campylobacter* and age, corresponding to the age group 0-6 months the highest frequency (50.5%). However, there was no significant association with respect to sex, socioeconomic and nutritional status of children. Resistance to erythromycin was 64.44% for *C. jejuni*, 68.18% for *C. coli* and 42.86% for *C. lari*. In conclusion, *Campylobacter* is an important etiologic agent of diarrheal disease in children under 5 years in Cumaná, which merits its routine search in stool cultures.

KEY WORDS: *Campylobacter*, acute diarrhea, children.

INTRODUCCIÓN

Las especies de *Campylobacter* son causales de síndrome diarreico agudo (SDA) en todos los grupos de edad, con una mayor incidencia en niños menores de 5 años. Este enteropatógeno está asociado frecuentemente a cuadros clínicos de diarrea complicada o diarrea persistente en menores de un año que requieren hospitalización. La presentación clínica de la enfermedad es variable, desde diarrea acuosa hasta disentería, y en algunas ocasiones asintomáticas. Estudios en diferentes países en desarrollo reportan que un rango de 0% - 32% de los casos de diarrea en niños menores de 5 años

de edad, atendidos en establecimientos de salud, son debidos a *Campylobacter* (Perales *et al.* 2002).

Debido a que la vigilancia de esta bacteria es generalmente incompleta, su incidencia no se conoce en la mayoría de los países del mundo. No obstante, es posible realizar estimaciones con base en registros de laboratorios. Por ejemplo, en EE UU donde se estiman más de 2 millones de infecciones anuales por esta bacteria (Blaser 2000) y en otros países desarrollados, estos registros indican que *C. jejuni* se aísla en heces de pacientes con diarrea con mayor frecuencia que *Salmonella* y *Shigella*. En Inglaterra, los

aislamientos reportados de *Campylobacter* sp superan a los de *Salmonella* y *Shigella* en conjunto (Blaser 2000). En Dinamarca constituye la causa más común de enfermedad zoonótica transmitida por alimentos (Gómez *et al.* 2001).

En países en desarrollo, particularmente en América Latina, la realidad parece ser diferente. Estudios en niños con diarrea (Toporovski *et al.* 1999, Medeiros *et al.* 2001) muestran que, con frecuencias variables dependiendo de la región y el origen de la población estudiada, *Campylobacter* se encuentra en un porcentaje menor que otras bacterias, donde *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP) y *Shigella* suelen predominar. Sólo un estudio, hecho en Venezuela, encuentra que *Campylobacter* es la principal causa de diarrea bacteriana (Urrestarazu *et al.* 1999).

En vista de la capacidad de la gran mayoría de las especies del género *Campylobacter* para producir infecciones intestinales en humanos, se investigó la presencia de este género para conocer su frecuencia en niños con diarrea aguda de la ciudad de Cumaná Venezuela, y también para establecer algunos aspectos epidemiológicos y el comportamiento del género ante el antibiótico más comúnmente usado contra sus especies más representativas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población

Consistió de un total de 208 niños con síndrome diarreico agudo (SDA) y 43 niños controles que acudieron a consulta en el Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá" de Cumaná, Venezuela. Se siguieron las normas de bioética y previa autorización de los padres, los grupos de niños incluidos en el estudio tuvieron las siguientes características: menores de 5 años, con episodios de diarrea de una evolución no mayor de 72 horas, sin terapia antimicrobiana en un período de 72 horas y sin signos de choque, desnutrición y patología congénita. Los controles fueron niños del mismo rango de niños con SDA, condición socio económica y distribución geográfica. Por lo general, fueron infantes que procedían de la consulta de triaje del hospital y/o del área de hospitalización, que consultaron o estuvieron hospitalizados por una causa que no era de origen gastrointestinal, y que no habían sufrido diarrea ni recibido terapia antimicrobiana por lo menos en un período de seis semanas previas a la entrevista.

La entrevista se realizó para registrar datos de interés epidemiológicos (edad, género, condición socioeconómica, tipo de alimentación, estado nutricional, manifestaciones clínicas) y aplicación de la escala de Graffar modificada.

Toma de las muestras

Se tomaron muestras de heces e hisopados rectales de los 208 niños diarreicos y 43 niños controles. El traslado de los hisopados se realizó en el medio de transporte Cary-Blair (Difco-Laboratories, Detroit Michigan, USA).

Siembra y aislamiento de *Campylobacter*

Se utilizó medio libre de sangre (OXOID-Division, 9200 Rumsey Road Columbia, UD, USA) suplementado con cefaperazona y anfotericina. Las placas se incubaron a 42°C en microaerofilia (atmósfera con 5% de CO₂) durante 48 horas. Las cepas aisladas fueron conservadas en viales conteniendo caldo Brucella (Difco) con 15% de glicerol y guardadas a -20°C para su posterior identificación.

Identificación de las cepas

Se realizó mediante pruebas bioquímicas diferenciales y serológicas. Las pruebas fueron: oxidasa, catalasa, reducción de nitratos a nitritos, producción de sulfuro de hidrógeno, tolerancia a diferentes rangos de temperatura (25, 37 y 42 °C), susceptibilidad a los antibióticos ácido nalidixico y cefalotina e hidrólisis de hipurato.

A las cepas de *Campylobacter* ya identificadas bioquímicamente, se les realizó prueba de aglutinación mediante MERITEC_CAMPY (Meridian Diagnostic, INC, USA). El ensayo se basó en pruebas de aglutinación en látex para la confirmación de *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* y *Campylobacter lari*.

Susceptibilidad a antibióticos

Para medir la susceptibilidad de las cepas a antibióticos, se siguió la técnica de difusión en agar recomendada por Bauer *et al.* (1966). Se utilizaron tres antibióticos: eritromicina (15 µg), como antibiótico de primera elección en el tratamiento de enteritis causada por esta bacteria; ácido nalidixico (30 µg) y cefalotina (30 µg), como pruebas de diferenciación de especies del género *Campylobacter*.

Detección de flora acompañante

La muestra también se sembró en los medios de cultivo tradicionalmente utilizados para la detección de otros patógenos bacterianos: *Escherichia coli* enteropatógena, *Salmonella*, *Shigella*, *Aeromonas* y *Klebsiella pneumoniae*. Estos medios incluyeron: agar MacConkey (Merck), agar Levine (Merck), agar SS (Merck) y agar Dnasa (Amersham).

Análisis estadístico

Se realizaron pruebas de Ji cuadrado con corrección de Yates y test exacto de Fischer del Programa Epi Info versión 5.01 (Atlanta, Georgia, Epidemiology Program Office) para establecer asociación entre los casos de diarrea positivas a *Campylobacter* con la edad, género, estado nutricional y condición socioeconómica.

Los porcentajes relativos a los parámetros epidemiológicos y de resistencia a los antibióticos se calcularon por análisis porcentual según Fayad (1988).

RESULTADOS

De los 208 casos de niños con diarrea aguda 65 (31,25%) resultaron positivos para *Campylobacter*; y de los 43 niños controles 12 (27,91%) fueron positivos para la bacteria.

Las manifestaciones clínicas de los niños con SDA positivos a *Campylobacter*; fueron vómitos 40 (75,38%) y deshidratación moderada 50 (76,92%), En el examen macroscópico de las heces, 19 muestras (29,23%) mostraron moco, 3 (4,62%) sangre y 2 (3,08%) moco y sangre. En tanto que el grupo restante con la misma patología, presentó evacuaciones líquidas sin moco ni sangre.

En la identificación bioquímica de las cepas de *Campylobacter* aisladas, *C. jejuni* fue la más abundante aislándose un total de 47 (61,04%), seguida de *C. coli* 23 (29,87%) y *C. lari* 7 (9,09%). Las pruebas serológicas de aglutinación en látex realizadas a todas las cepas confirmaron la identificación de estas tres especies. La Tabla 1, muestra los porcentajes de asociación de *Campylobacter* con otras bacterias en niños con SDA, destacándose que de los casos de diarrea, se aisló *Campylobacter* como único patógeno bacteriano en 52,31%, mientras que el 20 % se asoció a *E. coli* enteropatógena, el 1,54% a *Aeromonas* sp y el 26,15% a *Klebsiella pneumoniae*.

Tabla 1. Asociación de *Campylobacter* con otras especies bacterianas en niños con síndrome diarreico agudo, en Cumaná, Venezuela.

Asociación	Nº pacientes	%
<i>Campylobacter</i> no asociado	34	52,31
<i>Campylobacter</i> + <i>E. coli</i> enteropatógena	13	20,00
<i>Campylobacter</i> + <i>Aeromonas</i> sp	1	1,54
<i>Campylobacter</i> + <i>Klebsiella pneumoniae</i>	17	26,15
Total	65	100,00

La prueba de susceptibilidad a antibióticos, demostró que *C. jejuni* fue sensible en 93,33 % al ácido nalidixico. El 100% de las cepas probadas fueron resistentes a la cefalotina. Con respecto al efecto de la eritromicina sobre la especie, se observó que 31 cepas (64,44%) fueron resistentes a este antibiótico. *C. coli* presentó sensibilidad en 100% al ácido nalidixico, resistencia en 100% a la cefalotina, y para la eritromicina se encontraron 16 cepas (68,18%) resistentes. Las cepas de *C. lari* fueron resistentes en 100% al ácido nalidixico y a la cefalotina, resultado que permitió diferenciarla de *C. jejuni* y *C. coli*. Sin embargo, con la eritromicina se detectaron 3 cepas (42,86%) resistentes.

En el grupo de edad de 0-6 meses fue donde se presentó el mayor porcentaje de positividad a *Campylobacter*; tanto en los niños con diarrea (75,38%) como en los controles (75,00 %) (Tabla 2). La prueba de Ji cuadrado mostró asociación muy significativa ($p < 0,01$) entre la edad del niño con SDA y la presencia de *Campylobacter*. Con respecto al género, nivel socioeconómico y estado nutricional de los niños con diarrea, no se observó asociación significativa. De los pacientes positivos, 39 (60%) eran masculinos y 26 (40%) femeninos. En los controles se mantuvo la misma proporción de mayor porcentaje de varones que de hembras. La condición socioeconómica predominante tanto en el grupo con diarrea (72,31%) como en el grupo control (58,33%) fue la clase marginal (Tabla 3). En los pacientes, positivos a *Campylobacter* el tipo de alimentación que prevaleció fue la lactancia mixta (L4) que se administró en 28 (43,10%) niños, mientras que en los controles los tipos de alimentación lactancia materna más agua (L2), lactancia mixta (L4) y lactancia artificial con alimentación suplementaria (L6), fueron administrados en la misma proporción (25%) (Tabla 4). El estado nutricional normal fue el predominante en ambos grupos de niños (Tabla 5).

Tabla 2. Niños con síndrome diarreico agudo y niños controles, *Campylobacter* positivos según la edad, en Cumaná, Venezuela.

Edad en meses	Pacientes positivos		Controles positivos	
	Casos	%	Casos	%
0 – 6	49	75,38	9	75,00
7 – 12	13	20,00	2	16,67
13 – 18	2	3,08	0	0,00
>18	1	1,54	1	8,33
Total	65	100,00	12	100,00

Tabla 3. Niños con síndrome diarreico agudo y niños controles, *Campylobacter* positivos según la condición socioeconómica, en Cumaná, Venezuela.

Graffar	Pacientes positivos		Controles positivos	
	Casos	%	Casos	%
Clase alta (G1)				
Clase media alta (G2)			1	8,33
Clase media baja (G3)	8	12,31	-	-
Clase obrera (G4)	10	15,38	4	33,33
Clase marginal (G5)	47	72,31	7	58,33
Total	65	100,00	12	100,00

Tabla 4. Niños con síndrome diarreico agudo y niños controles, *Campylobacter* positivos según el tipo de alimentación, en Cumaná, Venezuela.

Tipo de alimentación	Pacientes positivos		Controles positivos	
	Casos	%	Casos	%
Leche materna exclusiva (L1)	8	12,31	1	8,33
Leche materna más agua (L2)	1	1,54	3	25,00
Leche materna más otros alimentos (L3)	4	6,15	2	16,70
Leche materna más leche no materna (L4)	28	43,10	3	25,00
Leche no materna (L5)	9	13,85	0	0
Leche no materna más otros alimentos (L6)	15	23,08	3	25,00
Total	65	100,00	12	100,00

Tabla 5. Niños con síndrome diarreico agudo y niños controles *Campylobacter* positivos según el estado nutricional, en Cumaná, Venezuela.

Estado nutricional	Pacientes positivos		Controles positivos	
	Casos	%	Casos	%
Normal	40	61,54	11	91,67
Grado I	18	27,69	1	8,33
Grado II	5	7,69	-	-
Grado III	2	3,08	-	-
Total	65	100,00	12	100,00

AGRADECIMIENTO

A los médicos estudiantes del postgrado en Pediatría y a las enfermeras del Hospital Universitario Antonio Patricio de Alcalá de Cumaná, estado Sucre, que nos asistieron en la realización de la primera fase de este estudio.

DISCUSIÓN

Ha sido reportado y confirmado desde distintas partes del mundo que la frecuencia de *Campylobacter* es variable y depende de la zona geográfica. A los países en vías de desarrollo corresponden los valores más altos y a las naciones industrializadas los más bajos, que para el caso de los niños con diarrea oscilan entre 4,3% y 13,9% y para los portadores sanos son inferiores al 1%. Se ha dicho que esta variación de la frecuencia de la bacteria es consecuencia de diferencias en la aplicación de las normas de higiene, lo cual es más estricto en los países desarrollados. En el presente estudio, la frecuencia de aislamiento fue alta tanto para los niños con SDA como para los niños del grupo control, esto evidencia grandes deficiencias en las normas sanitarias en la ciudad de Cumaná, lo que favorece una mayor exposición a la bacteria. Sin embargo, esta exposición prolongada en el tiempo, podría facilitar el desarrollo de inmunidad frente al microorganismo, lo que explicaría junto con la circulación de cepas de *Campylobacter* menos virulentas, la alta frecuencia detectada en los niños asintomáticos (Blaser 2000, García y Cravioto 2007).

Campylobacter se aisló como único patógeno bacteriano en un alto porcentaje y, en menor frecuencia, se encontró asociado a otros patógenos bacterianos, destacando la asociación con *Klebsiella pneumoniae* (26,15%), considerado como un enteropatógeno

emergente productor de una enterotoxina termoestable que ocasiona diarrea aguda en niños (Ananthan y Alavandi 1999, García y Cravioto 2007, Albert *et al.* 2008). Es posible que estas asociaciones agraven el cuadro clínico de la enfermedad debido a la acción sinérgica de los patógenos involucrados.

Las manifestaciones clínicas de los niños con SDA positivos para *Campylobacter* y la presencia de moco, sangre o de ambos en las heces de un buen número de casos, son consistentes con las características disintéricas de la patología reportada para esta bacteria. Aun no está claro si los signos y síntomas reportados, resultan de diferencias en el huésped o son debidos a la cepa involucrada (Konkel *et al.* 2001), pero si es cierto que características disintéricas similares a las observadas en este estudio, han permitido especular que *Campylobacter* puede poseer un mecanismo patógeno de tipo invasor relacionado con la elaboración de una toxina (Blaser 2000).

Las tres especies de *Campylobacter* aisladas en este estudio mostraron altos porcentajes de resistencia a la eritromicina, antibiótico de primera elección en las *enteritis* causadas por esta bacteria. La resistencia al antibiótico quizás este dada por su uso indiscriminado, propio de la mala práctica de automedicación muy común en nuestra población, resultados que coinciden con los reportados por Rivera *et al.* (2007).

Campylobacter se aisló con mayor frecuencia en el grupo de edad de 0-6 meses y se observó asociación muy significativa entre la edad del niño con SDA y la presencia de la bacteria. Esta observación es notoria si se considera que en los primeros meses de vida los niños son más susceptibles a contraer enfermedades infecciosas, probablemente debido a la preparación inadecuada de las fórmulas lácteas y otros alimentos (Velasco *et al.* 2001) y a que su sistema inmune aun no está bien desarrollado, por lo cual su mecanismo de defensa específico estaría limitado casi exclusivamente a la protección pasiva que les brindan los anticuerpos de la leche materna, de aquí la importancia del amamantamiento del niño al menos durante los primeros 6 meses de vida (García y Cravioto 2007).

Con relación a otros parámetros epidemiológicos, la prueba de Ji cuadrado no detectó asociación significativa entre los casos de diarrea positivos a *Campylobacter* y el género, estado nutricional y condición socioeconómica de los pacientes. El estado nutricional presentado por la mayoría de los niños con diarrea y controles positivos

para campilobacterias fue normal, aunque pertenecían a la clase marginal, correspondiente al estrato socioeconómico más bajo. Este estrato social reúne las malas condiciones de higiene y salubridad que favorece la exposición a los patógenos entéricos.

En conclusión, la alta frecuencia con que se observó *Campylobacter* en los niños con SDA sugiere que la población susceptible está frecuentemente expuesta a la bacteria y que, en consecuencia, es recomendable investigar su presencia de forma rutinaria en los coprocultivos, a los fines de no omitir una fuente importante de información para los clínicos. Por otro lado, se deben implementar programas preventivos de educación sanitaria que puedan contribuir a disminuir la infección y la enfermedad por esta causa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANANTHAN RS., ALAVANDI S. 1999. Enterotoxigenicity of *Klebsiella pneumoniae* associated with childhood gastroenteritis in Madras, India. *Jpn. J. Infect. Dis.* 52 (1):16-17.
- ALBERT M.J., HARIDAS S., ADLER B. 2008. Major outer membrane proteins from many *Campylobacter* species cross-react with cholerae toxin. *Clin. Vaccin. Immun.* 15(5):859-862.
- BAUER A., KIRBY W., SHERRIS W., TURCK M. 1966. Antibiotic susceptibility testing a standardized single disk method. *Amer. J. Clin. Pathol.* 45:493-496.
- BI P., CAMERONS AS., ZHANG Y., PARTON KA. 2008. Weather and notified *campylobacter* infections in temperate and subtropical regions of australia: an ecological study. *J. Infection.* 57(4):317-323.
- BLASER M. 2000. *Campylobacter jejuni* and related species. En: Mandell, Bennett, Dolin, Eds. Principles And Practice Of Infectious Diseases. 5th Ed. New York: Churchill Livingstone, Philadelphia, Pa. pp. 2276-2285.
- FAYAD C.V. 1988. Estadística médica. Edit. Consejo de publicaciones de la Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. 270 pp.
- GARCÍA E., CRAVIOTO A. 2007. *Campylobacter* y enfermedades asociadas. *Rev. Fac. Med. UNAM.* 56(1): 31-35.

- GÓMEZ J., CAMPDERÁ A., RODRÍGUEZ R., GONZÁLEZ M. 2001. Gastroenteritis por *Salmonella*, *Shigella* y *Campylobacter*. En: protocolos diagnósticos y terapéuticos en pediatría infectología. Asociación española de pediatría. Cap. 17. pp. 111-120.
- KONKEL M., MONTEVILLE M., RIVERA-AMIL V., JOENS L. 2001. The pathogenesis of *Campylobacter jejuni*-mediated enteritis. *Curr. Issues. Intest. Microbiol.* 2(2): 55-71.
- MEDEIROS M., NEME S., DA SILVA P., CAPUANO D., ERRERA M., FERNANDES S., VALLE G., AVILA F. 2001. Etiology of acute diarrhea among children in ribeirão preto-sp, brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paul.* 43 (1): 21-24.
- PERALES M., CAMIÑA M., QUIÑONES C. 2002. Infección por campylobacter y shigella como causa de diarrea aguda acuosa en niños menores de dos años en el distrito de La Victoria, Lima - Perú. *Rev. Peru. Med. Exp. Sal. Pub.* 19 (4):186-192.
- RIVERA N., FERNÁNDEZ H., BUSTOS R., VALENZUELA M., TRABAL E., MONTENEGRO S., CASTILLO J., PALMA C., PINCHEIRA E., CONTRERAS A., CHAVEZ D. 2007. Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Campylobacter* aisladas de carcasas de aves, sangre y fecas humanas. *Rev. Latin. Actual. Biom.* 1(2): 32-37.
- TOPOROVSKI M., MIMICA I., CHIEFFI P., PASCHOALOTTI M., DIAS A., SILVA C. 1999. Diarréia aguda em crianças menores de 3 anos de idade: recuperação de controle. *J. Pediatr. (Rio de Janeiro).* 75 (2): 97-104.
- URRESTARAZU M., LIPRANDI F., PÉREZ DE SUÁREZ E. 1999. Características etiológicas, clínicas y sociodemográficas de la diarrea aguda en Venezuela. *Rev. Panam. Sal. Púb.* 6 (3): 149-156.
- VELASCO J., DELGADO L., NIEVES B., PÉREZ I., FLORES A., HERNÁNDEZ J., SÁNCHEZ K. 2001. Campilobacterias termotolerantes como causa de enfermedad diarreaica aguda (SDA) en niños merideños. *Rev. Fac. Farm. (Caracas).* 42: 47-54.