Agentes bacterianos de enfermedad diarreica aguda en el Hospital Infantil de Cartagena*

TARSYS LOAYZA, SALIM MATTAR, EDGAR PARRA, NORA DE LA HOZ

La enfermedad diarreica aguda causa en la población de Colombia un elevado índice de morbi-mortalidad. Como contribución al conocimiento de su etiología se estudiaron, de mayo a septiembre de 1991, 110 muestras de heces diarreicas de igual número de niños hasta de 5 años, que acudieron al Hospital Infantil de Cartagena. Para el aislamiento e identificación de las bacterias enteropatógenas se usaron medios de cultivo convencionales y modificados y se realizaron pruebas bioquímicas y tipificación con antisueros específicos. Se aislaron 111 cepas de bacterias enteropatógenas: 62 pacientes (56.4%) tenían una sola cepa; en 14 (12.7%) se hallaron 2 cepas por paciente; en 7 (6.4%) tres cepas por paciente y los restantes 27 (24.5%) fueron negativos. El agente más frecuente fue Escherichia coli enteropatógena (ECEP) (51 cepas; 45.9%); le siguieron Shigella spp. (17 cepas; 15.3%), Vibrio cholerae (17 cepas; 15.3%), Salmonella spp. (15 cepas; 13.5%) y Aeromonas hydrophila

(11 cepas; 10%). No se hallaron Yersinia enterocolitica ni Campylobacter spp.. Esta publicación
contiene los primeros alslamientos de V. cholerae a partir de heces de pacientes que
acudieron al Hospital Infantil de Cartagena.
Si se realizan rutinariamente coprocultivos y
se aplican métodos más sensibles y específicos para aislar e identificar las bacterias
enteropatógenas, se podrá definir con mayor
exactitud su papel etiológico y epidemiológico
en la enfermedad diarreica aguda en nuestra
población infantil.

DRA. TARSYS LOAYZA, Odontóloga, Magister en Microbiología, Posgrado de Microbiología, Universidad de Cartagena. Ph.D SALIM MATTAR, Profesor Investigador, Departamento de Microbiología, Universidad Javeriana. DR. EDGAR PARRA, Profesor Asistente de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad de Cartagena. LIC. NORA DE LA HOZ, Bacterióloga, Laboratorio del Hospital Infantil de Cartagena.

Este estudio se llevó a cabo como parte del trabajo de Tesis de la Dra. Tarsys Loaiza para optar al título de Magister en Microbiología.

PALABRAS CLAVE ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA BACTERIAS ENTEROPATOGENAS COPROCULTIVO

INTRODUCCION

Según cifras de la Organización Mundial de la Salud (OMS) la enfermedad diarreica aguda (EDA) afecta cada año 750 millones de niños y causa un elevado índice de morbi-mortalidad (1-3). Datos del Instituto Nacional de Salud de Colombia (INS), demuestran que la EDA sigue siendo una de las enfermedades más comunes en la población infantil, especialmente en los menores de 5 años, en quienes desencadena a menudo un cuadro grave de desequilibrio hidroelectrolítico. En América Latina, donde persisten condiciones socioeconómicas críticas, como el déficit de agua potable y la contaminación de los alimentos, son bacterias enteropatógenas importantes Salmonella spp, Shigella spp, Vibrio spp, Escherichia coli y Campylobacter spp.

En 1990, en el Hospital Infantil de Cartagena (HIC) se atendieron 3.000 niños de 0 a 5 años, con síndrome diarreico agudo y diferentes grados de deshidratación.

El mecanismo de enteropatogenicidad de los serotipos clásicos de *E. coli* (ECEP) es, generalmente, su adherencia a la mucosa de los intestinos delgado y grueso donde dan lugar a lesiones caracterizadas por disolución del borde en cepillo de los enterocitos. Además, algunas cepas producen toxinas (verotoxinas) que podrían ser las responsables de la diarrea líquida, con abundante cantidad de moco (4-8).

Por otra parte, la shiguelosis, o disentería bacilar es un proceso infeccioso agudo pero las bacterias del género *Shigella*, por definición, no son invasoras sistémicas; sin embargo, son capaces de penetrar el epitelio intestinal y producir intracelularmente destrucción de la mucosa (7,8).

Las enfermedades producidas por Salmonella suelen dividirse en salmonelosis tifoparatificas y gastroenteríticas (9). Las especies no tifóidicas de Salmonella invaden los enterocitos y pasan a través de las células en las vesículas pinocíticas; salen luego hacia la lámina propia, donde provocan una respuesta quimiotáctica, que determina un aflujo de leucocitos polimorfonucleares. El componente líquido e inflamatorio que se presenta en la diarrea por salmonela se atribuye a toxinas con propiedades citotóxicas y enterotóxicas. Algunas de las salmonelas que producen cuadros gastroenteríticos, los dan también septicémicos y extradigestivos, especialmente en pacientes inmunosuprimidos y en niños (8,10-12).

En la actualidad la presencia de *V. cholerae* en algunas regiones de Colombia, especialmente las situadas en los litorales, es un problema serio de salud pública. La actividad patógena del *V. cholerae* se inicia con su adhesión a la mucosa del intestino delgado proximal, como paso previo a la producción de una enterotoxina, que activa la adenilciclasa de la mucosa; ello conduce al acúmulo intracelular de AMP cíclico; se produce bloqueo de la absorción de Na y eliminación copiosa de electrolitos y aqua (8,13-17).

Algunos bacilos gram negativos diferentes de las enterobacterias, como *Aeromonas y Plesiomonas*, se consideran también asociados a la diarrea; producen en general dolor abdominal, deposiciones semiacuosas y fiebre. La actividad patógena de *A. hydrophila* se atribuye a su capacidad de elaborar enterotoxinas, hemolisinas, proteasas, fosfolipasas y nucleasas (7,18-23).

En los niños menores de 5 años, la Y. enterocolitica produce una gastroenteritis muchas veces indistinguible por clínica de la debida a otros enteropatógenos; el cuadro se caracteriza por fiebre, diarrea líquida (a veces con moco), dolor abdominal y ocasionalmente náuseas y vómito. Puede haber sangre y leucocitos en la materia fecal (4,8,24).

Con respecto al género *Campylobacter* se ha demostrado la capacidad enteropatógena del *C. je-juni*, que afecta por un mecanismo invasor el íleon y el intestino grueso, y causa una enteritis febril, generalmente autolimitada (25-27).

Debido a la ausencia de trabajos sobre la etiología bacteriana de la EDA en Cartagena, se decidió llevar a cabo este estudio para detectar las principales bacterias enteropatógenas en los nifios que consultan por tal cuadro al HIC y contribuir así al conocimiento epidemiológico de esta zona del país.

MATERIALES Y METODOS

Entre mayo y septiembre de 1991 se procesaron para bacterias enteropatógenas 110 muestras de heces diarreicas de niños de 0-5 años que ingresaron por urgencias al HIC, con deshidratación grado

Il y sin antibioterapia previa. Mediante examen en fresco y tinción de Wright se determinaron el recuento de glóbulos blancos y el tipo de reacción leucocitaria en cada una de las muestras.

Para el aislamiento de E. coli, Shigella, Salmonella y Aeromonas la siembra directa de las muestras diarreicas se hizo en los siguientes medios de cultivo. que se incubaron luego a 37°C por 24 horas: Agar Salmonella-Shigella modificado (SSm) mediante la adición, inicialmente, de 6 mg/l de vancomicina (Aldrich Chemical Co.). Posteriormente, debido a su alto costo, se la reemplazó por bacitracina (Sigma) 15 mg/l. Agar lisina-hierro modificado (LIAm) mediante la adición (28) de sales biliares, sacarosa y lactosa y, además, bacitracina. También se sembraron las muestras en medios diferenciales (Endo o McConkey). En los medios de enriquecimiento selectivo (Selenito y Tetrationato) se sembró 1 am de heces. Después de la incubación se hicieron subcultivos en los medios sólidos SS(m), LIA(m), Endo y McConkey.

Para el aislamiento de ECEP se tomaron 5-6 colonias fermentadoras de los agares de siembra inicial; se identificaron bioquímicamente y se les realizó aglutinación como se describe más adelante.

Las muestras para aislamiento de *Campylobacter* se sembraron en un agar selectivo (Merck) con suplemento selectivo Preston (Oxoid) o Blaser Wang (BBL). Se incubó a 42°C en atmósfera microaerófila, por 48-72 horas.

El aislamiento de Yersinia se hizo según el método de Greenwood y Hooper (24): la muestra se cultivó en 10 ml de agua peptonada al 1% (BPW Difco), se incubó durante 15 días a 4°C y posteriormente se subcultivó en Agar Selectivo para Yersinia (Cefsulodina-Irgasan-Novobiocina (CIN, BBL), con incubación a 25°C por 5 días.

La muestra de frotis rectal para el aislamiento de Vibrio cholerae se transportó en medio de Cary Blair y posteriormente se sembró en tiosulfato de Na-citrato-sales biliares-sacarosa (TCBS) y en los medios convencionales, con incubación a 37°C por 24 horas. Simultáneamente se cultivó en agua peptonada al 1% (Difco) más NaCl al 1% (pH: 8.4) y se incubó a 37°C por 6-10 horas para realizar subcultivos posteriores en TCBS.

Se realizaron los procedimientos tradicionales de identificación (29) y paralelamente se utilizaron los

sistemas Enterotubo II (Roche), Oxiferm II (Roche) y API 20E.

Después de la identificación bioquímica de las cepas se procedió a la antigénica de la siguiente manera: las de *E. coli* con antisueros polivalentes (BBL) que abarcaban los siguientes tipos: Polivalente A (055:B5, 0111:B4, 0127:B8, 026:B6); Polivalente B (086:B7, 0119:B14, 0124:B17, 0125:B15, 0126:B16, 0128:B12). Las de *Shigella* con antisueros (BBL) para los grupos A (*S. dysenteriae*), B (*S. flexneri*), C (*S. boydii*) y D (*S. sonnei*). Las de *Salmonella* con antisueros (BBL) de los grupos A, B, C1, C2, D y E y contra el antígeno Vi. A las de *Vibrio cholerae* se les practicó aglutinación con el antisuero polivalente 01 (DIFCO); la confirmación del biotipo, el serogrupo y el subtipo del *Vibrio* se realizó en el INS.

Se determinó el número de cepas enteropatógenas aisladas en cada uno de los medios y se compararon los agares SS(m) y LIA(m) para evaluar su rendimiento en las obtención de aislamientos de Salmonella y Shigella.

RESULTADOS

De las 110 muestras 83 (75.5%) presentaron reacción leucocitaria con 60-70% de polimorfonucleares neutrófilos (PMN) y fueron las mismas de las que se aislaron 111 cepas de bacterias enteropatógenas, a saber: sesenta y dos (56.4%) tuvieron una cepa cada una; 14 (12.7%) de a dos cepas y 7 (6.4%) de a tres. Las 27 muestras restantes (24.5%) tenían 20 a 30% de PMN y su cultivo no reveló bacterias enteropatógenas.

Las 111 cepas enteropatógenas tuvieron la siguiente distribución: ECEP 51 (45.9%), Shigella 17 (15.3%), Vibrio cholerae 17 (15.3%), Salmonella 15 (13.5%), Aeromonas hydrophila 11 (10%). Todas las cepas de ECEP provinieron de niños de 12 ó menos meses.

Quince de las 51 cepas de ECEP pertenecieron al suero polivalente A y 36 al B. Once de las 17 cepas de *Shigella* fueron *S. flexneri*, cuatro *S. boydii* y dos *S. sonnei*. Las 15 cepas de *Salmonella* pertenecieron a los siguientes grupos: B (3), C1 (2), C2 (2), D (3), E (4), Antígeno Vi (1). Las 17 de *Vibrio cholerae* fueron serogrupo 01, biotipo El Tor, subtipo Inaba (Tabla N º 1).

TABLA № 1

DISTRIBUCION DE 111 CEPAS DE BACTERIAS ENTEROPATOGENAS

CEPA	NUMERO DE AISLAMIENTOS
E. coli Suero Polivalente A	15
E. coli Suero Polivalente B	36
S. flexneri	11
S. boydii	4
S. sonnei	2
Salmonella Grupo B	3
Salmonella Grupo C1	2
Salmonella Grupo C2	2
Salmonella Grupo D	3
Salmonella Grupo E	4
<i>Salmonella</i> Antígeno Vi	
V. cholerae O1 El Tor	17
A. hydrophila	11
FOTAL	11

EVALUACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

Diez y seis de las 17 cepas de *Shigella* (94.1%) y 14 de las 15 de *Salmonella* (93.3%) crecieron en el medio LIAm; 11 de las 17 de *Shigella* (64.7%) y 10 de las 15 de *Salmonella* (66.6%) lo hicieron en el SSm. Diez y seis de las 17 cepas de *V. cholerae* crecieron en los medios tradicionales SSm y McConkey. Cuarenta y ocho de los 51 aislamientos de ECEP crecieron en LIAm. El LIAm fue significativamente superior a los demás medios empleados (p < 0.01).

DISCUSION

Los hallazgos de este trabajo coinciden con los de estudios realizados en la década del 80, en los cuales ECEP, *E. coli* Enterotoxígena, *Shigella, Salmonella y Campylobacter jejuni* (4,7,10,25-27,30-32) fueron las principales bacterias causantes de EDA en niños de países industrializados y en los de los países en desarrollo. Además de las anteriores, otras bacterias como *Vibrio cholerae, Aeromonas spp.* y *Yersinia enterocolitica* se han considerado agentes causales de diarrea (4,19-23,33).

Es importante insistir en la búsqueda de las cepas enteropatógenas de *E. coli* mediante la determinación de sus antígenos específicos, única forma de diferenciarlas de la *E. coli* como flora normal del intestino.

Por otra parte, los aislamientos de *V. cholerae* y *Aeromonas hydrophila* obtenidos en este trabajo aportan información interesante para el país y para América Latina, debido a la diseminación epidémica del primero y a la aceptación de la segunda como una de las causas de EDA.

La afirmación de Snow (17), "el cólera se disemina por los caminos de mayor movimiento" sique siendo valedera; la epidemia que se inició en enero de 1991 en el Perú se ha extendido a otros países de América. En Colombia el primer caso se halló en marzo de 1991 y hasta junio del mismo año se habían diagnosticado por clínica y comprobado por laboratorio, 1.500 casos (15). En la etapa final del período de recolección de muestras de este estudio se aislaron e identificaron 17 cepas correspondientes a Vibrio cholerae serogrupo 01 biotipo El Tor, subtipo Inaba. En noviembre de 1991 el número de casos de cólera había ascendido a 10.000 en todo el país, lo que indica la seriedad de la epidemia y la rapidez de su expansión, reflejo de las carencias higiénicas y las muy precarias condiciones de vida de grandes sectores de la población colombiana. Por ello es urgente despertar la conciencia social y política de nuestros países como una de las formas de superar las causas de las epidemias.

El papel del género Aeromonas en la EDA ha sido objeto de varias publicaciones (19-23). En esta serie los 11 aislamientos de A. hydrophila fueron la única bacteria enteropatógena en los respectivos pacientes; ello permite atribuirle importancia etiológica aunque, por las limitaciones del estudio, no se puede excluir la presencia concomitante de un agente viral o parasitario. Nuestros datos concuerdan con el interés que en los últimos años ha despertado esta bacteria como causa de diarrea en los niños de países en desarrollo y en los adultos que viajan a ellos (7).

La Y. enterocolitica se aisló en 2% de 7.304 casos de enteritis aguda en Suecia. En Bélgica, Canadá y la República Federal Alemana se notificaron resultados similares (entre el 1% y el 3%) (4). En Europa la infección por esta especie ocurre con más frecuencia durante los meses de frío, lo que puede estar rela-

cionado con su capacidad de crecer a temperatura ambiente (25°C) o de preferencia a 4°C. En nuestro estudio se siguieron estrictamente los protocolos para aislarla, lo que no se logró; ello coincide con los datos negativos informados en otros países de América Latina (26) y Asia (27,31). Tampoco se aisló Campylobacter jejuni pese a haber empleado una metodología rigurosa y que ha dado resultados positivos (25,26); antes de llegar a conclusiones sólidas sobre la importancia de estas bacterias en la población infantil que acude al HIC se tienen que llevar a cabo estudios complementarios.

La EDA ocasionada por bacterias enteropatógenas da lugar a una reacción leucocitaria que oscila porcentualmente entre 30% y 80% con predominio de PNN y que puede ser detectada en las heces de los pacientes. Ese fue el hallazgo en este trabajo. Tales datos, fáciles y rápidos de buscar, permiten enfocar la etiología del cuadro diarreico.

Consideramos que el aislamiento e identificación del agente enteropatógeno es la conducta que garantiza el manejo adecuado y objetivo del paciente. Omitir el cultivo es seguir al margen del avance de la tecnología microbiológica que permite hacer diagnósticos rápidos y certeros.

El crecimiento de la mayoría de las cepas de *V. cholerae* en los medios tradicionales permite proponerlos como alternativa en circunstancias en que no se disponga de los que han sido diseñados específicamente para su aislamiento; sin embargo, somos conscientes de que lo ideal es emplear las técnicas recomendadas para cada microorganismo.

Nuestros hallazgos permiten proponer el uso del medio LIAm dados los óptimos resultados en el aislamiento de *Salmonella*, *Shigella* y ECEP.

Este trabajo servirá de base para realizar otros en esta zona del país con el fin de ampliar y definir lo mejor posible el papel etiológico y epidemiológico de cada uno de los agentes bacterianos de EDA. Debe también ser un estímulo para realizar estudios más amplios en los que, además de las bacterias, se busquen los virus y parásitos responsables de este síndrome.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al personal de apoyo del Posgrado de Microbiología de la Universidad de Cartagena, especialmente a las Químicas Farmacéuticas Martha Puello y Kethy Mendoza. También expresan sus agradecimientos al Dr. Luis Caraballo y a las Lics. Hortencia Barrios e Ivonne Correa por sus valiosas colaboraciones.

SUMMARY

BACTERIAL ETIOLOGY OF ACUTE DIAR-RHEAL DISEASE AT A HOSPITAL FOR CHILDREN IN CARTAGENA, COLOMBIA Acute diarrheal disease (ADD) causes a high morbidity and mortality among Colombian population. One hundred and ten stool specimens from patients with diarrhea 0-5 vears old who attended the Hospital for Children in Cartagena from May through September 1991 were studied in order to detect the bacterial etiological agents. Conventional. selective and modified culture media were employed. Serotyping with specific antisera was performed on the isolated strains. Enteropathogenic Escherichia coli represented 51 (45.9%) of the 111 strains isolated; Shigella spp. 17 (15.3%), Vibrio choierae 17 (15.3%), Salmonella spp. 15 (13.5%) and Aeromonas hydrophila 11 (10%). Yersinia enterocolitica and Campylobacter jejuni were not found. Routine stool culture with modern techniques should be the basis for acquiring a thorough knowledge of the etiology and epidemiology of acute diarrheal disease.

BIBLIOGRAFIA

- 1. WHO. Reports decry neglect of world health problems. ASM News 1990: 56: 358-359.
- 2. WHO. Report on poor world health. ASM News 1990; 56: 8-9.
- 3. DRASBEK C. Mortalidad por enfermedades diarreicas en América Latina. *Diálogo sobre la diarrea* 1990; 33: 4-5.
- 4. ALVAREZ L. Diarrea de origen bacteriano: Escherichia coli, Yersinia enterocolítica y Campylobacter jejuni. Salud Uninorte 1985; 2: 169-181.
- 5. KARMALI M. Infection by verocytotoxin-producing Escherichia coli. Clin Microbiol Rev 1989; 2: 15-38.
- CRAVIATO A. Nuevos enfoques en la prevención de la diarrea causada por Escherichia coli. Bol Med Hosp Infant Mex 1989; 46: 736-742.

- 7. ALVAREZ L. Diarrea bacteriana aguda. Mecanismos de patogénesis. En: FONSECA J. Ed. Tópicos selectos de infectología. Medellín: Litoimpresos, 1991; 79-86.
- 8. CUTTING W. Mecanismos de diarrea y su importancia. Diálogo sobre la diarrea 1990; 34: 4-5.
- 9. VERGER G, GURGUI M. Infecciones por salmonelas. En: VERGER G. Enfermedades infecciosas. Barcelona: Doyma, 1988: 1: 128-136.
- 10. RIVERA M, RIVERA N, CASTILLO J, et al. Molecular and epidemiological study of *Salmonella* clinical isolates. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 927-932.
- 11. ECHEITA M, USERA M. Nuevos aspectos de la salmonelosis. *Enf Infec Microbiol Clin Esp* 1990; 8: 127-130.
- 12. GARCIA J, GARCIA J, MUÑOZ J, et al. Salmonelosis focal en España. Presentación de 14 casos y revisión de la literatura. *Enf Infec Microbiol Clin Esp* 1990; 8: 134-147.
- 13. RICHARD A, MANNIG P. Biotype-specific probe for Vibrio cholerae serogroup 01. J Clin Microbiol 1990; 28: 823-824.
- 14. FONSECA J. En los tiempos del cólera. *Temas Microbiol* 1991: 12: 2-16.
- 15. CASTAÑEDA E. El cólera en Colombia, 1991. Crónica de una epidemia anunciada. *Tribuna Médica* 1991; 83: 290-293.
- 16. AGUIRRE C. Vacunas contra el cólera: estado actual. Temas Microbiol 1991; 12: 17-19.
- 17. GUERRA C. El cólera en las Américas. *Bol OSP* 1991; 110: (6):
- 18. ABBOTT L, KOKKAP, JANDAM. Laboratory investigations on the low pathogenic potential of *Plesiomonas shiguelloides*. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 854-856.
- 19. DEODHAR L, SARASWATHI K, VARUDKAR. Aeromonas spp. and their association with human diarrheal disease. J Clin Microbiol 1991: 29: 853-856.
- 20. REINA J, BLANCO I, PERICAS C, et al. Estudio de las características fenotípicas de 100 cepas pertenecientes al grupo de *Aeromonas* mesófilas aisladas de heces. *Enf Infec Microbiol Clin Esp* 1991; 9: 76-81.
- 21. REINA J, GIL J, PAYARES G, et al. Análisis de la sensibilidad de las *Aeromonas* mesófilas aisladas en heces a los antibióticos de uso cotidiano. *Enf Infec Microbiol Clin Esp* 1991; 8: 157-160.

- 22. BALIELLAS C, XIOL Q, CASTELLOTE A, et al. Brote grave de colitis ulcerosa idiopática inducida por *Aeromonas sobria. Rev Esp Enf Digest* 1991; 79: 442-443.
- 23. REÍNA J, ALOMAR P. Gastroenteritis por Aeromonas mesófilas: valor del biotipado como marcador de virulencia. Enf Infec Microbiol Clin Esp 1990; 8: 122.
- 24. GREENWOOD M, HOOPER W. Yersinia spp in foods and related environments. Food Microbiology UK 1985; 2: 263-269.
- 25. GRADOS O, BRAVO N, BLACK E, et al. Diarrea pediátrica por Campylobacter debida a la exposición doméstica a pollos vivos en Lima, Perú. Bol OSP 1989; 106: 205-213.
- 26. URRESTARAZU M, DARRICARRERE T, PEREZ M, et al. Frecuencia de *Campylobacter jejuni* y otros agentes patógenos en un grupo de lactantes venezolanos con diarrea aguda. *Bol OSP* 1988; 104: 225-233.
- 27. VARAVITHIA W, VATHANOPHAS K, BODHIDATTA L, et al. Importance of *Salmonellae* and *Campylobacter jejuni* in the etiology of diarrheal disease among children less than 5 years of age in a community in Bangkok, Thailand. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 2507-2510.
- 28. RAPPOLD H, BOLDERDIJK R. Modified Lysine Iron Agar for isolation of *Salmonella* from food. *Appl Environ Microbiol* 1979; 38: 162-163.
- 29. BRENNER JD, Facultatively anaerobic gram negative rods. Section 5. In: BERGEY'S Manual of Systematic Bacteriology. Baltimore: Williams and Wilkins, 1986; 1: 408-600.
- 30. TRUJILLO H, ROBLEDO J, MEJIA CL, et al. Etiología de la enfermedad diarreica aguda (EDA) en 100 niños de un Centro de Salud de Medellín. *Biomédica* 1991: 11: 85.
- 31. KAIN K, BARTELUK R, KELLY M, et al. Etiology of childhood diarrhea in Beijing, China. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 90-95
- 32. MORA J, JULIAO O, SUESCUN J. Estudio longitudinal sobre la epidemiología y la etiología de la enfermedad diarreica aguda en los niños de una comunidad urbana pobre de Bogotá, Colombia. *E C M* 1988; 1: 93-120.
- 33. RESTREPO M, CASTAÑEDA E, RIVAS F, PODLESKY E, MARTINEZ M. Cólera. Serie de notas e informes técnicos № 19. Bogotá: INS, 1991: 25-47.