

870127

3

2ej

---

---

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA**

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

---

---

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

INVESTIGACION DE PORTADORES DE SALMONELLA  
TYPHI EN PACIENTES INTERVENIDOS POR  
COLECISTECTOMIA.

---

---

**TESIS PROFESIONAL**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A  
Ma. del Carmen Olivia Ballesteros Villalobos

Asesor: Q.F.B. María del Socorro Pulido García  
GUADALAJARA, JALISCO 1986

---

---



## **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

	Pág.
CAPITULO I	
INTRODUCCION . . . . .	1
CAPITULO II	
GENERALIDADES . . . . .	2
CAPITULO III	
MATERIAL Y METODOS . . . . .	43
CAPITULO IV	
RESULTADOS . . . . .	47
CAPITULO V	
CONCLUSIONES . . . . .	50
BIBLIOGRAFIA . . . . .	51

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

## INTRODUCCION

Se define al portador como aquel individuo colonizado con un microorganismo determinado, del cual puede -- ser aislado el germen en cuestión durante periodos variables. ( 1 )

La bilis es un buen medio de soporte para Salmonella typhi, microorganismo con capacidad de persistir en las vías biliares y que puede determinar la aparición del estado portador, estadio en el que se eliminan bacilos -- por las heces. ( 19 )

Los convalecientes de tifoidea pueden convertirse en portadores permanentes de Salmonella typhi, albergando los microorganismos en vesícula biliar y ocasionalmente en otros órganos.

El objetivo de este trabajo es el de saber en cuántas de las colecistectomías realizadas en el Hospital de Especialidades del C.M.O. del Instituto Mexicano del Seguro Social, se encuentra Salmonella typhi, gestando el estado de portador.

La prevalencia de Salmonella typhi, en vesícula biliar no ha sido bien determinada debido a la falta de estudios sobre el tema, siendo pocas las instituciones que juzgan conveniente la realización de este tipo de trabajos, pero que son de suma importancia para el control de portadores crónicos de Salmonella typhi.

Es por esto que se juzgó necesario la realización de este trabajo, para la determinación de la prevalencia de portadores crónicos.

GENERALIDADES

## ASPECTOS GENERALES:

El género Salmonella es el más complejo de los microorganismos, compuestos por un grupo serológico y bioquímico. Muchas especies animales además del hombre son infectadas por este microorganismo y también son capaces de invadir tejidos extraintestinales, causando fiebres entéricas; la más severa es la fiebre tifoidea. ( 10 )

Las Salmonellas toleran concentraciones altas de bilis; por este motivo, se utiliza para diseñar medios para aislamiento de estos microorganismos.

La Salmonella virulenta atraviesa el revestimiento epitelial del intestino delgado; pero a diferencia de la Shigela no reside simplemente en el revestimiento epitelial, pasa directamente a través de las células epiteliales hacia el tejido subepitelial.

La capacidad de las Salmonellas para sobrevivir intracelularmente puede deberse a los antígenos o de superficie.

La S. typhi posee un antígeno Vi que la torna más virulenta que las que no poseen el antígeno.

Se cree que la endotoxina de la Salmonella podría ser responsable de la fiebre y posiblemente del choque durante una bacteremia por Salmonella.

La naturaleza del papel de la endotoxina en la enfermedad se complica aún más por su capacidad para activar las propiedades quimiotácticas del sistema de complemento.

La estimulación por la endotoxina de la actividad quimiotáctica puede causar la localización de los leucocitos en las clásicas lesiones entéricas que se observan en la fiebre tifoidea. ( 18 )

La infección por Salmonella es transmitida por contaminación de agua, leche o alimentos por un convaleciente o portador crónico. También pueden ser llevados mecánicamente los bacilos, desde las heces a los alimentos - por las moscas. Puede ser transmitida también por contaminación de aguas usadas para la cría de mariscos y las - frutas y verduras que se consumen crudas.

El principal problema para eliminar la fiebre tifoidea humana es el portador crónico.

Los portadores crónicos entre mujeres de media - edad son cinco veces más frecuentes que entre los hombres de media edad y varias de estas mujeres con cocineras o - manipulan alimentos. ( 13 )

En los portadores crónicos de bacilos tíficos es más difícil la curación. Los portadores urinarios se pueden curar por extirpación del riñón afectado, siempre que el otro riñón sea normal.

La extirpación de la vesícula biliar infectada lleva a la curación mientras no estén infectadas las vías biliares. Se ha observado que los bacilos se encuentran - dentro de los cálculos biliares, no se destruyen con los antibióticos y pueden salir a infectar la bilis.

En la tifoidea el portador humano es la fuente de infección mientras para las otras Salmonellas son los ani

males los más importantes.

La Salmonelosis y la tifoidea son endémicas en - - nuestro país presentando una tasa aproximada de 6.6% de portadores de Salmonella de la población total en la ciudad de México.

La causa principal para la transmisión del bacilo de la tifoidea, es el deficiente saneamiento ambiental, y los malos hábitos de higiene personal, factores favorecidos por la mala disposición de la materia fecal.

En México este problema es muy serio debido al hacinamiento humano, carencia de agua potable, principalmente en localidades rurales; falta de servicios adecuados para la eliminación de excretas, y la insuficiente vigilancia sanitaria que garantice la calidad del agua y alimentos destinados al consumo humano.

Por métodos bacteriológicos se ha demostrado elevada prevalencia de portadores sanos, incluso manejadores de alimentos.

El 80% de portadores sanos son mujeres adultas aún más cuando tienen padecimientos vesiculares, probablemente por la habilidad que posee el bacilo para sobrevivir y desarrollarse en la bilis, cálculos, y en la pared vesicular.

Los convalecientes pueden convertirse en portadores a corto plazo, tomándose en cuenta aproximadamente que un 10% son portadores temporales hasta por 3 meses y en un 3% a largo plazo por más de tres meses o de por vida.

En mujeres infectadas la tasa de portadores permanentes puede ser hasta de 10% siendo favorecida por la -- presencia de colecistitis o colelitiasis previa. ( 10 )

El urocultivo es positivo hasta en un 25% de los - enfermos como resultado de pielonefritis tifóidica y un - 0.1% de los convalecientes se vuelven portadores urina- - rios crónicos.

El portador podemos encontrarlo en estado TRANSITO RIO, INTERMITENTE y CRÓNICO.

La génesis del estado portador se va a ver en base a la plasticidad adaptativa del microorganismo de la cual dependerán el número de microorganismos, serotipo, y formas atípicas.

Las condiciones inherentes al huésped pueden - ser anatómicas, modificaciones por edad y mecanismos de - defensa.

Las condiciones anatómicas que favorecen el estado de portador es la colelitiasis y/o la variación de pH de la bilis.

En las diferentes edades observamos por ejemplo -- que en menores de un año serán portadores por convalecencia, mientras que en mayores de 60 años son portadores - crónicos.

Los mecanismos de defensa que influyen sobre el es tado del portador son la fagocitosis, deficiencia de complemento y deficiencia de inmunoglobulinas.

Por portadores excretan en 1 grm. de heces de - -

$10^6 - 10^{10}$  Salmonella. Para que la infección de S. typhi se inicie, se requiere que el individuo ingiera una cantidad mínima de bacterias.

Estudios experimentales han demostrado que la dosis infectante D.I.<sub>25</sub> es de aproximadamente de  $10^4$  y la dosis D.I.<sub>50</sub> es de  $10^5$  a  $10^6$  organismos.

Un número variable de sujetos infectados no presentan síntomas serios aún presente la bacteria en materia fecal e incluso en torrente sanguíneo o médula ósea.

La infección de manera natural fluctúa entre 7 a 21 días terminándose con la aparición de fiebre y otros síntomas resultantes de la liberación de las endotoxinas de S. typhi. ( 10 )

La presencia de cálculos en la vía biliar principal, así como la existencia de un proceso inflamatorio agudo aumenta la positividad de los cultivos.

Cuando hay infección en vesícula biliar por S. typhi se relaciona con carcinoma. Según F. Nervi, C. Covarrubias nos dicen que el cáncer de la vía biliar es seis veces más frecuente en los portadores crónicos de Salmonella typhi. ( 11 )

Estudios realizados por Mercelles y M. Sepúlveda, en 1980, comprobaron que las bacterias encontradas con más frecuencia, en la vesícula biliar son: en primer lugar E. coli en segundo Streptococcus grupo D (tipo enterococo) y en tercer lugar es para Salmonella. ( 12 )

HISTORIA Y MORFOLOGIA.-

Salmonella typhi también es llamada S. typhosa, -- Eberthella typhosa o bacilo de fiebre tifoidea fue descubierta por Eberth en 1880.

Salmonella typhi pertenece al género Salmonella, a la tribu Salmonellae y la familia Enterobacteriaceae.

Las Salmonellas son bacilos gramnegativos en forma de bastón, pequeños aproximadamente (0.5 milimicras por - 3.0 milimicras) no formadoras de esporas. Pueden ser móviles o inmóviles. La movilidad es debida a los flagelos perfrtricos, se observan en algunas especies cilios desempeñando un papel de adherencia a otras bacterias, fagos - y/o células del huésped y la transferencia de material ge nético.

Para dar categoría de especie a cada tipo antigéni co es de suma importancia y utilidad el esquema de Kauff man-White.

También el de Ewing y col. ellos proponen sólo 3 - especies de Salmonella:

- 1). S. cholerae; 2) S. typhi; y Salmonella enteri tidis, y las otras siendo tipos antigénicos o serotipos - de S. enteritidis.

Salmonella typhi no fermenta lactosa, no produce - gas de la fermentación de glucosa y la producción de SH<sub>2</sub> - puede ser muy pobre, el Indol y Malonato son negativos, - descarboxila la lisina y no hay crecimiento en KCN.

Las Salmonellas toleran concentraciones altas de bilis.

#### ESTRUCTURA ANTIGENICA:

Para la identificación de las principales variedades de bacilos entéricos se basa generalmente en su estructura antigénica.

Ciertas cepas que poseen la misma actividad antigénica pueden dar lugar a reacciones metabólicas distintas.

La composición antigénica de las Salmonellas ha permitido una separación de tipos serológicos, no todos correspondientes a especies, y actualmente suman más de 1400 tipos resultantes de las más variadas combinaciones de sus componentes. Sin embargo hay numerosas especies bien establecidas por medio de sus distintos caracteres, con una acción patógena bien definida.

Las reacciones de estos microorganismos frente a antisueros específicos dependen de tres tipos de antígenos de superficie (H, O y Vi) para la identificación de bacterias del género Salmonella.

Kauffman y White realizaron estudios sistemáticos para la identificación de aproximadamente 1000 variedades de este género, en relación con los antígenos (H, O y Vi) identificados mediante pruebas exhaustivas de absorciones y reacciones cruzadas.

El antígeno somático "O" es monofásico, puede haber variación en los componentes antigénicos que permiten

subdividir al género en 14 grupos, señalados con las letras mayúsculas A, B, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, D, E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub>, E<sub>4</sub>, F, G, H, I, y un conjunto heterogéneo.

Los antígenos somáticos que posee cada grupo se indican actualmente con números arábigos, anteriormente lo era con números romanos.

La denominación "O" viene de la palabra alemana - "Onne" (que significa sin) utilizándose actualmente como término genérico para denominar los antígenos somáticos lipopolisacáridos de todos los bacilos coliformes y más específicamente para sus componentes polisacáridos - antígenicamente activos.

Los antígenos somáticos "O" se presentan en la superficie del soma bacteriano, los anticuerpos para antígenos "O" son predominantemente I<sub>g</sub>M.

Los antígenos "O" son lipopolisacáridos. Algunos polisacáridos específicos no contienen azúcares exclusivos. Estos antígenos son resistentes a ebullición, al alcohol y a los ácidos.

Al antígeno flagelar se le dio el término de H que se deriva de la palabra alemana "Hauch".

Es un antígeno difásico, una de las fases se le designa con el número 1 siendo compartida sólo por unas cuantas especies diferentes, y fase 2 por muchas. Ambas poseen una variada composición de porciones antigénicas.

( 18 )

Los antígenos de la fase 1 también son llamados -

antígenos flagelares específicos y son indicados con la letra minúscula: a, b, c, d, etc., y cuando excedió el alfabeto, a la letra z se le asignarán subíndices  $z_2$ ,  $z_3$ , etc. - Los antígenos de fase 2 o antígenos flagelares inespecíficos se designan con números arábigos. Aunque los organismos de un determinado cultivo pueden estar en una fase, frecuentemente son capaces de originar mutantes en la otra fase, el cambio de la fase 2 la produce si el cultivo se incuba durante 24 hrs.

Se han descrito 3 tipos de variación de fase; el primero Variación específico-inespecífica de fase, en la cual un antígeno específico en fase 1 se asocia con antígenos inespecíficos en fase 2.

El segundo es la llamada Variación  $\alpha$  - B de fase, en la cual un antígeno en fase 1 se une con antígenos e, n, t, en fase 2.

Finalmente hay un tercer tipo en el cual los antígenos de ambas fases se encuentran comúnmente en fase 1.

El antígeno flagelar es muy inestable, es destruido por ebullición y exposición al alcohol o ácido débil. Los anticuerpos contra los antígenos H son predominantemente I<sub>g</sub>G.

Un antígeno muy parecido al complejo antigénico "O" denominado antígeno Vi o antígeno de virulencia, porque se supuso relacionado con ésta, porque el anticuerpo para él es de carácter protector.

Se encuentra presente en la parte periférica del soma bacteriano, se presenta Salmonella typhi y puede en-

mascarar o bloquear completamente la actividad de los antígenos "O"; el antígeno Vi es un homopolímero simple, de ácido N-acetil galactosa-aminurónico; y debido a sus grupos carboxilos libres, la superficie celular resulta altamente ácida. El antígeno Vi es lábil al calor, álcalis, ácidos y alcohol; se descubre prácticamente en todas las cepas del bacilo de la tifoidea.

Antígenos similares al Vi pero diferentes en especificidad se han encontrado en los paratíficos A,B,C.

Los tipos de salmonellas más frecuentemente aislados corresponden a los grupos A a E<sub>3</sub>. Cualquier laboratorio puede identificar sus cepas aisladas empleando antisueros "O" individuales representando los grupos somáticos A-E en antisueros flagelares (a,b,c,d,e y un polivalente que incluye antisueros flagelares de fase 1,2,5,6,7) y se logra la identificación de algunos de los más importantes serotipos.

El antígeno Vi de *Salmonella typhi* puede desempeñar un papel en la prevención de la destrucción intracelular de este microorganismo.

S. typhi atraviesa el revestimiento epitelial del intestino delgado y pasa directamente a través de las células epiteliales hacia el tejido subepitelial, pareciendo ser un proceso similar a la fagocitosis.

La capacidad de Salmonella typhi para sobrevivir intracelularmente puede deberse a la presencia del antígeno Vi.

La endotoxina puede ser la responsable de la fie-

bre y posiblemente de choque durante una bacteriemia por Salmonella.

Como todas las bacterias gramnegativas la membrana de las Salmonellas contiene lipopolisacáridos. Se liberan por lisis de las células y actúan como endotoxinas.

El antígeno Vi puede perderse parcial o totalmente. Los antígenos pueden ser adquiridos o perdidos mediante el proceso de transducción.

La variación del antígeno Vi del bacilo tifoídico se presenta en cepas recién aisladas que contienen antígeno Vi y tienden a perderlo.

Las cepas que contienen Ag Vi en gran cantidad no son aglutinables con antisuero O. El antígeno tiene efecto de enmascaramiento, se conoce como cepas V. Cuando es aglutinable por O es que aún contiene Ag Vi y absorbe anticuerpo Vi de suero y se llama cepa VW. Esta forma pierde totalmente su antígeno Vi y se convierte en forma W.

Los cambios inmunológicos asociados con la variación de fase y la pérdida completa pero transitoria de antígeno flagelar por cultivo en agar-fenol, evidentemente no guarda relación con la disociación S - R aunque pueden ser inducidas por métodos que provoquen disociación o sea cultivo en antisuero específico.

La disociación de liso a rugoso se manifiesta como alteración en la morfología de la colonia y pérdida de la virulencia.

Las formas rugosas siguen siendo móviles. La especie

cificidad de estos antígenos evidentemente depende de un hapteno polisacárido y con la desaparición de éste, la bacteria adquiere un carácter inmunológico nuevo y común en los antígenos somáticos y los flagelares siguen igual.

Las cepas rugosas de los bacilos entéricos carecen de antígenos de superficie específicos y tienden a aglutinarse en forma espontánea. Los distintos antígenos polisacáridos que pueden ser extraídos a partir de su pared celular (Ag R) se hallan también presentes en las células lisas (L), aunque se hallen cubiertos por cadenas de  $A_gO$ . La transformación de forma L a forma R puede producirse sin que tenga lugar en una pérdida de los Ag flagelares - o Vi.

Además de los  $A_gS$  que permiten diferenciar las distintas Enterobacterias entre sí, muchas de ellas poseen un  $A_g$  común que puede ser extraído de las células. Conocido como antígeno Enterobacteriano común. Los anticuerpos frente al antígeno común son los incapaces de precipitar, así como de aglutinar las células, pero puede ser detectado por hemaglutinación o hemólisis de hemates recubiertos con el antígeno.

#### INMUNIDAD.-

Puede existir un cierto grado de inmunidad, la cual será activa artificial, y ésta se hace inyectando bacilos muertos de tifoidea o paratifoidea (conocido esto como bacterina o vacuna).

Consiste en la aplicación de 3 dosis con una semana de diferencia entre ellas; la primer vacuna es con mil millones de bacilos y la segunda y tercera con 2 mil mi-

lones cada uno. La vacuna está contenida por bacilos tífoides, y paratíficos y se le conoce como vacuna - T-A-B; esto se refiere a Salmonella typhi, S. paratyphi A y S. paratyphi B. La vacunación no es una protección absoluta contra la Salmonelosis. Los mejores resultados para la disminución de Salmonelosis, es aplicando medidas sanitarias en la provisión de alimentos, leche, agua alcantarillada de aguas negras, control de portadores.

### CARACTERISTICAS DE CULTIVO:

Los medios de cultivo utilizados para el aislamiento de bacilos entéricos y que permiten crecimiento alto - de bacilos son:

Agar de Mac Conkey.- Es un medio diferencial para la selección y recuperación de enterobacterias, es recomendable utilizarlo en la detección y aislamiento de todos los tipos de bacterias de disenteria, tífus y paratífus, en muestras de excremento, orina y otros materiales que tengan estos organismos.

Este agar contiene sales biliares y cristal violeta que inhibe el desarrollo de bacterias grampositivas y algunas gramnegativas exigentes. La lactosa es el único hidrato de carbono que contiene las colonias no fermentadoras de lactosa, aparecen incoloras o transparentes en este medio, como en el caso de Salmonella y otras bacterias patógenas.

Las bacterias fermentadoras de lactosa forman colonias de diferentes tonos de rojo debido al viraje del indicador rojo neutro (rojo a pH menor de 6.8) por la producción de ácidos mixtos.

Agar-eosina-azul de metileno. (EMB).- Es un medio diferencial, se recomienda para la detección y aislamiento de bacterias patógenas intestinales gramnegativas.

Este medio fue elaborado por Holt-Harris y Teague, quienes emplearon una combinación de eosina y azul de metileno como indicador dando una diferenciación evidente entre las colonias de organismos fermentadores de lactosa

y aquellos que no la fermentan. Incluyeron sacarosa en el medio porque ciertos miembros del grupo coliforme fermentan este carbohidrato con más facilidad que la lactosa; las colonias lactosa positiva son negras o poseen centros oscuros con periferias transparentes incoloras mientras aquellas que son lactosa o sacarosa negativas son incoloras.

Levine describió un agar con eosina y azul de metileno para fines de la diferenciación de tipos fecales y no fecales del grupo aerógeno coli; este medio también diferencia las Salmonellas y otros organismos que no fermentan la lactosa de los coliformes.

Agar desoxicolato.- Este medio es para aislamiento de Shigelas y Salmonellas. El crecimiento de los organismos grampositivos y bacilos del grupo coli aerógenos, alcaligenes y de ciertos Proteus se inhibe considerablemente en este medio.

La presencia de dos azúcares permite que formen colonias rojas los organismos que fermentan rápidamente la sacarosa, la lactosa o ambas, como el Proteus vulgaris, algunos de los organismos paracolon y los coliformes típicos. Esto hace posible una selección más cuidadosa de los miembros de los géneros Shigella y Salmonella que forman colonias incoloras o casi incoloras en el agar desoxicolato.

Algunas cepas de Shigella, crecen rápidamente y -- sus colonias se tornan color rosa muy pálido en contraste con las colonias rojo rosa de Proteus o de E. coli que se pueden distinguir rápidamente. Sin embargo gran mayoría de las cepas disintéricas forman colonias incoloras.

Las colonias de organismos que se cree pertenezcan

a los grupos tífico, paratífico o disentérico se deben --  
transplantar a medios diferenciales como el agar con tri-  
ple azúcar.

La Salmonella forma en este medio, colonias gran-  
des incoloras o color canela.

Los medios selectivos diferenciales de agar contie-  
nen lactosa y un indicador junto con bilis o sales biliar-  
es o algunos colorantes y sustancias químicas.

Los medios altamente selectivos son:

Agar Salmonella - Shigella.- Este medio es alta-  
mente selectivo; se recomienda para el aislamiento de --  
Salmonella-Shigella en excrementos y otros materiales que  
se sospeche que contienen estos organismos, en un medio -  
que inhibe el desarrollo de la mayoría de coliformes y -  
permite el de especies de Salmonella y Shigella de mues-  
tras ambientales y clínicas. La alta concentración de --  
sales biliares y citrato de sodio inhibe a todas las bac-  
terias grampositivas y muchas gramnegativas. La lactosa\_  
es el único hidrato de carbono y el rojo neutro detecta -  
la producción de ácido. El tiosulfato de sodio que con-  
tiene es una fuente de azufre. Las bacterias que produ-  
cen sulfuro de hidrógeno se detectan por el precipitado -  
negro formado con el citrato férrico .

El agar SS inhibe la formación de tipos de con-  
centración pero no los destruye.

La Shigella y Salmonella y otros organismos que no  
fermentan la lactosa forman colonias opacas o translúci--

das incoloras que generalmente son lisas. Los pocos organismos que fermentan la lactosa que pueden desarrollarse en el medio, se diferencian fácilmente debido a su formación de un color rojo en la colonia. A veces colonias -- coliformes aisladas pueden no presentar un color rojo definido, siendo de color rosa o casi incoloro con centro - color rosa ocasionalmente, un tipo aerógeno desarrolla -- una colonia característica grande de color blanco o crema opaca y mucosa. Algunos tipos de Proteus y Salmonella - pueden producir bajo ciertas condiciones, colonias con - centro negro.

Todas las especies de Salmonella desarrollan bien en presencia de sales biliares, dándonos esto la explicación de su aislamiento en vesícula biliar, particularmente en individuos portadores de Salmonellas.

Las sales biliares se añaden comúnmente a los medios selectivos debido a que otras especies de bacilos entéricos, presentan un desarrollo pobre o nulo en dichos medios.

El agar SS contiene concentraciones relativamente altas de sales biliares para el aislamiento de Salmone-llas a partir de muestras muy contaminadas.

Agar - citrato - desoxicolato.- Este medio además de ser un medio diferencial, es altamente selectivo, por favorecer el crecimiento de Salmonella y Shigella sobre - el crecimiento de los organismos coliformes, inhibe el -- crecimiento de los organismos grampositivos y de ciertos Proteus. Las colonias lactosa negativas son incoloras.

El agar citrato desoxicolato inhibe gran parte de la flora intestinal permitiendo el desarrollo de las Sal-

monellas.

Agar entérico-Hektoen.- Este medio es utilizado - ampliamente en los laboratorios clínicos, aumenta la recuperación de Salmonella y Shigella además permitiendo detectar una variedad de características bioquímicas que ayudan a identificar las especies.

Agar-desoxicolato-xilosa-lisina.(XLD).- Este medio es el agar completo de xilosa, lisina y desoxicolato, es recomendado para el aislamiento de patógenos entéricos, especialmente de las especies de Shigella; el indicador de sulfuro y el desoxicolato se han incorporado para hacer más cómoda la preparación. Este medio puede ser utilizado para la recuperación de Salmonella y Shigella - permitiendo detectar una variedad de características bioquímicas, que ayudan a identificar las especies.

En este medio de XLD originalmente rojo, las colonias sospechosas de Shigella son lactosa negativa y se observan chiquitas, redondeadas y transparentes en el medio rojo.

Las colonias sospechosas de Escherichia coli, son lactosa positiva y cambian el medio rojo a amarillo y se observan colonias amarilla mucóide. Las colonias sospechosas de Salmonella son lactosa negativas y se observan colonias chicas con el centro negro obscuro.

Agar verde brillante.- Este es un medio diferencial selectivo para bacilos gramnegativos, inhibe el crecimiento de bacilos coliformes y favorece el crecimiento de Salmonella, que no sea la tífosa directamente de excrementos u otros materiales que se sospeche que contengan -

estos organismos.

Las colonias típicas de Salmonella aparecen como colonias opacas ligeramente blanco-rosáceas rodeadas de un medio rojo brillante.

Este medio es altamente inhibitor.

Agar sulfito de bismuto.- Es un medio altamente selectivo para aislamiento Salmonella typhi del excremento, orina, aguas residuales y otros materiales donde pueda estar presente este microorganismo.

Este medio ha sido aceptado de forma general como rutinario para la detección de causantes de enfermedades entéricas.

El metal pesado de bismuto y el verde brillante -- inhibe el desarrollo de las grampositivas y la mayoría de las gramnegativas excepto la Salmonella.

Las colonias en placas vertidas de tifus bien aisladas bajo la superficie, son circulares negro azabache y bien definidas con o sin brillo. Al fermentar la glucosa produce sulfito con producción de sulfuro de hierro y colonias con brillo metálico.

E. coli suele inhibirse i por completo; ocasionalmente se encuentra alguna cepa que desarrolla colonias pequeñas con superficie negra marrón o verdosa y brillante.

Pueden desarrollarse algunas cepas de aerógenas, - las cuales forman colonias abultadas mucoides.

Los caldos enriquecidos utilizados para selección de patógenos intestinales son: (selenito, tetracionato y caldo GN).

Los caldos de enriquecimiento se utilizan para aislamiento de Salmonella y Shigella de muestras fecales. - Esto es en caso de portadores de Salmonella o en algunos casos de infección por Shigellas en los que el número de microorganismos es de 200 por gramo de heces o más. Se recomienda el subcultivo del desarrollo obtenido en el caldo de enriquecimiento en uno de los medios selectivos dentro de 6-12 horas. El bacilo se desarrolla rápidamente en medios usuales del laboratorio en límite de pH de 6 a 8 y a una temperatura entre 15 a 41 grados Centígrados, con óptimos de 37.5 grados Centígrados.

Caldo Selenito.- Se recomienda como un medio de aislamiento de Salmonella typhi y otros miembros del grupo Salmonella. Durante el período inicial, el crecimiento de los bacilos tíficos o paratíficos es más rápido que el de los coliformes.

Caldo Tetracionato.- Este medio de enriquecimiento selectivo para bacilos gramnegativos, inhibe el crecimiento de bacilos coliformes sin afectar la multiplicación de Salmonella, facilitando el aislamiento posterior de Salmonella en medios sólidos diferenciales.

Caldo GN.- Es un medio de enriquecimiento aislar Salmonella y Shigella, utilizado en el caso de portadores de Salmonella o infecciones por Shigella.

Los caldos mencionados anteriormente por ser medios

líquidos, carecen de agar, en ellos las bacterias crecen formando un enturbiamiento difuso, películas o precipitaciones que se ven a simple vista.

### REACCIONES BIOQUÍMICAS.-

Las reacciones bioquímicas diferenciales son conocidas como Pruebas Bioquímicas y son de gran utilidad porque nos ayudan a la diferenciación exacta de numerosos, - grupos bacterianos; estas diferenciaciones son realizadas por criterio fisiológico y pruebas bioquímicas.

Las bacterias tienen cierto grado de actividad bioquímica que incluyen la acción fermentativa sobre diversos azúcares como sacarosa, glucosa, manitol, etc.; la de terminación de actividades proteolíticas y amilíticas; - la reducción de colorantes, la utilización de ciertas sales, formación de indol, de sulfuros de hidrógeno, de - - acetilmetil-carbinol, hidrólisis de urea, la reducción de nitratos, etc.

Las pruebas Bioquímicas realizadas en este trabajo son:

- SIM
- KLIGER
- CITRATO DE SIMMONS
- LIA (Sysine Iron Agar)
- UREA
- MR - VP

SIM.- Este medio contiene peptona y se siembra -- por picadura, procurando en hacer que el trayecto de salida sea el mismo que el de entrada; el inóculo debe ser -

muy ligero y suave (pequeña cantidad) proveniente de un cultivo de 18 a 24 hrs. incubándose a 37 grados Centígrados por espacio de 24 hrs.

El medio SIM pone de manifiesto varias características:

- A.- Producción de INDOL a partir de Triptófano o un Acido aminado semejante.
- B.- Producción de Acido Sulfhídrico (  $H_2S$  ) a partir de Tiosulfato.
- C.- Prueba de Movilidad.

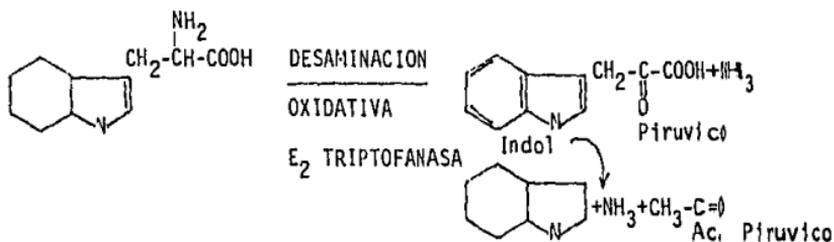
A.- Producción de INDOL:

La prueba de Indol nos determina la capacidad de los microorganismos de romper el indol a partir de una molécula de Triptófano.

El triptófano es un aminoácido de las proteínas -- que puede ser oxidado por ciertas bacterias, formando tres metabolitos: indol, escatol ( Metilindol ), además del ácido indolacético (IAA- Indolacetato).

Varias enzimas intracelulares que están involucradas en esta reacción, reciben el nombre de triptofanasas, enzimas mediadoras de la producción de indol.

El principal componente en la degradación del triptófano es el indol pirúvico que actúa como intermediario, que por medio de una desaminación da lugar a la formación del INDOL y el ESCATOL que es formado a través de una descarboxilación del ácido indolacético ( IAA ).

REACCION:

La enzima triptofanasa cataliza la reacción de desaminación atacando a la molécula del triptofano, liberando el anillo aromático ( Indol ) y Amoniaco (  $\text{NH}_3$  ).

Son utilizados como reactivos para la prueba, REACTIVO DE ERLICH y REACTIVO DE KOVACS.

La base de los reactivos es el P-dimetilamino benzaldehido, dándonos un anillo rojo en caso de ser positiva la reacción.

El reactivo de Erlich se deja correr por la pared del tubo, apareciendo el anillo rojo en caso de ser positiva .

Cuando la reacción es negativa no hay formación del anillo coloreado o sea que no hay cambio de color en el medio.

Esta prueba nos ayuda a la identificación y clasificación de bacterias, ya que el triptófano es el único aminoácido natural que contiene el anillo del indol, por lo que la prueba de descomposición del triptófano es específica en cuanto a la presencia del anillo de indol,

Además nos ayuda a diferenciar principalmente el género Salmonella que es indol negativo y del género - -

Edwardsiella que es Indol Positivo.

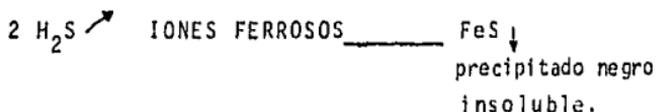
También nos ayuda a detectar Proteus Mirabilis que es negativo de los demás Proteus que son indol positivos.

E. coli da reacción Positiva de Klebsiella y Enterobacter que dan reacción Negativa.

#### B.- Producción de Acido Sulfhídrico:

La producción de Acido Sulfhídrico es a partir de Tiosulfato y como el medio se encuentra hierro ferroso -- que toma un color negro en caso de Producción de  $H_2S$ .

REACCION:



La reacción (+): precipitado negro a lo largo de la línea de la inoculación.

La reacción (-): no se observa esta coloración.

Esta prueba es de gran utilidad para diferenciación de -- Proteus.

### C.- Prueba de Movilidad:

La prueba de Movilidad determina si un organismo es móvil o inmóvil.

La mayoría de las Enterobacterias presentan movilidad, ya que presentan varios flagelos peritricos.

Reacción Positiva: Se traduce por la diseminación de la opacidad bacteriana, a partir del trayecto de la picadura de inoculación en el medio, por ser semisólido.

Reacción Negativa: No hay diseminación bacteriana, sólo se ve el crecimiento en la línea de picadura.

### Agar KLIGER con Hierro:

Se emplea para la diferenciación de los bacilos intestinales gramnegativos, basándose en su capacidad de fermentar la glucosa y la lactosa y de liberar sulfuros.

La fermentación de glucosa se indica por un cambio en el fondo a un color amarillo como sucede con las Salmonellas y Shigellas.

Los bacilos coliformes generalmente atacan lactosa y producen una reacción ácida tanto en la superficie inclinada, como en el fondo del tubo. El ennegrecimiento es debido a la liberación de sulfuros; es característica de Proteus, paratíficos y otros; no así de los bacilos disintéricos que también crecen en este medio.

La fórmula del agar doble de azúcar fue ideada por

Rusell en 1911, para detección de ácido y gas a partir de la dextrosa y lactosa Kliger haciendo modificaciones y - añadiendo ferroso y tiosulfato de sodio a la fórmula y - así detectar la producción de gas  $H_2S$ .

La lactosa está presente en una concentración - 10 veces mayor que la glucosa.

El indicador utilizado en este medio es el rojo de fenol y un pH final de 7.4 aproximadamente.

El agar es preparado en plano inclinado; la inoculación se hace por estria y picadura con una asa recta, - siendo ésta tomada de un cultivo de 18 a 24 hrs.; inmediatamente después se somete a un período de incubación a - temperatura de  $37^{\circ}C$  por espacio de 18 a 24 hrs. para después hacer las lecturas correspondientes.

El agar hierro Kliger pone de manifiesto las siguientes características:

A.- Fermentación de Carbohidratos:

- Fermentación de Glucosa
- Fermentación de la lactosa

B.- Producción de Acido Sulfhídrico  $H_2S$

C.- Producción de gas.

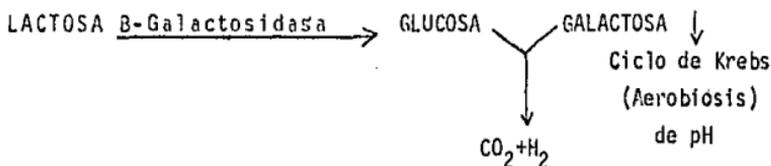
A.- Fermentación de Carbohidratos:

La fermentación de los carbohidratos: Es la capacidad que tiene un microorganismo de poder degradar un cierto carbohidrato con producción de ácido o ácido y gas.

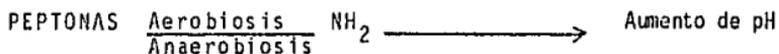
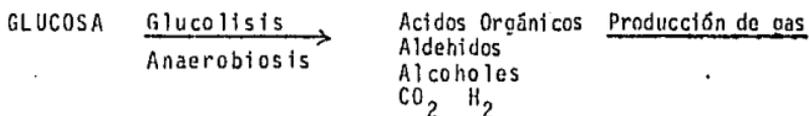
La fermentación se lleva a cabo en condiciones - - anaeróbicas o aeróbicas.

Esta prueba las bacterias a través de sus enzimas extracelulares, transforman sus más complejos Carbohidratos en azúcares simples que aprovechan como fuente energética y para su desarrollo.

### 1.- FERMENTACION DE LA LACTOSA:



### 2.- FERMENTACION DE LA GLUCOSA:



**REACCION POSITIVA:** Un microorganismo cuando fermenta ambos azúcares volverá ácidos el sedimento y la superficie, de modo que el indicador (rojo de fenol) se torne de color AMARILLO y la reacción Ácida/Ácida.

**REACCION NEGATIVA:** No fermentación de ninguno de los dos azúcares, el color sigue ROJO, en todo el medio, reacción Alcalina/Alcalina.

Fermentación de Glucosa.- Nos da una reacción Alkalina/Acida en donde el tubo se observa el pico de flauta, es de color Rojo, lo cual nos indica que se ha producido la degradación aeróbica de la glucosa y el organismo comienza a utilizar las peptonas del medio para obtener nutrientes para su crecimiento.

En el fondo del tubo se observará un color amarillo debido a la degradación anaeróbica de la glucosa formando productos terminales ácidos dando un pH ácido - - (amarillo).

Fermentación de la LACTOSA y GLUCOSA.- Esta es -- una reacción Acida/Acida cuando los organismos tienen la facultad de fermentar glucosa y lactosa dándonos la reacción de pico de flauta Acido (Amarillo) y el fondo o capa profunda también será Acida (Amarillo).

#### B.- Producción de Acido Sulfhídrico (H<sub>2</sub>S):

La producción o liberación del Acido Sulfhídrico - es por actividad enzimática a partir de aminoácidos que - contienen azufre (tales como Cistefna, cistina y metionina).

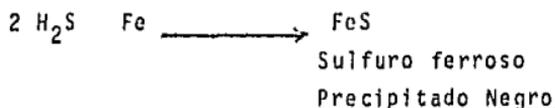
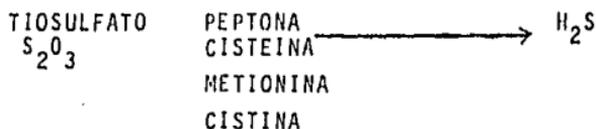
El ácido sulfhídrico formado, en presencia de sales de hierro o de plomo, forma sulfuros de metal correspondiente, por su color negro aparecen en forma muy evidente.

REACCION POSITIVA: Precipitado negro insoluble, - ya sea en la superficie, o picadura de la siembra, que -- nos indica que se hubo producción de ácido sulfhídrico.

REACCION NEGATIVA: No producción de ácido sulfh--

drico y por lo tanto no se presenta el precipitado negro.

REACCION:



Esta prueba es de gran ayuda porque dan reacción - Positiva Salmonella, Edwardsiella, Arizona y Citrocacter - (excepto una).

#### C.- Producción de Gas:

La producción de gas va a agrietar el agar o lo hace subir por el tubo; esto ocurre cuando se inocular en tubo de agar carbohidratado.

CITRATO DE SIMMONS.- Esta prueba consiste en conocer si el organismo tiene la capacidad de utilizar el citrato sódico como única fuente de carbono, en un medio sintético.

El medio es originalmente de color VERDE con un pH de 6.9. En la parte inclinada del agar se hace la siembra por estrfa (o en línea), la bacteria de la cual -

se sospecha el inóculo debe ser pequeño y de un cultivo - de 18 a 24 hrs.

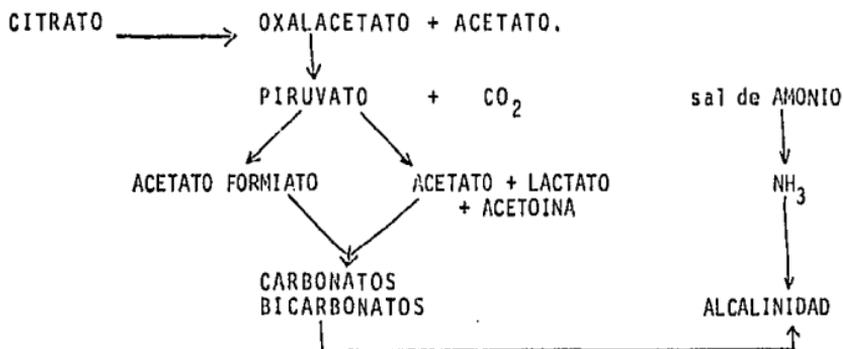
Después de esto pasa a incubarse por espacio de 24 a 48 hrs. a una temperatura de 37°C.

El crecimiento de organismos es quien nos va a indicar la positividad ya que el medio recupera su color al calino a medida que se oxida el radical citrato.

REACCION POSITIVA: Debido a la alcalinidad va a cambiar - el color del medio de Verde a AZUL, y cambia el pH de 6.9 a 7.6 aproximadamente.

REACCION NEGATIVA: El color del medio permanece sin modificarse VERDE y el pH permanece igual.

REACCION:



Esta prueba es caracterfstica de microorganismos - entéricos de forma de vida libre por ejemplo, nos ayuda a diferenciar entre Klebsiella, Enterobacter y E. coli, ya que la primera es reacción positiva y la segunda es reac-

ción negativa.

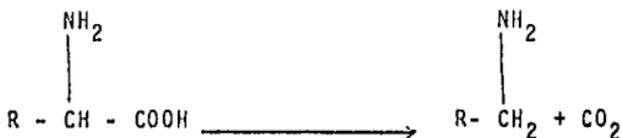
Esta prueba también nos ayuda a diferenciar a los Proteus, así como también al grupo Edwardsiella que es negativa del grupo Salmonella que es reacción positiva.

LIA (Lysino Iron Agar):

#### 1.- Prueba de Descarboxilación:

Descarboxilación: Las bacterias poseen también enzimas que atacan a los aminoácidos en el grupo carboxilo y catalizan su descarboxilación para producir bióxido de carbono y una amina.

REACCION:



#### DESCARBOXILACION ANAEROBICA

Las descarboxilasas son enzimas altamente específicas formadas sólo cuando el organismo se desarrolla en medio ácido y en presencia de un substrato específico.

Grupos, géneros y aún especies de bacterias pueden ser diferenciados por su capacidad o incapacidad de descarboxilar ciertos aminoácidos tales como arginina, ornitina y lisina.

El medio LIA es un medio diferencial para detectar cepas de Arizona que fermentan rápidamente la lactosa, -- además de que tiene la ventaja de proporcionar el dato so bre la formación de ácido sulfhídrico, dado su contenido\_ en sales de hierro.

Es recomendable en el examen de especímenes de infecciones entéricas en las que no son detectadas Salmone lla y Shigella debido a que los cultivos de Arizona pue-- den o no fermentar rápidamente la lactosa y producir co-- lonias rosas a rojizas en medios como desoxicolato o en - Mac Conkey (medios diferenciales).

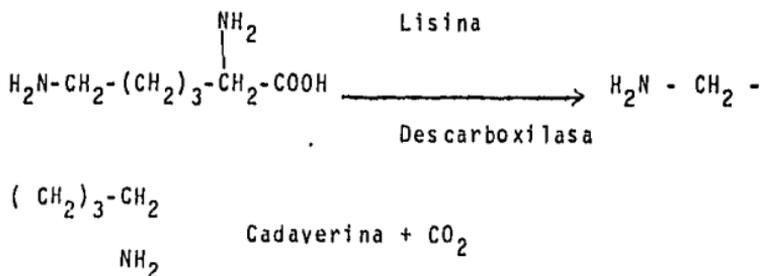
El medio de LIA es inoculado por estría en la su-- perficie inclinada y por picadura hasta el fondo del tubo y se incuba a 37°C por espacio de 18 a 24 hrs.

REACCION POSITIVA: Producción de Lisina Descarboxilada -- nos da una reacción Alcalina en todo - el medio, o sea que este medio no cambia de color, permanece de color púrpu\_ ra o violeta.

REACCION NEGATIVA: No Descarboxilación de la lisina dando una reacción ácida. El medio cambia - su color original violeta a un color - amarillo.

REACCION:

L-LISINA: <u>Anaerobiosis</u> ,	Cadaverina -----	Alcalinidad
Lisina		Indicador
Descarboxilasa		↓
		VIOLETA



INDICADORES PH ALCALINOS VIOLETA  
 PH ↓ ACIDOS → REACCION POSITIVA  
 AMARILLO  
REACCION NEGATIVA

Esta reacción de la prueba nos sirve para poner de manifiesto o en evidencia la habilidad de un organismo para descarboxilar un aminoácido con formación de una amina como resultados de alcalinidad.

La lisina descarboxilasa nos ayuda a diferenciar - los géneros de Edwardsiella, Salmonella y Arizona, que - dan reacción positiva del género Citrobacter que dan reacción negativa.

## 2.- Prueba de Desaminación:

Desaminación: El proceso de la desaminación oxidativa, por la cual grupos aminos son separados de los aminoácidos, dan lugar a la formación de Cetoácidos y amoníaco.

AMINOACIDOS	<u>Aerobiosis</u>	CETOACIDOS	AMINOACIDOS
L-Lisina	O <sub>2</sub>		
	desaminación oxidativa		

Un microorganismo desdobla los aminoácidos por el pH del medio de cultivo.

Un medio ácido facilita la descarboxilación en medio alcalino, estimula la desaminación.

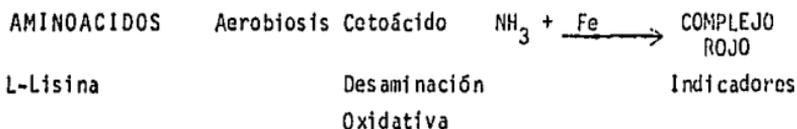
Cuando un organismo crece en medios ácidos, descarboxilará aminoácidos y producirá aminas que por ser más alcalinas que los aminoácidos originales aumentan el pH del medio.

Sin embargo un organismo que crezca en un medio alcalino, desaminará los aminoácidos y producirá los aminoácidos y producirá ácidos orgánicos que disminuyen o acidificarán el pH del medio.

Las Enterobacterias tienen las desaminasas más activas que otras bacterias.

### 3.- Prueba de Acido Sulfhídrico:

La producción de ácido sulfhídrico es debida a las sales de hierro dando la formación de un complejo rojo.



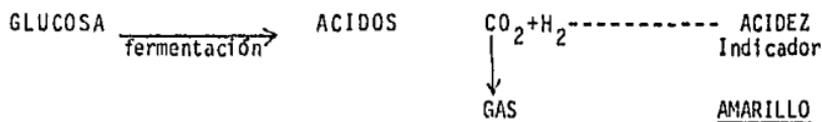
REACCION POSITIVA: Producción de Acido Sulfhídrico ( $\text{H}_2\text{S}$ ), ennegrecimiento del medio.

Este ennegrecimiento es debido a las sales de hierro con las cuales se forma también el complejo rojo en -

la superficie (plano inclinado) debido a la desaminación de la lisina y fondo amarillo (ácido) es reacción característica de Protrus y Providencia.

#### 4.- Producción de Gas:

En el medio de LIA también puede observarse la formación de gas siendo muy irregular y no siempre se observa excepto en el grupo Citrobacter.



#### UREA:

Prueba de la hidrólisis de la UREA.

La hidrólisis de Urea es una prueba utilizada para la transformación de UREA a AMONIACO por la acción de una Enzima, UREASA, utilizando para ellos, medios que contienen como fuente única de Nitrógeno.

Uno de los medios que pueden utilizarse para detectar la hidrólisis de la urea es el caldo Urea y el agar - Urea Christensen, que tienen como indicador el rojo de fenol, siendo el primero el seleccionado para este estudio.

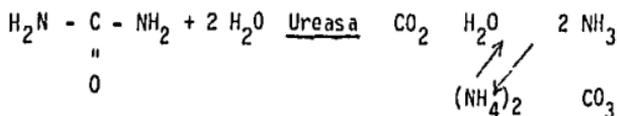
El caldo Urea se inocula por agitación y se somete a un período de incubación por espacio de 18 a 24 hrs. a una temperatura de 37°C.

REACCION POSITIVA: Cambio de color de rosa o naranja bajo

to a Amarillo un poco más fuerte; el -- cambio es ligero

REACCION NEGATIVA: No hay cambio de coloración.

REACCION:



CARBONATO DE AMONIO

La enzima al atacar la urea, se libera  $\text{NH}_3$  que alcaliniza el medio y se origina el cambio de color en el medio.

Esta actividad enzimática es característica del género Proteus, y es usada como prueba primaria para la diferenciación de estos organismos, ya que el género Proteus da reacción Positiva y el género Providencia que da reacción Negativa.

Hay bacterias entéricas que pueden dar reacción Positiva retardada.

MR ( ROJO DE METILO ) :

Prueba de Rojo de Metilo: Producción de compuestos ácidos a partir de la fermentación de la glucosa.

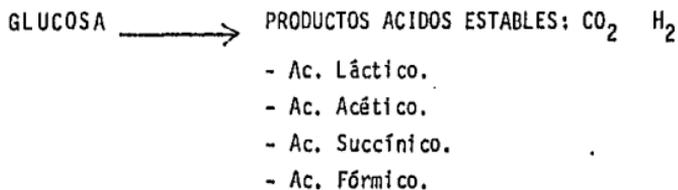
Para esta prueba es como la de Vogues Proskauer, - se utiliza un medio peptonado con glucosa y fosfato dipotásico, conocido como MR - VP.

Esta prueba es utilizada para detectar la habilidad de un organismo para producir y mantener productos estables ácidos a partir de la fermentación de la glucosa.

La inoculación debe de ser proveniente de un cultivo de 18 a 24 horas (por lo general del medio de Kliger) debe ser un inóculo suave y pequeño, se incuba de 35 a -- 37°C por espacio de 24 a 48 hrs.

Para hacer la lectura de esta prueba se le agregan unas gotas del indicador de pH rojo de metilo y es aquí donde se va a observar un cambio de coloración, en caso de ser positiva la reacción.

#### REACCION:



Indicador ----- Anillo Rojo

Rojo de metilo

Amarillo

REACCION POSITIVA: Anillo rojo, concentración aumentada de iones H (Acidez)

REACCION NEGATIVA: Anillo Amarillo (Alcalinidad)

Esta prueba nos ayuda a detectar el grado diferencial de acidez entre distintos gérmenes. También en la

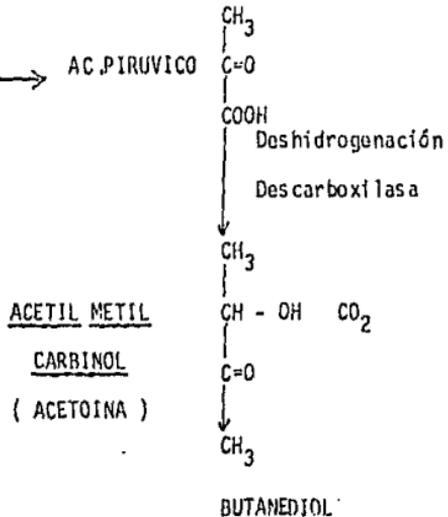
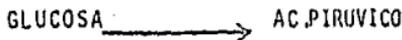
diferenciación entre E. coli que da reacción Positiva con Enterobacter que da reacción Negativa. Y del género Klebsiella que da reacción Negativa de género Yersinia que da reacción positiva.

VP ( Voges Proskauer ):

La prueba de Voges Proskauer determina la producción del acetilmetilcarbinol a partir de la Glucosa.

Esta prueba se utiliza para detectar la habilidad de ciertos organismos para producir o dar un producto final neutro; este producto es el Acetil Metil Carbinol, a partir de la glucosa.

REACCION:



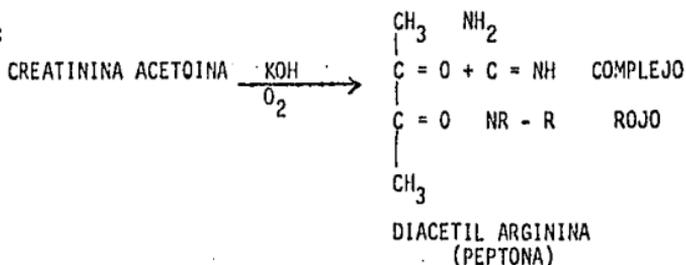
ACETIL METIL  
CARBINOL  
( ACETOINA )

En esta prueba se utiliza el mismo medio que para la prueba del Rojo de Metilo.

La inoculación debe de ser proveniente de un cultivo de 18 a 24 hrs. (por lo general de Kligler); el inóculo debe de ser suave y se incuba a una temperatura de 35 a 37°C por espacio de 24 a 48 hrs.

Para la lectura de esta prueba se necesita de adicionar una solución de KOH al 10% y se incuba en presencia de oxígeno, para que se oxide, que a la vez se combina con un componente de la peptona para formar un compuesto de color rojo en caso de ser Positiva la reacción.

REACCION:



REACCION POSITIVA: Aparición de un color rojo en la superficie del medio que posteriormente se extiende a través de él.

REACCION NEGATIVA: Aparición de un ligero tinte Amarillo.

Esta prueba es de gran utilidad para la diferenciación entre E. coli que da reacción negativa y Klebsiella, Enterobacter que dan reacción positiva, también nos ayuda a detectar la Klebsiella pneumoniae que es VP Negativa.

IMPORTANCIA CLINICA Y TRATAMIENTO:

Las infecciones que han sido endémicas en nuestro

país son la salmonelosis y la tifoidea.

La causa principal de la fiebre tifoidea ha sido - el bacilo de Salmonella typhi debido a los malos hábitos de higiene en nuestro país, carencia de agua potable, y - otros factores ya mencionados.

En fiebres entéricas y en las septicemias producidas por salmonellas, numerosos intentos han sido hechos - para determinar el portador, con una gran variedad de - - agentes microbianos: las sulfaguanidinas, sulfadiazina, penicilina G, varias tetraciclinas, cloranfenicol, Kanamicina, Neomicina.

En el año de 1972 una epidemia en México fue causada por una cepa de S. typhi resistente al cloranfenicol . También se observó resistencia a ampicilina en algunos microorganismos aislados.

Estudios realizados por A. Dinabar en 1978 demostraron que en caso de fiebre entérica o septicemia la ampicilina o el cloranfenicol son los fármacos de elección. Sin embargo Calderón E. nos dice que el cloranfenicol es el antibiótico de elección y que las ampicilinas y amoxicilina son fármacos de segunda elección.

La ampicilina es sustancia menos tóxica que el - - cloranfenicol y la respuesta al tratamiento es rápida, se producen recaídas a menos de que el paciente sea tratado durante un mínimo de dos semanas, ya que los microorganismos causales tienden a sobrevivir en el interior de las - células fagocíticas.

En gastroenteritis no debe utilizarse antibióticos,

debido al corto tiempo que dura la enfermedad y sólo se limita al conducto gastrointestinal.

El uso indiscriminado de antibióticos prolonga la excreción de Salmonella, eleva la incidencia de portadores y favorece la adquisición de una resistencia a los antibióticos por la cepa infectante.

La acción bactericida de la ampicilina, resulta menos efectiva que la acción bacteriostática del cloranfenicol para eliminar los portadores.

Cuando los tratamientos son prolongados y con dosis elevadas de ampicilina son efectivos en un 60-80% de los casos eliminando los microorganismos situados en vías biliares, en portadores que presentan recaídas después de una o más series terapéuticas la colecistectomía elimina a los portadores.

Algunos autores nos dicen que al realizarse la colecistectomía sola, produce una tasa del 85% de curación del estado portador y siendo el tratamiento de elección en casos de cálculos biliares o enfermedades vesiculares.

Sin embargo Conrado R. y colaboradores nos dicen que la colecistectomía es una intervención que puede comportar riesgos, no se justifica su uso con el único fin de suprimir el estado portador.

A. Dinbarr nos dice que en portadores biliares -- con cálculos, el método quirúrgico-antibiótico de tratamiento dio mejores resultados en sus estudios que ninguna otra medida terapéutica.

## MATERIAL Y METODOS

## MATERIAL Y METODOS

Las muestras fueron tomadas al azar, de los pacientes ingresados al Servicio de Cirugía General del Hospital de Especialidades del C.M.O. del Instituto Mexicano - del Seguro Social, que presentaron síntomas con colecistitis o cualquier problema biliar donde se creía necesario recorrir a colecistectomía.

Fueron utilizadas para la realización de este trabajo 70 muestras de vesícula biliar, a las cuales se les extrajo el líquido biliar y cálculos cuando existían éstos.

### MATERIAL UTILIZADO:

- .- Vesícula biliar
- .- 2 frascos estériles
- .- mortero estéril
- .- pinzas estériles
- .- bisturí estéril
- .- jeringa estéril
- .- solución salina
- .- caldo de tetrationato
- .- caja de agar para identificación y aislamiento
- .- pruebas bioquímicas.

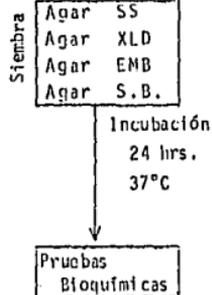
### RECOLECCION DE MUESTRA:

La recolección de vesícula biliar, fue realizada - en el momento de ser extraído este órgano, se colocó inmediatamente a un frasco estéril de boca ancha conteniendo aproximadamente de 5 a 10 ml. de Solución Salina para poder transportarla al laboratorio y realizar el estudio.

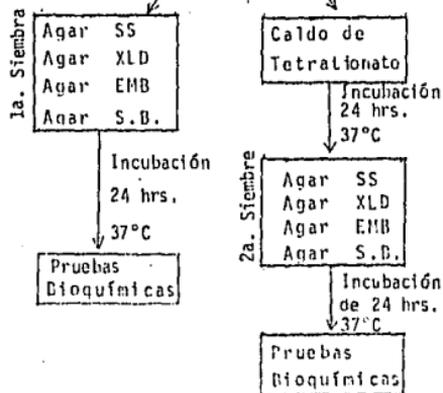
DISEÑO DE TRABAJO

CULTIVOS

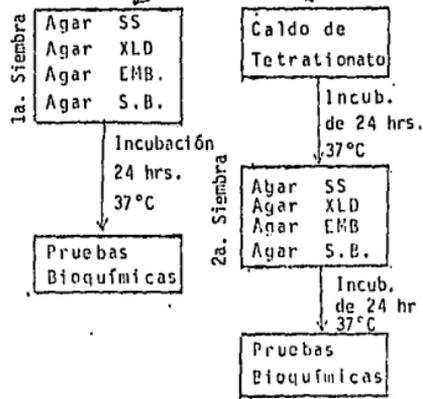
LIQUIDO BILIAR



TEJIDO VESICULAR



CALCULOS BILIARES



Los medios de cultivo utilizados fueron: Agar SS , Agar EMB, Agar XLD, Agar SULFITO DE BISMUTO, que ya fueron mencionadas anteriormente sus características.

Las reacciones o pruebas bioquímicas que fueron -- utilizadas en la realización de este trabajo son las siguientes: SIM, KIGLER, CITRATO DE SIMMONS, LIA, UREA, -- MR-VP también ya antes mencionadas.

Para la búsqueda de Salmonella typhi en Vesfcula biliar, fueron utilizadas las muestras siguientes: tejido de la vesfcula, lfquido biliar, y cálculos biliares -- cuando existan éstos.

Primeramente después de obtener la muestra de la vesfcula biliar, con una jeringa estéril utilizando de esta muestra sólo una o dos gotas en cada caja de petri de los medios que se utilizaron, después de colocada la gota del lfquido biliar con una asa se hizo la siembra para -- aislamiento en cada una de las cajas, después se pasó a -- incubar a una temperatura de 37°C por 24 hrs. En caso de algún crecimiento se recurrió a pruebas Bioquímicas para su identificación.

Para la muestra de tejido vesicular, ya succionado el lfquido biliar, se prosiguió a hacerle un corte de tejido de aproximadamente 1 cm. de largo, con un busturfi y pinzas estériles y colocándolo en la caja, dándole unas pocas rotaciones en uno de los extremos de la caja del medio, y con una asa se hizo la siembra por estrías para el aislamiento; después de haber pasado el tejido por todas las cajas de los medios, se pasó a caldo tetrationato -- (caldo de enriquecimiento) y por 24 hrs. se incubó a temperatura de 37°C; pasado este tiempo se realizó una segun

da siembra, tomando como muestra una gota de caldo de enriquecimiento y haciéndose la siembra por estrías para -- aislamiento en los mismos medios, y poniendo a incubar - por 24 hrs. a 37°C, y cuando se obtuvo crecimiento se recurrió a la identificación por medio de Pruebas Bioquímicas.

Para la muestra de cálculos, primeramente se tomaron al azar de 1 a 3 cálculos en caso de ser pequeños, y se lavaron en solución salina estéril y se pasaron a un mortero estéril para ser triturados completamente quedando una pasta; de los cálculos restantes también fue pasada a caldo de tetroxianato (caldo de enriquecimiento) y éste incubado a 37°C por 24 hrs.; después de este tiempo se hizo una segunda siembra con los medios de cultivo ya mencionados y se hace la siembra por estrías para aislamiento pasando a incubarse a 37°C por 24 hrs. Cuando se otuvo algún crecimiento se recurrió a la identificación por medio de Pruebas Bioquímicas.

## RESULTADOS

En el estudio realizado en Vesícula Biliar, se encontró que existen con mayor frecuencia problemas vesiculares en el sexo femenino en relación al sexo masculino.

Por cada 3 mujeres con problemas vesiculares se -- presenta un caso de 1 hombre con éstos, siendo esta relación de 3:1.

En cuanto a las edades, es más frecuente en mujeres de la segunda y tercera décadas de la vida, y en el hombre se presenta con más frecuencia en la cuarta década de la vida.

Con la finalidad de exponer de una manera más objetiva y práctica los resultados del número y porcentaje de cultivos agrupándolos por edad y sexo, se formuló la tabla No. 1.

En las 70 muestras de vesícula biliar que fueron estudiadas el resultado de los cultivos nos indica que fueron NEGATIVOS a Salmonella typhi; sin embargo se encontró ser POSITIVA a Enterobacter agglomerans, Escherichia coli, Enterobacter sakasaki, Citobacter freundii.

En la tabla No. 2 se observa el tipo y número de organismos cultivados en 70 vesículas.

## NUMERO Y PORCENTAJES DE CULTIVOS AGRUPADOS POR EDAD Y SEXO

Edad	MASCULINOS		FEMENINOS	
	No. de casos	cultivos positivos No. %	No. de casos	cultivos positivos No. %
10-29	2	1 (50)	10	2 (20)
30-39	1	0 (-)	14	1 (7)
40-49	9	2 (22,2)	8	0 (-)
50-59	1	1 (100)	5	2 (40)
60-69	2	0 (-)	9	3 (33)
70-79	3	2 (66)	5	0 (0)
80-89	-	- -	-	- -
90-99	-	- -	-	- -
100-109	1	1 (100)	-	- -
T O T A L	19	7 (38)	51	8 (18)

TABLA No. 1

Indica el número y el porcentaje de cultivos agrupados en edades y sexos.

## TIPO Y NUMERO DE ORGANISMOS CULTIVADOS EN 70 VESICULAS .

ORGANISMOS	No. DE CASOS	% DE CULTIVOS (+)
Enterobacter agglomerans	11	15.7
Escherichia coli	5	7.1
Esterobacter sakasaki	1	1.42
Citrobacter freundii	1	1.42

TABLA No. 2

Indica el tipo y número de organismos cultivados en 70 vesículas.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

## CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en el estudio realizado de Febrero de 1983 a Febrero de 1984, se observó que la prevalencia de Salmonella typhi fue nula en vesícula biliar.

Esto nos demuestra que las colecistectomías de donde obtuvimos nuestras muestras, fueron realizadas por diferentes causas patológicas, pero ninguna por complicación de Salmonella typhi:

Calderón Jaimes, hace hincapié que en nuestro medio la prevalencia de Salmonella typhi es muy reducida, siendo ésta una de las razones por la cual se presentan muy pocos casos de Colecistectomía realizada por complicación de Salmonella typhi.

Sin embargo en nuestros resultados encontramos la presencia de bacterias como Enterobacter agglomerans, Escherichia coli, Enterobacter sakasaki y Citrobacter freundii, las cuales nos demuestran que también son capaces de permanecer en altas concentraciones de bilis; aunque su presencia puede ser debida a una contaminación de muestra a la hora de ser extraída, arrastrando con ella algunas bacterias de alguno de los órganos cercanos al de vesícula biliar.

Estos resultados fueron obtenidos antes de suceder la catástrofe del sismo ocurrido en el mes de septiembre de 1985 en diferentes puntos del país, principalmente en la ciudad de México, en donde fueron rotas tuberías de agua potable y cañerías de drenaje, siendo esto la causa más importante para la contaminación de agua y lo más probable es que en estas condiciones sea más sensible a desarrollarse un brote de Salmonella typhi, si no se tienen las precauciones necesarias para evitarlo.

## BIBLIOGRAFIA

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Dinbar A., Altman G., Tulcinsky D.B., M.D. The Treatment of Chronic Biliary Salmonella Carriers, Am.J. of Medicine 47 : 1969 ; 236-242.
- 2.- Goswitz J.T., M.D., Facs, Milwauker, Wisconsin. Bacteria and Biliary Tract Disease. Am. J. of Surgery 128: 1974; 644-646.
- 3.- Truedson H., Elmors T. Holm S. The Incidence of Bacteria in Gallblader Bili At Actue And Elective Cholecystectomy, Acta Chir Scand 149: 1983; 307-313.
- 4.- Francis H., Fukunaga, M.D. Gallblader Bacteriology, - Histology, and Gallstones. Arch Surg 106: 1973; 169-171.
- 5.- Claesson B., Holmlund D., Matzsch T. Biliary Microflora in Acute Cholecystitis and the Clinical Implications. Acta Chir Scand 150: 1984; 229-237.
- 6.- Gilman R.H., Islam S., Ghosh H., Rabbani H., Identification of Gallblader Typhoid carriers by a String Device, The Lancet 14: 1979; 795-799.
- 7.- Musher D.M., M.D. Rubenstein D., M.D., Permanent Carriers of Nontyphosa Salmonellae, Arc. Inter Med. - - 132 : 1973; 869-872.
- 8.- Craig W., Campbell. M.D., Mark R. Eckman M.D. Jama -- 18: 1975; 815-820.
- 9.- Robert G. M.D., Bacteriology and Antibiotic Selection in Biliary Tract Surgery. Arch Surg. 97: 1968; 533-537.

- 10.- Carrada Bravo T., M.C. y Cols. La Fiebre Tifoidea y la Vacunación Antifóldica. Salud Pública de México - 23: 1981; 103-118.
- 11.- Nervif., Covarrubias C. Valdivieso V., Zunino F., -- Salcedo M., Solarí A., Ronco B., Evidencia de Hipo--función Vesicular y cambios de Pool de Acidos Biliares en la Fiebre Tifoidea. Rev.Med.Chile 111: 1983 ; 796-801.
- 12.- Nercells P., Sepúlveda M., y Pinto M.E., Giglio M.,- Campos E., Estudio Bacteriológico de la Bilis y/o Mu cosa Vesicular en Pacientes Operados por Patología - Biliar. Rev. Med. Chile 111: 1983; 397-403.
- 13.- Conrado Ristori, H. Rodríguez, P. Vicent., H. Lobos, K.D'Ottone, J. García, M.E. Pinto, P. Nercelles, L. Cisneros, Investigación Sobre el Estado Portador de Salmonella Typhi, Paratyphi en Pacientes Intervenidos por Patología Vesicular, Bol of Saint Panam, 93 (4): 1982; 365-374.
- 14.- C. Ristori, H. Rodríguez, P. Vicent, C. Ferreira, J. García, H. Lobos, K, D'Ottone. Persistencia de Estado Portador de Salmonella Typhi y Paratyphi después de colecistectomía. Bol of Saint Panam, 93 (6): - -- 1982; 563-570.
- 15.- Rodríguez M., Rebollo M.C., Pichuantes .S., Fernández M., Palomino C., Factor de Resistencia Transferible a Antibióticos en Enterobacteriaceae con Especial Referencia a Salmonella Typhi. Rev. Lat. Americ. Microbiol. 19: 1977; 127-139.

- 16.- E. Calderón Jaimes. Enterobacterias Clásicas: Salmonella. Atención Médica 15 (8): 1985; 36-38.
- 17.- Calderón E., Conceptos Clínicos de Infectología. Ed. Méndez Cervantes, México, D.F. 7a. edición 1980.
- 18.- Zinsser, Microbiología, 17 edición. Buenos Aires, -- Ed. Médica Panamericana, S. A. 1983.
- 19.- Davis, D.B., Dubelco R., Eisen H.N. Tratado de Microbiología, 2a. edición, Salvat editores, 1978.
- 20.- Koneman, Diagnóstico Microbiológico, Buenos Aires, - Ed. Panamericana, 1983.
- 21.- Mac Faddin. Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica, Buenos Aires, Ed. Panamericana, 1984.
- 22.- Manual de Bacteriología Médica, Academia de Profesores del Laboratorio de Bacteriología Médica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. México, D. F. ed. - 1983.
- 23.- Q.B. Beatriz Eugenia Bayardo Pérez, Análisis Bacteriológicos y Bacteriología Determinativa, Guadalajara, Jal., 1976.
- 24.- Freeman, A. Tratado de Microbiología de Burrows. nueva ed. México, D.F. Ed. Interamericana S.A. 1981.
- 25.- Fuerst, R. y Frobisher. Microbiología de Frobisher y Fuerst. México, D. F. Ed. Interamericana S.A. de - - C.V. 1981.

- 26.- Jawetz E., Melnick J.L., Adelberg E.A. Manual de -  
Microbiología Médica. México, D.F. Ed. Manual Moder-  
no, 1981.
- 27.- Carpenter P.L. Microbiología. México, D.F. Ed. In-  
teramericana. 1979.

# INSTANESIS

TESIS • INFORMES • MEMORIAS  
COPIAS • REDUCCIONES • EN-  
CUADERNADO • IMPRESIONES •  
COPI-OFFSET • TRANSCRIPCIÓN  
NES IBM EN LINO • DIBUJO DE  
GRAFICAS, PLANOS Y ORGANI-  
GRAMAS • HELIOGRAFICAS •  
REVELADO KODAK.

ENRIQUE G. MARTINEZ No. 30  
(ANTES PARROQUIA)  
TEL. 13-99-23 GUADALAJARA