

24  
5



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

**EL PAPEL DE ESTRAZA COMO SOPORTE EN  
LA TRANSMISION DE ENTEROBACTERIAS**

TESIS MANCOMUNADA  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A N  
SILVIA ALBARRAN FRIAS  
MARIA GUADALUPE CABELLO CORRALES



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

No.	CAPITULO	Pág.
I	OBJETIVO .....	1
II	INTRODUCCION .....	2
III	GENERALIDADES .....	3
	A) CARACTERISTICAS GENERALES DEL PAPEL DE ESTRAZA .	3
	A.1) Antecedentes históricos .....	3
	A.2) Química de la madera y tipos que se utilizan	4
	A.3) Proceso al sulfato .....	5
	A.4) Blanqueo de la Pulpa .....	6
	A.5) Encolado del Papel .....	8
	A.6) Fabricación del Papel .....	8
	A.7) Microbiología de la Pulpa y el Papel .....	9
	B) CARACTERISTICAS GENERALES DE ENTEROBACTERIAS ..	11
	B.1.1) Diagnóstico en el laboratorio .....	20
	B.1.2) Identificación .....	21
IV	PARTE EXPERIMENTAL .....	23
	A) MATERIAL Y MEDIOS DE CULTIVO .....	23
	A.1) Material .....	23
	A.2) Medios de Cultivo .....	23
	A.2.1) Medios de enriquecimiento .....	23
	A.2.2) Medios selectivos y diferenciales ..	24
	A.2.3) Medios para Pruebas Bioquímicas ....	25
	B) PROYECTO DE TRABAJO .....	27

		Pag.
V	RESULTADOS .....	34
VI	DISCUSION .....	37
VII	CONCLUSION .....	38
VIII	REFERENCIAS .....	40

OBJETIVO

## CAPITULO I

### OBJETIVO

Las infecciones causadas por Enterobacterias patógenas causan día a día un mayor número de casos que pueden ir desde cuadros diarréicos hasta síndromes disentéricos graves.

La alimentación en nuestro medio cobra gran importancia en la transmisión de este tipo de infecciones, sobre todo los expendios de alimentos al aire libre o expendios ambulantes, donde se utiliza en muchos casos como soporte del alimento al papel de estraza.

El presente trabajo dirige sus objetivos desde el punto de Salud Pública a:

- 1) Aislar Enterobacterias a partir de papel de estraza y relacionar su presencia con cierto nivel de contaminación que pueda provenir de portadores asintomáticos o del aire.
- 2) Identificar aquellas Enterobacterias que estén dentro de la importancia en la Salud Pública, y ver la importancia que tiene en un momento dado la ingestión de las mismas.

## INTRODUCCION

## CAPITULO II

## INTRODUCCION

La frecuencia de las enfermedades gastrointestinales provocada por Enterobacterias y parásitos, que afectan a la Salud Pública, ocupan actualmente la causa de mortalidad número dos en la República Mexicana y generalmente se manifiestan por cuadros diarréicos ( 8 ). Los microorganismos del género Shigella, Salmonella y Escherichia, son los causantes más comunes del síndrome disentérico, tifoidea y síndrome diarréico, respectivamente ( 2 ), ( 16 ).

La preparación de alimentos en la vía Pública se puede considerar como un foco infeccioso en donde posiblemente se ingieren las bacterias anteriormente mencionadas ( 3 ). Se puede descartar la posibilidad de que el alimento contenga al gérmen patógeno, ya que se cocina a altas temperaturas ( 4 ), ( 14 ), por ello surge la incógnita de saber la procedencia de la contaminación.

Se conocen las escasas condiciones higiénicas que existen en los expendios que venden alimentos en la vía Pública ( 6 ) y en estos lugares se utiliza al papel de estraza como soporte de algunos alimentos. La importancia de analizar el papel de estraza es demostrar la existencia de Enterobacterias adheridas a él, para que se tomen las medidas higiénicas pertinentes.



GENERALIDADES

## CAPITULO III

## GENERALIDADES

El propósito de este tema es proporcionar un panorama sobre la preparación, el tratamiento y control microbiológico que debe tener el papel de estraza, que se utiliza como soporte de algunos alimentos y además dar las características de las Enterobacterias mas comunmente adheridas en el papel.

## A) CARACTERISTICAS GENERALES DEL PAPEL DE ESTRAZA.

## A.1) Antecedentes Históricos.

Los registros históricos indican que el origen de la industria de la pulpa kraft o al sulfato, se debió a un error en los digestores de la fábrica productora de pulpa para papel. El error consistió en que uno de los digestores de la fábrica productora, descargó antes de la cocción completa de las astillas. Se decidió no desperdiciar las astillas y pasarlas por un molino, obteniéndose así un papel de una calidad inferior. El resultado fue un producto que sobrepasaba la resistencia de cualquier papel hasta entonces obtenido. El proceso, llamado kraft, es ahora utilizado en muchas fábricas para la producción de un papel resistente; de ahí que recibiera su nombre "Kraft" que tanto en sueco como en alemán significa fuerte ( 10 ), ( 13 ).

El proceso al sulfato ocasionó una revolución en la fabri-

cación de la pulpa de la madera. Se designó como proceso al sulfato debido a que se utiliza sulfuro de sodio (  $\text{Na}_2\text{S}$  ) junto con hidróxido de sodio (  $\text{NaOH}$  ); obteniéndose sulfato de sodio (  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ), aunque este último se repone en el proceso, que mas adelante se describe.

#### A.2) Química de la madera y tipos que se utilizan.

La madera se produce en los árboles por síntesis de reacciones de óxido-reducción de dos sustancias simples, dióxido de carbono (  $\text{CO}_2$  ) y agua (  $\text{H}_2\text{O}$  ). Como resultado de estas reacciones, se forma un número complejo de sustancias que forman las paredes celulares, además de células de materias gomosas, resinas, taninos, azúcar, almidón, sales inorgánicas y minerales. Existen propiedades físicas como la densidad, la dureza, la rigidez, la firmeza, la duración natural, el veteado, el dibujo y la contextura; que nos permiten conocer los tipos de madera que existen y la aplicación que se les dá; éstas se clasifican en:

- Maderas blandas o ligeras
- Maderas duras o pesadas
- Maderas tintóreas
- Maderas resinosas
- Maderas finas
- Maderas tánicas

En el presente punto, se interesa conocer las caracterís-

ticas de las maderas blandas y las maderas duras. En las maderas blandas como el castaño, pino, abedul, tilo, álamo, plátano, etc., se producen unidades de fenil propano de bajo peso molecular y se encuentran en la lignina, cuando ésta se descompone. Su pulpa se emplea para hacer pasta de papel. Las maderas duras como encino, roble, olivo, acre, fresno, haya, etc., solo producen una de las unidades de fenil propano. Sirven para la fabricación de combustibles de carbón, viguería y carpintería fina ( 7 ), ( 13 ).

### A.3) Proceso al sulfato.

El proceso al sulfato se puede resumir en las siguientes etapas: Los troncos se descortezan y se convierten en astillas. Estas astillas llegan a los digestores, los cuales se alimentan al máximo, con la adición del licor de cocción; compuesto principalmente de una solución acuosa de hidróxido de sodio (  $\text{NaOH}$  ) y sulfuro de sodio (  $\text{Na}_2\text{S}$  ) y otros compuestos secundarios como el carbonato de sodio (  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ), sulfato de sodio (  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ), sulfito de sodio (  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  ) y polisulfuros de sodio, cuya participación es mínima durante este proceso. La relación de astillas y licor se controlan cuidadosamente así como la concentración del licor, contenido de humedad, temperatura, tiempo y presión. Las astillas de madera se cuecen con el fin de disolver los enlaces fibrosos de la madera con la ayuda del licor, dejando la pulpa como residuo fibroso.

Después de la cocción, la pulpa se separa del licor residual, llamado licor negro, que contiene el reactivo gastado y la mitad del material. Este licor se funde en un horno de recuperación y las sales de sodio que quedan, se disuelven en agua, obteniéndose una solución llamada licor verde, la cual se alcaliniza con carbonato de calcio (  $\text{CaCO}_3$  ), dando una solución llamada licor blanco, y éste se encuentra disponible para la reutilización en la siguiente cocción. El propósito de la digestión es el de disolver las porciones no celulósicas, que son indeseables en las pulpas finales, entre ellas la lignina y la hemicelulosa; estos residuos quedan en el tanque de descarga junto con el licor negro que tiene los reactivos de cocción gastados. La pulpa y el licor negro se bombean y se pasan por los separadores de nudos; la pulpa sucia llega a los lavadores. La pulpa lavada se depura entonces y se envía a la planta de blanqueo o a la fábrica de papel ( 10 ), ( 11 ).

Cabe mencionar que inicialmente en este proceso al sulfato, se empleaban materiales fibrosos, tales como desechos de algodón, lino y estropajos, pero casi cualquier especie de madera blanda puede convertirse en pulpa por proceso al sulfato.

#### A.4) Blanqueo de la Pulpa.

Inicialmente, el blanqueo de la pulpa se obtenía por la acción de la luz solar sobre la celulosa humedecida; con el desarrollo de los licores de blanqueo se comenzó a emplear el blanqueo químico, teniéndose al cloro y sus compuestos como

los mejores agentes de blanqueo y los mas económicos; otro tipo de agentes como los reductores ( hidrosulfatos ) y oxidantes ( peróxidos ) son también utilizados ( 13 ).

Para que el blanqueo de la pulpa sea óptimo se debe realizar en múltiples pasos, en cada uno de los cuales se deben considerar las variables de concentración de iones hidrógeno ( pH ), consistencia, adición de reactivos, consumo de reactivos, temperatura y tiempo. Los pasos importantes son:

1. Cloración de la pulpa.

Consiste en la separación de la lignina, se considera como una continuación del tratamiento de purificación desde la etapa de digestión.

2. Tratamiento de la pulpa clorada.

Después de lavarse la pulpa clorada se somete a agentes oxidantes para separar las ligninas cloradas. Las soluciones alcalinas calientes permiten solubilizar dichas ligninas y entonces eliminar compuestos clorados que son solubles en álcalis

3. Purificación alcalina.

Se efectúa en caliente y produce pulpas purificadas de madera, para derivados de celulosa. Aquí se eliminan las hemicelulosas que son muy reactivas y resisten la macerización.

Otro tipo de blanqueos que se pueden llevar a cabo son: con hipoclorito, bióxido de cloro, peróxido de cloro y agentes reductores.

#### A.5) Encolado del papel.

El papel se encola para resistir a la penetración de líquidos al mismo. Los tipos de encolado pueden ser: sin encolado, encolado suave y encolado fuerte. Los papeles que no se encolan son los papeles para impresión, papel periódico, papel secante, etc. Existen dos formas de encolados: el encolado externo, que fue el más utilizado en un principio y consiste en cubrir la hoja formada y parcialmente secada; el encolado interno, que consiste en tener un compuesto que sea repelente al agua, se realiza en los papeles de envoltura, papeles para bolsas, papel bond, papel para impresión offset, papel para construcción de cartones, papel para envases de alimentos, etc. y su objetivo es el de retardar la penetración de los líquidos ( 11 ).

#### A.6) Fabricación del papel.

Durante los siglos XVIII y XIX existieron grandes descubrimientos de los materiales y procedimientos de fabricación del papel.

A partir del siglo XIX, se empieza a utilizar el sistema Fourdriner en el cual se encuentra una máquina que trabaja con mecanismos diversos. Se inicia con la alimentación de la pasta diluida sobre un tamiz oscilante donde se retienen los grumos, quedando una papilla que se distribuye sobre una banda de tela mecánica, aquí se escurre y se filtra el agua con la ayuda

da de cajas de succión. Ya escurrida se pasa por las prensas de rodillos de fieltro, dejándola firme y dura. Inmediatamente pasa por una serie de tambores secadores, de donde sale ya seca y formada en una lámina regular; cayendo en otra banda que la hace pasar por una segunda serie de rodillos metálicos que adelgazan y satinan el papel.

A los papeles así obtenidos se les clasifica en cinco grupos: 1. Papel fino de escritura, hecho de trapos. 2 y 3. Papeles de impresión para libros y periódicos, hechos de fibra molida y de pasta a la sosa. 4. Papel de envoltura o embalaje, que se obtiene de la pasta al sulfato. 5. Papeles y cartones que se les da diferentes usos, que se fabrican por procedimientos especiales ( 1 ), ( 11 ), ( 17 ).

#### A.7) Microbiología de la Pulpa y del Papel.

El material empleado en la fabricación de papel puede servir como alimento para los microorganismos. Los saprófitos o microorganismos no patógenos a la vida animal, son los que mas prevalecen en las fábricas de pulpa y papel ( 11 ). ( Los microorganismos para vegetales atacan en los bosques a las maderas ). Todas las formas de microorganismos que son capaces de destruir a las materias primas que se utilizan en la fabricación de papel o que puedan afectar los procesos y reducir la calidad de papel, deben mantenerse bajo control.

En las fábricas de papel es necesario establecer condiciou



nes en que los microorganismos no crezcan o que se exterminen completamente. Dado que los microorganismos se presentan universalmente y poseen la capacidad para desarrollarse en todo tipo de medio ambiente pueden utilizarse medidas para que dejen de propiciarse.

Considerando la microbiología del agua puede mencionarse que la población microbiológica activa de un río no es patogénica, a menos que en ésta se encuentre contenido de aguas negras, lo cual se evita autopurificando el agua que llegue a la fábrica de papel ( 11 ). Los papeles utilizados en empaques de alimentos deben estar libres de microorganismos. No deben tratarse con sustancias que sean tóxicas a los animales o irritantes y sensibles a la piel humana. No deben impartir olores o sabores. Sus propiedades bacteriostáticas y fungicidas son valiosas, y su repelencia a insectos y roedores es deseable ( 11 ). Los papeles para empaques de alimentos deben proceder únicamente de fábricas de papel en donde las buenas condiciones de higiene y prácticas de limpieza formen parte integral del proceso de fabricación del papel. Tanto los procesos de preparación como las operaciones efectuadas dentro de la máquina de papel son potentes germicidas. Al salir de la fábrica de pulpa, las pulpas son estériles. No deben utilizarse fibras de reutilización, y si es así, deben tratarse para exterminar los microorganismos presentes. Las cantidades reales de microorganismos en el papel son un reflejo de las

condiciones higiénicas o antihigiénicas que existen en la fábrica, en el momento de su elaboración.

Los papeles hechos en condiciones apropiadas para empaque de alimentos salen de la máquina prácticamente estériles. En las subsecuentes operaciones se deben tomar precauciones pertinentes de modo que el papel se mantenga limpio y no se contamine con impurezas portadoras de microorganismos o con bacterias existentes en el aire ( 11 ).

#### B.) CARACTERISTICAS DE ENTEROBACTERIAS.

La familia Enterobacteriaceae está formada por bacterias con forma de bacilos, Gram-negativos, aerobias o anaerobias facultativas; la mayoría son no esporulados, algunas especies son átricas ( sin flagelos ) y pueden haber variantes no móviles de especies móviles. También hay formas móviles con flagelos peritricos. Crecen bien en medios artificiales, ya que tienen la capacidad de fermentar carbohidratos y además poseen una estructura antigénica muy variada. Su hábitat normal es el intestino del hombre y los animales que son huéspedes naturales y que invaden el aparato intestinal causando enfermedades de consideración.

Las Enterobacterias constituyen un grupo de microorganismos complejos formado por varios géneros; sin embargo hay muchos organismos intermedios cuyas relaciones no se aprecian claramente. Se han hecho muchos intentos de clasificar a

este grupo, tal vez la clasificación mas útil es la de Edwards y Ewing ( 5 ). De hecho, para fines de diagnóstico, en la mayoría de los laboratorios, no se considera necesario llevar a cabo la identificación lo mas completa y exacta, esto sólomente ocurre en la investigación epidemiológica, pero no para el estudio de rutina de diagnóstico. En la separación por grupos en la tabla patrón de fermentaciones, se emplean medios de cultivo que contienen ingredientes para aislarlos e identificarlos, y están basados en sus características bioquímicas. Casi todos los géneros poseen lipopolisacáridos complejos en su pared celular, llamados Endotoxinas, que producen efectos fisiopatológicos en el hombre y son liberados por la lisis de la célula bacteriana. Son termoestables y tal vez tengan un agregado de peso molecular alto para que se manifieste la toxicidad. Las diferentes toxinas se diferencian según el orden de las unidades de monosacáridos. Entre algunos de los efectos que pueden producir las endotoxinas se encuentran: alto grado de pirogenicidad, tolerancia a la administración repetida, choque letal en grandes dosis, fenómeno de Schwartzman ( necrosis en la piel si se inyecta intradérmicamente y después en forma intravenosa ), necrosis de lesiones tumorales, aborto prematuro y resistencia a radiaciones ionizantes.

La familia Enterobacteriaceae se divide en los siguientes géneros y especies:

## TRIBU I

ESCHERICHIEAE

- I Escherichia coli
- II Shigella
  - 1. Shigella dysenteriae
  - 2. Shigella flexneri
  - 3. Shigella boydii
  - 4. Shigella sonnei

## TRIBU II

EDWARDSIELLEAE

- I Edwardsiella
  - 1. Edwardsiella tarda

## TRIBU III

SALMONELLEAE

- I Salmonella
  - 1. Salmonella choleraesuis
  - 2. Salmonella typhi
  - 3. Salmonella enteritidis
  - 4. Salmonella typhimurium
- II Arizona
  - 1. Arizona hinshawii
- III Citrobacter
  - 1. Citrobacter freundii

## TRIBU IV

KLEBSIELLEAEI Klebsiella

1. Klebsiella pneumoniae
2. Klebsiella ozaenae
3. Klebsiella rhinoschleromatis

II Enterobacter

1. Enterobacter cloacae
2. Enterobacter aerogenes
3. Enterobacter hafniae
4. Enterobacter liquefasciens

III Pectobacterium

1. Pectobacterium carotovorum

IV Serratia

1. Serratia marcescens ( subespecies )
2. Serratia marcescens ( subespecies  
kiliensis )

## TRIBU V

PROTEAEI Proteus

1. Proteus vulgaris
2. Proteus mirabilis
3. Proteus morgani
4. Proteus rettgeri

II Providencia

1. Providencia alcalifasciens
2. Providencia stuartii

Se han mencionado los géneros mas importantes así como sus especies, pero hay algunos menos importantes que también se pueden encontrar no con mucha frecuencia. A continuación se hablará a grandes rasgos de las características mas importantes de cada tribu, género y sus especies principales:

TRIBU I ESCHERICHIEAE

GENERO : Escherichia ESPECIE: coli

Es raro que presente cápsulas; la mayoría son móviles, forman colonias redondas, convexas, lisas con bordes definidos, algunas cepas lisan eritrocitos de la gelosa sangre. Producen ácido y gas a partir de carbohidratos, obteniendo la misma cantidad de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub> a partir de glucosa.

Se diferencia de Enterobacter aerogenes por las pruebas del IMViC. Algunas cepas producen una enterotoxina potente parecida a la toxina del cólera que produce diarrea aguda sin invasión del epitelio intestinal; otras cepas sí lo penetran y provocan una inflamación semejante a la disentería por Shigella. ( 4 ), ( 9 ), ( 14 ).

Las diferencias bioquímicas entre las cepas enteropatógenas y los tipos normales de E. coli no son suficientemente grandes como para que se puedan diferenciar entre ellos correctamente. La diferenciación de los tipos depende por lo tanto de su comportamiento serológico. ( 4 ), ( 9 ), ( 14 ).

GENERO : Shigella

Son inmóviles, la mayoría lactosa negativas, producen ácido de algunos azúcares, pero no gas. Son no esporulados, son aerobios o anaerobios facultativos. Su hábitat natural es el intestino, donde se produce disentería bacilar. Sus colonias son redondas, convexas, transparentes, de bordes enteros de 2 mm. de diámetro. En medios diferenciales son lactosa negativos, dando colonias incoloras. Se usan medios de Mac. Conkey, agar-citrato-desoxicolato, agua peptonada azucarada, etc., para su aislamiento e identificación. ( 4 ), ( 9 ), ( 14 ).

TRIBU II EDWARDSIELLEAEGENERO : Edwardsiella

Son bacterias móviles, descarboxilan la lisina y ornitina. Fermentan con rapidez la glucosa y maltosa y con raras excepciones forman gas a partir de estos sustratos. La mayoría de las cepas utilizan el glicerol aunque lentamente; no degradan lactosa, sacarosa, manitol, dulcitol, salicina, inositol, sorbitol, rabinosa, ramnosa, xilosa. La especie mas conocida es Edwardsiella tarda. ( 4 ), ( 9 ), ( 14 ).

TRIBU III SALMONELLEAEGENERO : Salmonella

Son móviles, aerobios, lactosa negativos, no esporulados, de longitud variable, sus flagelos son peritricos. Resisten

congelación y algunos agentes químicos como: verde brillante, tetraciónato de sodio y desoxicolato de sodio.

Producen principalmente las siguientes enfermedades: fiebre tifoidea ( causada por S. typhi ) y fiebre paratifoidea ( por S. paratyphi y S. schothulleri ). S. choleraesuis a veces causa septicemia, que puede ocasionar lesiones severas a órganos y tejidos en personas con defensas bajas. El tercer tipo de padecimiento es el mas común, conocido como gastroenteritis o intoxicación alimentaria causada por S. typhimurium y S. derby.

El aislamiento de Salmonella se hace sembrando la muestra en un cultivo de enriquecimiento como caldo verde brillante o tetraciónato, que inhiben el crecimiento de la flora normal y coliformes; de allí se siembra en medios diferenciales. ( 4,9,14 ).

GENERO : Arizona

Fermenta la lactosa, está serológicamente relacionado con Salmonella spp. . Licúan la gelatina, pero no la dulcita. Si llega a ser patógeno produce una enfermedad parecida a la ocasionada por Salmonella. ( 4, 9, 14 ).

GENERO : Citrobacter

C. freundii se encuentra en el suelo, generalmente como contaminación a partir de la tierra y presente en el agua y alimentos. A veces causa infección urinaria. Debido a su parecido con Escherichia en su fermentación ácida y a Klebsiella



en su utilización del citrato; se conoce como bacilo intermedio. Posee galactosidasa. ( 4 ), ( 9 ), ( 14 ).

TRIBU IV KLEBSIELLEAE

GENERO : Klebsiella

Antes conocido como bacilo de Fridlander, es patógeno del aparato respiratorio y ahora muy común en infecciones de hospitales principalmente.

K. pneumoniae a diferencia de su nombre, raramente produce neumonía lobar. Es muy similar a K. aerogenes, pero éste generalmente se aísla de la orina y el primero es más común en el esputo. Otros Klebsiella asociados a reacciones inflamatorias: K. rhinoscleromatis, K. ozaenae y K. edwardsii ( dos variedades ).

Su crecimiento colonial es muy mucoso, las colonias son más grandes que las de E. coli y en incubaciones prolongadas se hacen confluentes. Al microscopio se puede observar que poseen grandes cápsulas de polisacárido. Es inmóvil. Fermenta una variedad de carbohidratos, variando según las cepas. ( 4,9,14 ).

GENERO : Enterobacter

E. aerogenes es móvil, su crecimiento es grande y mucoso, tiene cápsula pequeña. Puede infectar el intestino, el aparato urinario, dar septicemia o ser libre. Sus cápsulas son raras, la mayoría son móviles. Sus colonias son parecidas a las de E. coli, pero más mucosidades. Su diferencia de E. coli

se hace por las pruebas del IMViC. ( 4, 9, 14 ).

GENERO : Serratia

Licúa la gelatina, es positiva a las pruebas de Voges - Proskauer, invariablemente positiva a la desoxirribonucleasa y a la ONPG ( orto nitro fenil — beta galactopiranosido ). Casi todas producen un pigmento rojo evidente. Se encuentra en infecciones agudas y crónicas. Antes se conocía como Bacillus prodigiosus por lo que el pigmento rojo que produce se llama prodigiosina ( tripirrimetano ). Es negativo para fenilalanina deaminasa y ureasa ( TDA ). Del mar se ha aislado S. piscatorum, la que produce ciertas afecciones en pescados conservados, como el bacilo rojo de la sardina. ( 4,9,14 )

TRIBU V PROTEAE

GENERO : Proteus

Son bacilos móviles, aerobios, la mayoría son de vida libre. Proteus vulgaris es flora normal del intestino. Proteus mirabilis parece ser la causa de las diarreas de verano en los niños. Proteus rettgeri y Proteus morgani provocan infecciones en hospitales. Son lactosa negativos, licúan rápidamente la gelatina, desdoblan la urea formando amoníaco y se diseminan en medios sólidos, por lo que se llama " swarming " o " emigración ", la que se puede inhibir añadiendo hidrato de cloral o alcohol feniletílico; no crece bien a pH ácido. Como los

coliformes, sólo se producen infecciones cuando salen del intestino. Son frecuentes en infecciones crónicas de vías urinarias. ( 4 ), ( 9 ), ( 14 ).

GENERO : Providencia

Son bacterias intermedias entre Proteus y Shigella. Su diferencia con Proteus se pone de manifiesto por su carencia de ureasa, son indol positivo, gelatina negativos, desaminan la fenilalanina convirtiéndola en ácido fenolpirúvico por acción enzimática con resultado de acidez. Las dos principales bacterias son P. alcalifasciens y P. stuartii. ( 4 ), ( 9 ), ( 14 ).

#### B.1) Identificación y diagnóstico clínico.

Datos clínicos: Las manifestaciones clínicas dependen del sitio de la infección y son iguales a los síntomas de procesos provocados por otros microorganismos, se ha encontrado bacteremia a veces con colapso vascular y choque cuando las defensas están disminuidas.

##### B.1.1) Diagnóstico en el laboratorio.

- a) Frotis teñidos : los bacilos Gram-negativos se parecen todos, solo se pueden diferenciar las cápsulas de Klebsiella algunas veces con tinción especial.
- b) Cultivos : Las muestras obtenidas se siembran en

gelosa simple, gelosa sangre y medios diferenciales con colorantes y carbohidratos especiales que dan idea de aquellos microorganismos que fermentan la lactosa o no.

Las bacterias aisladas en medios diferenciales se identifican con pruebas bioquímicas y serológicas. ( 4 ).

#### B.1.2) Identificación.

En general, dependiendo de la muestra que se va a analizar el procedimiento que se sigue para identificar plenamente el a gente causal, en el caso de las Enterobacterias los productos que mas comunmente se analizan son: Orina ( urocultivo ), heces ( coprocultivo ), sangre ( hemocultivo ), pus, secreciones diversas, LCR, etc. Como la muestra, además de microorganismos patógenos, generalmente presenta bacterias contaminantes o de flora normal, es necesario inhibirlas, y para ese fin, se utilizan medios especificos que con presencia de sales y colorantes, etc., las eliminan; ya que no las toleran. También pueden usarse medios de enriquecimiento ya que la bacteria puede encontrarse en una cantidad muy pequeña o estar inhibida por antibióticos. Por ésta razón una muestra debe sembrarse primero en medios de enriquecimiento, luego en medios diferenciales y posteriormente llevar a cabo otras pruebas que permitan la identificación completa.

La siguiente lista presenta los principales medios de cultivo para Enterobacterias:

MEDIOS DE TRANSPORTE : Medio de Cary y Blair  
Medio de Stuart

MEDIOS DE ENRIQUECIMIENTO : Caldo Selenito  
Caldo Tetracionato

MEDIOS ESPECIFICOS : Agar sulfito de bismuto ( Wilson  
Blair modificado )  
Agar verde brillante  
Agar desoxicolato  
Agar citrato desoxicolato  
Agar Eosina azul de metileno  
Medio entérico Hektoen  
Medio de Mac. Conkey

**PARTE EXPERIMENTAL**

## CAPITULO IV

## PARTE EXPERIMENTAL

## A.) MATERIAL Y MEDIOS DE CULTIVO.

## A.1) Material:

- \* Tubos de ensaye de 9 x 75 mm.
- \* Tubos de ensaye de 16 x 150 mm. con tapón de rosca.
- \* Matraces Erlenmeyer de 250 ml. y 500 ml.
- \* Mecheros de Fisher y de Bunsen.
- \* Tela de alambre con asbesto.
- \* Tripie.
- \* Autoclave.
- \* Incubadora.
- \* Campana de flujo laminar.
- \* Probetas de 100 ml. y 1 lt.
- \* Algodón.
- \* Cajas de Petri desechables.
- \* Asa-portasa.
- \* Microscopio.
- \* Pipetas de 1 ml., 5 ml., y 10 ml.
- \* Juego de Colorantes de Gram.
- \* Gradillas.
- \* Balanzas analítica y granataria.
- \* Espátula.
- \* Agitadores.

## A.2) Medios de Cultivo.

## A.2.1) Medios de enriquecimiento:

## a) Caldo Soya Trypticase.

Es un medio para usos generales, estable y reproducible. Debido a su calidad nutriente superior, el caldo soya trypticase se usa ahora comunmente en muchos procedimientos de diagnóstico y de investigación ( 15 ).

## b) Caldo selenito de sodio.

Se hace de acuerdo con la fórmula de Leifson ( sin adición de cistina ), se emplea para aislar bacterias del género Salmonella. El medio es útil para el enriquecimiento de heces y otros especímenes. Se recomienda para la determinación de Salmonella en alimentos, productos lácteos y en otros materiales de importancia sanitaria. ( Pueden aislarse también bacilos del género Shigella ) ( 15 ).

## A.2.2) Medios Selectivos y Diferenciales.

## a) Agar de Eosina y Azul de Metileno.

El agar de eosina y azul de metileno es una modificación de la fórmula de Holt Harris y Teague para el aislamiento y diferenciación de bacilos Gram-negativos. El colorante que inhibe el crecimiento de otros microorganismos es el azul de metileno ( 15 ).

## b) Agar de ENDO.

El agar de ENDO es un medio sólido para la investigación de cocobacilos y otros microorganismos entéricos. El sulfito de sodio y la fucsina básica inhiben el crecimiento de las bacterias Gram-positivas. Se elabora de acuerdo con la fórmula del Recommended Procedures for the Microbiological Examinations of Food, de la APHA ( 15 ).



## c) Agar para Salmonella y Shigella.

El agar SS es un medio diferencial y selectivo para el aislamiento de bacilos entéricos patógenos, especialmente los que pertenecen a los géneros Salmonella y Shigella. El medio es en realidad una modificación del agar descrito por Leifson, excepto que la inhibición de los organismos coliformes y Gram-positivos se logra mas bien con la mezcla de sales biliares, que con un material mas puro ( 15 ).

## d) Agar de Mac. Conkey.

El agar de Mac. Conkey es una modificación del medio descrito por él mismo en 1905. Se emplea la mezcla de sales biliares, para la inhibición de los organismos coliformes y también se puede usar para el aislamiento de Vibrio comma de las especies patógenas de bacilos entéricos ( 15 ).

## A.2.3) Medios para Pruebas Bioquímicas.

## a) Agar de Hierro de Kligler.

Se emplea para la diferenciación de los bacilos intestinales Gram-negativos, basándose en su capacidad de fermentar dextrosa y lactosa, y de liberar sulfuros. ( 12 ), ( 15 ).

## b) Agar Citrato de Simmons.

Se usa para diferenciar las bacterias entéricas Gram-negativas, basándose en la utilización de citrato. Se recomienda para la diferenciación de coliformes aislados del agua ( 12 ), ( 15 ).

## c) Medio SIM.

Se emplea para la determinación de la producción de sulfuros, formación de indol y movilidad de los bacilos entéricos ( 12 ), ( 15 ).

## d) Caldo Manitol.

Se emplea para determinar si el microorganismo fermenta o no el manitol ( 12 ), ( 15 ).

## e) Caldo Sacarosa Urea.

Se emplea para determinar si el microorganismo utiliza la sacarosa y/o la urea, mediante el viraje de los indicadores azul de bromo timol y rojo de fenol, determinando lo utilizado ( 12 ), ( 15 ).

## f) Caldo Rojo de Metilo/ Voges Proskauer.

El medio empleado es el descrito por Clark y Lubs. En dicho medio se utiliza una concentración al 1 % de peptona y glucosa. Se emplea para diferenciar bacterias mediante las reacciones de rojo de metilo

y Voges Proskauer. Se recomienda emplearlo en la diferenciación de microorganismos coliformes de acuerdo con las normas ordinarias para el Examen de Agua, aguas de albanal y productos lácteos, de la Asociación Americana de Salubridad Pública ( 12 ), ( 15 ).

B.) PROYECTO DE TRABAJO.

1. La muestra se recoge en lugares donde se consumen alimentos al aire libre, como son los puestos ambulantes ubicados en la vía pública. ( Ver Figura No. 1 ). Unicamente se pide el papel ( es decir, sin contenido de alimento ). De estar al aire libre, pasa del portador a las manos del colector, éste lo recibe con guantes estériles.
2. Se enrolla el papel y se introduce a un tubo estéril con tapón de rosca. Dichos tubos se marcan como T para caldo soya tripticase y S para los de caldo Selenito.
3. Se vierten 10 ml. de caldo soya tripticase y de caldo selenito a los tubos marcados, en condiciones de esterilidad.
4. Se incuban los tubos a 37°C, durante 24 horas.
5. Se observan al microscopio, mediante la tinción de Gram.
6. A cada tubo con crecimiento positivo de bacterias Gram-negativas, se realiza un aislamiento, utilizando el método

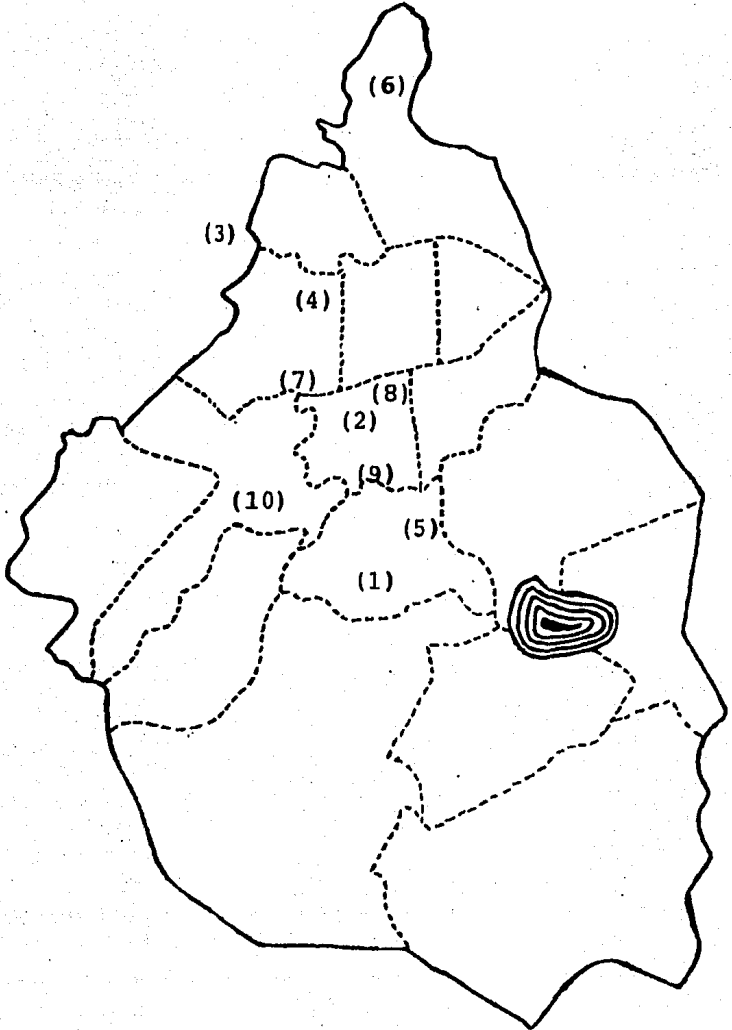
do de estría por agotamiento en las placas con los siguientes medios selectivos y diferenciales : agar de eosina y azul de metileno, agar ENDO, agar para Salmonella y Shigella, agar de Mac. Conkey.

7. Las placas inoculadas se incuban a 37°C, durante 24 horas. Una vez desarrollado el crecimiento bacteriano se realiza identificación presuntiva, mediante las características morfológicas en los medios de cultivo. ( Ver Tabla No.1 ( 9 ) ).
8. Se realizan las pruebas bioquímicas a partir de las colonias aisladas, obtenidas de las placas sembradas en los medios selectivos y diferenciales. Las pruebas bioquímicas son: agar de hierro de Kligler, agar citrato de Simmons, medio SIM, caldo manitol, caldo sacarosa-urea, caldo rojo de metilo/Voges Proskauer.
9. Se siembran por los diferentes métodos de suspensión, picadura y estría; se incuban a 37 °C durante 24 horas. ( Los resultados se leen a las 24 y 48 horas ).
10. La identificación final se realiza de acuerdo con los resultados de las pruebas bioquímicas en comparación con las tablas establecidas por Edwards y Ewing. ( Ver Tabla No.2 ( 9 ) ).

( Ver Figura No. 2 )

Figura No. 1

LOCALIZACION DE LOS PUESTOS AMBULANTES  
UBICADOS EN LA VIA PUBLICA



## LOCALIZACION DE LOS PUESTOS AMBULANTES EN LA VIA PUBLICA.

	No. de muestras recolectadas
(1) Ciudad Universitaria Paseo de las Facultades Delegación Coyoacán.	23
(2) Pensilvania Colonia Nápoles Delegación Benito Juárez.	24
(3) Toreo de Cuatro Caminos Lomas de Sotelo Estado de México.	28
(4) Línea 2. Metro Tacuba. Delegación Miguel Hidalgo.	24
(5) Línea 2. Metro Taxqueña Delegación Coyoacán.	29
(6) Línea 5. Metro Politécnico Delegación G.A. Madero.	20
(7) Línea 1. Metro Tacubaya. Delegación Miguel Hidalgo.	26
(8) R.M. Campos Villa de Cortés Delegación Benito Juárez.	26
(9) Línea 2. Metro Portales. Delegación Benito Juárez.	28
(10) Av. Centenario Lomas de Plateros Delegación Alvaro Obregón.	27
TOTAL	255

Figura No. 2

DIAGRAMA DEL PROYECTO DE TRABAJO

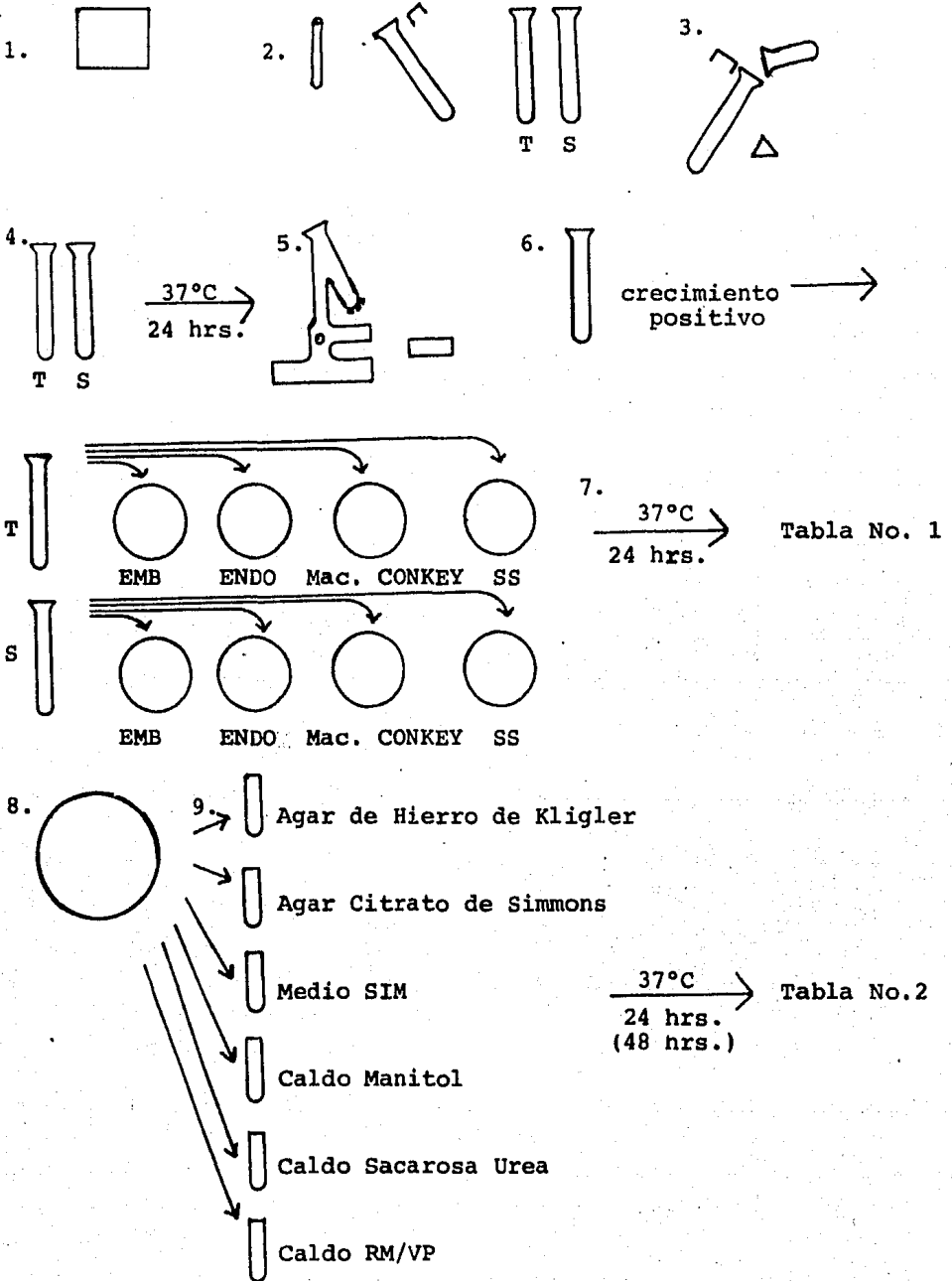


TABLA No. 1

CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS

MEDIO DE CULTIVO	SELECTIVIDAD	DIFERENCIALIDAD	CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS	
			Lactosa (+)	Lactosa (-)
ENDO Diferencial y ligeramente selectivo	Fucsina Sulfito de sodio	Fucsina	Colonias rojas con zonas rojas alrededor de diferentes tonos.	Colonias transparentes o rosa débil.
EMB Diferencial y ligeramente selectivo	Eosina Azul de metileno Lactosa Sacarosa	Eosina	Colonias negro-verdosas con brillo metálico  * Lactosa débiles : color violeta.	Colonias transparentes o amarillas.
Mac. Conkey Diferencial y ligeramente selectivo	Cristal violeta Sales biliares Lactosa	Rojo neutro	Colonias rosa rojas.	Colonias incoloras o amarillas.
SSA Moderadamente selectivo	Citrato de sodio Sales biliares Verde brillante	Rojo neutro	Colonias rosas. Los coliformes sin color, rosa al centro	Salmonella: Colonias incoloras con centro negro  Shigella: Incoloras.



TABLA No. 2

REACCIONES BIOQUIMICAS PARA LA IDENTIFICACION  
DE LAS ENTEROBACTERIAS ( EDWARDS Y EWING )

Prueba o sustrato	CITRATO	MLIGLER	S	I	M	MANITOL	UREA	SACAROSA	RM	VP
<b>MICROORGANISMOS</b>										
<i>E. coli</i>	-	lac + gas +	-	+	-d+	+	-	d+	+	-
<i>Shigella</i>	-	lac - gas -	-	-d+	-	+d-	-	-	+	-
<i>Edwardsiella</i>	-	lac - gas +	+	+	+	-	-	-	+	-
<i>Salmonella</i>	d	lac - gas +	+	-	+	+	-	-	+	-
<i>Arizona</i>	+	lac d gas +	+	-	+	+	-	-	+	-
<i>Citrobacter</i>	+	lac d gas +	+d-	-	+	+	d	d	+	-
<i>Klebsiella</i>	+	lac + gas +	+	+d-	-	+	+	+	-	+
<i>E. cloacae</i>	+	lac + gas +	-	-	+	+	+d-	+	-	+
<i>E. aerogenes</i>	+	lac + gas +	-	-	+	+	-	+	-	+
<i>E. hafniae</i>	+d-	lac - gas +	-	-	+	+	-	d	+d-	+d-
<i>E. liquefaciens</i>	+	lac d gas +	-	-	d	+	d	+	+d-	-d+
<i>Serratia</i>	+	lac + gas +d-	-	-	+	+	d	+	-d+	+d-
<i>P. vulgaris</i>	d	lac - gas +d-	+	+	+	-	+	+	+	-
<i>P. mirabilis</i>	+	lac - gas +	+	-	+	-	+	d	+	-
<i>P.morganii</i>	-	lac - gas d	-	+	+	-	+	-	+	-
<i>P. rettgeri</i>	+	lac - gas -d+	-	+	+	+d-	+	d	+	-
<i>P. alcalifaciens</i>	+	lac - gas +d-	d	+	+	-	-	d	+	-
<i>P. stuartii</i>	+	lac - gas -	d	+	+	d	-	d	+	-

+; 90 % o más positiva en 1 o 2 días

-; 90 % o más negativas

d; diferentes tipos bioquímicos [ +, (+), - ];

(+) positiva tardía

+ o - mayoría de cultivos positivos,

- o + mayoría de cultivos negativos,

w reacción débilmente positiva.

RESULTADOS

## CAPITULO V

## RESULTADOS

En este estudio se muestrearon 255 expendios donde se preparan alimentos en la vía pública. Las muestras se sembraron en los medios de enriquecimiento y se obtuvo aislamiento a partir de los medios selectivos y diferenciales; identificando finalmente a las enterobacterias mediante pruebas bioquímicas.

De acuerdo con lo anterior se tienen los siguientes datos:

No. de muestras	:	255
No. de colonias aisladas	:	670
Relación microorganismo/muestra	:	2.7

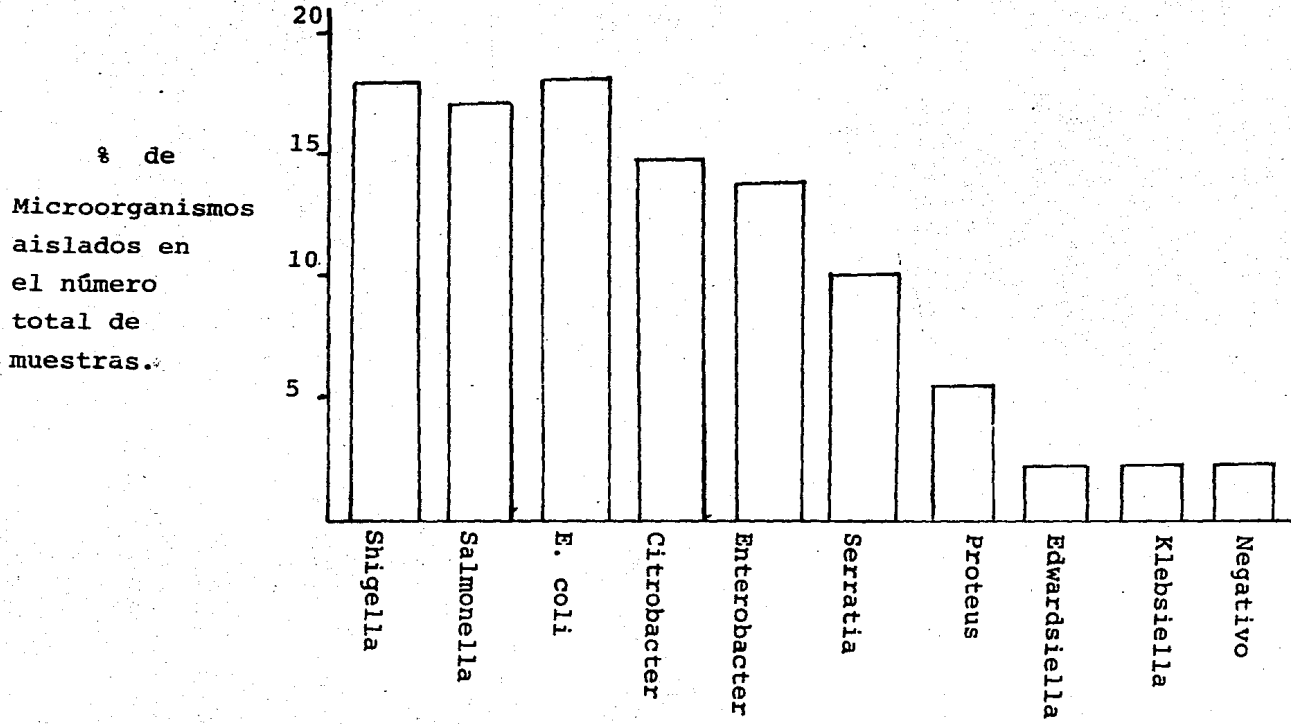
La Tabla No. 3 nos muestra el número de colonias aisladas de cada género de bacterias del presente estudio y la frecuencia con la que se presentan. Cabe mencionar que se observaron cocos Gram-positivos en algunas tinciones, en el presente trabajo solo se identificaron las enterobacterias que se mencionan.

La Gráfica No. 1 nos habla de los porcentajes obtenidos, ejemplificando la frecuencia de cada una de las bacterias.

TABLA No. 3

MICROORGANISMOS	No. DE MUESTRAS	No. DE COLONIAS AISLADAS	% DE MICROORGANISMOS EN LAS MUESTRAS	% DE COLONIAS DE MICROORGANISMOS EN RELACION AL TOTAL DE COLONIAS AISLADAS
1 Shigella	46	125	18	18
2 Salmonella	43	115	17	17
3 E. coli	46	125	18	18
4 Citrobacter	36	95	14	14
5 Enterobacter	33	90	13	13
6 Serratia	23	60	9	9
7 Proteus	13	30	5	5
8 Edwardsiella	5	15	2	3
9 Klebsiella	5	15	2	3
10 Negativo	5	0	2	0
TOTAL	255	670	100	100

GRAFICA No. 1



DISCUSSION

## CAPITULO VI

## DISCUSION

De las 255 muestras obtenidas, que corresponden al 100 % se aislaron 670 colonias de las cuales se hacen las siguientes observaciones:

1. En los cultivos practicados, el 98 % de las muestras presentan enterobacterias.
2. Unicamente el 2 % de las muestras no presentó entero bacterias.
3. El 53 % de las muestras cuenta con la presencia de enterobacterias patógenas, lo que puede convertir al papel de estraza en un vehículo importante para su transmisión.
4. Escherichia coli se encuentra en un 18 % lo que indica una contaminación fecal, al igual que el 13 % de Enterobacter.
5. Otras enterobacterias que no afectan directamente al aparato gastrointestinal se encuentran presentes lo que puede resultar de las malas condiciones higiénicas del portador.
6. La relación microorganismo/muestra nos habla de que se pueden aislar, en promedio, cerca de tres enterobacterias por papel de estraza.

## CONCLUSIONES



## CAPITULO VII

## CONCLUSIONES

1. Se demuestra que el papel de estraza es un factor importante que participa en la transmisión de entrobacterias patógenas.
2. El hecho de que las bacterias permanezcan adheridas al papel de estraza nos habla de las malas condiciones higiénicas que existen en los puestos que expenden alimentos en la vía pública.
3. El aislamiento de enterobacterias a partir del papel de estraza es posible si se utilizan los medios de cultivo convenientes.
4. Se sospecha que debe existir un portador o sea la persona que expende alimentos, sin poseer condiciones higiénicas pertinentes y por ello es que en el papel de estraza se encuentran las bacterias con las que " trabaja " o " convive " en su hábitat y lo mas grave, es que las transmite ya que posiblemente se encuentran en las manos de dicha persona.
5. La presencia de las enterobacterias en el papel de estraza puede deberse a varias causas, entre ellas: las malas condiciones higiénicas que existen, ya que

se sabe que el papel sale de la fábrica prácticamente estéril. Al encontrarse el papel de estraza al aire libre, está expuesto al polvo que puede acarrear un sinfin de microorganismos.

6. Sería recomendable sustituir este tipo de soporte por otro, al que no se adhieran los microorganismos aisla dos, en el presente trabajo.

REFERENCIAS

## REFERENCIAS

- 1.- CASEY JAMES.  
Pulp and Paper Manufacture. Chemistry and Chemical  
Technology. Volume 1: Pulping and Papermaking.  
2nd. Ed. Interscience Publishers Inc.  
New York. 1952.
- 2.- CONDE G. C.  
Shigelosis : Patogenia e Inmunidad.  
Infectología.  
1983 3: 591-595.
- 3.- Control de Enfermedades Transmisibles.  
Secretaria de Salubridad y Asistencia.  
Publicación Técnica No. 1  
México. 1973.
- 4.- DAVIS B.D. DULBECCO R. GINSBURG H.S.  
Tratado de Microbiología.  
2a. Ed. Salvat Editores.  
Barcelona. 1979.
- 5.- EDWARDS P.R. EWING W.H.  
Identification of Enterobacteriaceae.  
Burgess Publishing Co.  
Minneapolis. 1972.
- 6.- El Control de Enfermedades Transmisibles en el Hombre.  
12a. Ed. Organización Panamericana de la Salud.  
México. 1978.
- 7.- Enciclopedia Salvat. Volumen 8.  
Salvat Editores.  
Barcelona. 1972.
- 8.- Estadísticas Vitales de los Estados Unidos Mexicanos.  
Secretaria de Salubridad y Asistencia. Dirección de  
Bioestadística.  
1980.
- 9.- KONEMAN ALLEN DOWELL SOMMERS  
Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.  
Lippincott Company.  
U.S.A. 1979.
- 10.- LIBBY C.E.  
Ciencia y Tecnología Sobre Pulpa y Papel. Tomo I :  
Pulpa.  
1a. Ed. Compañía Editorial Continental. S.A.  
México. 1969.

- 11.- LIBBY C.E.  
Ciencia y Tecnología sobre Pulpa y Papel. Tomo II :  
Papel.  
1a. Ed. Compañía Editorial Continental. S.A.  
México. 1969.
- 12.- MAC. FADDIN JEAN F.  
Identification of Medical Bacteria.  
2nd. Ed. Williams and Walkins.  
Baltimore. 1980.
- 13.- NEWELL STEPHENSON J.  
Pulp and Paper Manufacture. Volume I : Preparation  
and Treatment of Wood and Pulp.  
1a. Ed. Mac. Graw Hill Book Company Inc.  
New York. 1950.
- 14.- PELCZAR M. J. REID R.D. CHAN E.C.S.  
Microbiology.  
Mac. Graw Hill  
New York. 1977.
- 15.- ROHDE PAUL A. B.A.  
Manual de Procedimientos de laboratorios y productos.  
BBL.  
Becton Dickinson de México S.A. de C.V.  
México D.F. 1974.
- 16.- TRABULSI L. R. DA SILVA ALMADA N.P.  
Avances recientes de la bacteriología de infecciones  
intestinales.  
Infectología.  
1981 1 : 231-245.
- 17.- WURTZ O.  
Fabricación de Papel.  
( Versión de la 3a. Ed. por Juan Bautista Vericard ).  
Ed. Reverté.  
Barcelona. 1956.