

870127

3
2ej

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

Incorporada a la Universidad Nacional Autónoma de México

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DIFERENCIACION DEL AGENTE ETIOLOGICO DE LAS
LLAMADAS FIEBRES ENTERICAS, EN UNA COMUNIDAD
DE LA CIENEGA DE CHAPALA.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
EDGARDO AGUILERA CEJA

Asesor: Q.F.B. María del Socorro Pulido García
GUADALAJARA, JALISCO 1987



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.

I N D I C E

1.- INTRODUCCION	1
2.- GENERALIDADES	6
3.- MATERIAL Y METODOS	43
4.- RESULTADOS	49
5.- CONCLUSIONES	71
6.- BIBLIOGRAFIA	75

I N T R O D U C C I O N

El objetivo de este estudio es determinar el agente causal de las denominadas fiebres entéricas, en una comunidad de la ciénega de Chapala, ya que durante la realización del servicio social nos percatamos, que al paciente en la mayoría de los casos no se le practicaban estudios de laboratorio, dándoseles tratamiento para todos los agentes probables que les pudieran causar la sintomatología gastrointestinal que reportaba, administrándoseles antibióticos que abarcaran una gran gama de agentes probables dentro del cual se encontraría el causante de la enfermedad.

Uno de los problemas que con frecuencia se plantea al servicio médico es el grupo de los cuadros abdominales. Este grupo de problemas se presentan con mayor frecuencia en los meses de calor y lluvias, debido sobretodo al incremento de algunas bacterias, presentes en el medio ambiente. La familia más importante en éste caso son las Enterobacterias destacando entre ellas Salmonella sp.

La salmonelosis es una enfermedad frecuente en nuestro medio cuya principal fuente de contaminación se encuentra en el fecalismo al aire libre, práctica ejercida por una gran parte de nuestra población tanto urbana como rural, a esto se puede agregar la falta de aseo de las manos después de ir al baño, la falta de agua potable y alcantarillado y el mal manejo de los alimentos.

La salmonelosis o fiebre tifoidea es una infección generalizada producida por una bacteria en forma de bastón corto (enterobacilo), que no toma el colorante cristal violeta de la coloración de Gram por lo que se le conoce como Gram negativa, que es móvil y recibe el nombre de Salmonella typhi.

que pertenece a la familia de las bacterias entéricas, es decir, aquellas que se desarrollan exclusivamente en el intestino. Se puede decir que Salmonella typhi es un organismo patógeno exclusivo del ser humano. Es resistente al congelamiento y moderadamente resistente al calor, esta Salmonella vive de manera natural en el agua y puede permanecer viva en el suelo por algún tiempo.

Otra fuente de infección son las aguas negras y de riego por lo que pueden contaminar los alimentos regados por esas aguas. Las aguas negras frecuentemente desembocan en los bancos de ostras y mariscos por lo que estos alimentos pueden ser otro foco de infección como también pueden ser los alimentos enlatados. De la misma manera se puede obtener la enfermedad de hombre a hombre por contaminación fecal. Los animales no presentan esta infección, por lo tanto no son portadores.

Tres pueden ser los factores condicionantes de la infección: 1^o La virulencia o que el infectante es la bacteria; 2^o La cantidad del inóculo; 3^o Las condiciones previas del organismo que las recibe.

La bacteria penetra por la boca al organismo y después de pasar la barrera que puede significar el jugo gástrico llega a la mucosa intestinal en donde o se reproduce localmente o pasa a la circulación sanguínea general. Esta Salmonella produce una toxina, una endotoxina que es la responsable de los síntomas del paciente que pueden ir de la fiebre, mal estado general, cansancio, náuseas, vómito, diarrea moderada, las manifestaciones en la piel de la enfermedad y, en casos graves, de alteraciones en la esfera neurológica.

Esta endotoxina también es la responsable del daño intestinal directo, que ocasiona lesión en las diversas capas intestinales hasta la ruptura y la perforación, lo que ocasiona un cuadro sumamente doloroso tanto por la ruptura misma así como la presencia del jugo intestinal en la cavidad abdominal

y la consecuente irritación del peritoneo, membrana que separa la cavidad intestinal de la tórácica y la pélvica.

Si siguiendo algunos lineamientos higiénicos es posible evitar esta enfermedad intestinal que de manera obvia pone en peligro la vida de quien la sufre.

Cuando se trate de un dolor abdominal muy importante, es preferible no administrar ningún analgésico o antiespasmódico hasta que el paciente sea revisado por el médico para que indique el tratamiento y los estudios a realizar para el enfermo de manera que pueda dar el tratamiento más eficaz para el padecimiento que aqueja a el paciente.

Desde el punto de vista de la higiene personal y comunitaria es importante tener muy en cuenta estas normas.

- No olvidarse del lavado de las manos antes de comer y después de ir al baño.
- Lavar bien los alimentos que se consumen crudos.
- Fomentar estas prácticas en la comunidad y propugnar por un eficiente sistema de agua y drenaje.
- Evitar la ingesta de alimentos sospechosos de contaminación o potencialmente infectados.
- Recordar siempre que higiene y salud van siempre de la mano.

La incidencia de Salmonelosis a nivel mundial es muy alta, en nuestro país desde 1969 ocupan las enteritis y otras enfermedades diarreicas el segundo lugar en causas de mortalidad, notificándose para 1979 un total de 594,920 casos, con una mortalidad de 857.5 por cada 100 000 habitantes, como se puede apreciar por estos datos y ya que el grupo más afectado es el comprendido de 0 a 4 años, se requiere que la vigilancia y el control epidemiológico de este tipo de enfermedades transmisibles sea muy eficaz, lo cual demanda de un conocimiento exacto de la naturaleza del agente causal. Las normas y lineamientos para hacer efectivo ese control se fundan en datos de morbilidad y mortalidad en el espacio y en el tiempo.

Es importante para el epidemiólogo disponer de información sobre la ecología del agente etiológico, esto es su hábitat natural, sus fuentes de aislamiento y su resistencia a las condiciones ambientales fuera de sus huéspedes naturales.

En el caso de la Salmonelosis el problema adquiere una complejidad especial en vista de que algunos de sus miembros son específicos para un huésped, en tanto que otros pueden infectar lo mismo a animales que al hombre.

Muchas especies animales funcionan como portadores, el germen es arrojado por las materias fecales y pueden contaminar los alimentos aquí bajo condiciones favorables, se multiplican activamente. Esto a su vez es una fuente de contaminación para el hombre y para los animales.

El trabajo en el campo del epidemiólogo durante el estudio de un brote junto con las técnicas de saneamiento para evitar la repetición del accidente, sólo se desarrolla exitosamente si se dispone de un servicio de laboratorio que permita efectuar investigaciones y diagnósticos oportunos y confiables en una variedad de muestras, como pueden ser en especímenes humanos para confirmar el diagnóstico clínico o descubrir un portador del germen.

Otro problema importante para la identificación del agente causal es la de la técnica a emplear ya que se debe evitar la interferencia de miles de millones de otras bacterias, ecológica y fisiológicamente, muy relacionadas con el microorganismo en cuestión.

La Brucelosis es una de las zoonosis más frecuentes, es decir una enfermedad de los animales que se trasmite al hombre, por lo que es de gran importancia en la medicina humana esta enfermedad recibe también el nombre de Fiebre de Malta ó Fiebre Ondulante.

El desarrollo de Brucella sp. en los medios de cultivo es lento y requiere de medios de cultivo complejos, por lo cual para el diagnóstico de esta enfermedad se empleó la reac

ción de Huddleson dada su especificidad y su sensibilidad en la determinación de anticuerpos circulantes en contra de cualquier especie del género Brucella. Por lo que cualquier título positivo para esta reacción será indicativo de la infección.

Es de tomarse en consideración la alta frecuencia de las fiebres producidas por Brucella sp. por lo cual se tomo en consideración en el presente estudio. Ya que esta región en los últimos años ha sido considerada como una zona endémica para esta infección, dada la gran incidencia de casos que por año se presentan.

GENERALIDADES

Las reacciones febriles se han usado mucho para la determinación de anticuerpos en el suero del paciente contra varios microorganismos productores de enfermedad. Una de ellas es la reacción de Widal, destinada al diagnóstico de la fiebre tifoidea y paratifoidea. La reacción de Weil-Félix en la cual el antígeno empleado no es específico, pues emplea varias cepas de Proteus, la que se emplea para determinar anticuerpos en contra de Rickettsia sp. por poseer antígenos en común con Proteus sp., dando también positiva en infecciones por Proteus sp. La reacción de Huddleson se emplea para la determinación de Fiebre de Malta o Brucelosis ya que los anticuerpos de esta enfermedad pueden demostrarse con especificidad y sensibilidad pues esta preparada con antígenos de las tres especies (B. abortus, B. suis y B. melitensis). En la actualidad la interpretación de las Reacciones Febriles se ha modificado pues influyen muchos factores que pueden alterar los títulos reportados en el caso de Salmonelosis, debido a el uso generalizado de vacunas contra Salmonella sp. lo cual aumenta los títulos sin indicarnos la enfermedad, además de la aparición de nuevos serotipos de Salmonella hacen que a veces la interpretación sea un poco engañosa, en relación a los antígenos O y H.

En el caso de la reacción de Weil-Félix los títulos elevados de esta reacción tienen poca significación pues en la región en donde se realizó el presente estudio no se han detectado casos de Rickettsiosis, por lo cual al encontrar algún título positivo es debido a una reacción cruzada con Proteus sp. o algún otro anticuerpo presente en el suero el cual nos esta dando positiva esta reacción.

En el caso de Brucella sp. cualquier título será indica-

tivo de la presencia de infección aunque se han reportado --- casos de pacientes con títulos elevados de personas cuya actividad es el pastoreo de ganado caprino y bovino, además de la ingesta de leche sin hervir y otros productos lácteos preparados a partir de leche de ganado bovino y caprino, presentándose se casos con títulos superiores a 1:3200.

La mayor parte de las bacterias causantes de fiebre entérica pertenecen a la familia Enterobacteriaceae, los cuales son bacilos cortos Gram negativos, no esporulados que pueden o no tener flagelos.

Salmonella sp. son bacilos cortos Gram negativos, móviles, no esporulados, en materia fecal pueden sobrevivir por varios días a temperatura ambiente, incluyen varias especies patógenas para el hombre y animales. Pueden diferenciarse entre ellas y otras bacterias entéricas por medio de las reacciones bioquímicas, por el aspecto de sus colonias en medios diferenciales y por tipificación serológica.

Brucella sp. es un bastoncillo Gram negativo, no móvil y no formador de esporas, el género tiene tres especies y son parásitos obligados que se localizan dentro de las células del huésped, crecen mal en los medios de cultivo corrientes por lo que se recurre a los medios de cultivo especiales, son aerobios, aunque en algunos casos se favorece con CO₂ su desarrollo en medios de cultivo, el cual es lento.

Proteus sp. son bacilos cortos Gram negativos, no esporulados, no capsulados, que se caracterizan por su gran pleomorfismo, son bastante móviles debido a la presencia de flagelos peritricos y su gran cantidad de fimbrias, se encuentran en heces, agua y materias en descomposición.

Shigella sp. son bacilos cortos Gram negativos, no móviles, no capsulados, no forman esporas, son anaerobios facultativos, pero crecen mejor en condiciones aerobias, se diferencian de Salmonella sp. por reacciones de fermentación.

Escherichia coli, en un bacilo corto Gram negativo, que se desarrolla fácilmente en medios de cultivo ordinarios, fermentan una gran variedad de azúcares con producción o no de gas, algunos son móviles aunque otros carecen de flagelos.

Estos son algunos de los géneros de enterobacterias que generalmente son causantes de diarrea, algunos de los cuales pueden causar sintomatología gastrointestinal, reciben el nombre de enterobacterias pues habitan en su mayoría el intestino y en circunstancias muy especiales son causantes de enfermedad.

Otros microorganismos causantes de esta sintomatología gastrointestinal, son los parásitos del Phylum Protozoa, entre ellos se encuentran Entamoeba histolytica y Giardia lamblia que causan problemas sobretudo en niños.

Entamoeba histolytica es un parásito que invade las cavidades del intestino, en una muestra de heces se pueden encontrar en dos estados o formas, una de ellas es el quiste y la otra el trofozoito, esta última en heces recientemente emitidas y de carácter diarreico, el quiste se puede encontrar en algunas muestras diarreicas, pero generalmente se encuentra en heces formadas, el quiste presenta en su interior cuatro núcleos menores que el trofozoito. El trofozoito se diferencia por las características de su movimiento así como por el tamaño, lo cual nos sirve para diferenciarlo de otro tipo de amibas.

Para el cultivo de las enterobacterias en general las técnicas son laboriosas, costosas y se requiere de tiempo, pero la importancia que para la salud pública constituyen estos microorganismos da lugar a que continúen ensayándose nuevas técnicas con el objetivo de hacerlas más sensibles, específicas, económicas y rápidas.

La metodología general incluye una sucesión de etapas:

- a).- Pre-enriquecimiento o enriquecimiento no selectivo.
- b).- Enriquecimiento en medios selectivos.

- c).- Aislamiento en medios de agar selectivos.
- d).- Identificación presuntiva mediante pruebas bioquímicas.
- e).- Identificación serológica.

En los laboratorios muy especializados se completa con la tipificación fagica para identificar a que grupo pertenece la Salmonella aislada.

En el caso que vayan a estudiarse alimentos, el propósito del pre-enriquecimiento consiste en facilitar a Salmonella sp. presente en el alimento una recuperación del estado en el que se encontraban antes de exponerlas a condiciones traumatizantes durante el procesado de algunos alimentos (leche, harina de pescado, jamón, etc.). Los medios de cultivo que para tal fin se utilizan no contienen en general sustancias inhibitorias; la flora asociada no se ve por ello impedida para proliferar. De ahí el recurso del medio de pre-enriquecimiento debe manejarse cuidadosamente para obtener Salmonella sp. y evitar un sobredesarrollo de la flora competitiva que estorbara su aislamiento.

Los medios de enriquecimiento pueden utilizarse a partir del pre-enriquecimiento, o directamente con la muestra; los cuales contienen sustancias inhibitorias que pretenden, por una parte la multiplicación de Salmonella sp. y por otro lado impedir el desarrollo de la flora asociada, este es al menos el objetivo de estos medios, pero diversos factores demeritan el valor de cada uno de los diversos medios conocidos en menor o mayor grado.

Por esta razón se pueden encontrar en la literatura especificaciones para cada tipo de muestra, no solo al medio de enriquecimiento recomendado, sino a las condiciones en que debe ser utilizado, la concentración del inóculo, temperatura y tiempo de incubación.

Dos grupos de medio de enriquecimiento han sido utilizados con mayor frecuencia: El grupo del caldo tetrionato -- (bilis verde brillante o medio de Kaufman, caldo tetrionato

verde brillante, caldo tetracionato sulfatiazol bilis verde - brillante y caldo tetracionato novobiocina), y el grupo del selenito (caldo selenito F, caldo selenito cistina, caldo selenito verde brillante y caldo selenito sulfa verde brillante).

Los medios del grupo tetracionato, contienen una fuente de nitrógeno orgánico a base de peptona, triptona, extracto de carne o extracto de levadura, adicionando según el caso, sales biliares o novobiocina para inhibir a bacterias Gram positivas; el verde brillante puede inhibir además de éstas bacterias inhibe también a las bacterias coliformes, el carbonato de calcio es para regular el PH neutralizando el ácido que se va generando y el tiosulfato de sodio que parcialmente pasa a tetracionato de sodio (cuando se adiciona el yodo al inocular la muestra) tienen un efecto tóxico, cuando actúan en combinación, según se cree por reacción con los grupos sulfhidrilo de las enzimas involucradas en la síntesis de la membrana y pared celular de las bacterias sensibles. Los medios del grupo selenito, contienen una fuente de nitrógeno a base de triptona y peptona debiéndose el efecto tóxico del selenito a dos posibles mecanismos; reacción con un grupo sulfhidrilo enzimático o formación de cminodcidos análogos en los que el selenito ha tomado el lugar del azufre, contienen también lactosa y fosfatos los cuales tienen un efecto regulador del PH, la cistina favorece el desarrollo de Salmonella sp. en presencia de la muestra involucrada.

Como consecuencia de los medios de enriquecimiento se obtiene una flora mixta en los caldos y a partir de ellos se procede al aislamiento de Salmonella sp. lo cual se realiza en medios sólidos los cuales mantienen un efecto inhibitorio sobre la flora asociada, estimulando la formación de colonias de Salmonella sp. y finalmente comunican a estas características diferenciales respecto a las colonias de otros gérmenes.

En atención a su fuerza selectiva, se pueden constituir tres grupos: 1^o Ligeramente selectivos (Medio ENDO, agar Fosfina Azul de Metileno y medio de Hackonkey); 2^o Moderadamente selectivos (agar DGLS, agar Salmonella Shigella (SS) y agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD)),; 3^o Fuertemente selectivos (agar Verde Brillante (VB) y agar Sulfito de Bismuto (SB)).

Idealmente a este nivel la técnica de aislamiento, Salmonella sp. debieran aparecer bien desarrolladas y en cultivo puro sobre las placas, pero esto no es así, ni como mucho la regla, sin embargo otros gérmenes y mejor aún ciertas cepas de esos gérmenes muy relacionados bioquímicamente a Salmonella sp. llegan a desarrollarse, de estas algunas pueden diferenciarse sobre las mismas placas y desecharse, otras, -- requieren confirmación a través de pruebas en cultivos puros.

Ciertas características le dan preferencia a uno u otro medio. La experiencia ha mostrado que la conducción más correcta del análisis incluye el empleo de dos medios (uno moderadamente selectivo y otro fuertemente selectivo), por cada muestra examinada, he aquí algunas de las características más interesantes que deben conocerse de estos medios para su mejor manejo.

MEDIO DE ENDO.

El más antiguo de los medios todavía en uso si bien con escasa preferencia. La fucsina agregada al medio base es decolorada por el sulfito de sodio. Durante la fermentación de la lactosa, los grupos aldehídos liberados reaccionan con el sulfito liberando a la fucsina que comunica el color rojo característico a las colonias de bacterias fermentadoras de la lactosa. El propio colorante muestra acción inhibitoria contra las bacterias Gram positivas.

MEDIO DE MACKONNEY

A la base peptonada se le adiciona sales biliarres y cristal violeta como agentes inhibidores de las bacterias Gram -- positivas. El indicador es el rojo neutro, de manera que los fermentadores de la lactosa aparecen de color rojo, en tanto que los no fermentadores no desarrollan color. El medio no tiene un fuerte efecto inhibitorio sobre las bacterias Gram -- positivas que pueden formar colonias pequeñas rasadas o rojas, este inconveniente se elimina incorporando cristal violeta.

En este medio las colonias de Salmonella sp. y Salmonella arizona presentan las siguientes características, son colonias incoloras y transparentes, y las colonias de Salmonella arizona fermentadoras de la lactosa presentan un color -- rojo. Las colonias de bacterias coliformes precipitan en el medio las sales biliarres.

AGAR DESOXICOLATO-CITRATO-LACTOSA-SACAROSA 6 DCIS.

El desoxicolato de sodio rompe la integridad de la pared celular de las bacterias Gram positivas dando lugar a su lisis. El sistema indicador esta constituido por el rojo neutro, la lactosa y sacarosa, estos últimos no son atacados por la gran mayoría de las cepas de Salmonella sp. Algunas cepas de coliformes fermentan más rápidamente la sacarosa que la -- lactosa lo que disminuye la oportunidad de obtener reacciones falsas negativas.

AGAR SALMONELLA SHIGELLA (SS).

Este medio es una modificación del anterior en el cual -- la inhibición de los Gram positivos se logra con las sales -- biliarres en lugar del desoxicolato y del verde brillante que además retarda el desarrollo de muchas cepas coliformes. Las colonias de fermentadores lentos de la lactosa y no fermentadores del tipo Proteus sp. y Pseudomonas sp. forman colonias muy semejantes a las de Salmonella sp. especialmente el primo con quien comparte en muchos casos incluso colonias negras debido a la producción de ácido sulfhídrico. En el medio la

función del citrato férrico es la de una sal de ácido débil - a partir del cual el H_2S formado lo desplaza para producir el sulfuro férrico negro. Las colonias rojas corresponden a las fermentadoras de la lactosa, por el virre del indicador rojo - neutro incorporado al medio. El tiosulfato y el citrato de sodio contribuyen a darle selectividad. No obstante, se estima que alrededor del 60% de las colonias aparentes de Salmonella sp., en este medio (y en las variedades de agar Desoxicolato), no son confirmadas como tales mediante las pruebas bioquímicas subsecuentes.

Las colonias de Salmonella sp. presentan las siguientes características en este medio. Son incoloras o ligeramente rosadas y transparentes, y las colonias de Escherichia coli - son pequeñas que van del color rosa al rojo.

MEDIO DE WILSON BLAIR O AGAR SULFITO DE BISMUTO.

Este es uno de los medios de cultivo de mayor predilección entre los bacteriólogos para el aislamiento de Salmonella sp., es ampliamente utilizado en Europa, también recomendado por casi todas las agencias norteamericanas interesadas en el problema. A diferencia de los restantes medios, el sistema - indicador no funciona a base de la fermentación o no de la lactosa o de algún otro carbohidrato por sí mismo. La flora Gram positiva es inhibida por el verde brillante y una interesante proporción de Gram negativos por el efecto del sulfito de bismuto y del sulfito de sodio. De acuerdo a algunos autores los cuales han señalado la obtención de falsas positivas en el medio y es de esperar su falta de sensibilidad para poner de manifiesto cepas de Salmonella sp., no productoras de H_2S (el medio fué propuesto por los autores para el aislamiento de -- una especie muy constante como generadora del H_2S que es Salmonella typhi.).

Las colonias de Salmonella sp. y Salmonella arizona presentan las siguientes características en este medio, las colonias son café, grisáceas o negras, algunas cepas de Salmonella sp. y Salmonella arizona desarrollan un color verde que es más característico en este medio de los coliformes, entre las 18 a 24 hrs. se forma en el medio de cultivo un halo negro grisáceo y con brillo metálico rodeando a la colonia. Las colonias de coliformes y Proteus sp. desarrollan ocasionalmente, dando colonias que pueden ser verdes, café y aún negras, estas últimas más pequeñas que las de Salmonella typhi y por lo general sin brillo metálico en el medio que rodea a la colonia.

AGAR VERDE BRILLANTE.

Al medio nutritivo básico se le adiciona verde brillante como inhibidor de la flora Gram positiva y de algunos coliformes. El mecanismo indicador está formado por lactosa y sacarosa con el rojo de fenol como indicador.

La incorporación de sulfapiridina hace aún más inhibitorio al medio, lo que según los autores llega a perjudicar el aislamiento de un número de Salmonella sp., con o sin las sulfas es también uno de los medios más recomendados.

Las colonias de Salmonella sp. y Salmonella arizona presentan las siguientes características en este medio, transparentes u opacas de 0.5 hasta 1.5 mm. de diámetro, incoloras, rosas o ligeramente rojizas. En la proximidad a colonias de coliformes activas fermentadoras de la sacarosa o lactosa pueden estas comunicarle un color verdoso.

AGAR XILOSA-LACTOSA-DESOXICOLATO O AGAR XLD.

Aunque menos inhibitorio que los dos medios anteriores, éste manifiesta aparentemente una sensibilidad mayor que desde este renglón, lo sitúa con ventajas, la inhibición de las bacterias Gram positivas se debe al desoxicolato presente. El sistema indicador funciona a partir de tres carbohidratos. Xi

losa, Lactosa y Sacarosa. La descarboxilación de la lisina y la producción de H_2S . La Xilosa es fácilmente utilizada por Salmonella sp., lo que provoca una acidificación del medio. Sin embargo, al descarboxilar la lisina, las colonias de estos gérmenes elevan el PH haciendo virar a rojo el indicador rojo de fenol, esta es la coloración típica de las colonias de Salmonella sp. en el medio. Las bacterias fermentadoras de lactosa o sacarosa acidifican el medio a tal grado (el medio contiene 7.5 g/l de cada uno de estos azúcares) que aún descarboxilando la lisina no llega a producir un virre alcalino del medio.

Las colonias de Salmonella sp. y Salmonella arizona en este medio presentan las siguientes características, son de color rojo, transparentes con centro negro si producen H_2S , y sin centro negro si no son productoras de H_2S . Las colonias de Citrobacter sp. son amarillas y opacas, pudiendo presentar centro negro y orillas claras. Las colonias de Escherichia coli, Enterobacter sp. y Serratia sp. son amarillas y opacas y un halo de precipitado amarillo alrededor de las colonias.

No es difícil advertir que la variedad de los medios de cultivo diseñados para el aislamiento de Salmonella sp. contemplan un problema singular que surge de dos hechos: 1^o La eventual abundancia y variedad de la flora asociada y 2^o La eventual escases de células de Salmonella sp. o la existencia de estas con desusual sensibilidad a los agentes inhibitorios.

La identificación presuntivo de las colonias de Salmonella sp. desarrolladas en las placas se efectúa mediante la aplicación de pruebas bioquímicas en medios de cultivo que lleven incorporado un sistema sencillo o múltiple de indicadores y ningún elemento restrictivo para la multiplicación bacteriana.

Durante esta etapa se pretende conocer el perfil bioquímico de las cepas en estudio para compararlo con el que gene-

ralmente exhiben las cepas de Salmonella sp. Se dice que la identificación al concluir estas pruebas es presuntiva debido a la existencia de cepas de Salmonella sp. que se apartan de los lineamientos tipos del género y de cada cepa de otros géneros pueden responder con las características propias de la Salmonella sp.

La oportunidad de que esto ocurra disminuye conforme se emplean más y más pruebas durante el proceso. Aún así, siempre existe el riesgo de estar frente a una cepa que no se conduce en alguna prueba en la forma que se reconoce típica de Salmonella sp. Por ejemplo, después de ensayar miles de cepas del género se ha encontrado que 9.4% no producen H_2S en medio de agar TSI, 5.4% son inmóviles, 0.3% no fermentan el manitol y el 6% la xilosa: Por otra parte un 0.8% fermentan la lactosa, 0.5% la sacarosa, 1.1% produce indol y 0.3% aunque tardamente llegan a desarrollar en presencia de cianuro.

La lista anterior permite señalar un hecho no primitivo de Salmonella sp., pero sí que ellas alcanzan su mayor expresión. El diagnóstico o identificación final se una Salmonella no se obtiene a través de unas cuantas pruebas bioquímicas como tampoco debe identificarse sólo por aglutinación de un suero polivalente a partir de colonias más o menos típicas en placas de los medios selectivos y diferenciales. Igualmente erróneo puede ser el desechar una cepa sólo porque no responde a una prueba aislada reconocida como típica del género. El diagnóstico más confiable que puede conseguirse es aquel que se fundamenta en una serie de pruebas bioquímicas positivas, según el ensayo de que se trate en cada caso; aunando a ello las pruebas de aglutinación con antisueros de grupo, al menos por lo demás, es imperativo probar varias colonias típicas de cada placa inoculándolas a la serie de tubos con los medios adecuados, se debe tener cuidado en todo momento que la inoculación se efectúe a partir de un cultivo puro del microorganismo.

Por ello se deberá seleccionar cuidadosamente, de preferencia bajo lente de aumento y con adecuada iluminación aquellas colonias más sugestivas, si las hay típicas, y si no de las sospechosas.

Si alguna duda existiera, se procederá a su aislamiento en alguno de los medios selectivos.

Las pruebas bioquímicas que se utilicen para la identificación presuntiva de Salmonella sp., no son totalmente obligatorias, ejecutadas correctamente, sino que se pueden variar los parámetros según la disponibilidad en el mercado de los medios de cultivo así como la economía de estos medios, - todo esto apoyado en la experiencia que el ejecutante tenga, pudiendo así variar unas pruebas por otras.

Se recurre generalmente a los siguientes medios: agar -- TSI o el medio de Kligler para observar la fermentación de la glucosa y la lactosa (y/o la sacarosa en el caldo TSI) y la producción de H_2S ; El medio de SIM (para observar la movilidad, la producción de indol y la de H_2S). El medio de Surroco para observar la fermentación de la sacarosa y la hidrólisis de la urea. La fermentación del manitol en caldo Manitol y la prueba para la lisina descarboxilasa en LIA agar. Otras pruebas, como la capacidad de crecer en presencia de Cianuro, la producción de acetil metil carbinol, el desarrollo en Citrato, la licuefacción de la gelatina, la utilización del malonato y la descarboxilación de la ornitina, contribuyen a mejorar el diagnóstico, aunque desde el punto vista práctico -- no conviene utilizarlas en el estudio de cada cepa, sino para esclarecer ciertas dudas. Téngase presente que un microorganismo puede dar positiva una prueba al ensayarse sobre un medio de cultivo particular pero no en otro indicado para el -- mismo propósito; asimismo las temperaturas y tiempos de incubación pueden tener una influencia decisiva en el resultado, las lecturas deben efectuarse justo al final del período prescrito para cada una.

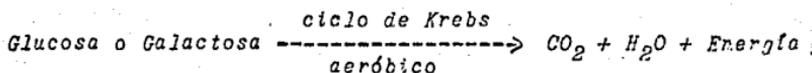
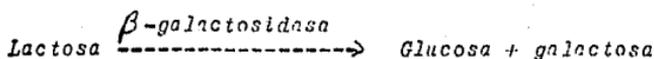
Las pruebas de aglutinación de las cepas representativamente identificadas como Salmonella conducen al diagnóstico final del género, la especie y al serotipo. A partir del desarrollo en el medio de Kligler, TSI o de un cultivo en gelosa nutritiva, después de 24-48 horas de incubación, el microorganismo está en condiciones de someterse a la prueba.

Después de tener las colonias que presentan, las características típicas para considerarse una colonia sospechosa, se procede a la realización de las pruebas bioquímicas.

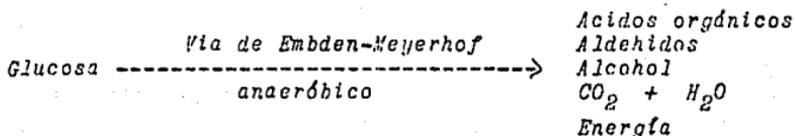
AGAR DE HIERRO TRIPLE AZUCAR (TSI) Y AGAR KLIGLER.

Se utilizan para determinar la capacidad de un organismo para atacar los carbohidratos específicos incorporados al medio basal de crecimiento (glucosa, lactosa y sacarosa) con o sin producción de gas observando la producción de H_2S . Los cultivos se incuban a $37^{\circ}C$ de 18 a 24 hrs.

La fermentación de los microorganismos aerobios ocurre en el pico del medio y los anaerobios en el fondo, en el pico la glucosa es inicialmente catabolizada por la vía anaeróbica de Embden-Meyerhof utilizada por aerobios y anaerobios, produciendo como intermediario el ácido pirúvico. El ácido pirúvico es después degradado completamente por el ciclo de Krebs por los microorganismos aerobios y anaerobios facultativos, produciendo CO_2 , H_2O y energía. Ambas vías de Embden-Meyerhof y el ciclo de Krebs, involucran pasos subsecuentes productores de muchos productos intermediarios, cada etapa es mediada por enzimas específicas, la lactosa es un disacárido de glucosa y galactosa.



En el fondo existen condiciones anaeróbicas por lo cual la glucosa es metabolizada por la vía de Embden-Meyerhof a -- ATP y como intermediario el ácido pirúvico, el cual es convertido en varios productos finales estables, como ácido láctico y/u otros ácidos orgánicos, aldehídos, alcoholes, CO_2 , H_2 y energía.



FERMENTACION DE LA GLUCOSA SOLAMENTE.

después de la incubación el pico aparece alcalino (rojo) y el fondo ácido, esta reacción se observa cuando los microorganismos son capaces de fermentar solamente la glucosa, la reacción alcalina nos indica que ocurrió una degradación aeróbica de la glucosa. Después de 18-24 hrs. de incubación las bajas concentraciones de glucosa son completamente utilizadas y los microorganismos sobresalientes utilizan la peptona como nutrientes, el catabolismo de las peptonas da como resultado amonía cambiando a alcalino el PH. Sin embargo un color amarillo persistente en el fondo del tubo indica la degradación anaeróbica de la glucosa, los productos finales ácidos mantienen el PH ácido.

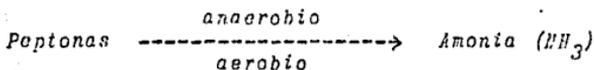
FERMENTACION DE LACTOSA Y GLUCOSA

Algunos microorganismos tienen la capacidad de fermentar la lactosa y la glucosa, dando como resultado una reacción ácida en el pico y en el fondo del medio.

NO FERMENTACION DE LA LACTOSA Y GLUCOSA

Algunas bacterias, generalmente bacilos Gram negativos no entéricos, son incapaces de fermentar cualquiera de los dos azúcares, glucosa o lactosa. Estas bacterias están presentes

a lo largo del tracto intestinal con miembros de las Enterobacteriaceas y es necesario identificar esas bacterias no entéricas. Algunas de esas bacterias son incapaces de obtener sus nutrientes de los carbohidratos presentes utilizando la peptona presente en el medio. Esas bacterias no entéricas pueden utilizar la peptona aeróbica o anaeróbicamente. Cuando las peptonas son degradadas producen un PH alcalino debido a que se libera amonia, dándole al medio un color fuertemente rojo.



El medio también es utilizado para ver si la bacteria -- presente fué capaz de producir gas como producto final de la degradación de carbohidratos, aquí los gases producidos son CO_2 y H_2 .

Otra utilización del medio es para detectar la presencia de sulfuro de hidrógeno, para esto se emplea el citrate férrico de amonio y el tiosulfato de sodio como indicadores, lo -- cual ocurre en dos etapas:

- 1.- Bacteria (ambiente ácido) + Tiosulfato de sodio $\rightarrow \text{H}_2\text{S} \uparrow$
gas
- 2.- H_2S + Citrate férrico de amonio \rightarrow Sulfuro ferroso \downarrow
(pp. insoluble)

El precipitado negro del sulfuro ferroso nos indica la -- producción de H_2S .

INTERPRETACION

Fermentación solamente de la glucosa:

- A).- En el agar inclinado reacción alcalina (rojo)
- B).- En el fondo, reacción ácida (color amarillo) si hay producción de gas se observarán burbujas de aire en el medio o -- francamente desplazado hacia arriba el medio, si hay producción de H_2S se produce un precipitado negro que puede enmascarar -- la ácidos.

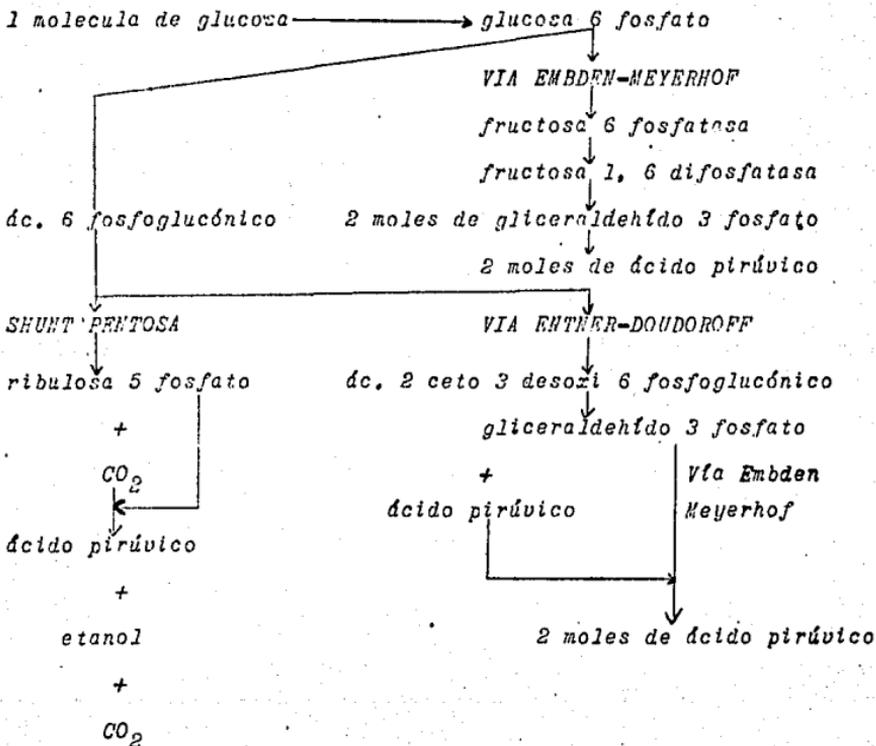
Fermentación de la glucosa, lactosa y sacarosa.

A).- en el agar inclinado, reacción ácida (color amarillo).

B).- en el fondo, reacción ácida (color amarillo).

FERMENTACION DE CARBOHIDRATOS (SACAROSA Y MANITOL).

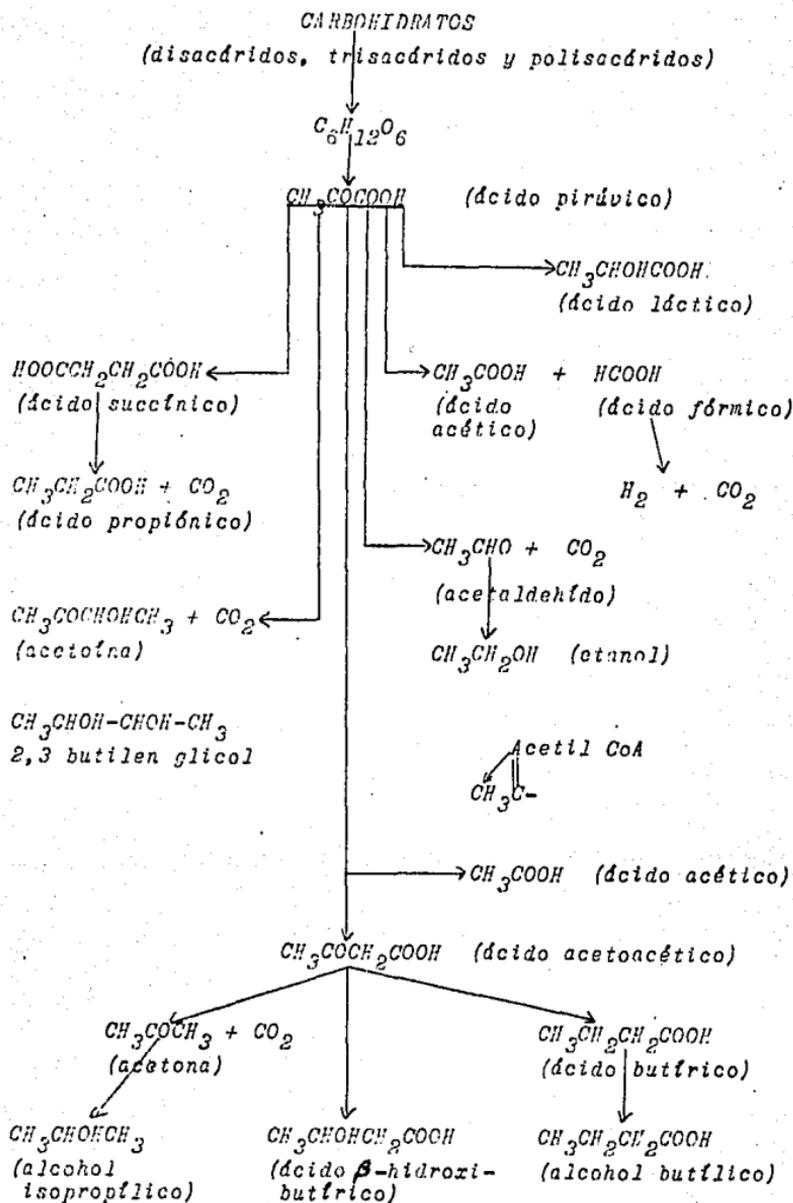
La prueba de fermentación (degradación de carbohidratos) se utiliza para determinar la capacidad de un organismo para degradar un carbohidrato específico incorporado a un medio basal, por medio de la producción de gas y ácido o solamente ácido. La mayor vía de fermentación de la glucosa es la vía de Embden-Meyerhof, aunque la degradación puede ocurrir vía o en combinación con Shunt de Pentosa o la vía de Entner-Doudorof. Sin embargo las tres vías requieren la fosforilación de la glucosa como paso inicial para que ocurra la degradación.



El ácido pirúvico es el producto intermediario en la fermentación de la glucosa, y la degradación del ácido pirúvico experimenta muchos mecanismos diferentes, y forma una variedad de productos finales característicos de la fermentación bacteriana; los monosacáridos son catabolizados como resultado de la oxidación a ácido pirúvico a través de una secuencia en un proceso sucesivo mediado por enzimas específicas. Las diferentes vías pueden ser utilizadas por una bacteria para formar ácido pirúvico, y más de una vía puede ocurrir simultáneamente en el mismo organismo.

Los productos finales característicos de la fermentación bacteriana son; (1) ácido láctico, (2) ácidos acético y fórmico, (3) ácido láctico y alcohol etílico, (4) alcohol etílico, (5) acetil metil carbinol (acetofna) y CO_2 , (6) ácido succínico a propiónico y CO_2 , (7) CO_2 y acetona a alcohol isopropílico, (8) ácido butírico a alcohol butílico.

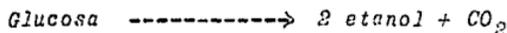
Ver esquema siguiente página.



Hay distintos patrones de fermentación producidas por -- las bacterias, cada uno depende de las características de los productos finales formados.

Fermentación alcohólica.

La degradación alcohólica de la glucosa por bacterias a ácido pirúvico es por la vía de Embden-Meyerhof.



Fermentación ácido láctica.

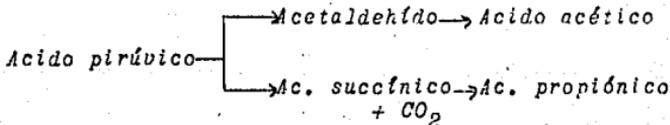
La fermentación del ácido láctico puede ser dividida en dos subgrupos: La fermentación homoláctica y la fermentación heteroláctica.

La fermentación homoláctica o simplemente láctica, la -- bacteria fermenta la glucosa por la vía de Embden-Meyerhof, -- casi siempre el producto final es el ácido láctico, con algunas trazas de otros productos finales.

En la fermentación heteroláctica se dice que hay una mezcla de fermentos lácticos. Esos organismos pueden catabolizar la glucosa por una de las tres vías de fermentación de la glucosa (Embden-Meyerhof, Shunt de pentosa o el proceso de Entner Doudorof) produciendo productos finales característicos, ácido láctico mas ácido acético y ácido fórmico, alcohol etílico y CO_2 , y algunas veces glicerol. Solo algunas especies bacterianas producen ambas fermentaciones.

Fermentación ácido propiónico.

El principal producto final del ácido pirúvico es el acido propiónico y CO_2 vía ácido succínico, aunque se puede producir ácido acético.



Para usar un indicador de PH con un carbohidrato específico, se puede determinar, ya sea que una bacteria haya degradado el carbohidrato, a varios productos finales, observando un cambio de color en el medio.

PH indicador + Carbohidrato $\xrightarrow[\text{bacteriana}]{\text{glucólisis}}$ CO_2 , H_2O , aldehídos
+ cambio de color.

La prueba de fermentación de carbohidratos puede utilizarse para determinar que productos finales son formados, pero sin importar la ufa utilizada. También el medio contiene otros constituyentes que pueden ser degradados a producir varios productos finales similares a aquellos producidos por los carbohidratos y algunas veces los organismos utilizan algo de carbono producido para la degradación de carbohidratos y producir nuevas células.

El indicador de PH comunmente usado para demostrar que los carbohidratos han sido fermentados es el rojo de fenol, la mayoría de los productos finales del metabolismo de los carbohidratos son ácidos orgánicos. Con el rojo de fenol el color cambia. Las peptonas presentes en el medio son también degradadas por las bacterias presentes y produce substancia que son alcalinas. El ácido producido por fermentación de los carbohidratos es observada por un cambio en el PH, solo cuando es producido ácido por la fermentación de los carbohidratos la cual es tan grande que las substancias alcalinas producidas a partir de las peptonas, son neutralizadas por lo que el ácido restante produce el cambio de color.

La incubación de los tubos se llevará a cabo a 37°C de 18-24 hrs. Si se quiere observar la producción de gas, introducir en los tubos una campana de Durham o agregarle al caldo durante la preparación agar para que este se solidifique y así observar la producción de gas.

La prueba positiva, se observará un color amarillo en el medio, lo cual nos indica que el organismo produjo ácido, y para observar la producción de gas se observará en el interior de la campana, en la cual una simple burbuja nos indicará la positividad de la producción de gas, y cuando se utiliza el medio sólido, se observará mediante la formación de burbujas en el medio y/o el levantamiento del medio por la producción de gas. La prueba negativa será el tubo que presente una coloración rosa o roja la cual sería una reacción alcalina. La reacción lenta presentará un color anaranjado el cual tendrá que compararse con el tubo original para ver la diferencia de coloración.

ROJO DE METILO (CALDO)

Esta prueba mide la capacidad de un organismo para producir y mantener como producto final un ácido a partir de la fermentación de la glucosa, es una prueba cualitativa que nos mide la producción de ácido por medio del PH. La incubación se llevará a cabo a 37°C de 3 a 5 días.

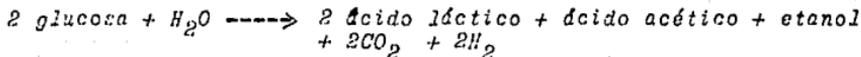
La prueba del rojo de metilo esta basada en el uso de un indicador del PH, el rojo de metilo, determina la concentración de iones hidrógeno presentes cuando un microorganismo fermenta la glucosa. La concentración de iones hidrógeno depende de la relación con el gas (CO_2 y H_2) el cual se vuelve como un índice para las diferentes vías del metabolismo de la glucosa que exhiben varios organismos. Los diferentes modelos de fermentación son debido a variaciones en las enzimas relacionadas con el metabolismo del ácido pirúvico presente en el organismo.

Todos los miembros de las enterobacteriaceas son por definición fermentadores de la glucosa. En caldo MR-VP después de 18-24 hrs. de incubación, el resultado de la fermentación produce dos metabolitos ácidos. Por eso, inicialmente todas

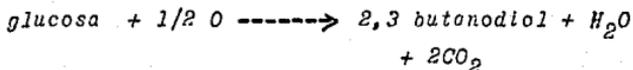
las enterobacterias dan una reacción positiva con el rojo de metilo, sin embargo si se necesita una incubación adicional para la prueba (2 a 5 días), esos organismos que son rojo de metilo positivos, continúan produciendo más ácido, dando un PH final bajo, venciendo el sistema buffer de fosfatos y manteniendo un ambiente ácido en el medio (PH 4.2 o menos).

Los organismos rojo de metilo negativos, continúan la metabolización adicional de los productos de la fermentación -- inicial por descarboxilación, produciendo acetyl metil carbimol (acetoina) el cual produce una elevación del PH final que disminuye la acidez del medio, elevando el PH hacia la neutralidad (PH 6.0 o mayor).

Escherichia coli y otros organismos rojo de metilo positivos producen una gran cantidad de ácidos: láctico, succínico, acético y fórmico. La descomposición del ácido fórmico es la vía de producción de H_2 y CO_2 , a partir del metabolismo de la glucosa.



Los organismos rojo de metilo lentos producen ácidos (acético, láctico y fórmico) pero con una baja concentración de iones hidrógeno debido a la reacción reversible, llegando a la neutralidad, degradándose los ácidos orgánicos a carbonatos y CO_2 y la posible formación de compuestos de amonio a partir de proteínas presentes en el medio. También el ácido acético a un PH de 6.3 es convertido en acetoina y 2,3 butanodiol, -- los cuales son productos neutros. La producción de H_2 es suprimida cuando aumenta la concentración de CO_2 .

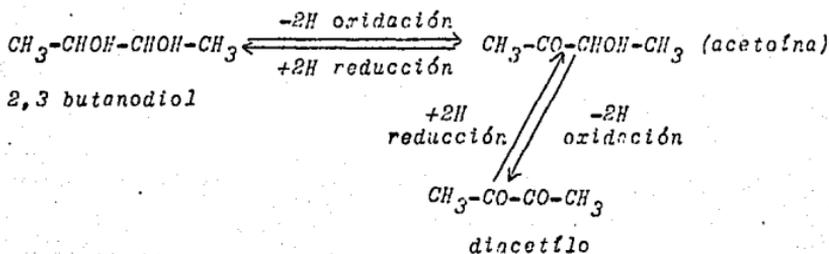


Antes de leer la prueba se le añade a el tubo el reactivo rojo de metilo (indicador del PH), la prueba se reporta positiva si el cultivo es suficientemente ácido que permite que el reactivo rojo de metilo permanezca de color rojo (PH 4.4), en la superficie del medio. La prueba negativa da un color amarillo en la superficie del medio (PH 6.0). Una reacción lenta nos indica mediante un color naranja y que se debe continuar la incubación unos días mas y repetir la prueba.

CALDO VOGUES PROSKAWER.

Esta prueba es para determinar la capacidad de algunos microorganismos para formar un producto final neutro, el acetil metil carbinol (acetofna) a partir de la fermentación de la glucosa. La incubación se realiza a 37°C de 24-48 hrs.

Una molecula de acetofna es formada por la descarboxilación de dos moléculas de ácido pirúvico. La acetofna puede ser metabolizada por uno o dos medios: (1) reducción de 2,3-butanodiol, quedando acumulado a menos que ocurra una reoxidación; o (2) raramente por oxidación de diacetilo, el cual puede ser catabolizado adicionalmente. La acetofna y el 2, 3 butanodiol son formados en un sistema de oxido-reducción reversible. Acetofna a 2,3 butanodiol por reducción o 2,3 butanodiol por oxidación de la acetofna. En presencia de oxígeno atmosférico y álcali el 2,3 butanodiol es lentamente reversible. Estos dos productos finales neutros son oxidados a diacetil que es lo que reacciona para producir el color en la prueba del Vogues Proskamer, por lo tanto el diacetil es un producto de la oxidación de la acetofna.



El PH del medio de Vogues Proskauer es extremadamente importante, un PH ácido llegaría a producir cambios. Por encima de un PH de 5.3 se tiene una acumulación de ácido acético y ácido fórmico con una subsecuente supresión de la producción de bióxido de carbono, hidrógeno, acetofna y 2,3 butanodiol.

Pero en un PH de 6.3 el ácido acético es convertido a acetofna y a 2,3 butanodiol y a H_2 , mientras que la producción de CO_2 es incrementada.

Antes de leer la prueba se debe adicionar 0.6 ml. de alfa naftol y 0.2 ml. de KOH al 10%, es importante agitar vigorosamente el tubo después de agregar los reactivos para que el O_2 atmosférico pueda oxidar la acetofna y se obtenga el color característico de la reacción. Por lo menos deben pasar 15 min. antes de leer la prueba. En caso que no se cuente con alfa naftol, se puede usar únicamente el KOH al 40% y esperar de 2 a 3 días para llevar a cabo la lectura de la prueba.

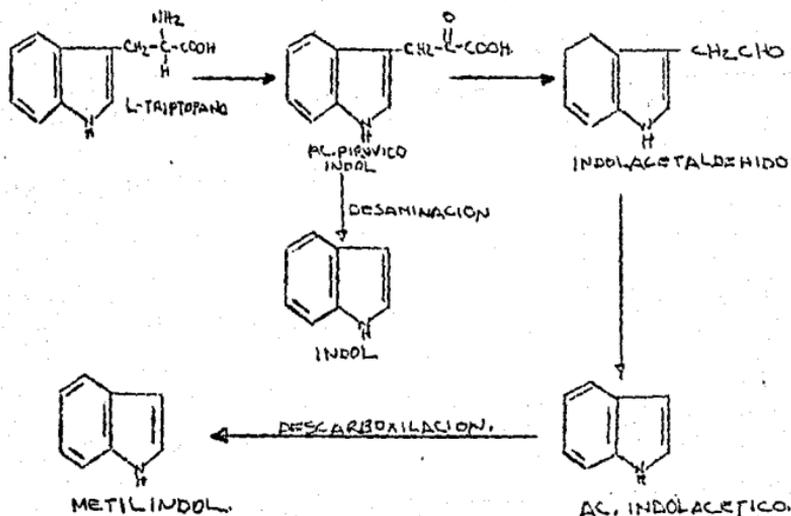
Una prueba positiva nos da un color rosa en la superficie del medio (acetofna presente). La prueba negativa muestra un color amarillo en la superficie del medio y un color café parecido a el cobre se puede formar pero es debido a la acción de los reactivos cuando se mezclan.

MEDIO DE SIM.

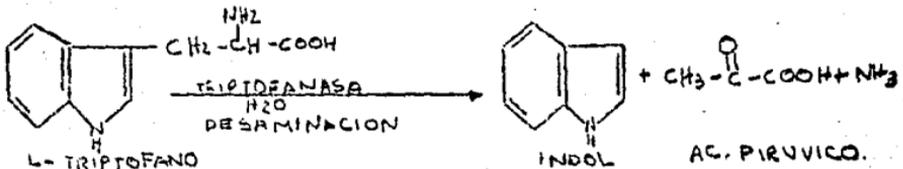
El medio de SIM, es un medio semisólido usado rutinariamente en la identificación y diferenciación de enterobacterias y que detecta la producción de sulfuros, indol y movilidad de las mismas, la producción de H_2S se observa mediante el engrosamiento del medio y el fundamento de esta prueba es el mismo que el empleado para el mismo fin en el medio de TSI.

Para la prueba de indol el fundamento de la reacción es el siguiente: El triptófano es un aminoácido que puede ser oxidado por cierto número de bacterias produciendo tres metabolitos indólicos: indol, metilindol y indolacetato. Varias enzimas intracelulares son comúnmente llamadas triptofanasas es un término generalmente usado que denota el sistema completo de enzimas mediadoras de la producción de indol.

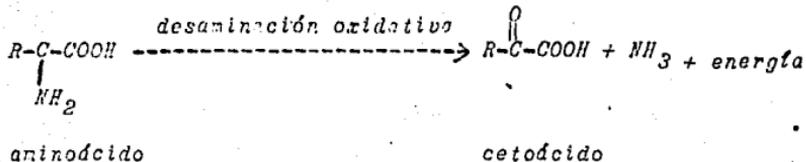
El mayor intermediario producido en la degradación del triptófano es el ácido indol pirúvico del cual se puede formar indol por desaminación y metil indol por descarboxilación del ácido indol acético.



La enzima triptofanasa cataliza la reacción de desaminación atacando la molécula de triptofano solo en los sitios -- donde hay cadenas o restos de anillos aromáticos intactos para producir indol.



La desaminación y la hidrólisis tiene lugar con la adición de una molécula de agua en presencia de la enzima triptofanasa y fosfato de piridoxal como coenzima. En la desaminación la porción amina del aminoácido es quitada con la liberación de una molécula de amonio. Hay dos formas de desaminación, oxidativa y reductiva. La desaminación oxidativa quita el grupo NH_2 del aminoácido y una doble ligadura es agregada al producto desaminado con la formación de amoniaco y energía.



La desaminación del triptofano es del tipo reductivo, -- cuando el NH_2 es quitado y liberado en forma de NH_3 y energía.

La degradación del triptofano produce indol, ácido pirúvico, amoniaco y energía. El ácido pirúvico puede ser metabolizado por cualquiera de las vías del ciclo glucolítico o puede entrar al ciclo de krebs para producir CO_2 , H_2O y una gran cantidad de energía. El NH_3 puede ser utilizado para sintetizar un nuevo aminoácido utilizando la energía presente para la reacción anabólica.

El indol obtenido de la molécula de triptofano puede ser detectado por un reactivo que involucra una combinación química produciendo un cambio de color. La presencia o ausencia -

de la formación de indol es usada para la identificación bacteriana. El reactivo agregado es el de Kovacs el cual en presencia de indol nos da una coloración roja, indicándonos la positividad de la prueba. Mientras que una coloración amarilla es una prueba negativa.

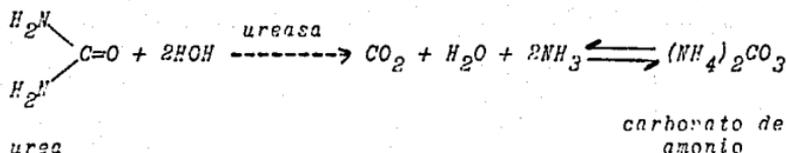
La prueba de movilidad se utiliza para ver si un organismo es móvil o no. Las bacterias son móviles debido a la presencia de flagelos. Los bacilos son los que contienen principalmente flagelos, aunque unas pocas formas de cocos son móviles. Las bacterias móviles pueden tener un solo flagelo o muchos flagelos, en suma, su localización varía con la especie de bacterias y las condiciones de cultivo. Ocasionalmente -- bacterias móviles dan variantes no móviles lo cual parece ser estable y raramente vuelve a ser móvil. Los organismos no móviles carecen de flagelos.

La movilidad se observa, si el microorganismo es móvil se observa el desarrollo (enturbiamiento) fuera de la picadura, los microorganismos no móviles únicamente crecen a lo largo de la picadura.

CALDO UREA.

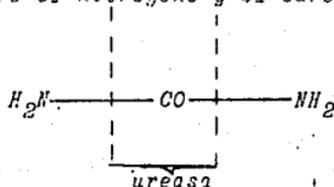
Con esta prueba se determina la capacidad de un microorganismo para romper la urea, formando dos moléculas de amonía por acción de la enzima ureasa. La incubación debe llevarse a cabo a 37°C durante de 24-48 hrs.

El sustrato urea es una diamida de ácido carbónico y esto es transformado a una carbamida. Todas las amidas ($RCOONH_2$) son fácilmente hidrolizadas. La hidrólisis de la urea es catalizada por una enzima específica, la ureasa, esto produce dos moléculas de amonía. En solución la hidrólisis de la urea produce carbonato de amonio como producto final.



La ureasa es una importante enzima microbiana relacionada con la descomposición de compuestos orgánicos. Las enzimas bacterianas se clasifican como constitutivas o inducidas. Una enzima inducida es aquella que es producida por las bacterias solo cuando se encuentran en un sustrato específico. La ureasa es considerada una enzima constitutiva ya que es sintetizada por ciertas bacterias sin importar la presencia o ausencia del sustrato urea. Hay dos grandes divisiones de los enzimas (1) Hidrolasas, la cual está relacionada con la hidrólisis de ésteres, carbohidratos, proteínas y amidos; y (2) Aquellas que están relacionadas con varias reacciones de Oxido-reducción.

La ureasa es clasificada como una amidasa, que cataliza la hidrólisis de las amidas, estas enzimas son capaces de romper el enlace entre el nitrógeno y el carbono por hidrólisis.



En el caso de la ureasa el nitrógeno es disociado como amoníaco (NH_3). La ureasa actúa en los enlaces C-N excepto en aquellos compuestos que tienen enlaces peptídicos, el pH óptimo para la actividad de la ureasa es de 7.0.

Una prueba positiva nos da un color rojo intenso en todo el cultivo. En la prueba negativa no hay cambio de color en el medio, permaneciendo el medio amarillo naranja.

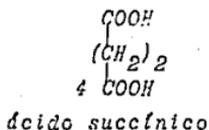
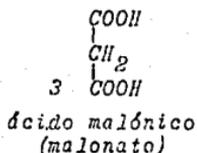
CALDO MALONATO.

Esta prueba es para determinar la capacidad de un organismo para utilizar el malonato de sodio como única fuente de carbono, produciendo alcalinidad en el medio. La incubación se llevará a cabo a 37°C de 24-48 hrs.

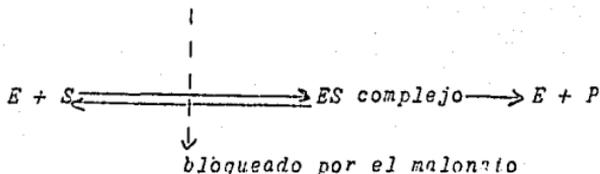
El malonato es un inhibidor enzimático, el ácido malónico (malonato) tiene la capacidad de interferir la oxidación de ácido succínico a ácido fumárico inhibiendo la acción catalítica de la enzima deshidrogenasa succínica.

El ácido malónico inactiva la enzima por inhibición competitiva. La enzima deshidrogenasa succínica transfiere hidrógeno hasta un compuesto receptor accesible convirtiéndolo de ácido succínico a ácido fumárico, sin embargo esta reacción puede ser inhibida por un compuesto orgánico que es estructuralmente similar que el sustrato normal del ácido succínico.

El ácido malónico es estructuralmente similar al ácido succínico y compite por los sitios de la enzima. El ácido malónico difiere químicamente del sustrato por tener en el carbono 3 un radical carboxilo mientras que el ácido succínico lo tiene en el carbono 4.



El ácido malónico actúa como si fuera la enzima, cubriendo los sitios activos, así que la enzima no puede combinarse con su sustrato normal, el ácido succínico. Dando como resultado el bloqueo de la oxidación del ácido succínico. La formación del complejo enzima-sustrato es necesaria para la activación del sustrato, y si la activación es bloqueada el nuevo producto no puede ser formado (ácido fumárico).



El grado de inhibición es inversamente proporcional a la concentración de el inhibidor en el sustrato, el ácido malónico inhibe a el ácido succínico porque es similar en su configuración; este metabolito antagónico posee propiedades antibacterianas inhibiendo el crecimiento. Sin embargo la reacción competitiva de inhibición es reversible. Si la concentración normal del ácido succínico es añadida a el medio y hay un receptor de hidrógeno presente, el malonato libera la enzima la cual es libre de catabolizar la oxidación de ácido succínico a ácido fórmico.

El malonato inhibe la deshidrogenasa succínica obstruyendo la enzima, resultando una reacción estequiométrica y una acumulación de ácido succínico. Dependiendo de la concentración de malonato, el inhibidor puede simplemente retardar la velocidad de oxidación del ácido succínico o llevar a cabo la completa inhibición.

La prueba positiva nos da un color azul intenso o azul de prusia en el medio, mientras que una prueba negativa no cambia el color del medio, permaneciendo verde.

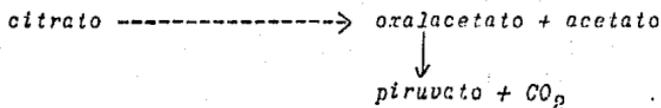
AGAR CITRATO DE SIMONS.

Esta prueba es para determinar la capacidad de un organismo para utilizar el citrato como única fuente de carbono para su crecimiento, produciendo alcalinidad en el medio.

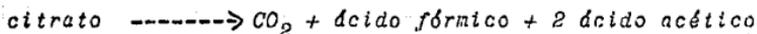
La energía puede ser sustituida por algunas bacterias en ausencia de fermentación o producción de ácido láctico, por el uso de citrato como única fuente de carbono. Normalmente el metabolismo del citrato involucra una condensación de acetyl con Coenzima A y oxalacetato, que entra en el ciclo de Krebs. El metabolismo del citrato por un mayor número de bacterias es rápido por la vía del ciclo del ácido tricarbóxili-

co o la vía de la fermentación del citrato. Las bacterias en la picadura del citrato involucra un sistema enzimático sin la intervención de Coenzima A. Estas enzimas son llamadas citratasas o citrato demolasas. Esta enzima requiere un catión divalente para su actividad que es proporcionado por magnesio o manganeso.

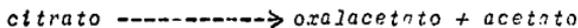
Originalmente se pensaba que la ruptura inicial de citrato producía oxalacetato (sal del ácido oxalacético) y acetato (sal del ácido acético). El oxalacetato y el acetato generalmente se le considera ahora como intermediario en el metabolismo del citrato.



Los productos obtenidos del metabolismo del citrato dependen del PH del medio, si el PH es aumentado (alcalino), se produce mas acetato y formato, con una disminución en la producción de lactato y CO_2 . Por encima de un PH de 7.0 no hay producción de lactato y los productos son;



En un PH ácido, los mayores productos de la utilización del citrato son el lactato y el acetyl metil carbinol (acetoina). Sin tener en cuenta los productos finales obtenidos -- el primer paso en la fermentación del citrato da como resultado la producción de piruvato, depende entonces de el PH del medio.



PH ALCAIINO.

piruvato -----> acetato + formato

PH ACIDO.

2 piruvato -----> acetato + CO₂ + lactato

2 piruvato -----> acetofna + 2CO₂

El medio utilizado para la fermentación del citrato, también contiene sales inorgánicas de amonio. Un organismo que es capaz de utilizar el citrato como única fuente de carbono también utiliza las sales de amonio como fuente de nitrógeno.

Las sales de amonio son rotas liberando amoniaco (NH₃) - dando como resultado la alcalinidad del medio.

Los tubos deben de incubarse a 37°C de 24-48 hrs. Si la prueba es negativa en este tiempo se puede incubar por otros 3 días mas.

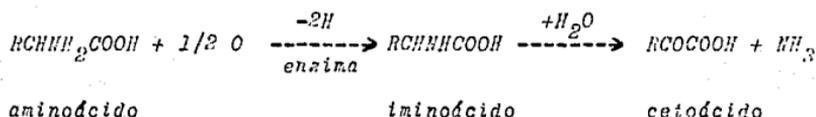
Una prueba positiva, se ve el crecimiento bacteriano y el medio toma un color azul intenso en el agar inclinado. La prueba negativa no hay crecimiento, por lo tanto no hay cambio de color permaneciendo el medio en su color original, el verde.

CALDO FENIL ALANINA.

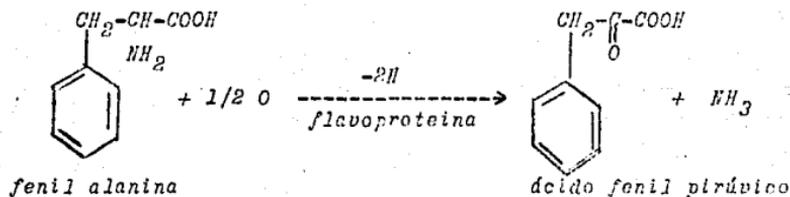
Esta prueba sirve para determinar la capacidad de un organismo para desaminar la fenil alanina a ácido fenil pirúvico por acción enzimática.

El aminocido aromático fenil alanina, sufre una desaminación oxidativa, catalizada por una enzima amino oxidasa y una flavoproteína a producir un cetocido, el ácido fenil pirúvico. La desaminación oxidativa resulta del cambio de un grupo amino (NH₂) del aminocido para formar una doble ligadura alfa ceto ácido y liberación de amoniaco (NH₃).

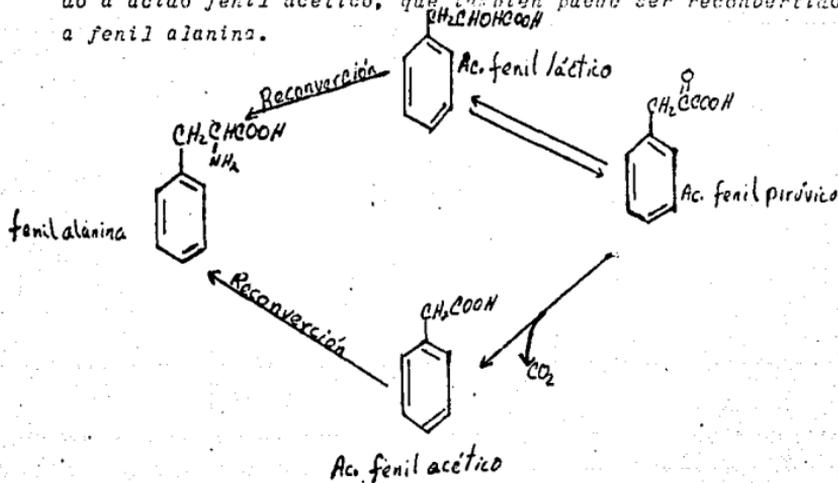
Este proceso es en dos etapas, inicialmente el hidrógeno es quitado produciendo un iminoácido y el hidrógeno es combinado con oxígeno para producir agua, donde el aminoácido es hidrolizado a cetóácido.



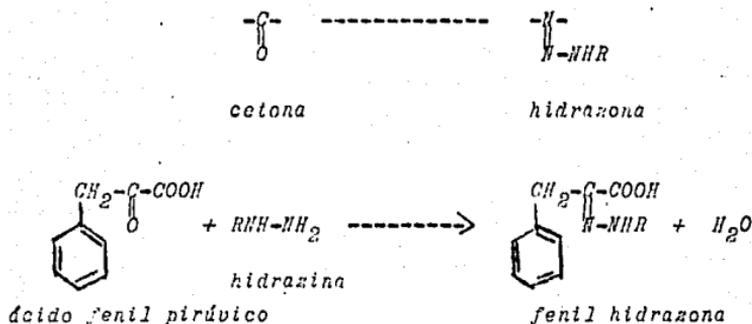
REACCION COMPLETA:



La fenil alanina es desaminada a ácido fenil pirúvico y donde después es reducido a ácido fenil láctico posterior a una incubación. El ácido fenil láctico puede ser reconvertido a fenil alanina y la desaminación ocurre de nuevo. Una pequeña cantidad de ácido fenil pirúvico puede ser descarboxilado a ácido fenil acético, que también puede ser reconvertido a fenil alanina.



Para leer la prueba se debe agregar $FeCl_3$ en el cual la reacción es debida a la formación de una hidrazona. Una hidrazina ($R_1R_2NH_2$) es un derivado del amoniaco adicionada a un grupo carboxilo, uno de los hidrógenos es ligado a oxígeno -- mientras que el nitrógeno es unido a un átomo de carbono. Cuando un aldehido o cetona es condensado con una hidrazina, una hidrazona o un compuesto tipo hidrazona es producido, y es eliminada agua.



El compuesto tipo cetónico es incoloro, pero si un grupo ceto ($C=O$) es conjugado con otro grupo ceto o con $-C=C-$ u otro doble enlace, puede resultar coloreado.

El cloruro férrico es un agente oxidante y el ion férrico en una solución ácida con hidrazina, formará (vía una hidrazona), nitrógeno y amoniaco como productos finales, reduciendo el ion férrico.



El cloruro férrico actua como agente quelante; actuan---do con el ácido fenil pirúvico para formar un color verde.

Una prueba positiva se nota por la aparición de un color verde después de haber agregado el $FeCl_3$. Mientras que si el tubo permanece de color amarillo nos indica una prueba negativa.

Los tubos deben ser incubados antes de agregarles el reactivo de cloruro férrico, a 37°C de 24-48 hrs.

Aquellos tubos que se han identificado presuntivamente como un miembro del género Salmonella y/o Salmonella arizonae deben ser confirmados por aglutinación con antisueros específicos. Colocando sobre un portaobjetos limpio una porción -- del desarrollo del microorganismo sobre agar TSI, adicionar -- una asada de solución salina y preparar una solución homogé-- nea. Agregar una asada del suero polivalente O, macerar y mo-- ver inclinando de atrás a adelante el portaobjetos durante 60 segundos.

Observar con una buena iluminación y fondo obscuro, la -- formación de grumos nos indica una reacción positiva.

MATERIAL Y METODOS

El material y los reactivos empleados fueron los siguientes, no anotándose las cantidades en el caso de los reactivos ni el número de piezas en el caso de los materiales, pues para la preparación de cada medio y reactivo se utilizó la cantidad y material necesario para prepararlos según las especificaciones de la casa comercial para el adecuado funcionamiento de cada uno de los medios.

MEDIOS DE CULTIVO

Agar tergitol 7
Agar mackonkey
Agar sulfito de bismuto
Agar Salmonella Shigella (SS)
Agar verde brillante
Caldo de enriquecimiento tetracionato

PARA PRUEBAS BIOQUIMICAS

Agar TSI
Agar citrato de Simons
Agar LIA (lisina hierro agar)
Caldo urea
Caldo malonato fenil alanina
Caldo manitol
Caldo sacarosa
Caldo MR-VP (rojo de metilo y Vogues Proskawer)

Equipo para reacciones febriles
Azul de metileno
Cloruro férrico
Hidróxido de Potasio
Alcohol

Indicador rojo de fenol
Indicador rojo de metilo
Solución de lugol
Agua destilada
Tiras reactivas para el PH

MATERIAL

Cajas de petri desechables de 10 cm. de diámetro
Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 ml.
Matraz aforado de 100 ml.
Matraz erlenmeyer de 500 ml.
Matraz balón de fondo plano de 500 ml.
Agitadores de vidrio
Palillos de madera
Algodón
Espátulas
Balanza granataria
Autoclave
Tubos de ensaye de 13 X 100
Frascos gotero
Gradilla de madera
Gradilla metálica
Papel filtro
Mechero fisher
Frascos amber con tapón esmerilado de 100 ml.
Estufa con termostato para incubar los tubos
Termómetro
Asa bacteriológica

La metodología seguida fue la siguiente: Las muestras fueron recogidas en frascos estériles de boca ancha, los cuales fueron lavados previamente con agua y sin detergente, después se envolvieron en papel y se pusieron a esterilizar en autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión y a 121°C, posteriormente fueron entregados al paciente, al cual se le indicó que de preferencia evacuar directamente en el frasco, el cual debía destapar en el momento de depositar la muestra, pidiéndole la entregara lo más pronto posible para su siembra, ya que las muestras frescas son el material ideal para las infecciones entéricas, además que esto evita la proliferación de otras bacterias que puedan enmascarar el agente infeccioso buscado, además se tomo en cuenta si el paciente estaba tomando o no algún antibiótico antes de entregar la muestra.

Las muestras fueron tomadas de pacientes que presentaban sintomatología gastrointestinal a los cuales los médicos les habían indicado como estudios de laboratorio unas reacciones febriles, encontrándose en la etapa aguda de la enfermedad -- así como a pacientes a los que presentaban dicha sintomatología y no se les solicitaban estudios de laboratorio y a algunas personas que habían tenido alguna infección entérica para poder así localizar portadores asintomáticos de estos agentes morbosos.

PLAN DE TRABAJO

A).- RECOLECCION DE LA MUESTRA.

La recolección de la muestra fue hecha por los pacientes que presentaron las características anteriormente mencionadas y con las condiciones y requerimientos necesarios para tener una buena muestra motivo de estudio.

B).- PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA.

Al entregar la muestra al paciente, se le hizo la toma de sangre para realizarle las reacciones febriles, se practi-

cuando estas pruebas y una vez obtenido el resultado, a las -- muestras de heces procedentes de pacientes a los cuales los -- resultaron positivas la reacción de Huddleson, se descartaron y se procedió a sembrar todas las demás muestras de heces sin importar cual haya sido el resultado de las reacciones febriles.

NOTA: Algunos pacientes únicamente aportaron la sangre para el estudio y al buscarseles para pedirles la muestra de heces no se les localizó, pues aunque en sus febriles daba positiva la reacción de Huddleson, y no se necesitaba la muestra de heces, los demás resultados obtenidos en las reacciones febriles ameritaban que les fuera practicado el coprocultivo.

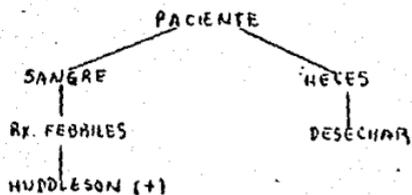
Las muestras de heces se sembraron con hisopo estéril en el primer cuadrante de la caja de petri y con una asa bacteriológica los otros tres cuadrantes, las cuales contenían los siguientes medios, agar *Salmonella Shigella* (SS), agar *nutkey* y agar tergitol 7, con el hisopo se realizó un frotis para ver las células presentes, en el moco fecal y posteriormente se introdujo en el caldo de enriquecimiento tetracionato al cual se le agregaron unas gotas de yodo de Gram, tanto las cajas -- como el tubo con el hisopo se pusieron a incubar a 37°C, el -- resultado obtenido en las cajas se reporta a las 24 hrs. y se hace la siembra en los tubos para las pruebas bioquímicas, -- las cuales se indicarán mas adelante, del tubo con el caldo de tetracionato se resiembró en cajas de petri las cuales contenían los siguientes medios de cultivo, agar sulfato de bismuto, agar verde brillante y agar *Salmonella Shigella* (SS), las cajas se vuelven a incubar a 37°C durante 24 hrs. al término de las cuales se hace el reporte y la siembra en los cultivos para las pruebas bioquímicas de las colonias sospechosas.

Las pruebas bioquímicas realizadas fueron las siguientes agar de hierro y triple azúcar (TSI), citrato de Simons, agar lisina hierro (LIA), caldo urea, caldo malonato fenil alanina, caldo manitol, caldo sacarosa y caldo MRVP (rojo de metilo y

Vogues Proskauer). Los cuales fueron incubados a 37°C por un período de 18-24 hrs. al término de los cuales fue hecho el reporte y una vez obtenidos los datos se identificó a la bacteria aislada causante del padecimiento.

La aglutinación con suero polivalente para Salmonella sp. no se llevó a cabo por la dificultad para conseguirlo en el mercado.

Algunas muestras de heces fueron seleccionados al azar - para practicárseles un estudio coproparasitoscópico para la investigación de algunos parásitos causantes de la misma sintomatología gastrointestinal.



*
 PRUEBAS BIOQUIMICAS
 FSI
 CITRATO DE SIMONS
 LIA
 MANITOL
 UREA
 SACAROSA
 MRY P
 MALONATOFENILALANINA

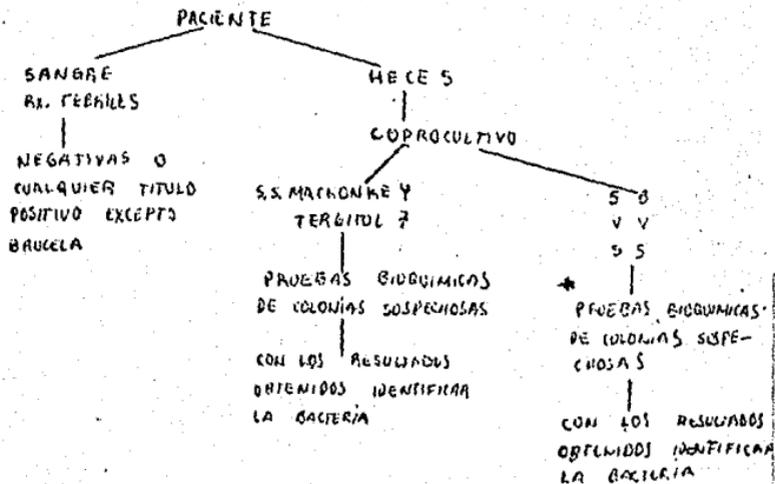


DIAGRAMA DE PLAN DE TRABAJO

R E S U L T A D O S

MUESTRA	REACCIONES SFERICAS	POSITIVO	COPROGRAM- SITOSCOPICO	MOCO FECAL
1	Negativo	<u>Escherichia coli</u>	*	Negativo
2	Weil-Felix 1:40 Tifico O 1:40 Tifico H 1:160	<u>Salmonella typhi</u> <u>Enterobacter hafniae</u>	*	Negativo
3	Huddleson 1:320 Tifico O 1:160	*	*	*
4	Huddleson 1:320	*	*	*
5	Negativo	<u>Enterobacter hafniae</u>	<u>Endolimax nana</u> <u>Giardia lamblia</u>	Negativo
6	Negativo	<u>Enterobacter hafniae</u> <u>Proteus vulgaris</u>	<u>Endolimax nana</u> <u>Giardia lamblia</u>	Negativo
7	Huddleson 1:40 Weil-Felix 1:80	*	*	*
8	Huddleson 1:320 Weil-Felix 1:320	*	*	*
9	Huddleson 1:60 Weil-Felix 1:160 Tifico O 1:40	*	*	*

10	Huddleson	1:3200	*	*	*
11	Huddleson	1:160	*	*	*
	Tiflico O	1:160			
	Tiflico H	1:60			
12	Huddleson	1:100	*	*	*
	Tiflico O	1:80			
13	Negativo		<u>Enterobacter</u>	*	Negativo
			<u>cloacae</u>		
14	Negativo		<u>Shigella sp.</u>	*	1-2 poliac-
			<u>Enterobacter</u>		fonucleares
			<u>fraundii</u>		0-1 nonaci-
					tos.
15	Weil-Felix	1:160	<u>Salmonella</u>	*	0-1 poliac-
	Tiflico O	1:160	<u>typhi</u>		fonucleares
16	Huddleson	1:320	*	*	*
	Weil-Felix	1:160			
	Tiflico O	1:160			
17	Huddleson	1:800	*	*	*
18	Paratíflico A	1:40	*	*	*
	Huddleson	1:320			
	Weil-Felix	1:320			
	Tiflico O	1:320			
	Tiflico H	1:160			
19	Paratíflico A	1:160	*	*	*
	Huddleson	1:320			
	Weil-Felix	1:320			
	Tiflico O	1:320			
	Tiflico H	1:160			
20	Negativo		<u>Salmonella</u>	*	Negativo
			<u>typhi</u>		
			<u>Enterobacter</u>		
			<u>cloacae</u>		

21	Weil-Felix 1:40	<u>Enterobacter</u> <u>hafniae</u> <u>Citrobacter</u> <u>freundii</u>	*	Negativo
22	Huddleson 1:1600	*	*	*
23	Huddleson 1:320 Weil-Felix 1:1600	*	*	*
24	Huddleson 1:40	*	*	*
25	Huddleson 1:320 Weil-Felix 1:40 Tifico O 1:40 Tifico H 1:160	*	*	*
26	Weil-Felix 1:80	<u>Enterobacter</u> <u>hafniae</u>	*	Negativo
27	Tifico O 1:160 Paratifico B 1:160	<u>Salmonella</u> <u>typhi</u>	*	*
28	Weil-Felix 1:160 Tifico H 1:160	<u>Salmonella</u> <u>arizonae</u> <u>Enterobacter</u> <u>aerogenes</u>	*	Negativo
29	Tifico O 1:160	<u>Enterobacter</u> <u>hafniae</u>	<u>Entamoeba</u> <u>histolytica</u>	Negativo
30	Weil-Felix 1:40	<u>Salmonella</u> <u>typhi</u> <u>Enterobacter</u> <u>cloacae</u>	*	O-1 polymor fonucleares
31	Negativo	<u>Citrobacter</u> <u>freundii</u> <u>Enterobacter</u> <u>hafniae</u>	*	Negativo
32	Negativa	<u>Escherichia</u> <u>coli</u>	*	Negativo

33	Negativo	<u>Escherichia coli</u> <u>Enterobacter agglomerans</u>	*	Negativo
34	Negativo	<u>Escherichia coli</u> <u>Enterobacter agglomerans</u>	*	Negativo
35	Negativo	<u>Escherichia coli</u>	*	Negativo
36	Negativo	<u>Escherichia coli</u> <u>Serratia rubidra</u>	*	Negativo
37	Negativo	<u>Enterobacter cloacae</u> <u>Enterobacter hafniae</u>	<u>Entamoeba histolytica</u>	Negativo
38	Negativo	<u>Escherichia coli</u> <u>Enterobacter agglomerans</u>	*	0-1 monocitoc.
39	Negativo	<u>Enterobacter cloacae</u> <u>Enterobacter hafniae</u>	*	Negativo
40	Negativo	<u>Enterobacter hafniae</u> <u>Enterobacter agglomerans</u>	*	Negativo
41	Huddleson 1:800	*	*	*

42	Huddleson 1:320 Weil-Felix 1:80 Tfjico O 1:320	*	*	*
43	Huddleson 1:320 Weil-Felix 1:320 Tfjico O 1:160	*	*	*
44	Huddleson 1:1600 Weil-Felix 1:800	*	*	*
45	Huddleson 1:160 Tfjico O 1:60	*	*	*
46	Huddleson 1:1600	*	*	*
47	Huddleson 1:160 Tfjico O 1:40	*	*	*
48	Huddleson 1:160	*	*	*
49	Huddleson 1:1600	*	*	*
50	Huddleson 1:640 Tfjico O 1:320	*	*	*
51	Weil-Felix 1:40 Tfjico O 1:60 Tfjico H 1:40	<u>Salmonella</u> <u>typhi</u> <u>Enterobacter</u> <u>cloacae</u>	*	Negativo
52	Negativo	<u>Citrobacter</u> <u>freundii</u> <u>Escherichia</u> <u>coli</u>	*	Negativo
53	Negativo	<u>Escherichia</u> <u>coli</u> <u>Serratia</u> <u>rubraea</u>	*	Negativo

54	Negativo	<u>Citrobacter</u> <u>Fraundii</u> <u>Escherichia</u> <u>coli</u>	*	Negativo
55	Negativo	<u>Enterobacter</u> <u>cloacae</u> <u>Enterobacter</u> <u>hajniae</u>	<u>Endolimax</u> <u>nana</u> <u>Eutimaeba</u> <u>histolytica</u>	Negativo
56	Negativo	<u>Escherichia</u> <u>coli</u>	*	Negativo
57	Negativo	<u>Escherichia</u> <u>coli</u>	<u>Trichuris</u> <u>trichiura</u> <u>Entamoeba</u> <u>histolytica</u>	Negativo
58	Negativo	<u>Escherichia</u> <u>coli</u> <u>Enterobacter</u> <u>agglomerans</u>	*	Negativo
59	Negativo	<u>Escherichia</u> <u>coli</u>	*	Negativo
60	Negativo	<u>Escherichia</u> <u>coli</u> <u>Enterobacter</u> <u>agglomerans</u>	*	Negativo
61	Negativo	<u>Shigella sp.</u> <u>Citrobacter</u> <u>Fraundii</u>	*	2-3 polimer- fonucleares
62	Negativo	<u>Escherichia</u> <u>coli</u>	*	Negativo
63	Negativo	<u>Escherichia</u> <u>coli</u>	*	Negativo
64	Negativo	<u>Escherichia</u> <u>coli</u>	<u>Entamoeba</u> <u>histolytica</u>	Negativo

65	Negativo	<u>Shigella sp.</u>	*	4-5 polimor- fonucleares
66	Negativo	<u>Escherichia coli</u>	*	Negativo
67	Negativo	<u>Escherichia coli</u> <u>Enterobacter agglomerans</u>	*	Negativo
68	Negativo	<u>Escherichia coli</u> <u>Enterobacter agglomerans</u>	*	Negativo
69	Negativo	<u>Citrobacter freundii</u>	*	Negativo
70	Negativo	<u>Salmonella arizonae</u>	*	Negativo
71.	Huddleson 1:40 Tifico O 1:80	*	*	*
72	Huddleson 1:1600 Weil-Felix 1:1600	*	*	*
73	Huddleson 1:1600 Weil-Felix 1:1600 Tifico O 1:1600 Tifico H 1:160	*	*	*
74	Huddleson 1:1600 Weil-Felix 1:1600 Tifico O 1:160 Tifico H 1:160	*	*	*
75	Huddleson 1:1600 Tifico H 1:800	*	*	*

76	Huddleson 1:800 Weil-Felix 1:320	*	*	*
77	Huddleson 1:80 Tf.lico O 1:40	*	*	*
78	Huddleson 1:320 Weil-Felix 1:40 Tf.lico H 1:40	*	*	*
79	Huddleson 1:160 Weil-Felix 1:160	*	*	*
80	Huddleson 1:320 Weil-Felix 1:80 Tf.lico H 1:160 Tf.lico O 1:160	*	*	*
81	Huddleson 1:320 Weil-Felix 1:40	*	*	*
82	Huddleson 1:320 Weil-Felix 1:80	*	*	*
83	Huddleson 1:800	*	*	*
84	Huddleson 1:80 Weil-Felix 1:40	*	*	*
85	Huddleson 1:160	*	*	*
86	Huddleson 1:640	*	*	*
87	Weil-Felix 1:80 Tf.lico O 1:160	<u>Citrobacter</u> <u>freundii</u>	<u>Entamoeba</u> <u>histolytica</u>	Negative
88	Negative	<u>Enterobacter</u> <u>heintzei</u>	<u>Entamoeba</u> <u>histolytica</u> <u>Endolimax</u> <u>nana</u>	Negative

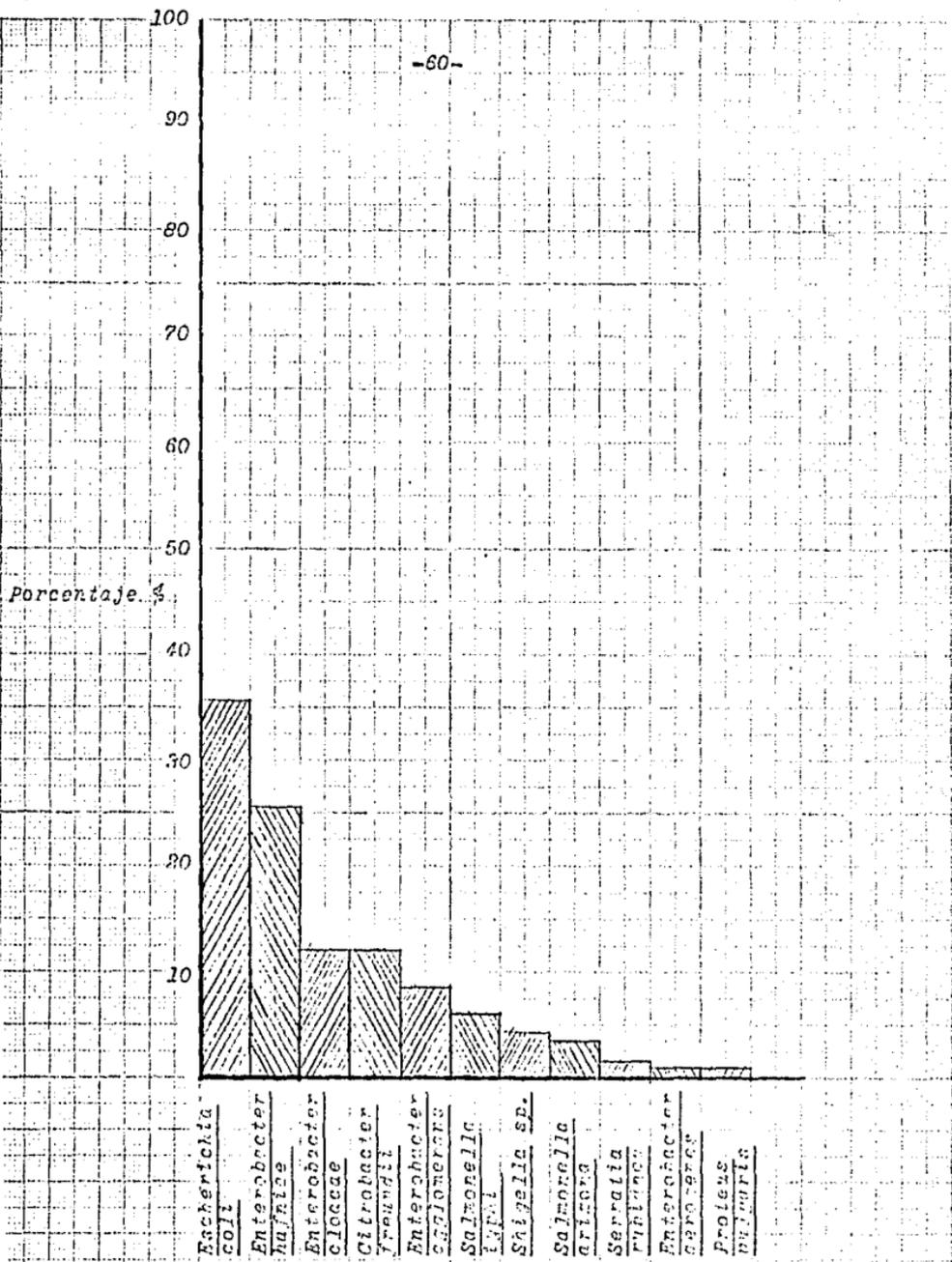
89	Negativo	<u>Enterobacter</u> <u>hafniae</u>	*	Negativo
90	Negativo	<u>Enterobacter</u> <u>hafniae</u> <u>Enterobacter</u> <u>agglomerans</u>	*	Negativo
91	Negativo	<u>Enterobacter</u> <u>hafniae</u> <u>Enterobacter</u> <u>agglomerans</u>	*	*
92	Negativo	<u>Escherichia</u> <u>coli</u> <u>Entamoeba</u> <u>histolytica</u>	<u>Trichuris</u> <u>trichiura</u>	Negativo
93	Negativo	<u>Escherichia</u> <u>coli</u>	*	*
94	Negativo	<u>Shigella</u> sp. <u>Citrobacter</u> <u>freundii</u>	*	1-2 polymor- fonucleares
95	Negativo	<u>Escherichia</u> <u>coli</u>	<u>Entamoeba</u> <u>histolytica</u>	Negativo
96	Negativo	<u>Escherichia</u> <u>coli</u>	*	Negativo
97	Negativo	<u>Escherichia</u> <u>coli</u>	*	Negativo
98	Negativo	<u>Escherichia</u> <u>coli</u> <u>Enterobacter</u> <u>agglomerans</u>	*	Negativo
99	Negativo	<u>Citrobacter</u> <u>freundii</u>	*	Negativo

100	Negativo	<u>Enterobacter</u> <u>cloacae</u> <u>Salmonella</u> <u>arizona</u>	*	Negativo
-----	----------	--	---	----------

NOTA: El signo * nos indica que el exámen a el que se re--
fiere no se realizó.

<u>Escherichia coli</u>	35.95%
<u>Enterobacter hafniae</u>	15.25%
<u>Enterobacter cloacae</u>	11.86%
<u>Citrobacter freundii</u>	11.86%
<u>Enterobacter agglomerans</u>	8.47%
<u>Salmonella typhi</u>	5.90%
<u>Shigella sp.</u>	4.30%
<u>Salmonella arizona</u>	3.39%
<u>Serratia rubidnea</u>	1.69%
<u>Enterobacter aerogenes</u>	0.85%
<u>Proteus vulgaris</u>	0.85%

Porcentajes de cepas aisladas a partir de 58 muestras de heces y 118 colonias encontradas.



Porcentajes de cepas aisladas a partir de 58 muestras de heces y 118 colonias encontradas.

Brrucella sp.

42%

Porcentaje de casos obtenidos a la reacción de
HUDDLESON en un total de 100 pacientes, el restante
58% se les practicó coprocultivo.

100
90
80
70
60
50
40
30
20
10



Porcentajes de casos obtenidos a la reacción de
HUDDLESON, en un total de 100 pacientes.

Comparación de resultados obtenidos en el presente trabajo, con los obtenidos por otras instituciones.

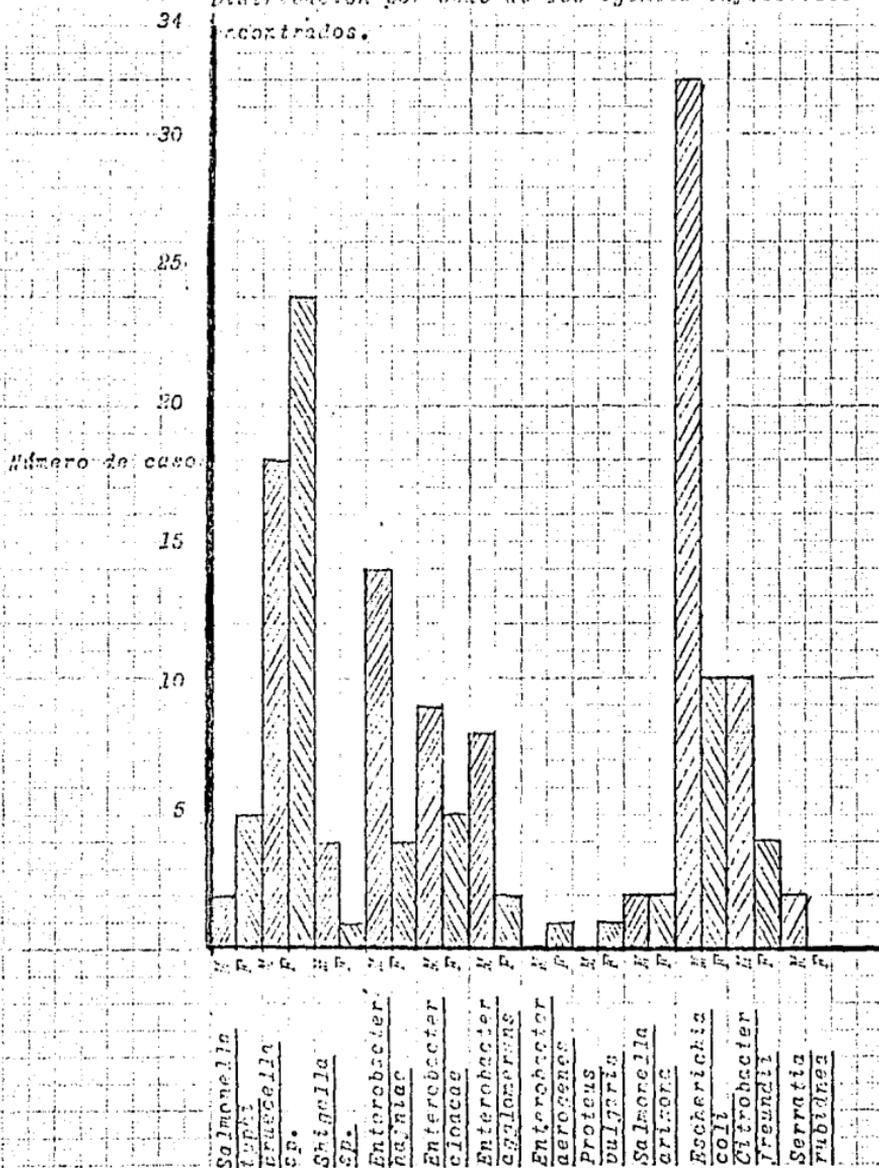
AGENTE MORBOSO	CLINICA ISSSTE SANUAYO, MICH. Jul. 85/Sep. 86	CLINICA SSA JIQUILPAN, MICH. Jul. 85/Sep. 86	TESIS Mar. 86- Nov. 86
<u>Salmonella typhi</u>	75	83	7
<u>Shigella sp.</u>	0	0	5
<u>Brucella sp.</u>	3	23	42
Gastroenteritis por otras <u>Salmonelas.</u>	243	560	4

NOTA: Los diagnósticos dados en las otras instituciones son en base preferentemente a la clínica.

AGENTE MORBOSO	MASCULINO	FEMENINO	TOTAL
<u>Salmonella typhi</u>	2	5	7
<u>Brucella sp.</u>	18	24	42
<u>Shigella sp.</u>	4	1	5
<u>Enterobacter hafniae</u>	14	4	18
<u>Enterobacter cloacae</u>	9	5	14
<u>Enterobacter agglomerans</u>	8	2	10
<u>Enterobacter aerogenes</u>	0	1	1
<u>Proteus vulgaris</u>	0	1	1
<u>Salmonella arizona</u>	2	2	4
<u>Escherichia coli</u>	32	10	42
<u>Citrobacter freundii</u>	10	4	14
<u>Serratia rubidnea</u>	2	0	2

Distribución por sexo de los agentes infecciosos encontrados.

Distribución por sexo de los agentes infecciosos encontrados.



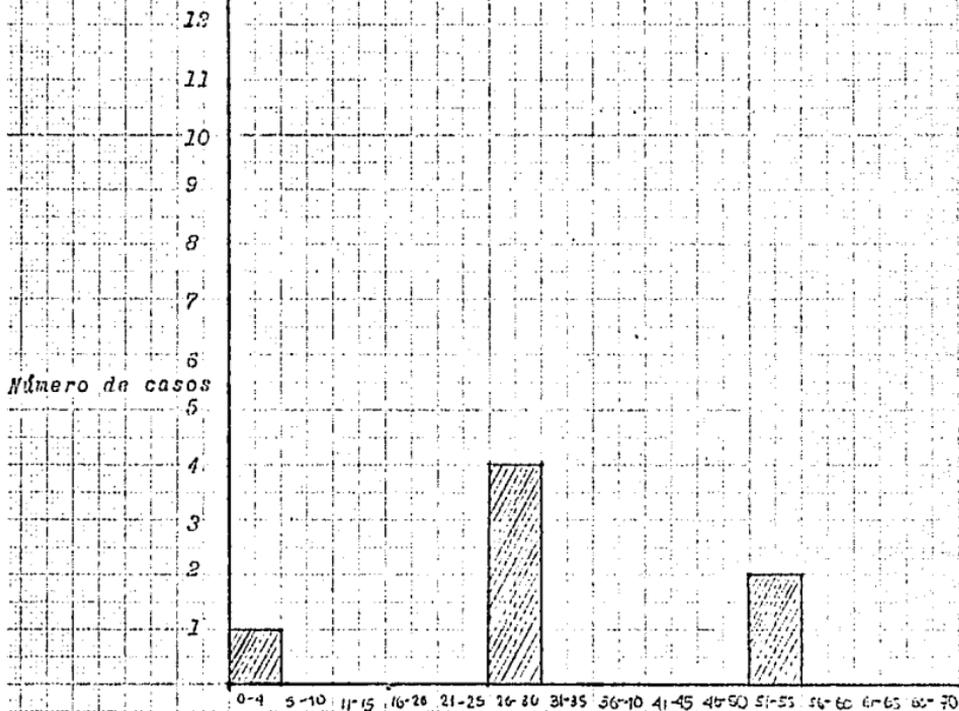
AGENTE MORBOSO	EDAD EN AÑOS						
	0-4	5-10	11-15	16-20	21-25	26-30	31-35
<u>Salmonella typhi</u>	1	0	0	0	0	4	0
<u>Brucella sp.</u>	1	5	5	4	2	5	2
<u>Shigella sp.</u>	2	0	0	2	0	1	0
<u>Enterobacter hafnice</u>	3	4	0	4	2	3	1
<u>E. cloacae</u>	1	2	0	5	0	2	2
<u>E. agglomerans</u>	1	3	1	3	1	1	0
<u>E. aerogenes</u>	0	0	0	1	0	0	0
<u>Proteus vulgaris</u>	1	0	0	0	0	0	0
<u>Salmonella arizona</u>	2	1	0	1	0	0	0
<u>Escherichia coli</u>	5	8	2	13	10	1	2
<u>C. freundii</u>	2	5	1	1	2	2	0
<u>Serratia rubidnea</u>	0	0	1	0	1	0	0

Distribución por edades en años de los agentes infecciosos.

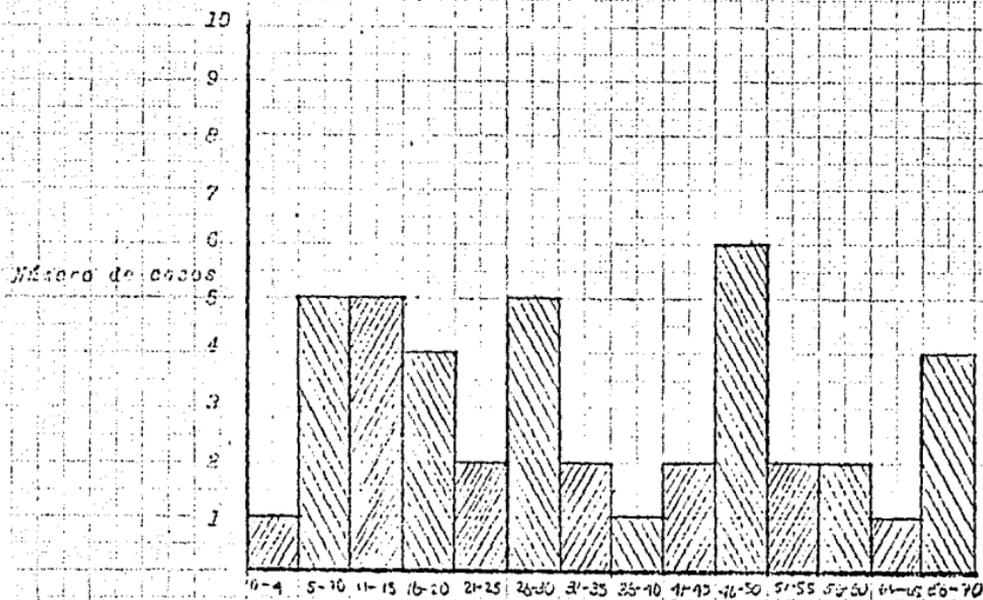
AGENTE MORBOSO	36-40	41-45	46-50	51-55	56-60	61-65	66-70
<u>Salmonella typhi</u>	0	0	0	2	0	0	0
<u>Brucella sp.</u>	1	2	6	2	2	1	4
<u>Shigella sp.</u>	0	0	0	0	0	0	0
<u>E. hafniae</u>	0	0	0	1	0	0	0
<u>E. cloacae</u>	0	0	0	2	0	0	0
<u>E. agglomerans</u>	0	0	0	0	0	0	0
<u>E. aerogenes</u>	0	0	0	0	0	0	0
<u>Proteus vulgaris</u>	0	0	0	0	0	0	0
<u>Salmonella arizona</u>	0	0	0	0	0	0	0
<u>Escherichia coli</u>	0	0	0	1	0	0	0
<u>C. freundii</u>	0	0	0	1	0	0	0
<u>Serratia rubiduca</u>	0	0	0	0	0	0	0

Distribución por edades en años de los agentes infecciosos.

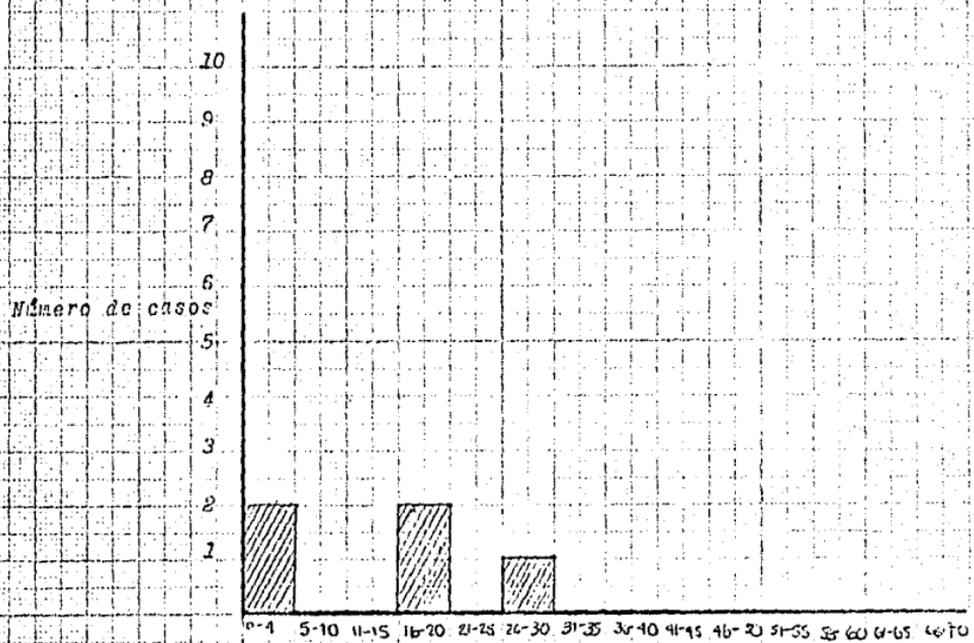
continuación.



Distribución por edades en años de Salmonella typhi.



Distribución por edades en años de Brucella sp.



Distribución por edades en años de S. pipella sp.

C O N C L U S I O N E S

Los resultados obtenidos en el presente estudio vienen a comprobar la inquietud que se tenía en cuanto al tratamiento dado a los pacientes, en él se comprobó que en la mayoría de los casos el diagnóstico era dado únicamente por la clínica y sin ningún apoyo de laboratorio, traduciéndose esto en un mal tratamiento de la enfermedad en el paciente. De la misma manera la falta de ética de algunos laboratorios al entregar el resultado, pues en la mayoría de los casos reportaba negativas las pruebas, sin haberlas hecho, esto en detrimento de la salud de los pacientes.

De la misma manera se debe tener en consideración, que algunos de estos análisis son utilizados para la expedición de la tarjeta de salud, y al no realizarlos y reportarlos como negativos se están creando focos de infección para la comunidad pues en la mayoría de los casos estas personas son expendedoras de alimentos, transformándose así en un portador asintomático trasmisor de la enfermedad.

Los estudios que se piden para expedir una tarjeta de salud son: VDRI, coproparasitoscópico y en algunos casos biometría hemática. Como se ve por los estudios que se piden, todos son obsoletos excepto el coproparasitoscópico. Dada la importancia que tienen la salmonelosis y la brucelosis se debería exigir que se les practicara un coprocultivo y unas reacciones febriles para de esta manera detectar, primero los portadores asintomáticos y después tratar de erradicar en ellos la fuente de infección. Además que en esta zona hay un alto grado de amibiasis como se ve en las muestras que fueron analizadas con este fin. Tomando en cuenta también las observaciones hechas durante la realización del servicio social nos percatamos de la gran incidencia de amibiasis que hay en esta región, por lo cual se debe tomar en cuenta el estudio

coproparasitoscópico para la expedición de la tarjeta de salud. En el presente estudio se muestra la gran incidencia -- que de brucelosis se presenta en esta región, no coincidiendo los resultados con los que las instituciones oficiales dan, -- ello pudiendo ser debido, a que en muchos casos los pacientes ocurren a consulta particular y por lo tanto se presentan a -- laboratorios particulares a practicarse sus análisis y esto -- no es reportado a estas instituciones, lo que explica la dife -- rencia en los datos, aunque se deberían concentrar esos datos en dichas instituciones dada la gran importancia que para la salud pública tienen esas enfermedades (salmonelosis y bruce -- losis). Otra causa de la variación de datos, pudiera ser la falta de ética profesional que algunos laboratorios tienen al no realizar los estudios requeridos, reportando así pruebas -- negativas, que hacen más difícil localizar a portadores de -- las bacterias y por lo tanto más difícil erradicarlas, lo -- cual lleva a un deterioro en la salud pública, traduciéndose en pérdidas económicas al haber ausentismo laboral.

En el caso de la shigelosis queda bien claro que los mé -- dicos dan su tratamiento basados únicamente en la clínica y -- no ayudados por los estudios de laboratorio, pues como se ve en ninguna de las instituciones se reportan casos de shigelo -- sis en un año y en el presente estudio se encontrará 5 casos en un período de 8 meses. Aunque el tratamiento no influye -- en los cuadros gastrointestinales al igual que cualquier Sal -- monella, pero si es de tomarse en consideración en un estudio epidemiológico para tenerse en cuenta en caso de una epidemia.

En cuanto a la salmonelosis los resultados fueron nero -- res a los obtenidos por el ISSSTE y SSA, ello puede ser debi -- do a como se mencionó anteriormente, al diagnóstico médico o a que durante la toma de la muestra esta no fué hecha de la -- manera adecuada ni en las condiciones necesarias para evitar que la bacteria muriera, agregando a esto que el medio de en -- riquecimiento tetracionato que se recomienda para aislar Sal -- monella sp. no mostró las características que presumiblemente

tiene, al contrario en lugar de favorecer el crecimiento de Salmonella sp. lo inhibe, motivo por el cual no recomendaría este medio para el enriquecimiento de Salmonella sp. dado los pobres resultados que con él se obtienen.

Se encontró también un número mayor de casos de brucelosis en mujeres que en hombres, en ello pueden influir muchos factores desde la manipulación de carnes de animales enfermos hasta que durante la preparación de los alimentos, los están ingiriendo durante todo el proceso desde crudos hasta el producto final, esto se agrava si los productos son de origen lácteo.

En esta región hasta la fecha se acostumbra mucho ingerir la leche bronca, hervida y en la mayoría de los casos sin hervir, además de la producción de muchos derivados de la leche (mantequilla, queso, crema, requesón, etc...). En la cual para su preparación se mezclan leche de vaca con leche de cabras. En cuanto a los hombres ello puede ser debido a su convivencia con los animales, pues en muchos de los casos los pacientes reportaron que su actividad laboral era la cría y pastoreo de cabras.

Para evitar esto se recomienda a las personas que antes de ingerir la leche la hiervan bien, o consumir leche pasteurizada, y sobretodo tener mucho cuidado al ingerir otros productos lácteos, sabiendo la procedencia de lo que se va a consumir.

La distribución en cuanto a las edades fué muy regular ya que en ningún rango se mostro una elevación en la cual se indicara que alguna de esas edades fuera más susceptible de contraer la infección, por lo cual se hace una recomendación general, de seguir las normas de higiene para evitar al máximo contraer estas infecciones, como serían:

- Lavarse las manos antes de comer y después de ir al baño.

- *No ingerir verduras crudas a menos que hayan sido correctamente lavadas.*
- *Hervir la leche.*
- *Hervir el agua.*
- *Evitar el fecalismo al aire libre.*
- *Cocer bien los alimentos antes de consumirlos.*
- *Evitar comer alimentos sospechosos de contaminación*
- *Propugnar en la comunidad por un eficiente sistema de agua potable y alcantarillado.*

Dada la importancia que reviste en la salud pública, queda abierto para posteriores estudios.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Aviles Ruiz D. y Cortes G. A., *Manual de laboratorio de microbiología sanitaria.*, Primera edición., México, D.F., Instituto Politécnico Nacional., 1983., pags. 138-158
- 2.- Bojalil L.F. y Santoscoy G., *Microbiología médica.*, tomo I., México, D.F., Comité editorial., 1981., pags. 493-527, 550, 553-573.
- 3.- Davidson I. y Henry J. B., *Diagnóstico clínico por el laboratorio.*, Sexta edición., Barcelona, España., Ed. Salvat., 1978., pags. 982-985, 974-1006, 1230, 1263-1266.
- 4.- Mac-Faddin J. F., *Biochemical test for identification of medical bacteria.*, Second edition., Baltimore, USA. Williams and Wilkins., 1980., pags. 105-115, 123-130, 145-152, 159-163, 210-214, 296-301, 444-449, 452, 460.
- 5.- Olds R. J., *Atlas de microbiología.*, Caracas Venezuela., Editorial científico médico., pags. 46-57, 188-193, 196-197, 210-213, 220-221.
- 6.- Pelcazar M. J. y Reid R. D., *Microbiología.*, México, D.F., Ed. Mc. Graw-Hill., 1977., pags. 145, 260-262, 386-399, 462, 617, 621-622.
- 7.- Rey Calero J., *Microbiología e inmunología de las enfermedades infecciosas.*, Segunda edición., Madrid España., Ed. Marban., Pags. 363-395, 340-344.
- 8.- Sonnensirt A. C. y Jarret L., *Métodos y diagnóstico del laboratorio clínico.*, Octava edición., Buenos -- Aires, Argentina., Ed. Panamericana., pags 1333-1341, 1471-1483, 1602-1616, 1623-1635, 1637-1643, 2112-2119.

- 9.- Ales Reinlein J. E., Epidemiología de las Salmonellas y Shigellas., Laboratorio., Vol. 75., No. 449., año 38., mayo 1983., pags. 665-674.
- 10.- Cerrada Bravo Teodoro., La fiebre tifoidea y la vacunación antitifoidea., Salud Pública de México., Vol. XXIII., No. 2., marzo-abril 1981., pags. 159-177.
- 11.- Erril S., Infecciones intestinales con causas de diarrea, tratamiento etiológico., Laboratorio., Vol 75., No. 449., año 38., mayo 1983., pags. 687-693.
- 12.- Fernández Mazarrasa C. y Hierro Vega F. del., Incidencia del aislamiento de Salmonelas en coprocultivo., Laboratorio., Vol. 74., No. 441., año 37., sep. 1982., pags. 283-289.
- 13.- Le Minor L., Epidemiología de las infecciones por -- Salmonella., Laboratorio., Vol. 75., No. 449., año 38 mayo 1983., pags. 643-654.
- 14.- Mireles B., Coll P. y Prats G., Evaluación del medio agar lisina hierro modificado para el aislamiento de Salmonella y Shigella., Laboratorio., Vol. 73., No. 437., año 37., mayo 1982., pags. 445-456.
- 15.- Sánchez Leyva Rafael., Prevalencia de portadores de Salmonella y Shigella en manipuladores de alimentos., Salud Pública de México., Vol. XXIII., No. 4., Jul-Ago. 1981., pags. 353-363.
- 16.- Sin autor., Características de la infección por Shigella., Salud Pública de México., Vol. XL., No. 3., febrero 1981., sumario # 20.
- 17.- Sin autor., Manual Bioxon., Medios de cultivo y reactivos de diagnóstico., México, D.F., Pags. 12, 13, 23, 24, 26, 29, 32, 34, 41, 46, 48, 60.
- 18.- Sin autor., Salmonelosis., Ambito Farmacéutico., año IV., No. 1., Ambito editores., agosto de 1986., pags. 16-18.