

UNIVERSIDAD DE MONTERREY

DIVISION DE INGENIERIA Y CIENCIAS
NATURALES Y EXACTAS



UNIVERSIDAD
DE MONTERREY

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE

Yersinia enterocolitica

901783

EN UNA POBLACION INFANTIL

REPORTE DEL PROGRAMA DE EVALUACION FINAL

QUE PRESENTA

NORMA LETICIA VILLARREAL LOZANO

EN OPCION AL TITULO DE
LICENCIADA EN QUIMICA

Vo Bo
Ma. Lourdes Mty. M.

CON ESPECIALIDAD EN ANALISIS CLINICOS

MONTERREY, N. L.

MAYO DE 1989

BIBLIOTECA UNIVERSIDAD DE MONTERREY

(D) 52604

040.54

V722a

1989

A DIOS :

POR QUE SIEMPRE HA ILUMINADO MI CAMINO Y A EL LE
DEBO LO QUE SOY.

A MIS PADRES :

QUE SIEMPRE ME HAN INDICADO EL CAMINO A SEGUIR CON
SUS CONSEJOS Y EJEMPLO Y A QUIENES TANTO LES DEBO
YA QUE GRACIAS A SU APOYO FUE POSIBLE LA
REALIZACION DE MI CARRERA.

A MIS HERMANOS :

BETO, SERGIO Y KIKO POR EL APOYO QUE ME HAN
BRINDADO. ESPERANDO QUE COMPARTAN CONMIGO LA
ALEGRIA QUE REPRESENTA EL HABER CONCLUIDO MIS
ESTUDIOS PROFESIONALES.

A CHAYO, CLAUDIA Y RUBEN :

POR LA HOSPITALIDAD QUE ME BRINDARON DURANTE TODA
MI CARRERA.

A CHUY :

POR SU CONSTANTE COMPRESION Y CARIÑO. QUE CON SU
PACIENCIA Y AMOR ME DIO ANIMOS PARA SEGUIR ADELANTE
Y ME DEVOLVIO LA CONFIANZA EN MI MISMA.

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS :

ESPECIALMENTE A MARTHA, MARIA, IVONNE Y NAYDA QUE ME
HAN AYUDADO MAS DE UNA VEZ.

A MIS MAESTROS :

Q.F.B. LAURA GARCIA TOVAR, Q.F.B. SILVIA TERESA
JARAMILLO O. Y L.C.Q. JESUS A. GARZA G. POR
BRINDARME SU APOYO Y DEDICACION DURANTE EL PERIODO
QUE AHORA CONCLUYE.

ESPECIALMENTE A MI ASESORA Q.F.B. MA. DE LOURDES
MARTINEZ MACOUZET POR COMPARTIR CONMIGO SUS
CONOCIMIENTOS Y POR SU CONSTANTE MOTIVACION PARA
QUE NO DECAYERA MI ENTUSIASMO Y DEDICACION.

AGRADEZCO TAMBIEN AL PERSONAL DEL HOSPITAL INFANTIL
POR LAS FACILIDADES QUE ME BRINDARON. ESPECIALMENTE
AL Dr. ANTONIO MURAIRA Y Q.F.B. CECILIA GOMEZ POR
SU AYUDA DURANTE LA REALIZACION EXPERIMENTAL.

A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE CONTRIBUYERON A LA
REALIZACION DE ESTE PROYECTO EN ESPECIAL A JUANITA
LIMON H.

INDICE

	Página
INTRODUCCION	1
MATERIALES Y METODOS	11
RESULTADOS	21
DISCUSION Y CONCLUSIONES . .	25
RESUMEN	30
BIBLIOGRAFIA	31

INTRODUCCION

La gastroenteritis es una enfermedad a la que en frecuencia solo le supera el catarro común. Se manifiesta principalmente por una combinación de diarrea, náuseas, vómitos, fiebre poco elevada, dolor abdominal, cefalea y malestar. Sin embargo, el cuadro clínico puede variar de persona a persona (1).

Esta enfermedad causa serios problemas a quienes la padecen; además el diagnóstico no ha sido fácil ya que existen diferentes causas las que provocan este estado. Entre los agentes etiológicos de la gastroenteritis infecciosa se encuentran: bacterias, virus, y parásitos.

Es importante hacer notar que es un padecimiento que puede afectar tanto a niños como adultos de cualquier edad y condición socioeconómica.

Uno de los grupos importantes de bacterias que constituyen la flora normal del intestino es la familia Enterobacteriaceae. En esta familia encontramos algunos parásitos como Shigella y Salmonella, otros oportunistas o patógenos ocasionales como Proteus y Klebsiella, y otros esencialmente saprófitos que sólo bajo condiciones muy excepcionales producen enfermedad (1,3).

El género Yersinia anteriormente clasificado como Pasteurella, fue propuesto por Van Loghem en 1944 en honor a Alexander Yersin, quien aisló por primera vez el bacilo de la peste bubónica en 1894, pertenece a la familia Enterobacteriaceae y está formado por cocobacilos asporógenos gram negativos, aerobios facultativos, muy propensos al pleomorfismo según el medio de cultivo y la temperatura de incubación. Algunas cepas muestran coloración bipolar cuando se tiñen con colorante de Wayson (azul de metileno con fucsina fenicada), y se asemejan a alfileres. Yersinia comprende tres especies: Y. enterocolitica, Y. pseudotuberculosis y Y. pestis (2,3,4,5,6,7).

En base a estudios taxonómicos se han definido 4 nuevas

especies dentro de este género: Y. kristensenii, Y. frederiksenii, Y. intermedia y Y. aldovae. Yersinia ruckeri, ha sido también incluida en el género, sin embargo fenotípica y genotípicamente está menos relacionada con las otras especies (4).

Yersinia enterocolitica en la mayoría de los casos no presenta cápsula aunque en preparaciones teñidas de exudado peritoneal de ratones infectados artificialmente si se ha podido observar. La anatomía flagelar ha sido descrita como períttrica a 25 °C; la célula no presenta flagelos a 37 °C; por lo tanto, es inmóvil, sin embargo a 22 - 25 °C es activamente móvil. Algunas cepas generalmente aisladas del ambiente desarrollan estructuras conocidas como fimbrias. No sintetiza las descarboxilasas de la lisina o de la arginina, no produce gas de la glucosa, ni de ácido sulfhídrico a partir de proteínas, el citrato, no lo utiliza como fuente de carbono y no produce acetilmetilcarbinol a 36 °C (2,4,8).

Esta bacteria es capaz de crecer y desarrollarse en medios usuales a temperatura entre los rangos de 4°C a 43 °C. Sin embargo el crecimiento y la actividad metabólica óptimos se encuentran entre 25 °C y 30 °C (4,9,10,11,12).

Y. enterocolitica y Y. pseudotuberculosis comparten muchas características, entre ellas el desarrollarse en medios

para enterobacterias y en agar sangre, producir ureasa, ácido en el fondo y en la superficie del medio tres azúcares hierro (TSI), y no producir ácido sulfhídrico. Estas dos especies se diferencian entre sí por pruebas bioquímicas adicionales (2,8).

Actualmente, el interés por el estudio de Y. enterocolitica se ha incrementado. Su aislamiento es relativamente común de una variedad de fuentes como el agua, leche cruda y pasteurizada, además de alimentos de origen animal en países industrializados como Estados Unidos, Suecia, Francia, Canadá, Alemania y Japón. Al parecer Bélgica es el país donde se ha registrado la más alta frecuencia de infecciones humanas (2,5,7,12,14).

Yersinia enterocolitica causa una variedad de manifestaciones clínicas, siendo la más frecuente gastroenteritis aguda, especialmente la ileítis terminal que puede confundirse con apendicitis (2,3,15,17,19). En lactantes y niños de corta edad la manifestación más frecuente es la gastroenteritis aguda, mientras que en personas adultas la ileítis terminal o la linfadenitis mesentérica parecen ocurrir más frecuentemente (5,18). Además de los síntomas gastrointestinales, existen reportes del aislamiento de esta bacteria en otras infecciones. Su presencia se ha demostrado en conjuntivitis supurativa, septicemia, y en procesos

infecciosos en los cuales las muestras estudiadas han comprendido una amplia variedad: esputo, sangre, heces, exudado faríngeo, bilis, piel, abscesos, orina, material de heridas y médula ósea (2,20,21). En otros procesos patológicos como eritema nodoso y afecciones hepáticas, no se aisló Y. enterocolitica, sin embargo, se demostraron títulos elevados de anticuerpos específicos, lo que sugiere una relación directa (2,16).

Debido a que Y. enterocolitica es una bacteria con una actividad metabólica muy heterogénea Wauters diferenció 5 biotipos en base a sus características bioquímicas. Además ha sido de gran utilidad para estudios epidemiológicos la serotipificación y la tipificación por fagos. Se han identificado en base a los antígenos O y H más de 50 serotipos (2,3,7).

Las cepas llamadas "Americanas" del serogrupo 0:8 se encuentran algunas veces en enfermedades extraintestinales, tales como, infecciones del tejido blando, conjuntivitis y osteomielitis. Estas cepas parecen ser más virulentas que las otras de Y. enterocolitica (22).

Es importante hacer notar que Y. enterocolitica ha cobrado recientemente mucho interés clínico por que cada día se documenta mejor su patogenicidad. Sin embargo, en

algunos países de Centro América, aún no se ha tomado en cuenta como agente importante en los procesos diarreicos y muy posiblemente muchos casos están pasando inadvertidos. Por otro lado, en diversas entidades clínicas este microorganismo es considerado como agente etiológico de primer orden debido al aumento en la incidencia de las yersiniosis en los últimos años. Más de dos tercios de todas las infecciones causadas por este agente han sido encontradas en lactantes y niños de corta edad (2,15,18,23).

Se han estudiado las propiedades patogénicas de Y. enterocolitica en diversos modelos animales. El uso de estos modelos ha contribuido al conocimiento de algunos de los hechos que acontecen en el desarrollo del proceso infeccioso. Los estudios realizados sobre la patogénesis de la gastroenteritis aguda causada por Y. enterocolitica han revelado que pueden estar involucrados dos tipos de mecanismos. Por una parte, la capacidad invasiva demostrada en diferentes modelos animales o en cultivo de tejidos, y por otra, la producción de una toxina termoestable similar a la sintetizada por Escherichia coli enterotoxigénica (6,18).

Se ha demostrado que en los conejos esta bacteria es capaz de penetrar la mucosa intestinal multiplicándose dentro de las células mononucleares e induciendo la formación de

granulomas. Por otra parte, se han realizado estudios con cepas patógenas productoras de enterocolitis en conejos, que han demostrado su habilidad de penetración de células HeLa y su capacidad de multiplicación dentro de macrófagos. Estos hallazgos dan una idea de la habilidad que tiene este microorganismo para penetrar las barreras intestinales, y la capacidad de sobrevivir dentro de las células huésped, factores que aumentan sus características patogénicas (2).

Sin embargo, los determinantes de la virulencia no han sido completamente elucidados. Un factor esencial relacionado con la virulencia de Y. pestis y Y. pseudotuberculosis es la capacidad que tienen ambas especies de sintetizar los antígenos V y W y esta misma capacidad ha sido demostrada en Y. enterocolitica. Estos antígenos son de naturaleza proteica y su síntesis se correlaciona con requerimientos de calcio y de temperatura. No son producidos a 26 °C, ni a 37 °C cuando el Ca^{+2} está presente en una concentración similar a la existente en el plasma de los mamíferos. En cambio estos antígenos se sintetizan cuando los organismos son cultivados a 37 °C en un medio en el que las condiciones respecto al Mg^{+2} y Ca^{+2} son similares a las existentes en el ambiente intraleucocitario de los mamíferos, donde de forma natural son producidos normalmente por algunas

cepas de Yersinia. Un criterio generalmente utilizado para la diferenciación entre cepas productoras de estos antígenos se basa en el empleo del medio agar oxalato magnesio con incubación a 37 °C (4,18).

Por otra parte estudios recientes han revelado que algunas de las propiedades patógenicas de Y. enterocolitica pueden estar controladas por plásmidos y la expresión de estas propiedades son dependientes de la concentración de Ca^{+2} y de la temperatura (18,24).

Se conocen diferentes métodos para aislar Y. enterocolitica de especímenes clínicos, de alimentos, y del ambiente. La mayoría involucra una etapa de enriquecimiento, tratamiento con álcali diluido y aislamiento por estrías en un medio selectivo (8,10,11,12,14,17).

Aunque el enriquecimiento en frío es efectivo es una técnica que consume mucho tiempo ya que por lo menos se necesitan de 10-21 días antes de ser subcultivada la muestra (8,11).

El tratamiento con álcali resulta ventajoso puesto que elimina la flora microbiana sensible a condiciones alcalinas, aumentando así la facilidad de separar a Yersinia la cual es resistente al álcali (12). Muchas

bacterias como Pseudomonas sp. y otras Enterobacteriaceae interfieren en medios selectivos y en los métodos de enriquecimiento. Asimismo, algunas Enterobacteriaceae muestran patrones bioquímicos similares y son fácilmente confundidos con Y. enterocolitica durante su identificación.

Existen varios medios selectivos y diferenciales para Y. enterocolitica sin embargo el de mayor aceptación por su selectividad es el Cefsulodina-Irgasan-Novobiocina (CIN). Aunque el más usado es el MacConkey puesto que es de menor costo y se pueden aislar otras Enterobacteriaceae patógenas para el hombre (8,10).

La incidencia de infecciones causadas por Y. enterocolitica en los seres humanos ha aumentado en la última década, especialmente en infantes y niños de corta edad. Antes de 1972, los casos de gastroenteritis en Estados Unidos habían sido esporádicos o limitados a epidemias familiares. En los años siguientes se han descrito epidemias con mayor frecuencia en E.U.A. En 1976 se registró un brote de yersiniosis en Nueva York que afectó a 200 niños debido a la ingestión de leche con chocolate contaminada (6,23,24).

La lista de nuevos casos de gastroenteritis infantil continúa creciendo. En La República Mexicana

específicamente en Monterrey, Nuevo León, se han aislado cepas de Y. enterocolitica en niños con síntomas de diarrea, vómito, y fiebre (24).

Debido a la severidad y diversidad de infecciones producidas por Yersinia enterocolitica en lactantes y niños de corta edad, y a los escasos estudios epidemiológicos sobre esta bacteria, el objetivo de este estudio es el aislamiento, la identificación y la determinación de biotipos de este microorganismo de especímenes clínicos recolectados de una población infantil.

MATERIALES Y METODOS

Para realizar esta investigación se analizaron 144 muestras de heces recolectadas de niños menores de 12 años en el Hospital Infantil de Monterrey de la Secretaría de Salud del Estado del día 31 de enero al 19 de abril de 1989. Las muestras se transportaron en medio de Aimes y fueron procesadas en el laboratorio de microbiología de la división de Ingeniería y Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Monterrey.

Las muestras se inocularon en agar selectivo para Yersinia Cefsulodina-Irgasan-Novobiocina (CIN) y se incubaron por 24hrs. a 35 °C. Después del tiempo de incubación se escogieron las colonias que presentaron las características morfológicas de Y. enterocolitica.

Las colonias seleccionadas se inocularon en caldo MR-VP, posteriormente se incubaron como mínimo 4 hrs. a 35 °C y se subcultivaron en los siguientes medios:

- ◊ Agar Triple Azúcar Hierro (TSI).
- ◊ Agar Urea de Christensen.
- ◊ Agar Azufre Indol Motilidad (SIM).

Se incubaron a 35°C por 24-48hrs. y un tubo de SIM a 25°C.

Después del período de incubación se observaron los medios anteriores y se descartaron aquellos que no presentaron las reacciones típicas de Y. enterocolitica.

A los cultivos seleccionados se les realizaron las siguientes pruebas:

Prueba del Indol: Se agregan 4 gotas del reactivo de Kovac (R-1) al medio SIM incubado a 35 °C.

Rojo de Metilo: Se agregan 4 gotas del rojo de metilo (R-2) al caldo MR-VP que se incubó por 24 hrs.

Vogues-Proskauer: Se agregan 0.6 ml de alfa-naftol al 5 % (R-3) y 0.2 ml de KOH-Creatina (R-4) a 2.5 ml de Caldo MR-VP que se incubó a 35 °C por 48 hrs. Se agita y se deja

reposar 20 minutos.

En seguida se inocularon los siguientes medios partiendo del caldo MR-VP:

◊ Agar Simmons-Citrato.

◊ Agar Fenilalanina.

◊ Medio base descarboxilasa:

Tubo 1: Ornitina

Tubo 2: Arginina

◊ Agar Esculina Modificado.

◊ Agar de Infusión de Cerebro (R-5):

Tubo 1: Melibiosa

Tubo 2: Ramnosa

Tubo 3: Rafinosa

Se incubaron a 25 ó 35 °C durante 18-24 hrs.

Después del período de incubación se observaron los cambios ocurridos y se realizó la siguiente prueba:

Fenilalanina-desaminasa: Se agregan 4 a 5 gotas de cloruro férrico (R-6) recientemente preparado al medio agar fenilalanina. Se deja reposar y se observa el cambio en el

término de 1 a 5 minutos.

Se interpretaron los resultados de acuerdo a las características bioquímicas para la identificación de Y. enterocolitica.

El control de calidad se llevó a cabo utilizando una cepa de referencia de Yersinia enterocolitica la cual se inoculó tanto en el medio selectivo como en los utilizados para la identificación bioquímica. Además, para la determinación de biotipos se utilizaron otras Enterobacteriaceae.

Para la determinación de biotipos los cultivos identificados como Yersinia enterocolitica se inocularon en:

◊ Caldo Infusión de Cerebro (R-5):

Tubo 1: Salicina

Tubo 2: Trehalosa

Tubo 3: Sorbitol

Tubo 4: Sorbosa

Tubo 5: Xilosa

◊ Caldo Indol Nitrato.

◊ Caldo de O-nitrofenil-B-D-galactopiranosido (ONPG).

◊ Medio para la prueba de la Pirazinamidasa (R-7).

◊ Tween 80 (R-8).

Se incubaron a 35 °C durante 2-144 hrs.

Después del período de incubación se observaron los cambios ocurridos en los medios y se realizaron las siguientes pruebas:

Prueba de Reducción del Nitrato: Se agrega 1 ml de alfa-naftilamina 0.5 % (R-9) y 1 ml de ácido sulfanílico 0.8 % (R-10) a 1 ml de Caldo Indol Nitrato.

Prueba de la Pirazinamidasa: Se añade 1 ml de sulfato de amonio ferroso al 1 % (R-11) recientemente preparado al medio utilizado para esta prueba. Se examina el tubo después de 1 a 5 minutos.

Se interpretaron los resultados y se compararon con el esquema propuesto por Nilehn para la determinación de los biotipos de Yersinia enterocolitica.

REACTIVOS

(R-1) Reactivo de Kovac:

Alcohol Amílico	150 ml
p-dimetilaminobenzaldehido	10 g
Acido Clorhídrico conc.	50 ml

Se disuelve el aldehído en el alcohol y se agrega lentamente el ácido. Se almacena en un frasco ámbar en el refrigerador.

(R-2) Solución de Rojo de Metilo:

Rojo de Metilo	0.1 g
Alcohol Abs.	300 ml
Agua destilada	200 ml

Se disuelve el rojo de metilo en el alcohol y se afora a 500ml con el agua destilada. Se almacena en un frasco ámbar en el refrigerador.

(R-3) Solución de alfa-naftol al 5 % :

Alfa-naftol	5 g
Alcohol Etílico	100 ml

Se disuelve el alfa-naftol en el alcohol. Se almacena en un frasco ámbar en el refrigerador.

(R-4) Solución de KOH-Creatina:

KOH	40 g
Creatina	0.3 g
Agua Destilada	100 ml

Se disuelve el KOH en el agua y se agrega la creatina. Se almacena en un frasco ámbar en el refrigerador.

(R-5) Caldo BHI con Carbohidrato:

Caldo BHI	22.5 g
Carbohidrato	10.0 g
Indicador	1.0 ml

Se disuelve en 1 lt. de agua destilada y se colocan 3 ml en tubos con tapón de rosca 13 X 100mm. Se esteriliza a 121 °C por 10 minutos.

El indicador se prepara disolviendo 1.6 g de púrpura de bromocresol en 100 ml de etanol al 95 % .

(R-6) Solución de Cloruro Férrico:

Cloruro Férrico	12 g
Acido Clorhídrico conc.	2.5 ml
Agua Destilada	100 ml

Se disuelve el cloruro férrico en el agua y se agrega cuidadosamente el ácido.

(R-7) Medio para la Prueba de la Pirazinamidasas:

Agar (Bacto agar)	2 g
Pirazinamida	0.1 g
Piruvato de Sodio	2 g
Agua Destilada	1000 ml

Se disuelven las sustancias en el agua destilada por medio de calentamiento y se distribuyen en cantidades de 5 ml en tubos con tapón de rosca. El medio se esteriliza en autoclave por 15 minutos a 121 °C, y se deja solidificar en forma recta. Se almacena a temperatura de refrigeración.

(R-8) Tween 80:

Buffer de Fosfatos 0.15 M, pH 7	100 ml
Tween 80	0.5 ml
Rojo Neutro (sol. acuosa 0.1%)	2 ml

Se disuelven las sustancias y se distribuyen en cantidades de 2 ml en tubos con tapón de rosca. El medio se esteriliza en autoclave por 10 minutos a 121 °C. Se almacena en un frasco ámbar en el refrigerador.

(R-9) Solución de Alfa-Naftilamina 0.5 % :

Alfa-naftilamina	5 g
Acido acético al 30%	1000 ml

Se disuelve la sustancia en menos de 1000 ml de ácido

acético por medio de un calentamiento suave. Se pasa la solución a un matraz de aforación de 1000 ml y se agrega el ácido acético al 30 %. Se almacena en frasco ámbar.

(R-10) Acido Sulfanílico 0.8 % :

Acido Sulfanílico	8 g
Acido Acético	1000 ml

Se disuelve el ácido sulfanílico en menos de 1000 ml de ácido acético. Se traspasa la solución a un matraz de aforación de un litro y se agrega el ácido acético al 30 %. Se almacena en frasco ámbar.

(R-11) Sulfato de Amonio Ferroso al 1 % :

Sulfato de Amonio Ferroso	0.1 g
Agua Destilada estéril	10 ml

Se disuelve el sulfato de amonio ferroso en el agua destilada.

RESULTADOS

De las 144 muestras de materia fecal analizadas se aisló una cepa de Yersinia enterocolitica del biotipo 2 . El paciente del cual se obtuvo el aislamiento era una niña de 4 meses de edad que ingresó al hospital el 10 de febrero de 1989 por presentar deshidratación leve, gastroenteritis, intolerancia a los carbohidratos, anemia, desnutrición, candidiasis, diarrea y perforación intestinal. Se le practicó gastrectomía y apendicectomía.

La distribución de la población estudiada en relación al sexo y a la edad se muestra en la tabla No. 1.

Las reacciones bioquímicas obtenidas de la cepa aislada se presentan en la tabla No. 2.

TABLA No. 1

DISTRIBUCION DE LOS NIÑOS ANALIZADOS EN RELACION AL SEXO Y EDAD

POBLACION	RANGO DE EDADES			
	MENOR A 1 AÑO	1-3 AÑOS	4-12 AÑOS	N.D.*
NIÑOS	7	30	14	22
NIÑAS	4	32	17	18
TOTAL	11	62	31	40

* DATOS NO DISPONIBLES.

TABLA NO. 2

REACCIONES BIOQUIMICAS DE LA CEPA DE Y. enterocolitica

PRUEBA	REACCION

1. Indol 24 hrs.	NEGATIVA
2. Rojo de Metilo 35 °C 24 hrs.	POSITIVA
3. Voges-Proskauer 35 °C 48hrs.	NEGATIVA
4. Citrato de Simmons 24 hrs.	NEGATIVA
5. TSI	A/A *
6. LIA	A/A *
7. Urea de Christensen 24 hrs.	NEGATIVA
48 hrs.	POSITIVA
8. Movilidad 22 °C	POSITIVA
35 °C	NEGATIVA
9. Gas de la Glucosa	NEGATIVA
10. Oxidasa	NEGATIVA
11. Catalasa	POSITIVA
12. Acido Sulfhídrico	NEGATIVA
13. Descarboxilación de:	
Ornitina	POSITIVA
Lisina	NEGATIVA
Arginina	NEGATIVA
14. Fenilalanina Desaminasa	NEGATIVA
15. Fermentación de:	
Melibiosa	NEGATIVA

PRUEBA

REACCION

=====

Rafinosa	NEGATIVA
Ramnosa	NEGATIVA
16. Hidrólisis de Esculina	POSITIVA

* A/A: Superficie y fondo ácidos sin producción de gas ni ácido sulfhídrico.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Y. enterocolitica es un cocobacilo gram negativo capaz de producir un espectro muy amplio de cuadros clínicos que dependen en gran medida de la edad y del estado fisiológico del huésped. En niños menores de 5 años usualmente se presenta una gastroenteritis con fiebre, mientras que de 5 años hasta la edad adulta los síntomas son fiebre y dolor abdominal localizado o difuso, frecuentemente aparentando apendicitis, que refleja adenitis mesentérica e ileítis terminal (26).

En relación a lo anterior, se puede mencionar que el caso del paciente del cual se obtuvo el aislamiento es poco usual ya que los síntomas que presentó ocurren más

frecuentemente en niños mayores; sin embargo es importante señalar que presentó otros factores que probablemente contribuyeron a la severidad de la enfermedad.

Estudios recientes realizados en E.U.A. indican que Salmonella, Campylobacter, y Yersinia se aislan comúnmente en coprocultivos. Además se han reportado casos esporádicos y brotes epidémicos de yersiniosis en diferentes países industrializados; sin embargo, la frecuencia de gastroenteritis debida a Yersinia enterocolitica no ha sido muy estudiada. Los resultados en relación a este parámetro varían de acuerdo a la distribución geográfica y a las condiciones climatológicas.

Y. enterocolitica es capaz de crecer y desarrollarse en medios usuales a temperaturas entre los rangos de 4 a 43°C Sin embargo el crecimiento y la actividad óptima metabólica se encuentra entre 25 y 30 °C. En Quebec donde la temperatura promedio es baja se ha encontrado que la yersiniosis tiende a ser más común en los meses de verano que en los de invierno (25). Por otro lado, en Bangladesh donde el clima predominante es tropical, no se favorece la propagación de este patógeno siendo así menor la incidencia en los meses de verano (19).

Durante el período en que se llevó a cabo esta

investigación los cambios climatológicos fueron excesivos, la temperatura varió de -4 °C hasta 42 °C, lo que probablemente influyó en la baja frecuencia de aislamiento. Sin embargo se pudo demostrar la presencia de este microorganismo en la población lo cual concuerda con los resultados presentados en investigaciones anteriores (24). Por lo tanto, para establecer la magnitud de yesiniosis en nuestro medio se recomienda realizar un estudio a largo plazo con el objeto de analizar la situación en diferentes épocas del año.

Los métodos selectivos para el aislamiento de Y. enterocolitica incluyen enriquecimiento en frío y tratamiento con álcali. Aunque el enriquecimiento en frío es efectivo, el período requerido no permite obtener resultados de inmediato. Por otro lado, la evaluación de la utilidad del tratamiento con álcali ha producido resultados conflictivos (10). Se han descrito y comparado medios selectivos y diferenciales para este microorganismo y como resultado de estos reportes se escogió agar Cefsulodina-Irgasan-Novobiocina (CIN) para la inoculación de las muestras fecales. Respecto a la selectividad del CIN se puede mencionar que se detectó la presencia de otras especies bacterianas la mayoría de las cuales correspondieron al género Proteus.

Las colonias de la cepa que se aisló presentó la

morfología característica de Y. enterocolitica, centro rojo con un margen transparente (ojo de toro). Las placas se examinaron después del período de incubación y en más de una se observaron las colonias características de Yersinia descritas anteriormente. Por lo tanto, es importante efectuar las reacciones bioquímicas para la identificación definitiva de los microorganismos aislados.

Se puede identificar a Y. enterocolitica presuntivamente con 3 pruebas las cuales son: en agar Urea de Christensen una reacción positiva; en agar TSI reacción ácida en el fondo y en la superficie, sin producción de ácido sulfhídrico y gas; en agar semisólido SIM, motilidad positiva a 25 °C y negativa a 37 °C, esto facilita descartar rápidamente a bacterias que no corresponden a esta especie.

En relación a la caracterización de los biotipos se realizó la prueba de la pirazinamidasa ya que es útil para establecer la patogenicidad de las cepas principalmente al efectuar estudios epidemiológicos (4).

Recientemente se ha reportado que las cepas que se aíslan del ambiente presentan fuerte actividad de la pirazinamidasa mientras que las patógenas carecen de esta enzima. Aunque esta propiedad no se relaciona con el plásmido de virulencia y presuntivamente no está

involucrada en la patogenicidad, permite una fácil separación entre las cepas patógenas de las saprofíticas (4).

La cepa aislada perteneció al biotipo 2 de Nilehn y presentó una reacción negativa a la prueba de la pirazinamidasa, por lo que puede considerarse como potencialmente patógena para el hombre.

Debido a que Yersinia enterocolitica es una bacteria que ocasiona gastroenteritis así como una variedad de infecciones en el hombre es importante enfatizar que este germen se desarrolla en los medios que se utilizan para aislar otros patógenos intestinales como el agar MacConkey. Por esta razón, se debe tener en cuenta la posibilidad de aislar este microorganismo en el cultivo de materia fecal para la búsqueda de los agentes etiológicos de enfermedades gastrointestinales.

Finalmente, por la relevancia clínica de la yersiniosis es necesario emplear medidas para el control de esta enfermedad tales como la adecuada cocción de la carne, la pasteurización de la leche y el uso de agua potable.

RESUMEN

Se llevó a cabo el análisis de 144 muestras fecales de niños con el objeto de aislar, identificar y determinar el biotipo de Yersinia enterocolitica.

El aislamiento se realizó utilizando agar selectivo para Yersinia (CIN), la identificación por medio de pruebas bioquímicas y la determinación de biotipos en base al esquema propuesto por Nilehn.

Se aisló una cepa de Yersinia enterocolitica del total de muestras analizadas que correspondió al biotipo 2.

BIBLIOGRAFIA

1. Pelczar, M.J. y col. 1977. Microbiología. 4a. Ed. Mc. Graw-Hill, México. pp. 525-541.
2. Gini, G.A. y M.F. Torres. 1979. Primeros Aislamientos de Yersinia enterocolitica en Centro América y Revisión de la Literatura. Rev. Lat-Amer. Microbiol. 21: 107-113.
3. Jawetz, E., J.L. Melnick y E.A. Adelberg. 1987. Microbiología Médica. 12a. Ed. Edit. El Manual Moderno, S.A. de C.V. México, D.F. pp. 234-236 y 250-254.
4. Cornelis, G. and Y. Laroche. 1987. Yersinia

- enterocolitica, a Primary Model for Bacterial Invasiveness. Rev. Infect. Dis. 9: 64-82.
5. Vantrappen, G., E. Ponette, et al. 1977. Yersinia Enteritis and Enterocolitis: Gastroenterological Aspects. Gastroenterology 72: 220-227.
 6. Francis, D.W., P.L. Spaulding, and J. Lovett. 1980. Enterotoxin Production and Thermal Resistance of Yersinia enterocolitica in milk. Appl. and Environ. Microbiol. 40: 174-176.
 7. Joklik, W.K., H.P. Willet, and D.B. Amos. 1980. Microbiology. 17th. Ed. Appleton-Century-Crofts, pp. 777-779.
 8. Weagant, S. 1983. Medium for Presumptive Identification of Yersinia enterocolitica. Appl. and Microbiol. 45: 472-473.
 9. Martin, T., G.F. Kasian, and S. Stead. 1982. Family Outbreak of Yersiniosis. J. Clin. Microbiol. 16: 622-626.
 10. Kachoris, M., K.L. Rouff, et al. 1988. Routine Culture of Stool Specimens for Yersinia

- enterocolitica Is Not a Cost-Effective Procedure.
J. Clin. Microbiol. 26: 582-583.
11. Greenwood, J.R., et al. 1975. Clinical Isolation of Yersinia enterocolitica: Cold Temperature Enrichment. J. Clin. Microbiol. 2: 559-560.
 12. Ausilio, C.C.G., et al. 1980. Alkali Method for Rapid Recovery of Yersinia enterocolitica and Y. pseudotuberculosis from foods. Appl. Environ. Microbiol. 39: 135-140.
 13. Bisset, M. 1976. Yersinia enterocolitica Isolates from Humans in California, 1968-1975. J. Clin. Microbiol. 4: 137-144.
 14. Weagant, S.D. and C.A. Kaysner. 1983. Modified Enrichment Broth for Isolation of Yersinia enterocolitica from Nonfood Sources. Appl. and Environ. Microbiol. 45: 468-471.
 15. Fekety, R. 1983. Recent Advances in Management of Bacterial Diarrhea. Rev. Infect. Dis. 5: 246-257.
 16. Bottone, E.J. and D. J. Sheehan. 1983. Yersinia enterocolitica: Guidelines for Serologic Diagnosis

of Human Infections. Rev. Infect. Dis. 5: 898-905.

17. Shayegani, M., W.B. Stone, et al. 1986. Y. enterocolitica and Related Species Isolated from Wildlife in New York State. Appl. Environ. Microbiol. 52: 420-424.
18. Rodriguez, L.M., A.Montalvo y A. Mellado. 1983. Determinantes de la Patogenicidad en Yersinia enterocolitica y Otras Especies Relacionadas. Lab. 76: 23-40.
19. Carniel, E., et al. 1986. Infrequent Detection of Yersinia enterocolitica in Childhood Diarrhea in Bangladesh. Am. J. Trop. Med. Hyg. 35: 370-371.
20. Jacobs, J. 1975. Yersinia enterocolitica Arthritis. Pediatrics 55: 236-238.
21. Viteri, A. , et al. 1981. Hepatic Abscess Due to Y. enterocolitica without Bacteremia. Gastroenterology 81: 592-593.
22. Black, R.E., et al. 1978. Epidemic Y. enterocolitica Infection due to Contaminated Chocolate Milk. N. Engl. J. Med. 298: 76-79.

23. Rodriguez, W.J., et al. 1979. Yersinia enterocolitica Enteritis in Children. JAMA 212: 1978-1980.
24. Becerril, P. y P. Pérez. 1983. Búsqueda de Y. enterocolitica como Agente Causal de Gastroenteritis y Síndrome Apendicular en la Ciudad de Monterrey. Rev. Lat. Microbiol. 25: 2.
25. Marks, M.I., C.H. Pai, et al. 1980. Yersinia enterocolitica Gastroenteritis: A Prospective Study of Clinical Bacteriologic, and Epidemiologic Features. J. Pediatr. 96: 26-31.
26. Kohl, S., J.A. Jacobson and A. Nahmiás. 1976. Y. enterocolitica Infections in Children. J. Pediatr. 89: 77-79.

901783