

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA
INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS.

..

*Investigación de Portadores
Humanos de Salmonelas
en Guadalajara*



T E S I S

que Presenta

Josefina Orozco Stephens

Para Obtener el Título de
QUIMICO - FARMACEUTICO - BIOLOGO

MAYO DE 1949.

GUADALAJARA, JAL..



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

2 cuadros doblados d. d. t.

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA
INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS.

••

*Investigación de Portadores
Humanos de Salmonelas
en Guadalajara*



T E S I S

que Presenta

Josefina Orozco Stephens

Para Obtener el Título de
QUIMICO - FARMACEUTICO - BIOLOGO

MAYO DE 1949.

GUADALAJARA, JAL.,

Con inmensa gratitud y cariño a mis abnegados padres, Sr. José R. Orozco y Sra. Dolores Stephens de Orozco, que con grandes sacrificios lograron mi mayor deseo.

Cariñosamente a mis hermanos y primos.

Al Sr. Sub-Director de la Facultad. P. Ignacio Pérez Becerra, S. J. y a todos mis profesores, con mi respeto y agradecimiento.

Agradecida, al Sr. Dr. Guillermo Santoscoy Gómez, que bondadosamente dirigió mi tesis.

En testimonio de gratitud a los Sres. Dres. Enrique Hdez. Sánchez y Adolfo P. Arce; y a la memoria del Sr. D. Juan Aranda, por la valiosa ayuda que me dispensaron para llevar a cabo mis prácticas de Laboratorio.

A mis inolvidables compañeros.

S U M A R I O:

- 1.—DEFINICION. — BACTERIOLOGIA. — EPIDEMIOLOGIA.
- 2.—TECNICA GENERAL.
- 3.—DESCRIPCION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO Y TECNICAS USADAS EN ELLOS.
- 4.—RESULTADOS OBTENIDOS.
- 5.—CONCLUSIONES.
- 6.—BIBLIOGRAFIA.

P R E A M B U L O.

Con el único propósito de que mis humildes estudios en Biología, sean útiles en alguna forma a la colectividad, he escogido como tema de tesis: la Investigación de Portadores Humanos de Salmonelas, dando a conocer por la incidencia de ellos, las condiciones sanitarias de este lugar. Siendo para mí una satisfacción, si consigo con esto el fin que me he propuesto.

JOSEFINA OROZCO STEPHENS.

I.—DEFINICION.

En homenaje a Salmón, descubridor del bacilo sui-pestifer (1886) se le dió el nombre de Salmonellas a todos los gérmenes que presentaban caracteres morfológicos y culturales análogos al bacilo antes dicho.

Según Bruce-White, las Salmonelias comprenden un grupo de bacilos gram negativos, no esporulados, relacionados serológicamente², conteniendo cada uno de ellos los antígenos de grupo. No fermentan la lactosa ni la sacarosa, no coagulan la leche ni licúan la gelatina, no producen indol y atacan la glucosa con producción de gases o sin ellos. Todas las especies conocidas son patógenas para el hombre, para los animales o para ambos².

II.—BACTERIOLOGIA.

El Sub-grupo Salmonella está comprendido en el Orden: Eubacteriales; Familia: Bacteriaceae; Tribu: Bactereae; Género Bacterium y en el Grupo de bacterias no fermentadoras de la lactosa.

1.—Morfología.—Son pequeños bastoncillos de 2 a 3 micras de longitud por 0.6 micras de ancho, con lados paralelos y extremos redondeados. Se tiñen uniformemente, no forman esporas, ni presentan granulaciones; son gram negativos. Muchas especies son móviles y presentan numerosas pestañas peritricas, delgadas, flexuosas y largas, coloreables por los medios habituales; otras no son móviles y carecen de ellas. No capsulados normalmente, pueden adquirir una capsula en condiciones particulares.

2.—Condiciones Germinales.—Germinan fácilmente en los medios ordinarios de cultivo. Son anaerobios facultativos, desarrollándose mejor en presencia del aire.

La temperatura óptima está, para la mayoría, próxima a los 37 grados C., los límites entre los cuales se efectúa la germinación son bastantes amplios, entre 15 y 42 grados C.

El pH óptimo, generalmente es 7.2 o 7.6, pudiendo desarrollarse entre pH5 y pH8.

3.—Tipo de Germinación.—Las salmonelias germinan de una manera muy semejante. Cuando se desarrollan en caldo,

copas lisas normales, se produce un enturbiamiento difuso, al agitar el tubo aparecen ondas irisadas; la formación de pollicula es rara y cuando la hay es ligera. Al aumentar la germinación se forma un ligero depósito que desaparece al agitar el medio.

En agar, las colonias de dimensiones variables, pueden ser: circulares elevadas, convexas aplanadas, de superficie y borde irregular, de borde seguido y superficie aplanada o de forma de hoja de parra; esta última forma es característica del bacilo *Typhosum*.

El cultivo de las salmonelas en medios azucarados, es más interesante. En ellos se investiga la producción de ácido y gas; se utilizan la glucosa, manita, lactosa, sorbita xilosa, maltosa, sacarosa, etc. Por medio de estos cultivos, se pueden diferenciar las salmonelas de bacterias más o menos afines, como las del grupo coli-aerógenos, disintéricos, etc., y aún entre ellas mismas.

4.—Resistencia al calor y a diversas sustancias químicas.—La mayoría de estos organismos son destruidos por la exposición a una temperatura de 55 grados C. durante una hora o de 60 grados C. durante 15 o 20 minutos.

Son atacados fácilmente por el bicloruro de mercurio al uno por mil, el fenol al 2.5% y por la solución de formol al 10%; en cambio, algunos colorantes como el verde malaquita y algunas sustancias como la cafeína y el cloruro de litio, inhiben el crecimiento del bacilo coli y bacilos disintéricos sin tener acción alguna sobre las salmonelas.

5.—Variaciones.—Estos bacilos sufren muchas modificaciones con el envejecimiento; adoptan formas cocoides, filamentosas, ramificadas, etc. Esta variación no solo se refiere a su morfoloía, sino también a sus reacciones bioquímicas y a su virulencia.

Una cepa normal de bacilos típicos, envejecida y sembrada en medios sólidos o líquidos, puede dar lugar a dos tipos de cultivos: un cultivo normal, análogo al de la cepa original en sus caracteres morfológicos y biológicos, y una variante que se comporta de manera diferente a la cepa de que procede y en la que se observan caracteres nuevos, tanto morfológicos como biológicos.

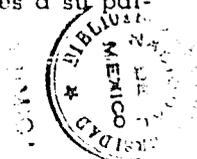
A la cepa de tipo normal se la llama smooth S o lisa L y a la variante rough R o forma áspera A. La forma S o L, con-

serva todos sus caracteres; colonias pequeñas, lisas y finas en medio sólido, y un crecimiento difuso y uniforme en medio líquido; no es autoaglutinable en solución salina normal, su comportamiento antigénico es igual al de la cepa lisa de donde procede. En cambio, la variante R, o A, da en medios sólidos colonias rugosas y granulosas, características; en caldo un crecimiento granuloso y es autoaglutinable en solución salina normal. Esta aglutinación parece debida a la existencia en la superficie de la bacteria, de algunas substancias lipoides, pues su extracción por el alcohol a 50 o 60 grados C. hace perder a la mayoría de las variantes R, su sensibilidad para la sal. Se cree que este constituyente, soluble en el alcohol, existe en la superficie de la forma normal S, de igual manera que en la variante, pero en aquella no determina el carácter de la superficie celular. En algunos otros organismos, la variación S a R va acompañada de la pérdida del antígeno polisacárido que caracteriza la superficie de la célula normal y aún cuando la variante tenga en su superficie, otro constituyente polisacárido, no es de la misma naturaleza que el anterior. Puede efectuarse también una denudación de los constituyentes proteínicos, pues las variantes R de los bacilos salmonella y de otros, dan una reacción de Millón positiva, mientras que las razas S normales no la dan.

El paso de la forma S a la R, va asociado a la pérdida total o parcial de la virulencia, y la forma R ha modificado profundamente su comportamiento antigénico, ya que es aglutinada además de su antisuero homólogo específico, por anticueros heterólogos no específicos, preparados con bacilos muy diferentes desde el punto de vista bacteriológico. Se cree que estas modificaciones son las que ocasionan la disminución o pérdida de la virulencia de las formas R.

Se acompaña también esta variación S a R, de una alteración en la sensibilidad a la acción lítica de diversas razas de bacteriófagos.

Estructura Antigénica.—Las salmonelas son organismos móviles, formados por un cuerpo y un determinado número de flagelos. Desde el punto de vista antigénico, el cuerpo y los flagelos actúan como partes del bacilo diferentes, capaces de reaccionar como antígenos y provocar la aparición de aglutininas específicas, somáticas y flagelares. Por lo tanto se consideran, para cada salmonela, antígenos "O", correspondientes a su par-



te somática, y antígenos "H", que corresponden a su fracción flagelar; en algunas de ellas, (*B. Typhosum*) se ha encontrado un nuevo antígeno somático, al que han llamado antígeno "Vi". (Felix y Pitt, 1934).

Siguiendo métodos apropiados, se pueden separar cada uno de los componentes, para su estudio:

Para aislar los antígenos flagelares, tratamos un cultivo en caldo, de una especie flagelada, por el formol; observamos que aglutina fácilmente en presencia de las aglutininas H homólogas, no reaccionando, o muy poco, con las aglutininas O homólogas; se cree que esto se debe a que la formalina fija los flagelos sobre la superficie bacteriana en tal forma, que los antígenos somáticos ya no quedan expuestos a la acción de las aglutininas O.

Para investigar los antígenos somáticos, se emplea una suspensión bacteriana extraída con alcohol caliente, separando en esta forma los antígenos flagelares.

a).—Antígenos Somáticos.—Termoestables, resisten temperaturas de 100 grados C., durante varias horas. Se conocen XIII tipos diferentes de antígenos somáticos, que se designan con números romanos. Algunos se encuentran en varias especies de salmonelas, permitiendo clasificarlas en seis grupos: A, B, C, D, E y F; caracterizados por la presencia de un antígeno somático común.

b).—Antígenos Flagelares.—Son relativamente termolábiles. El calor a 100 grados C, durante una hora, los destruye.

Algunas especies pueden presentar dos formas antigénicas, llamándoseles entonces, especies difásicas. Una de estas formas recibe el nombre de fase específica, sus componentes antigénicos son propios de una sola especie o tipo particular, o lo comparten tan solo, algunas otras especies. A la otra fase la llama fase de grupo, sus componentes antigénicos son compartidos por otras muchas especies o tipos.

Un cultivo de una copa difásica, puede estar integrado únicamente, por bacilos en fase específica o por bacilos en fase de grupo, o bien puede tener representantes de las dos fases. Un bacilo, en una determinada fase, origina descendientes en esa misma fase, durante cierto número de generaciones, aún cuando puede originar descendientes en la otra fase.

El número de antígenos H, en la fase específica, de las especies o tipos conocidos, varía de 1 a 4; y el número de antígenos en la fase de grupo, de 2 a 4.

Las salmonelas cuyos antígenos flagelares solo poseen una fase, han recibido el nombre de especies monofásicas.

Los antígenos flagelares de fase específica, se denominan con las minúsculas del abecedario, pero como son tan numerosos, al agotarse las letras, se ha convenido en añadir un índice numérico a la última: Z₁, Z₂, etc.

Los antígenos de fase de grupo son designados con números arábigos, del 1 al 6.

c).— Antígenos Vi.—Conejos inmunizados con cultivos vivos de bacilos tíficos, altamente virulentos, producen además de los anticuerpos 0 normales, un anticuerpo Vi, que aglutina las muestras virulentas; en cambio, conejos inmunizados con muestras lisas avirulentas o con muestras lisas virulentas muertas por el calor, producen tan solo anticuerpos 0. En un antisuero preparado con muestras virulentas, pueden eliminarse sus anticuerpos 0 por absorción con bacilos avirulentos quedando un suero anti Vi puro. Este antisuero confiere inmunidad pasiva efectiva en los ratones ante la inoculación de bacilos tíficos virulentos vivos, mientras que un antisuero 0 es casi inefectivo. Sin embargo, los anticuerpos 0 protegen al ratón contra los efectos tóxicos de una dosis masiva de bacilos tíficos muertos. Por lo dicho anteriormente se ve que la virulencia de los bacilos está íntimamente ligada a la presencia del antígeno Vi, siendo este un antígeno de virulencia³.

De sus cualidades antigénicas, depende la formación de anticuerpos protectores contra la infección por organismos virulentos, por lo tanto, sólo las vacunas preparadas con cepas que contienen este antígeno, tienen propiedades inmunizantes.

Las salmonelas que poseen el antígeno Vi son las únicas precipitables por el alumbre; esta propiedad ha sido utilizada para preparar una nueva vacuna tífico-paratífica muy efectiva.

El antígeno Vi es termolábil, es destruido por el calor a 60 grados C. durante una hora. Es un antígeno somático completamente diferente del antígeno 0.

Está constituido por un glicolipido que tratado por ácido clorhídrico y calentado, da 21.7% de azúcar y 26.5% de ácidos grasos.

Las aglutinas Vi son frecuentes en los portadores de gérmenes, por lo que se pueden utilizar en su investigación; en cambio, no son constantes en los enfermos, lo que las hace poco útiles para el diagnóstico de la enfermedad.

ESQUEMA DE KAUFFMANN Y WHITE

Topley y Wilson 1946.

E S P E C I E S	ANTIGENO O.	A N T I G E N O H	
		ESPECIFICO	INESPECIFICO
GRUPO A.			
Bact paratyphosum A.	I, II	-	-
Bact sonftenberg	I, III	GS	-
Bact sonftenberg var. newcastle		ES	-
GRUPO B.			
Bact paratyphosum B.		b	1, 2
Bact typhi murium		i	1, 2, 3
Bact typhi murium var. binns	IV, V, (XII)	-	1, 2, 3
Bact stanley		d	1, 2
Bact heidelberg		r	1, 2, 3
Bact reading		eh	1, 4, 5
Bact derby		fg	-
Bact abortus equi	IV, XII	eux	-
Bact abortus ovis		o	1, 4, 6
Bact brandenburg		enlv	-
GRUPO C.			
Bact paratyphosum C.		c	1, 4, 5
Bact cholerae suis		c	1, 3, 4, 5
Bact cholerae suis var. kunsendorf		-	1, 3, 4, 5
Bact typhi suis		c	1, 3, 4, 5
Bact typhi suis var. veldagsen	VI, VII	-	1, 3, 4, 5
Bact thompson		k	1, 3, 4, 5
Bact thompson var. berlin		-	1, 3, 4, 5
Bact virohow		p	1, 2, 3
Bact oranienburg		mt	-
Bact postdam		enlv	-
Bact bareilly		y	1, 3, 4, 5
Bact newport		sh	1, 2, 3
Bact newport var. puerto rico		-	1, 2, 3
Bact newport var. kottbus	VI, VIII	-	1, 2, 3
Bact bovis morbilicans		eh	1, 3, 4, 5
Bact muenchen		r	1, 3, 4, 5
		d	1, 2
GRUPO D.			
Bact typhosum		d	-
Bact enteritidis		gom	-
Bact enteritidis var. danysz		gom	-
Bact enteritidis var. chaco		gom	-
Bact enteritidis var. essen	IX, (XII)	gom	-
Bact enteritidis var. dublin		gp	-
Bact enteritidis var. rostock		gpu	-
Bact enteritidis var. moscu		goq	-
Bact enteritidis var. blegdam		gomq	-
Bact sondei		a	1, 4, 5
Bact dar es salaam		enlv	-
Bact eastbourne		eh	1, 3, 4, 5
Bact panama	IX, XII	lv	1, 3, 4, 5
Bact gallinarum		-	-
Bact gallinarum var. duisburg		-	-
Bact pullorum		-	-
GRUPO E.			
Bact london		lv	1, 4, 6
Bact anatum		eh	1, 4, 6
Bact anatum var. muenster	X, XIII	eh	1, 4, 5
GRUPO F.			
Bact aberdeen	XI	tr	1, 2, 3
GRUPO G.			
Bact poona	XIII	z	1, 4, 6

d).—Esquema de Kauffmann y White.—Consiste éste en clasificar y denominar las salmonelas de la manera siguiente: representando los antígenos somáticos con números romanos; los antígenos flagelares de fase específica, por letras minúsculas con índices numéricos y los antígenos flagelares de fase de grupo, con números arábigos, se distribuyen todas en seis grupos denominados con letras mayúsculas, teniendo los bacilos de cada grupo, idénticos antígenos somáticos.

La tabla siguiente es una modificación del esquema de Kauffmann y White, hecha por Topley y Wilson (1946), que añaden un nuevo grupo a los ya conocidos, al descubrirse salmonelas diferentes; no encontrándose en él todavía, la nueva salmonela Pensacola, descrita por Morán y Edwards, ni la Pensacola var. Anáhuac, descubierta por G. Varela, Mata y Olarte.

7.—Toxinas.—Las toxinas de las salmonelas son muy distintas a las oxotoxinas bacterianas, pues no quedan libres en el medio fluido en que se desarrolla la bacteria; pertenecen al grupo de las endotoxinas, que permanecen adheridas al protoplasma celular y que solo se pueden obtener destruyéndolo.

Diluciones de bacilos lisados por cualquier procedimiento, inyectadas a animales susceptibles, dan lugar a un cuadro clínico semejante al producido por la inyección de bacilos vivos. Se cree que estas endotoxinas, en el curso de una infección bacteriana, quedan en libertad cuando los bacilos son destruidos por las defensas orgánicas y su diseminación por todo el organismo, explica los síntomas que se observan en el curso del padecimiento'. Se acepta que estas endotoxinas son los mismos antígenos somáticos del bacilo.

8.—Papel patógeno.—Unas especies son patógenas para el hombre y otras para los animales.

En el hombre dan origen a cuadros infecciosos febriles, de aspecto muy diferente, según que las salmonelas sean de origen animal o humano, y según se trate de adultos o de niños².

En las salmonelosis de origen humano, el cuadro reviste el aspecto de las infecciones tíficas. El período de incubación es de cuatro a seis días; la iniciación es lenta y progresiva, existe anorexia, diarrea o constipación, bradipneumia, manchas rosadas lenticulares, esplenomegalia, etc. La enfermedad, después de un período septicémico, se localiza en el sistema linfático del intestino, con ataque a las placas de Peyer, después sobre-

vienen las complicaciones. La evolución hacia la curación se hace en dos o tres semanas. La mortalidad es variable, mayor que en las salmonelosis de origen animal¹.

Las salmonelas de origen animal, poseen escasa virulencia para el hombre adulto, ocasionan síndromes conocidos como intoxicaciones alimenticias; el organismo resiste eficazmente e impide el desarrollo del bacilo, la infección es superficial y desaparece pronto. Después de un período de incubación muy breve, (unas cuantas horas) se inicia bruscamente la sintomatología: vómitos frecuentes, deposiciones muy numerosas, contracciones espasmódicas dolorosas del tubo digestivo; tenesmo, postración, rápida deshidratación, pulso débil, cianosis, no existen manchas lenticulares, se presentan calambres en las extremidades inferiores. La enfermedad se localiza en el tubo digestivo; la fiebre es de mediana intensidad o no existe. Las complicaciones son raras. En enfermo sana en cuatro o cinco días. La mortalidad es muy baja: tres a cinco por ciento.

En cambio los niños son muy sensibles también a estas salmonelas. La enfermedad adopta el aspecto de una gran infección, las complicaciones son muy frecuentes: otitis meningitis, etc. La localización intestinal predominante corresponde al colon. La evolución a la curación se hace en tres o cuatro semanas. La mortalidad es elevada, alcanza un treinta por ciento.

III.—EPIDEMIOLOGIA.

Trataremos, en la epidemiología de las salmonelosis, de la fuente de infección y de los mecanismos de diseminación.

1.—Fuente de infección.—La fuente de infección la constituyen: los hombres enfermos y los portadores.

Recibe el nombre de portador, aquella persona, que sin tener ninguna manifestación clínica, lleva el bacilo en su organismo y lo elimina con sus excreciones naturales: orina y materias fecales. Hay tres clases de portadores:

Los portadores convalescientes, que son los que han sufrido el padecimiento con anterioridad, y que continúan arrojando salmonelas, después de tres semanas y aún después de dos o tres meses.

En algunos casos continúan eliminando bacterias por muchos meses, años o por el resto de su vida y entonces se los llama portadores crónicos o activos. Se clasifican en portadores vesiculares, intestinales y urinarios, según el lugar en que se

alojen los bacilos. No se puede precisar la duración del estado de portador, puesto que la eliminación de bacilos nunca es continua; en ocasiones se detiene, haciéndonos creer que ya terminó ese estado, y después de algún tiempo se vuelven a encontrar salmonelas en las excreciones. En algunos casos se trata solamente de unos cuantos años, pero en otros se prolonga durante 20, 50 años o más.

Los portadores sanos o pasivos, son aquellos que eliminan bacterias sin haber sufrido nunca la enfermedad; son frecuentes entre los contactos de los enfermos; se cree que la contaminación del intestino en ellos es transitoria y que desaparece, cuando se sustraen al foco de contagio'.

Según el número de personas expuestas a la infección, la cantidad de virus disponible, y el mecanismo de propagación, las salmonelosis se presentan bajo diferentes aspectos'.

En las ciudades, la enfermedad se sostiene esporádica, endémica o epidémica porque en ellas existe permanentemente una cantidad grande o pequeña de portadores, que en forma intermitente, están contaminando el agua y los alimentos, o bien se limitan a llevar la infección, por medios más directos a las personas que los rodean'.

2.—Mecanismos de diseminación.—a).—Infección por contacto.—Es la que tiene lugar directamente, entre una persona y otra, en un breve período de tiempo y en un espacio limitado.

Puede efectuarse a través de saludos de manos sucias, alimentos contaminados por el enfermo, termómetros, vasos, tazas, cucharas, etc. Es frecuente en personas que cuidan enfermos, en núcleos de aglomeración, centros militares, colegios de internos, etc. Estas infecciones dan lugar a cuadros más graves, con mayor número de complicaciones y mortalidad más elevada.

b).—Otras veces el circuito que recorre el bacilo es más largo. Puede ser diseminado por el agua de un río, la leche, las verduras, las moscas, etc.

Los mecanismos de contaminación del agua, son muy variados: En las aguas profundas, generalmente muy puras, la contaminación se hace por filtración del contenido de letrinas cercanas, o directamente de la superficie, cuando el fecalismo se realiza en ella y existen condiciones que aceleran el tránsito hacia las capas profundas o impiden la depuración suficiente; otras veces a través de grietas y fisuras naturales, que co-

munican las capas profundas con las diferentes clases de aguas superficiales: arroyos, ríos, lagos, generalmente contaminadas, porque en ellos vierten los desagües de las poblaciones.

El agua de lluvia, que se recoge y conserva en algunos lugares desérticos, es fácilmente contaminada en los depósitos de almacenamiento, por la proximidad de letrinas o por otras causas.

En ocasiones, las tierras de cultivo, a veces ya contaminadas por abonarlas con desechos humanos, son regadas con aguas negras y las verduras o legumbres, ahí sembradas, sirven de vehículo a la salmonela.

Las aguas de albañales que contaminan los criaderos de ostras, son la causa de pequeños brotes epidémicos; a veces la contaminación se hace con el agua en que se suele conservar las ostras en los mercados.

En los helados y refrescos, los bacilos pueden vivir hasta tres meses, aunque el frío disminuye su virulencia.

La leche y sus derivados, son medios importantes de transmisión, pues las bacterias se conservan y se reproducen en ellos con facilidad. Cuando no existe la enfermedad en los animales, el bacilo debe llegar de las manos sucias de un portador o del agua contaminada con que se altera el producto o se lavan los envases.

Por último las moscas, que abundan en los basureros y estercoleros, transmiten fácilmente el bacilo, bien sea llevándolo en sus patas, después de posarse en deyecciones humanas para depositarlo en alimentos o en el cuerpo, labios, manos, etc.; o bien por medio de sus excrementos, pues los bacilos salmonela pueden vivir en el intestino de ellas.

En resumen, de todos los mecanismos por los que se propagan las salmonelas, los principales son el agua y la leche no obstante, si en alguna ciudad azotada por el padecimiento se mejora y perfecciona el abastecimiento del agua potable y de la leche, las salmonelosis no desaparecen, se conservan en forma endémica, debido a que siguen actuando los mecanismos menores de propagación, tales como mariscos, verduras legumbres, moscas, infecciones por contacto, en una localidad donde no han desaparecido los portadores o los enfermos.

Una vez que se han localizado los presuntos portadores, se comprueba su existencia por medio del coprocultivo, ya que los portadores urinarios son muy raros.

TECNICA GENERAL DEL COPROCULTIVO.

Se utilizan medios de aislamiento y medios de enriquecimiento.

En estos últimos, las salmonelas dan colonias bien diferenciadas, pero frecuentemente son enmascaradas por la enorme cantidad de organismos saprofiticos que se desarrollan.

Los medios de aislamiento son más favorables a las salmonelas; en ellos se utilizan sustancias que inhiben el desarrollo de otras bacterias como el colibacilo, disintéricos y proteus.

Los medios de enriquecimiento permiten una multiplicación predominante de las salmonelas, que se podrán aislar después por resiembras sucesivas en medios de aislamiento.

Conviene sembrar en medios de aislamiento y tratar otra porción de heces por un procedimiento de enriquecimiento y hacer en seguida un nuevo aislamiento, a no ser que en el intervalo, las primeras placas de aislamiento no hayan dado un resultado netamente positivo.

Los mejores resultados se obtienen sembrando heces frescas, pues ya a las 12 horas de evacuadas, se reducen los resultados positivos a un 50%.

Como medios de aislamiento tenemos el Endo, que contiene: lactosa, fucsina básica y sulfito de sodio.

El medio de Kauffmann, a base de retractionato, es un medio de enriquecimiento, y al mismo tiempo, de aislamiento.

Técnica.—Se siembra en estrías, con poca cantidad de heces en los medios de aislamiento, por ejemplo en Endo.

En un tubo con medio de Kauffmann, se siembra una partícula de heces recientemente expulsadas, diluidas o no, en solución salina fisiológica y se llevan a la estufa a 37 grados C.

A las 24 horas y a los 5 días se resiembrar el producto del Kauffmann en placas de Endo. Si hubo colonias sospechosas en las placas de Endo se resiembran en otras placas del mismo medio, en cuadrante.

A las 24 horas de incubación se habrán formado colonias rojas y blancas; las rojas son de bacilos coli o coliformes, las blancas están formadas por salmonelas o por bacilos disintéricos, proteus, etc.

Se hace otra resiembra en Endo y a las 24 horas se pasan a tubos de gelosa.

Se hacen frontis con las colonias blancas sospechosas y se

tiñen con gram. Deberán observarse bastoncillos gram negativos.

Hay que observar también la motilidad. Las salmonelas son bacilos muy móviles, en cambio los bacilos disentéricos son poco o nada móviles.

Conviene hacer pruebas de aglutinación, cuando se tienen sueros específicos o bien con sueros mezclados o cocktails.

Para completar la investigación hay que sembrar en azúcares buscando las pruebas de fermentación.

Hay que investigar también la producción de indol, de ácido sulfhídrico y la de amoníaco que sirve para diferenciar el proteus.

DESCRIPCION Y TÉCNICAS USADAS EN LOS DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO.

Medio de Kauffmann.—Se prepara primero el tetracionato poniendo en un recipiente estéril:

Carbonato de calcio	4.5	grs.
Se esteriliza y se le añade:		
Caldo simple estéril	90	c.c.
Sol. estéril de tiosulfato de sodio al al 50%	100	c.c.
Sol. de lugol (20 grs. de yodo más 25 grs. de yoduro potásico en 100 c.c. de agua)	2	c.c.

A 500 c.c. de tetracionato original se los añade, en un recipiente estéril:

Sol. de verde brillante al 1%	5	c.c.
Bilis de buey	25	c.c.

Se agita constantemente para evitar la sedimentación de la crota. Después de mezclarlo no se debe esterilizar. Se reparte en tubos estériles.

Medio de Endo.

Extracto de carne	0.30	grs.
Peptona	2	grs.
Cloruro de sodio	0.50	grs.
Agar agar	3	grs.
Lactosa	1	grs.
Agua	100	c.c.

Se disuelven el extracto de carne, la peptona y el cloruro de sodio en el agua, se agrega el agar y se lleva al autoclave a vapor fluente durante media hora. Se filtra, se ajusta el pH (7.6 a 7.8), se añade la lactosa y

Sol. de fucsina en alcohol de 95 grados al 10%	0.3	grs.
Sol de sulfito de sodio al 2.5% c.b.p. decolorar la fucsina	5 a 10	c.c.
Medio de Gelosa simple.		
Caldo simple	100	c.c.
Agar en fibra	2	grs.

El agar se disuelve cuando se pone el caldo a vapor fluente durante media hora para la precipitación de los fosfatos.

Medios Azucarados de Barsikoff.

Agua de la llave	1000	c.c.
Peptona	10	grs.
Cloruro de sodio	5	grs.
Se hierve, se ajusta el pH a 7.6. Se filtra, se añade:		
Rojo de fenol	0.025	grs.
Azúcar que se emplee	10	grs.

Se esteriliza a 10 lbs. durante 15 minutos procurando que no aumente la presión. Los azúcares que se emplean son:

Glucosa, manita, maltosa, sorbita, lactosa, sacarosa, ramnosa, arabinosa, xilosa, etc. Todas las siembras se hacen de un solo piquete.

Medio de Sub-acetato de Plomo.

Para investigar la producción de ácido sulfhídrico se hace una solución de Sub-acetato de plomo al 20% y se esteriliza; se añaden tres o cuatro gotas de esta solución a tubos de gelosa estériles. La siembra en ellos se hace en picadura.

Conviene introducir en el tubo, tiras de papel filtro impregnadas de solución de acetato, porque algunas salmonelas no producen el ácido sulfhídrico en la gelosa.

Investigación del Indol.

Se hace un cultivo en agua peptonada al 2%, después de dos días se verifica la reacción de Saikowski:

A 15 c.c. de cultivo se le añaden 30 gotas de una solución de nitrito potásico al uno por mil y después 10 gotas de ácido sulfhídrico Q. P. Se mezcla, si existe indol aparece un tinte rosado.

Medio para diferenciar el Proteus.		
Agua dest. neutra y libre de amoníaco	1000	c.c.
Urea	20	grs.
Exto. Levadura de cerveza	0.10	grs.
Se ajusta el pH a 6.8 empleando:		
Fosfato monopotásico	2.31	grs.
Fosfato disódico	4.374	grs.

Se siembra, después de 24 horas en la estufa, se toma una asa del cultivo y se mezcla con una gota de reactivo de Nessler. Si aparece un precipitado amarillo naranja o café es que hubo producción de amoníaco y por lo tanto que hay Proteus.

PROPIEDADES BIOLÓGICAS DE SALMONELAS Y SHIGELAS.

E S P E C I E S .	Motilidad	Glucosa	Lactosa	Manita	Sacrosa	Maltosa	Xilosa	Rhamnosa	Dulcita	Indol	Acet.Plomo
<i>B Coli comunis</i>	+	(+)	(+)	(+)	-	(+)	±	(+)	±	+	-
<i>B Coli comunior</i>	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	+	±	+	-
<i>B Acidi lactici</i>	-	+	+	+	x	+	x	x	-	+	x
<i>B Lactis aerogenos</i>	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	±	-	-
<i>B Friedlander</i>	+	(+)	±	x	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	±	-
<i>B Cloacae</i>	±	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	±	±	-
<i>B Typhosus</i>	+	+	-	+	-	+	±	-	-	-	+
<i>B Faecalis alcaligenes</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>B Proteus vulgaris</i>	+	+	-	-	x	+	+	x	-	±	x
<i>S Paratyphosum A</i>	+	(+)	-	(+)	-	(+)	-	(+)	(+)	-	-
<i>S Paratyphosum B</i>	+	(+)	-	(+)	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-	+
<i>S Paratyphosum C</i>	+	(+)	-	x	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-	+
<i>S Enteritidis</i>	+	(+)	-	(+)	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-	+
<i>S Morgani</i>	+	(+)	-	-	-	±	±	±	±	-	+
<i>S Cholerae suis</i>	x	(+)	-	-	-	(+)	(+)	(+)	±	-	±
<i>S Abortus equi</i>	+	(+)	-	(+)	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-
<i>S Aertrycke</i>	+	(+)	-	(+)	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-	+
<i>S Pullorum</i>	-	(+)	-	(+)	-	-	-	(+)	-	-	-
<i>S Gallinarum</i>	-	+	-	+	-	+	+	(+)	+	-	-
<i>S Suipostifer</i>	+	+	-	+	x	+	+	x	+	-	-
<i>B Dysenteriae Shiga</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B Dysenteriae Floxner</i>	-	+	-	+	-	±	±	+	±	±	-
<i>B Paradysenteriae "Y"</i>	-	+	-	+	x	-	-	-	-	+	-
<i>B Paradysenteriae Strong</i>	-	+	-	+	x	-	-	-	-	+	-
<i>B Sonnei</i>	-	+	-	x	+	+	-	+	-	-	-

(+) ácido y gas - negativa

+ ácido ± lento

x no necesaria para la identificación.

RESULTADOS OBTENIDOS.

Siguiendo las técnicas anteriores se practicaron 203 coprocultivos de heces recientes.

Fueron sembradas primero en Kauffmann, en partícula gruesa y en Endo, en estria.

A las 24 horas de estar en la estufa a 37 grados C. se resembraron las colonias sospechosas, desarrolladas en el medio Endo, en una placa con el mismo medio.

El Kauffmann lo resembramos en Endo, a las 24 horas y a los cinco días, dando mejores resultados la siembra a las 24 horas.

Después de 24 horas de incubación a 37 grados C., las colonias sospechosas del medio Endo, que ya estaban perfectamente aisladas, las resembramos en tubos de gelosa.

Se volvieron a resembrar las siembras que habíamos hecho del Kauffmann al Endo, para aislar más las colonias y al cabo de 24 horas en la estufa, las resembramos en gelosa.

De las 203 muestras, separamos 44 cepas que por su aspecto parecían ser salmonelas, e investigamos sus reacciones bioquímicas, sembrando en medios azucarados, en los que utilizamos; glucosa, manita, lactosa, sacarosa, y sorbita; como indicador, el rojo fenol que al producirse ácido, pasa a amarillo canario. La producción de gas, la observamos en las campanas de fermentación.

Utilizamos el medio de acetato de plomo, para la producción de ácido sulfhídrico, la reacción es positiva cuando el medio se ennegrece, por la formación de sulfuro de plomo.

La investigación del indol, la hicimos por medio del agua peptonada y la reacción del Salkowski; la reacción positiva indica que no se trata de salmonelas, pues éstas no lo producen.

La presencia del proteus, la investigamos con el medio a base de urea y levadura de cerveza, por la producción de amoníaco.

Observamos al microscopio la motilidad. Hicimos frotis de las colonias y las teñimos por el método de Gram; encontramos bastoncillos Gram negativos.

La clasificación inmunológica no nos fué posible hacerla por carecer de los sueros necesarios.

De las 44 muestras aisladas, solo 25 dieron las reacciones propias de las salmonelas, las demás fueron desechadas.

De esas 25 cepas, aisladas como salmonelas, hicimos una clasificación provisional de ellas, tomando en cuenta únicamente, su acción sobre los ácidos y sus propiedades biológicas, en la siguiente forma: *S. Suspectum*, 7; *S. Paratyphosum B.*, 5; *S. Paratyphosum A.*, 5; *S. Typhosum*, 8.

demás, encontramos 4 cepas, que tomando en cuenta los mismos caracteres anteriores, las clasificamos provisionalmente con *Shigellas*.

Sin embargo, no debemos considerar esta clasificación como verdadera, ya que para llegar a tener una exacta, necesitaríamos hacer la investigación de la constitución antigénica de cada una de las cepas bacterianas.

Por lo que se refiere a la constancia de las muestras de heces, no pudimos llegar a una conclusión, en su mayoría son normales, y en los cinco casos en que fueron líquidas, no podemos decir que corresponden a una sola clase de salmonela.

Todas estas investigaciones fueron hechas en los meses de noviembre de 1948, y en febrero, marzo y abril de este año.

Por las observaciones llevadas a cabo en la ciudad de Morelia, en junio de 1948, nos damos cuenta que aquí, en Guadaluajara, la proporción de portadores es menor, (en Morelia fué 18.5%). Probablemente porque la investigación se hizo en los meses en que las salmonelosis se presentan con mayor frecuencia.

No. Gluco

3	+
10	+
12	(+)
21	+
22	+
26	(+)
31	+
38	+
46	(+)
59	+
62	+
63	+
85	+
88	+
90	(+)
91	(+)
98	+
112	+
120	(+)
121	+
122	+
123	+
125	+
138	(+)
158	(+)
164	+
176	(+)
178	(+)
179	+



QUIMICA

CEPAS CONSIDERADAS COMO SOSPECHOSAS POR NO FERMENTAR LACTOSA.

No.	Glucosa	Lactosa	Manita	Sacarosa	Sorbita	Acet.Piomo	Indol	Motilidad	Amoníaco	Diagnóstico Probable.	Consistencia de las heces.
3	+	-	+	-	+	-	-	+	-	S Suipestifer	Líquida
10	+	-	+	-	+	+	-	+	-	S Typhosum	Pastosa
12	(+)	-	+	-	+	-	-	+	-	S Paratyphosum A	Blanda
21	+	-	-	-	-	-	-	-	-	B Dysenteriae Shiga	Blanda
22	+	-	-	-	-	-	-	-	-	B Dysenteriae Shiga	Líquida
28	(+)	-	+	-	+	+	-	+	-	S Paratyphosum B	Blanda
31	+	-	-	-	-	-	-	-	-	B Dysenteriae Shiga	Pastosa
38	+	-	+	-	+	+	-	+	-	S Typhosum	Líquida
46	(+)	-	+	-	+	-	-	+	-	S Paratyphosum A	Líquida
59	+	-	+	-	+	-	-	+	-	S Suipestifer	Escabales duros
62	+	-	+	-	+	+	-	+	-	S Typhosum	Blanda
63	+	-	+	-	+	+	-	+	-	S Typhosum	Pastosa
85	-	-	-	-	+	-	-	-	-	S Suipestifer	Blanda
88	-	-	+	-	+	+	-	+	-	S Typhosum	Blanda
90	(+)	-	+	-	+	+	-	+	-	S Paratyphosum B	Líquida
91	(+)	-	+	-	+	+	-	+	-	S Paratyphosum B	Blanda
98	+	-	+	-	+	+	-	+	-	S Typhosum	Blanda
112	+	-	+	-	+	+	-	+	-	S Typhosum	Blanda
120	(+)	-	+	-	+	-	-	+	-	S Paratyphosum A	Blanda
121	+	-	+	-	+	-	-	+	-	S Suipestifer	Líquida
122	+	-	+	-	+	-	-	+	-	S Suipestifer	Blanda
123	+	-	-	-	-	-	-	-	-	B Dysenteriae Shiga	Pastosa
125	+	-	+	-	+	+	-	+	-	S Typhosum	Mucosa
138	(+)	-	+	-	+	+	-	+	-	S Paratyphosum B	Blanda
158	(+)	-	+	-	+	-	-	+	-	S Paratyphosum A	Esponjosa
164	+	-	+	-	+	-	-	+	-	S Suipestifer	Blanda
176	(+)	-	+	-	+	-	-	+	-	S Paratyphosum A	Escabales duros
178	(+)	-	+	-	+	+	-	+	-	S Paratyphosum B	Blanda
179	+	-	+	-	+	-	-	-	-	S Suipestifer	Mucosa

CONCLUSIONES:

Se hicieron 203 coprocultivos en medio de Endo y Kaufmann y resiembras en Endo, de personas aparentemente sanas viviendo en Guadalajara, con el fin de investigar portadores de Salmonellas.

De las 203 muestras se obtuvieron 29 cepas que no fermentaron la lactosa en el medio de Endo.

Las 29 cepas se sembraron en distintos azúcares, se investigó producción de indol, amoníaco, ácido sulfhídrico, motilidad, etc., y atendiendo a estos datos, se hizo una clasificación provisional de ellas, en la siguiente forma:

S. Suipestifer, 7; S. Paratyphosum B, 5; S. Paratyphosum A, 5; S. Typhosum, 8; y 4 Shigellas.

En Guadalajara encontramos, en los meses de noviembre a mayo, 12.31% de portadores de salmonelas.

Para posteriores trabajos conviene hacer el diagnóstico serológico de las cepas obtenidas de los coprocultivos.

Coeficiente de Infección	Cepas Aisladas	B Typhosum	B Paratyphosum A	B Paratyphosum B	B Suipestifer	Shigelas
12315 por	25	8	5	5	7	4
100.000	12.31 %	3.94 %	2.46 %	2.46 %	3.44 %	1.97 %

BIBLIOGRAFIA.

- C. M. BARZIZZA Y A. MANSO SOTO.—Microbiología.
- DOPTER Y SACQUEPEE.—Bacteriología.
- EUSTAQUIO ROCH U.—Incidencia de Salmonelas, Shigelas y otras bacterias intestinales en Morelia, Mich. Noticias Clínicas.—Junio 1948.
- FCO. RUIZ SANCHEZ.—La Fiebre Tifoidea. (1)
- FCO. RUIZ SANCHEZ.—Salmonelas y Salmonelosis.—Boletín Mensual de la Soc. Mutualista Médico Farmacéutica de Guadalajara. Tomo XV. (2).
- GERARDO VARELA, JOSE LAGUNA Y JOSE ZOZAYA.—Estudio de cien casos de Salmonelosis Humanas.—Rev. Inst. Salub. y Enf. Tropicales.—Marzo de 1947.
- GERARDO VARELA Y JORGE OLARTE.—Importancia de la hidrólisis de la urea por los proteus, en el aislamiento de Salmonelas.—Rev. Inst. Salub. y Enf. Tropicales.—Marzo de 1946.
- TOPLEY Y WILSON.—Bacteriología e Inmunidad. (3).