

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

---

---

DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



PREVALENCIA DE ANTICUERPOS VIBRIOCIDAS EN  
DERECHO-HABIENTES DEL I.M.S.S. EN GUADALAJARA

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A

MA. FELICIANA CHAVEZ GONZALEZ

ZAPOCAN, JAL. NOVIEMBRE DE 1994



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Expediente .....

Número .....

Sección .....

SRITA. MA. FELICIANA CHAVEZ GONZALEZ

P R E S E N T E .-

Manifiesto a usted, que con esta fecha ha sido aprobado el tema de tesis **PREVALENCIA DE ANTICUERPOS VIBRIOCIDAS EN DERECHO-HABIENTES DEL I.M.S.S. EN GUADALAJARA** para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informo que ha sido aceptado como Director de dicha tesis el Dr. Sergio Aguilar Benavides.

A T E N T A M E N T E

"PIENSA Y TRABAJA"

Guadalajara, Jal., 28 de Junio de 1993

EL SECRETARIO

ENCARGADO DEL DESPACHO DE LA DIRECCION



FACULTAD DE  
CIENCIAS BIOLÓGICAS

BIOL. JESUS ALBERTO ESPINOSA ARIAS.

c.c.p.- El Dr. Sergio Aguilar Benavides, Director de Tesis.-pte.

c.c.p.- El expediente del alumno

jaea/cglr.

Al contestar este oficio dítese fecha y número

C.  
Director de la Facultad de Ciencias Biológicas  
de la Universidad de Guadalajara

PRESENTE.

Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo revisado el trabajo de tesis que realizó la Pasante M.A. FELICIANA CHAVEZ GONZALEZ código número 82274103 con el título PREVALENCIA DE ANTICUERPOS VIBRIOCIDAS EN DERECHO-HABIENTES DEL I.M.S.S. EN GUADALAJARA.

consideramos que reúne los méritos necesarios para la impresión de la misma y la realización de los exámenes profesionales respectivos.

Comunicamos lo anterior para los fines a que haya lugar.

ATENTAMENTE

Guadalajara, Jal. a de 1994.

EL DIRECTOR DE TESIS



SINODALES

1.- BIOL. MARICELA MENDOZA M.

Nombre completo

Firma

2.- DR. OSVALDO PALACIOS R.

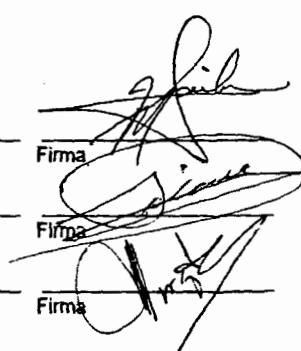
Nombre completo

Firma

3.- Q.F.B. MARGARITA BONILLA.

Nombre completo

Firma



**ESTE TRABAJO SE REALIZO EN EL  
LABORATORIO REGIONAL DE  
REFERENCIA EPIDEMIOLOGICA DEL  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO  
SOCIAL.**

**DIRECTOR DE TESIS  
DR. SERGIO AGUILAR BENAVIDES**

## **AGRADECIMIENTO:**

**- A CADA UNA DE LAS PERSONAS QUE LABORAN EN EL LABORATORIO REGIONAL DE REFERENCIA EPIDEMIOLOGICA POR HABERME BRINDADO SU APOYO Y AMISTAD. ESPECIALMENTE AL DR. SERGIO AGUILAR BENAVIDES JEFE DEL LABORATORIO Y UN GRAN AMIGO.**

**- AL DR. EVERARDO PAREDES MOLINA POR SU AMISTAD Y COLABORACION EN ESTE TRABAJO.**

**- AL DR. JOSE JESUS TRUJILLO POR SU COLABORACION EN ESTE TRABAJO.**

**AUTOR: MA. FELICIANA CHAVEZ GONZALEZ.**

**DEDICATORIA:**

**"A MIS PADRES Y A LA MAXIMA CASA DE ESTUDIOS  
POR SER LA BASE FUNDAMENTAL DE MI  
PREPARACION"**

**"A JAVIER POR ESTAR SIEMPRE CONMIGO"**

## INDICE

	PAG.
INTRODUCCION .....	1
ANTECEDENTES .....	4
CARACTERISTICAS GENERALES	
TAXONOMIA, MORFOLOGIA Y FISILOGIA DE V.cholerae .....	9
MECANISMO DE PATOGENICIDAD .....	13
DIAGNOSTICO DE LABORATORIO .....	14
JUSTIFICACION, HIPOTESIS, Y OBJETIVO .....	16
MATERIAL Y METODOS .....	18
RESULTADOS .....	26
DISCUSION .....	28
CONCLUSIONES .....	30
BIBLIOGRAFIA .....	31

## INTRODUCCION

El cólera es una infección intestinal aguda grave, que se caracteriza por la aparición brusca de diarrea acuosa y abundante, vómitos, deshidratación rápida, acidosis, colapso circulatorio y en los casos no tratados se produce la muerte dentro de las 24 horas de su aparición (1).

La enfermedad es transmitida por la ingestión de *Vibrio cholerae* el cual es transportado a través de vegetales y frutas que pueden ser contaminadas si son regadas con agua que contenga el microorganismo, o bien puede contaminarse durante el manejo o distribución, con heces de los manejadores. El aislamiento del agente infeccioso de aguas municipales que proveen los sistemas, indica que estos han sido una importante vía de transmisión del cólera; el consumo de comida en la calle en condiciones no higiénicas, es también un importante factor. Las aguas no tratadas y descargadas en rios y en el océano resulta en una extensa contaminación de materia fecal y otros elementos. La transmisión del cólera ha sido ligada también al consumo de numerosos tipos de productos pesqueros. Algunos de éstos son contaminados en su hábitat, pero otros lo son durante su manejo, por lo que el consumo crudo de estos productos representa un grave riesgo y es necesario destruir los posibles contaminantes cocinando bien dichos productos (2).



El cólera es especialmente común al sur y sudeste de Asia, afecta muchas áreas de Africa, Oceanía y el Este Medio (3); pero también han ocurrido brotes en países industrializados como Israel, Italia, Portugal y más recientemente en los Estados Unidos (4).

La ocurrencia de cólera humano a lo largo del Golfo de México y en los Estados Unidos, han hecho necesario mantener una vigilancia del cólera en éste último país (5).

*Vibrio parahaemolyticus* es el causante de diarreas en Japón y está siendo aislado más frecuentemente en otras partes del mundo (5).

Aún otras especies son asociadas a severas infecciones sistémicas, *Aeromonas spp* y *Plesiomonas shigelloides*, son otros miembros de la familia Vibrionaceae y pueden también ser relacionadas a enfermedades diarreicas humanas. En cada uno de estos males el cultivo del microorganismo es necesario para hacer el diagnóstico definitivo; sin embargo en el caso del cólera, pruebas serológicas pueden ser usadas para confirmar el diagnóstico, así como para las investigaciones epidemiológicas de los portadores (6). Así personas infectadas con *V. cholerae* en el pasado pueden ser identificadas por estudios de anticuerpos en el suero; los exámenes serológicos como bacteriológicos son importantes componentes de vigilancia en áreas populares donde el *V. cholerae* ha sido aislado (4).

**Ya que la detección temprana de la infección cólerica y la determinación de las características epidemiológicas de los brotes facilitan considerablemente la lucha contra el cólera (6).**

## **ANTECEDENTES:**

**A nivel mundial las enfermedades diarréicas ocupan el segundo lugar como causa de mortalidad, sólo superadas por las enfermedades cardiovasculares. En algunos lugares especialmente llamados del Tercer Mundo, ocupan el primer lugar como causa de morbimortalidad. Se estima que a causa de la diarrea mueren anualmente en el mundo subdesarrollado de cuatro a seis millones de niños. Aún más alarmante que la mortalidad asociada a la diarrea, es la morbilidad que se presenta en todo el mundo y especialmente en poblaciones de bajo nivel sociocultural. En los Estados Unidos se presentan anualmente 1.5 a 1.9 casos de diarrea por persona, mientras que en zonas tropicales de países en vías de desarrollo, la población pediátrica padece de 15 a 19 cuadros diarréicos por persona.**

**De la misma manera que varía la frecuencia de enfermedades diarréicas entre países desarrollados y subdesarrollados, la etiología de la diarrea varía también según el nivel sociocultural de la población y el área geográfica que se estudie. Estas pueden ser causadas por virus, que en todo el mundo ocupan el primer lugar como causa de diarrea; de las causas bacterianas, *E. coli*. enteropatógena sigue siendo la causa más importante de diarreas en el tercer mundo; en relación con las causas parasitarias, éstos continúan siendo una causa muy importante en las áreas en desarrollo.**

En nuestro país Rotavirus, *Salmonella*, *Shigella* y *Campylobacter* ocupan un lugar muy importante como causa de diarrea y recientemente ha tomado importancia *V. cholerae*.

El tipo de diarrea producida por *V. cholerae* es no invasiva y caracterizada por vómito y evacuaciones acuosas sin moco y sangre (7).

Esta enfermedad ha sido reconocida por siglos, pero hasta los años de 1800 fué confinada a Asia. Desde ese tiempo siete pandemias han ocurrido. La primera llegó a las Américas en 1832 durando hasta la segunda pandemia 1829-1850; en la tercera pandemia (1853-1863) se asoció la enfermedad a la ingestión de agua contaminada; la cuarta pandemia se originó en 1863 y fué la causante de medio millón de muertes en Europa. Los estudios en busca del agente causal se iniciaron durante la quinta pandemia en Egipto en 1881 (8). La sexta pandemia (1899-1923) no llegó a América y no fueron reportados casos de cólera en este hemisferio hasta 1973, cuando un caso de origen desconocido ocurrió en Texas, Estados Unidos. La séptima pandemia inició en 1961 cuando hubo un brote en una area endémica en Indonesia. Una severa epidemia de cólera se presentó en algunos países de Sud-América, siendo la más severa en Perú, donde el primer caso fué reportado el 23 de enero de 1991, siendo identificado el agente causal como *V. cholerae*, serogrupo O1, serovariedad Inaba, biotipo El Tor.

**Esta epidemia que forma parte de la séptima pandemia se expandió rápidamente en pocos días. Las regiones montañosas y tropicales de los países extranjeros fueron afectadas aproximadamente 16 y 29 días, respectivamente, después del inicio de la epidemia en las costas de Perú.**

**Medidas preventivas fueron tomadas por los países vecinos, sin embargo la epidemia llegó a Ecuador el 28 de Febrero, a Colombia el 8 de Marzo, a Chile el 16 de Abril, a Brasil el 22 de Abril, a Estados Unidos el 24 de Abril, a Guatemala el 24 de Julio y al Salvador en Agosto (2).**

**A partir del 13 de Junio de 1991 se tuvo conocimiento del primer caso de cólera en nuestro país, después de más de 100 años de no haberse notificado y/o registrado alguno. Durante este año fueron registrados y confirmados 2,690 casos de cólera; observando el comportamiento de la epidemia se reportaron un mayor número de casos entre las semanas epidemiológicas 35 y 48, de acuerdo con la edad los más afectados fueron mayores de 25 años (32) y con un predominio de los varones de 56.6% (9).**

**Hasta Octubre de 1992 se habían notificado 7,644 casos de cólera en México, con una tasa de 8.6 casos por 100,000 habitantes; reportaron los estados de Campeche, Yucatán y Guerrero cifras de 176.00, 68.5 y 49.5 por 100,000 habitantes respectivamente.**

La mortalidad en la República Mexicana es de 0.11 defunciones por cada 100,000 habitantes con una letalidad de 1.3 por 100 casos registrados. El porcentaje de hospitalización a nivel nacional fué de 22.0% . Durante 1992 en Jalisco se confirmaron 22 casos, ninguno de ellos requirió hospitalización (10).

Hasta la semana epidemiológica No. 23 en 1993 se tenían notificados 2,580 casos de cólera con una tasa de incidencia de 2.91 por 100,000 habitantes, correspondiendo a Jalisco 17 casos y una tasa de 0.31 por 100,000 habitantes (11).

El diagnóstico del cólera se basa primeramente en el aislamiento del organismo de muestras de heces, aunque la demostración de un aumento del título de anticuerpos aglutinantes, vibriocidas o de antitoxinas en muestras de suero es también efectivo para un diagnóstico retrospectivo (12). Ya que se ha demostrado incremento significativo de la actividad vibriocida del suero en presencia de complemento y que la Ig.A aislada de leche, suero y jugo intestinal reacciona con antígeno lipopolisácarido de *V. cholerae*; también se ha reportado incremento de la Ig.G contra proteínas de membrana en un 50% y en un 60% incremento de Ig.A contra toxina del cólera durante un tiempo corto.(8) Estudios inmunoquímicos han demostrado cualitativa y cuantitativamente diferencias entre anticuerpos vibriocidas en áreas endémicas y no endémicas.

Los anticuerpos vibriocidas naturalmente adquiridos en individuos no vacunados de áreas no endémicas (USA y Checoslovaquia) fueron en cada caso globulinas Ig.M, mientras que 90% de 40 sueros de Bangladesh, India (zona endémica) demostró actividad de globulinas Ig.M e Ig.G (13).

En un estudio llevado a cabo por M.L. Clement y colaboradores, encontraron un incremento de anticuerpos vibriocidas en 97% de las personas estudiadas con diarrea y sin ésta, por lo que un estudio serológico puede detectar las infecciones que no se encontraron por métodos bacteriológicos (4).

En los casos declarados los anticuerpos aparecen al cabo de cinco a siete días de iniciada la enfermedad por lo que es necesario comparar muestras de sueros tomados en los tres primeros días de la enfermedad, con otras obtenidas entre los días séptimo y décimocuarto (6).

De las pruebas contra antígenos de la pared celular la prueba de anticuerpos vibriocidas es una de las más comúnmente usadas, ya que está bien adaptada como prueba de tamiz para un gran número de muestras; un ensayo de anticuerpos vibriocidas puede ser muy útil en estudios seroepidemiológicos o en estudios de reciente ocurrencia del cólera en áreas no endémicas (3).

Algunos autores han realizado estudios de detección de anticuerpos contra *V. cholerae* y han encontrado a la prueba de anticuerpos vibriocidas significativamente más sensible que la prueba de aglutinación (4, 13, 14, 15, 16).

## CARACTERISTICAS DEL *Vibrio cholerae*

### TAXONOMIA

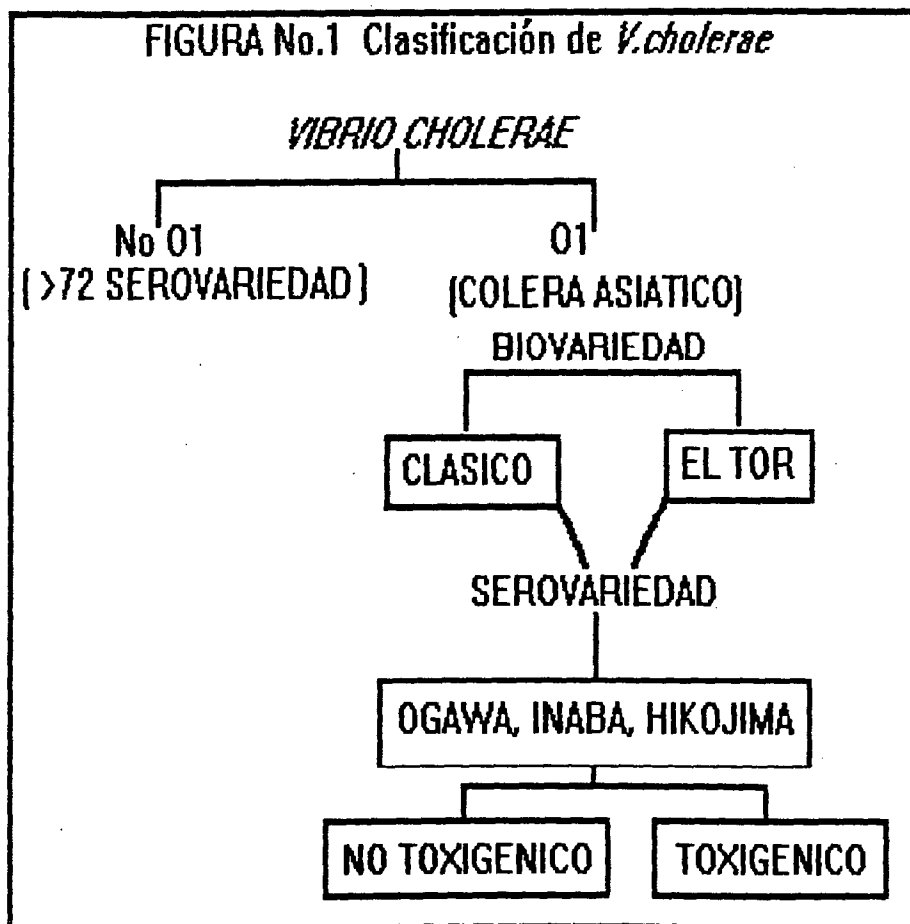
De acuerdo a la novena edición del Manual de Bergey la familia *Vibrionaceae* incluye tres generos de importancia clínica: *Vibrio*, *Aeromonas* y *Plesiomonas* (17).

El género *Vibrio* contiene algunos de los más importantes patógenos intestinales del hombre, incluyendo *V. cholerae* causante de la epidemia del cólera asiático. *V. parahaemoliticus* y *V. alginoliticus* han sido incorporados en una sola especie que es *V. parahaemolyticus* y *V. fetus* está incluido en el género *Campylobacter*. Otros vibrios son conocidos como "Vibrio no coléricos" o "Vibrios no aglutinables" que pueden causar diarrea en el hombre (5).

Los antígenos O o somáticos, constituyen los antígenos de mayor importancia en el agrupamiento serológico del *Vibrio cholerae*, el cual parece compartir el mismo antígeno H. La mayoría de las serovariedades son clasificadas dentro de los 6 grupos antigénicos O; los vibrios no epidémicos también se agrupan como *V. cholerae* no O1. El serogrupo O1 contiene las biovariedades Clásico y El Tor (fig.1). El Clásico no lisa los eritrocitos de carnero, es Voges-Proskauer positivo, polimixina resistente y es beta hemolítico (tabla 1), pero algunas de las cepas aisladas en la última pandemia han perdido esta característica. En la actualidad *V. cholerae* El Tor es el más aislado, pero antes de 1970 era más común aislar El Clásico (1, 5, 8).



Tres factores antigénicos A, B y C son usados para subdividir el grupo O:1 en las serovariedades Ogawa, Inaba, e Hikojima (fig.1), de tal forma que la serovariedad Ogawa posee los factores AB, Inaba AC e Hikojima ABC (tabla 2) (5).



**TABLA No.1 Diferenciación bioquímica de *V. cholerae* Serogrupo O:1**

PRUEBA	BIOTIPO	
	CLASICO	EL TOR
Prueba Voges-Proskauer a 22°C	-	+
Aglutinación con Eritrocitos de pollo	-	+
Sensibilidad a Polimixina B 50 UI	+	-
Sensibilidad al Fago-cholera grupo IV	+	-

FUENTE: Willet, Joklik. Microbiology.

**TABLA No.2 Determinantes antigénicos del serogrupo O:1**

SEROTIPO	FACTORES "O"
OGAWA	AB
INABA	AC
HIKJIMA	ABC

FUENTE: Giono S. y Cols. Manual de procedimiento y caracterización de *V. cholerae*.

## MORFOLOGIA Y FISILOGIA DEL *V. Choleare*

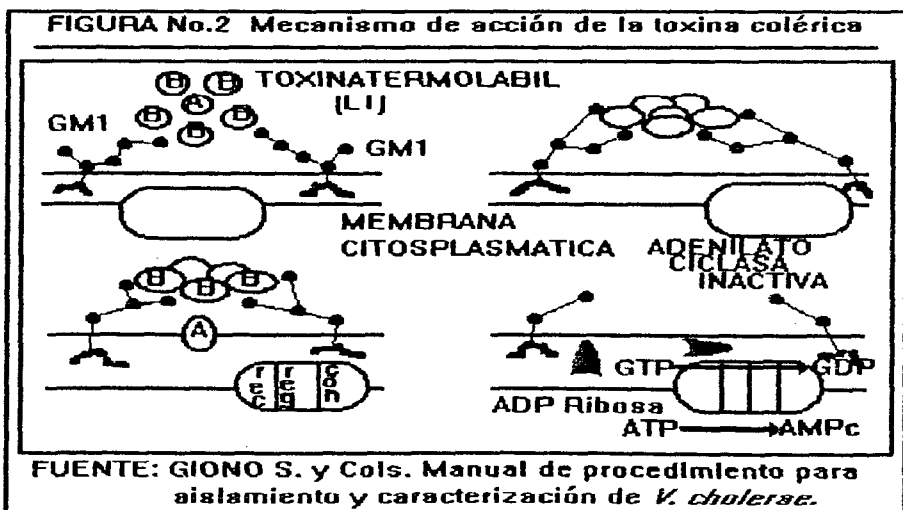
*Vibrio cholerae* es un bacilo Gram negativo, corto, de 0.5 a 1.5  $\mu$ , móvil con un solo flagelo polar, no capsulado que crece bién y rápidamente en medios con nutrientes estandarizados; es quimioorganotrófico y su metabolismo es por respiración (utilizando el oxígeno) o fermentativo; es oxidasa positivo, facultativamente anaerobio, crece a temperatura de 18 a 37°C. Sus demás características se presentan en la tabla 3 (17).

TABLA No.3 Propiedades bioquímicas del <i>V.cholerae</i>	
PRUEBA	REACCION
INDOFENOL OXIDASA	+
INDOL	+
SENSIBILIDAD O/129	+
LECITINASA	+
CRECIMIENTO EN NaCl	+
LISINA DESCARBOXILASA (MEDIO MOELLER`S)	+
ORNITINA DESCARBOXILASA (MEDIO MOELLER`S)	+
ARGININA DHDROI ASA (MEDIO MOELLER`S)	-
UTILIZACION DE CITRATO EN CRECIMIENTO A 5°C	VARIABLE
FERMENTACION CON SUCROSA	-
REACCION EN (TSI)	A/A No gas

FUENTE: Willet, Joklik. Microbiology.

## MECANISMO DE PATOGENICIDAD

El *V. cholerae* produce una toxina cuya acción sobre la mucosa del intestino delgado es responsable de la diarrea característica de la enfermedad; ésta toxina es una proteína oligomérica compuesta de una subunidad A1, una subunidad A2 y cinco subunidades B estas son responsables de la fijación de la toxina al receptor GM1 en la membrana celular del epitelio del intestino delgado. La subunidad A1 activa el complejo enzimático adenilato ciclasa, incrementando los niveles intracelulares del AMPc inhibiendo la absorción de NaCl e incrementando la Secresión de cloro y bicarbonato, produciendo diarrea secretora que puede ser tan severa con producción de un litro por hora de gasto fecal Fig.2 (1, 5).



## DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

Muestras de Heces son tomadas del paciente y colocadas en medio de transporte Cary-Blair si no se cuenta con agar selectivo, y transportada al laboratorio donde se procesará. Una vez en el laboratorio las muestras se pasan a un medio selectivo (el más usado es agar tiosulfato-citrato-bilis-salina-sacarosa) y en un caldo enriquecido (más usado agua peptonada alcalina), ambos se incuban a 37°C durante 24 horas, después de las cuales el agua peptonada se resiembró en medio de TCBS y se incubó nuevamente. En estos medios se observa el crecimiento de los vibrios aquellos que fermentan la sacarosa (*V. cholerae*, *V. alginoliticus*, *V. cincinnatiensis*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. metschnikovii* y algunos *V. vulnificus*) aparecen colonias lisas, opacas, de bordes delgados y de color amarillo.

Otras especies de Vibrio clínicamente importantes no fermentan la sacarosa y aparecen de color verde olivo. Los organismos fermentadores aislados de TCBS y con la prueba de oxidasa positiva deberán realizarles pruebas bioquímicas. A excepción de *V. metschnikovii* todas las especies de Vibrio son oxidasa positiva. Las especies de Vibrio halofílicas requieren de la adición de NaCl (18). Las pruebas bioquímicas clásicas, comúnmente usadas para las Enterobacteriaceae trabajan bien para *V. cholerae* y *V. mimicus* aunque es recomendable para los halofílicos adicionar los medios con NaCl al 1%.

Más especies de Vibrio son indol positivo cuando se usa caldo cerebro-corazón en lugar de agua peptonada y más especies son Voges-Proskauer positivo cuando el reactivo para detectar acetilmetilcarbinol contiene alfa naftol.

Las especies de Vibrio pueden ser divididas en seis grupos en base a los requerimientos de sodio, prueba de oxidasa, reducción de nitrato a nitrito, fermentación de mio-inositol y producción de arginina dehidrolasa, lisina descarboxilasa y ornitina descarboxilasa (tabla 4) (12, 16).

TABLA No.4 PRUEBAS PARA CLASIFICAR ESPECIES DE <i>VIBRIO</i>												
PRUEBA	Grupo 1		Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5			Grupo 6			
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
CRECIMIENTO												
Sin NaCl	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Con NaCl al 1%	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
OXIDASA			-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NITRATO → NITRITO			-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
FERMENTACION de Mio-Inositol				+	-	-	-	-	-	-	-	-
ARGININA DEHIDROLASA					-	+	+	+	-	-	-	-
LISINA DESCARBOXILASA					-				+	+	+	+
ORNITINA DESCARBOXILASA												
A= <i>V.cholerae</i>	D= <i>V.cincinnatiensis</i>		G= <i>V.fluvialis</i>		J= <i>V.parahaemol.</i>							
B= <i>V.mimicus</i>	E= <i>V.hollisae</i>		H= <i>V.furnissii</i>		K= <i>V.vulnificus</i>							
C= <i>V.metschnikovii</i>	F= <i>V.damseis</i>		I= <i>V.alginolyticus</i>		L= <i>V.carchariae</i>							
FUENTE: Balows A. y Cols. Manual of Clinical Microbiology.												

## **JUSTIFICACION:**

**A partir del 13 de Junio de 1991 en que se tuvo conocimiento del primer caso de cólera en la Republica Mexicana, su incidencia ha venido aumentando en todas las entidades del país, especialmente en épocas de verano, en la que el agua puede contaminarse fácilmente, lo cual se transmite también en contaminación de productos alimenticios por el mal manejo de éstos.**

**Tratándose de una infección intestinal la prevención que se tenga de ella implicará su control y manejo; Y por lo tanto mejores condiciones de salud en la población en general y sobretodo en la de mayor riesgo.**

**En Guadalajara, sin embargo, no se tiene ningún estudio de Prevalencia de anticuerpos contra *V.cholerae*, siendo este tipo de estudios de suma importancia en áreas de reciente ocurrencia del cólera y que no son endémicas, además la información que se deriva de este tipo de estudios permite tener una concepción más acertada de la exposición y expansión de la enfermedad, misma que puede ser utilizada para iniciar o mejorar los programas de Salud Pública, para un mayor control de la enfermedad.**

## **HIPOTESIS**

**El porcentaje de exposición a *V. cholerae* en derecho-habientes del IMSS es muy alto.**

## **OBJETIVO**

**Investigar la prevalencia de anticuerpos vibriocidas en los derecho-habientes usuarios del IMSS en la ciudad de Guadalajara, Jalisco.**



## MATERIAL Y METODOS

**Descripción de la Prueba de Anticuerpos Vibriocidas:** La técnica de anticuerpos vibriocidas se basa en la muerte de la bacteria, la cuál ocurre en la presencia de anticuerpos y en exceso de complemento; para llevarla a cabo una mezcla estandarizada de bacteria fresca y complemento es añadida a diluciones de suero, y el título se determina por dilución de suero en el que el crecimiento de la bacteria no es observado después de la incubación (3). Algunos autores iniciaron desarrollando la técnica como una prueba de dilución en tubo (14). Benenson describió un método para llevar a cabo la técnica en microplaca (15). La técnica vibriocida es ahora más comunmente llevada a cabo en microplaca similar a la descrita por Benenson (3).

**Tamaño de la Muestra:** Esta se determinó según los estudios de Prevalencia; considerando una Confianza del 95% y un error de 5% con una P variable para cada grupo de edad.

$$\text{Fórmula: } n = Z^2 (P (1 - P) / d^2$$

n = Tamaño de la Muestra

Z = Nivel de confianza

P = Prevalencia

d = Factor de Precisión

La muestra se seleccionó de las Unidades Médico Familiares (UMF) que atienden a la población de alto riesgo de la zona metropolitana de Guadalajara. Del total de la población derecho-habiente usuaria a Médico Familiar, se agrupó por intervalos en donde cada intervalo correspondió a la población de la UMF; al azar se asignó el número de muestras para cada intervalo seleccionado, estas fueron de pacientes entre 5-64 años de edad agrupados en los grupos etarios que se observan en la tabla 5.

U.M.F.	5-14	15-24	25-44	45-64	total
1	3	3	5	7	18
2	10	12	28	20	70
3	11	27	30	21	89
34	12	18	28	22	80
48	10	15	30	24	79
53	11	13	30	24	78
78	6	5	28	20	59
<b>TOTAL</b>	<b>63</b>	<b>93</b>	<b>179</b>	<b>138</b>	<b>473</b>

Las muestras se obtuvieron de los pacientes que demandaron exámenes de química sanguínea y para pruebas febriles en los laboratorios de las clínicas que entraron en el estudio.

Los sueros se manejaron con cuidado para no contaminarlos, aunque no necesariamente tenían que ser estériles para la prueba. De cada suero se tomaron los datos del nombre del paciente, edad, sexo, número de folio y número de consultorio y se llevaron al Laboratorio Regional de Referencia Epidemiológica (LARRE), en donde se registraron y se guardaron en refrigeración hasta ser procesados.

Es preciso mencionar que la muestra calculada fué mucho menor, más se aumentó al doble para potenciar la representatividad de la misma.

## REACTIVOS

- Cepas: *V. cholerae* O1 serovariedad Inaba y Ogawa aislados de pacientes en el Laboratorio Regional de Referencia Epidemiológica.

- Complemento: Se usó suero de cuyo como fuente de complemento; a este se le hizo la prueba, para comprobar ausencia de anticuerpos vibriocidas y se mantuvo congelado hasta antes de su uso.

- Controles Positivos: Para obtener suero control positivo se inmunizaron conejos con antígeno preparado según técnica descrita (18), también se utilizó como control positivo antisuero Inaba preparado por el INDRE.

- Solución Salina: Al 0.85% estéril.

- Agar Soya Tripticasa y Caldo Soya Tripticasa.

- Antígenos: Un día antes de la prueba se sembraron en agar soya tripticasa (Bioxon) *V. cholerae* serovariedad Inaba y *V. cholerae* serovariedad Ogawa. Se incubaron a 37°C durante 24 horas; el día de la prueba se hizo una resiembra de éstos nuevamente en agar soya y se incubaron a 37°C durante 3 horas, esto con el fin de tener crecimiento en la fase logarítmica. Después de la incubación el crecimiento se cosechó con solución salina 0.85% estéril. La concentración de bacterias se ajustó al tubo número 10 del nefelómetro de Macfarland (310 bacterias por mililitro).

- Mezcla Bacteria-Complemento: De la suspensión de bacterias se hizo una dilución de 1:10 y del suero del cuyo se hizo esta misma dilución y ambos se mezclaron en igual cantidad.

## PROCEDIMIENTO

1.- A cada pozo de la placa se le colocaron 0.25  $\mu$ l de solución salina con micropipeta y punta estéril.

2.- Para cada suero a estudiar se hicieron diluciones en los pozos iniciando con una dilución de 1:10 hasta 1:640, las diluciones se hicieron por duplicado, una tira para Ogawa y otra para Inaba. Los controles positivos se diluyeron de la misma forma. Como los controles negativos se utilizaron suero de paciente sin anticuerpos vibriocidas y solución salina estéril.

3.- Se añadieron 25  $\mu$ l de la mezcla de bacteria-complemento Ogawa a la primera línea de cada uno de los sueros a estudiar y 25  $\mu$ l de mezcla bacteria-complemento Inaba a la segunda línea de pozos de cada muestra.

4.- Las placas se taparon y se incubaron a 37°C durante una hora.

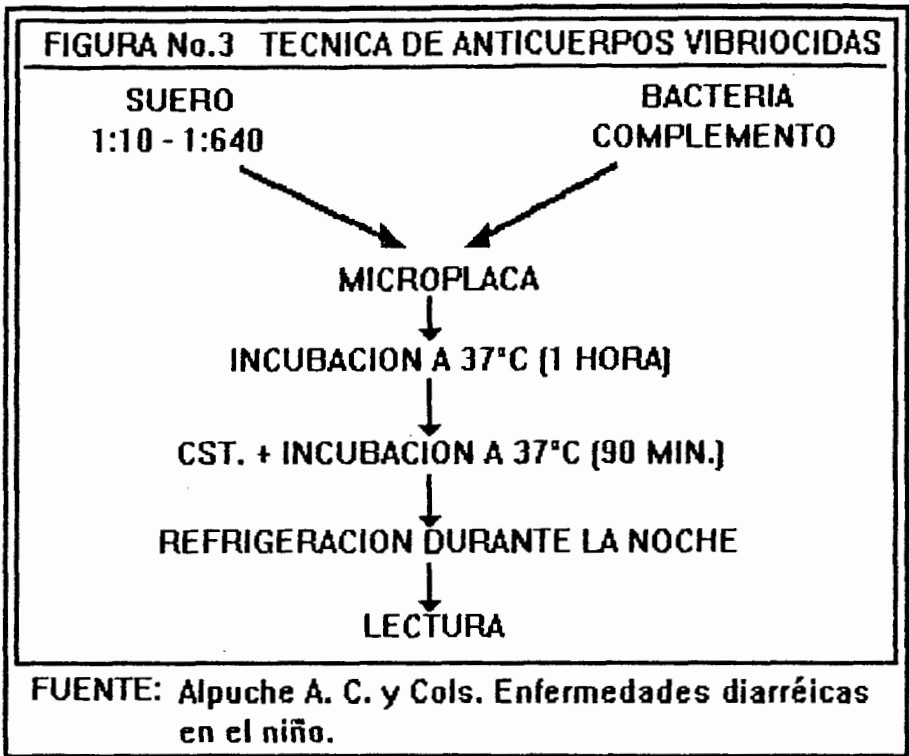
5.- Después de la incubación se agregaron a cada pozo 150  $\mu$ l de caldo soya tripticasa (Bioxon) para detener la reacción del complemento y permitir el crecimiento de las células bacterianas que no fueron afectadas por la presencia de anticuerpos.

6.- Las placas se taparon y se incubaron nuevamente a 37°C durante 90 minutos.

7.- Después de la segunda incubación las placas se dejaron en refrigeración durante toda la noche; ésto fué hecho con el fin de apreciar mejor el crecimiento o inhibición del Vibrio, ya que tanto la turbidez como los botones de bacterias pueden ser rápidamente visibles.

8.- Después de dejar la placa en refrigeración durante toda la noche, se observó esta con la ayuda de un espejo lector.

9.- Interpretación de la prueba: Los controles positivos tenían color amarillo claro del caldo de soya, esto se interpretó como que hubo inhibición del crecimiento; los controles negativos presentaron turbidez o un botón en el fondo del pozo lo que significa que hubo crecimiento. Las muestras de los pacientes fueron comparadas con los controles; el título del suero fué la recíproca de la última dilución en la cual no hubo crecimiento evidente por inspección visual. Los títulos de 1:20 y mayores fueron considerados como positivos para anticuerpos vibriocidas.



## ANALISIS ESTADISTICO DE LA INFORMACION

Se utilizaron Medidas de frecuencia para la variables de edad, sexo y UMF de procedencia, y medidas de frecuencia y de tendencia central para los niveles de corte de las titulaciones; Utilizando el Programa de Computo EPI INFO 5 de Atlanta, Georgia; USA.



## RESULTADOS

Se procesaron 473 muestras, obtenidas de las 7 Unidades Médicas (UMF) investigadas. Se observó una tasa de Prevalencia general de 14.2 por cada 100 derechohabientes usuarios (DHU), que corresponden a 67 sueros positivos. La UMF con mayor tasa de prevalencia fue la No.2 con una seropositividad de 34.3 por cada 100 DHU., siguiendo la UMF No.1 con 22.2 y el resto por debajo de la tasa general (Ver Cuadro No.1).

La distribución de seropositivos a anticuerpos vibriocidas, por sexo se presentó con una tasa de prevalencia de 13.7 y 14.3 para el sexo masculino y femenino respectivamente, no siendo significativo esta diferencia. (Ver Cuadro No.2).

En cuanto a la distribución por grupo etario, según Cuadro No.3 podemos observar, tasas de prevalencia de 10.8 a 17.5 por 100 DHU., y que los grupos discretamente más afectados fueron en primer lugar el de 5 a 14 años con una tasa de 17.5 por cada 100 DHU. y posteriormente el de 45 a 64 años con una tasa de 17.4; siendo éstos los grupos extremos de esta muestra, más al aplicar la prueba de chi cuadrada nos da por resultado una  $p$  no significativa entre los grupos etarios.

Por lo que respecta a los porcentajes de prevalencia entre anticuerpos de las serovariedades Inaba y Ogawa, la diferencia fué muy marcada correspondiendo para la serovariedad Ogawa el 95.5% mientras que para la serovariedad Inaba solo fué de un 4.5% de las 67 muestras positivas (Cuadro No. 4).

Los niveles de titulación de anticuerpos vibriocidas se distribuyeron a partir del nivel de corte que fue 1:20 correspondiendo al 52.2% del total de seropositivos, y por debajo del nivel 1:80 se presentaron el 85% de estos seropositivos y solamente un 15% tuvieron titulaciones altas como 1:160 y 1:320.

En cuanto a los títulos para los anticuerpos de la serovariedad Inaba los únicos tres casos positivos se distribuyeron tanto en títulos bajos (1:20) hasta más altos (1:320) (Ver Cuadro No. 5.).

Para la serovariedad Ogawa la distribución de los niveles de corte se presentó en un 85.0% por debajo de (1:160) y solo el 15.0% fue de este título hacia (1:320), lo cual implicaría este porcentaje, los pacientes que estuvieron en contacto con el Vibrio recientemente.

**CUADRO No.1**  
**DISTRIBUCION POR PREVALENCIA DE ANTICUERPOS**  
**VIBRIOCIDAS EN DERECHO-HABIENTES USUARIOS**  
**DEL IMSS. GUADALAJARA, JALISCO; 1993.**

UMF*	SUEROS PROCESADOS	SUEROS POSITIVOS	TASA DE ** PREVALENCIA
1	18	4	22.2
2	70	24	34.3
3	89	9	10.1
34	80	5	6.3
48	79	6	7.6
53	78	11	14.1
78	59	8	13.6
<b>TOTAL</b>	<b>473</b>	<b>67</b>	<b>14.2</b>

\* UNIDADES MEDICA FAMILIAR EN LA CD. GUADALAJARA JAL.

\*\* TASA POR 100 DERECHO-HABIENTES USUARIOS IMSS.

Fuente: LABORATORIO REGIONAL DE REFERENCIA EPIDEMIOLOGICA

## CUADRO No.2

DISTRIBUCION POR SEXO DE SEROPOSITIVOS A  
ACS. VIBRIOCIDAS EN DERECHO-HABIENTES USUARIOS  
DEL IMSS. GUADALAJARA, JALISCO; 1993.

SEXO	SUEROS PROCESADOS	SUEROS POSITIVOS	TASA DE ** PREVALENCIA
MASCULINO	131	18	13.7
FEMENINO	342	49	14.3
TOTAL	473	67	14.2

\*\* TASA POR 100 DERECHO-HABIENTES USUARIOS IMSS.

Fuente: LABORATORIO REGIONAL DE REFERENCIA EPIDEMIOLOGICA.

**CUADRO No.3**  
**DISTRIBUCION POR EDAD DE SEROPOSITIVOS A**  
**ACS. VIBRIOCIDAS EN DERECHO-HABIENTES USUARIOS**  
**DEL IMSS. GUADALAJARA, JALISCO; 1993.**

GRUPO ETARIO	SUEROS PROCESADOS	SUEROS POSITIVOS	TASA DE ** PREVALENCIA
5 - 14 años	63	11	17.5
15 - 24 " "	93	10	10.8
25 - 44 " "	179	22	12.3
45 - 64 " "	138	24	17.4
<b>TOTAL</b>	<b>473</b>	<b>67</b>	<b>14.2</b>

\*\* TASA POR 100 DERECHO-HABIENTES USUARIOS IMSS.

Fuente: LABORATORIO REGIONAL DE REFERENCIA EPIDEMIOLOGICA.

## CUADRO No.4

DISTRIBUCION PORCENTUAL DE LA SEROVARIEDAD A  
*V.CHOLERA* O:1 HALLADO EN DERECHO-HABIENTES USUARIOS  
DEL IMSS. GUADALAJARA, JALISCO; 1993.

SEROVARIEDAD	FRECUENCIA	PORCENTAJE
INABA	3	4.5
OGAWA	64	95.5
TOTAL	67	100.0

Fuente: LABORATORIO REGIONAL DE REFERENCIA EPIDEMIOLOGICA

## CUADRO No.5

DISTRIBUCION PORCENTUAL DE LOS NIVELES DE TITULACION  
DE ANTICUERPOS VIBRIOCIDAS EN DERECHO-HABIENTES USUARIOS  
DEL IMSS. GUADALAJARA, JALISCO; 1993.

TITULACION	SEROVARIEDAD		TOTAL	%
	INABA	OGAWA		
1:20	1	34	35	52.2
1:40		13	13	19.4
1:80		9	9	13.4
1:160	1	3	4	6.0
1:320	1	5	6	9.0
TOTAL	3	64	67	100.0

Fuente: LABORATORIO REGIONAL DE REFERENCIA EPIDEMIOLOGICA

## DISCUSION

En nuestro medio no existen estudios de seroprevalencia, de *Vibrio cholerae* pues es una Epidemia que inicia como brotes aislados, desde 1991; y consideramos que tal investigación nos vislumbra más adecuadamente la magnitud de este problema de Salud Pública.

Allen y cols. reportan en Piura, Perú durante 1991, una tasa de seroprevalencia a *V.cholerae* grupo O1, serovariedad Inaba del 34% en población asintomática (21); Alan Lefkowitz y cols. en su estudio en una Región de la Bahía de Chesapeake, Maryland en 1987, encontró una tasa de seropositividad de 22% a *V.Cholerae* O1 Inaba, y de 14% a *V.cholerae* O1 Ogawa, en grupos de población seleccionada, que consume frecuentemente mariscos (20). La tasa de seroprevalencia del 14.2 por cada 100 DHU. es una cifra muy alta, para la tasa de incidencia que es de 2.91 por 100,000 Hbs. para la semana epidemiológica No.23 en el Estado de Jalisco. La serovariedad Ogawa fue predominante en este estudio; considerando que desde 1885 que se presentó el último caso de cólera en el Continente Americano.



Nuestros hallazgos demuestran que la alta prevalencia del 13.5% a *V.cholerae* O1 Ogawa en derecho-habientes, es sin duda, una advertencia de la facilidad de estar en contacto con el *Vibrio*, y si bien hasta el momento de este estudio solo se habían notificado en Guadalajara, Jalisco, 10 casos confirmados de cólera en DHU. del IMSS., la seroprevalencia encontrada hace considerar la existencia de reservorios ambientales con los que hemos estado en contacto, favoreciendo la endemidad del mismo.

## CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos la prevalencia resultó alta con respecto a la frecuencia de aislamiento de *V. cholerae* en nuestro ambiente, por lo que se puede concluir que muchos casos pueden presentarse con pocas manifestaciones clínicas; además de que la literatura indica cuadros clínicos benignos frecuentemente para *V. cholerae* O1 serovariedad Ogawa.

El cólera es una enfermedad que ya no es tan temida como en el siglo pasado; pues los avances de la ciencia y tecnología, así como la Ingeniería Sanitaria, y el mejoramiento de nuestro nivel de vida, han evolucionado; más por lo anterior no deja de ocupar un primerísimo lugar en la Salud Pública de todo país en vías de desarrollo.

Este tipo de Estudios son de gran importancia y necesarios para conocer o tener una visión más real de la diseminación de la enfermedad.

## BIBLIOGRAFIA

1.- GIONO S., GUTIERREZ L., HINOJOSA A.M. Manual de procedimientos para aislamiento y caracterización de *V.cholerae* O1. 1991 INDRE. MEXICO.

2.- PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Special Report: cholera. 1991, Bulletin of PAHO. 25(3): 267-280.

3.- ROSE N.R.; CONNAY E.; FAHEY J.; FRIEDMAN H.; PENN G. Manual of Clinical Laboratory Immunology. 1992. Fourth edition. American Society for Microbiology. p 485-487.

4.- M.L. CLEMENTS, M.M. LEVINE, C.R. YOUNG. Magnitude, Kinetics, and Duration of Vibriocidal Antibody Responses in North American after Ingestion of *Vibrio cholerae*. 1982. J. Inf Dis 145(4): 466-473.

5.- WILLET, JOKLIK, AMOS. ZINSSER. Microbiology. 1980, Seven Teenth edition, Ed. Appletan Century Crofts. New York. p. 750-754.

6.- PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Diagnóstico de Cólera 1975. Bull of PAHO. 161-171.

7.- TAPIA C.R.; y Cols. Boletín Semanal de Vigilancia Epidemiológica del Cólera en México. SSA, DGE 1993. 16: 8-10.

8.- ALPUCHE A.C., SANTOS P.J.I. Cólera, en: Enfermedades Diarreicas en el niño 1988. 9a edición. Ediciones Médicas del Hospital Infantil de México, Federico Gomez. México, D.F. p. 183-186.

9.- TAPIA C.R.; y Cols.; Boletín Semanal de Vigilancia Epidemiológica del Cólera en Mexico. SSA, DGE; 1992. 1: 1-4.

10.- TAPIA C.R.; y Cols.; Boletín Semanal de Vigilancia Epidemiológica del Cólera en Mexico. SSA, DGE; 1992. 26: 1-4.

11.- TAPIA C.R.; Cols.; Boletín Semanal de Vigilancia Epidemiológica del Cólera en Mexico. SSA, DGE; 1993. 23: 1-4.

12.- BALOWS A., HAUSLER W.J., HERRMANN K.L. Manual of Clinical Microbiology. 1991, fifth edition; American Society for Microbiology. Whashington, D:C: p 384-391.

13.- CASH R.A., MUSIC S.I., LIBONATI J.P. Response of Man to Infection with *Vibrio cholerae* . I. Clinical, Serology, and Bacteriologic Responses to a Known Inoculum. 1974. J Infect Dis, 129 (1): 45-52.

14.- FINKELSTEIN RICHARD A. Vibriocidal Antibody Inhibition (VAI) Analysis: A Technique for the Identification of the Predominant Vibriocidal Antibody in serum and for the Detection and Identification of *Vibrio cholerae* Antigens. 1962. J. Exper. Med. 189: 264-271.

15.- BENENSON A.S., SAAD A., MOSLEY W.H. Serological Studies in Cholera 2. The Vibriocidal Antibody Respose of Cholera Patients determined by a Microtechnique. 1968. 38: 277-285.

16.- WACHMUTH I.K., FEELEY J.C., DEWITT W.E., YOUNG C.R. Immune Response to *Vibrio cholerae* in Manual of Clinical Immunology 1980. 2a. edition. American Society for Microbiology. p. 464-465.

17.- BAUMANN P., SCHUBERT R.H.W. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.1 Ed. Williams and Wilkins. Baltimore,1984. p. 516-518.

18.- Manual del Departamento de Inmunología de la Preparación de Antígeno O para Inocular Conejos. ENCB. IPN. MEXICO, D.F. 1992.

19.- LEFKOWITZ A., FOUT G.S., et al. A serosurvey of pathogens associated with shellfish: prevalence of antibodies to *Vibrio* species and Norwalk virus in the Chesapeake bay region. Am J Epidemiol 1992; 135:369-380.

20.- RIES A.A., VUGIA D.J., et al. Cholera in Piura, Perú: a modern urban epidemic. J Infect Dis 1992;166:1429-1433.

21.- FINELLI L., SWERDLOW D., et al. Outbreak of cholera associated with crab brought from an area with epidemic disease. J Infect Dis 1992;166:1433-1435.

22.- Epidemia de cólera en el Perú y pautas para su control. Bol. Of. Sanit. Panam. 1991;110(4):277-297.