

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
 FACULTAD DE MEDICINA
 ESCUELA DE TECNOLOGIA MEDICA



‘Incidencia de Salmonella Typhi en Contenido de Vesícula Biliar Estudio Post Mortem’

SEMINARIO DE GRADUACION PREVIO A LA OPCION
 DEL TITULO DE:

Licenciatura en Laboratorio Clínico

PRESENTADO POR:

Ana Rosa Isabel Cabrera Arévalo
Sonia Delmy Valencia Rodas
Marina Hortensia Calderón Peraza

A S E S O R :

Dr. Juan José Costa Larromana



MARZO 1986.

6.927

1172

INTEGRARON EL JURADO CALIFICADOR :

1 - Dra. LEONOR ISABEL MURILLO v. de LINARES.

2 - Dr. FRANCISCO PLATERO PEÑA.

3 - T.M. JAIME SOUNDY CALL.



DEDICATORIA :

- A DIOS TODOPODEROSO.
CON HUMILIDAD.
- A NUESTROS PADRES.
CON INFINITO AGRADECIMIENTO.
- A NUESTROS ESPOSOS.
CON AMOR.
- A NUESTROS HIJOS.
CON ESPECIAL AMOR.
- A NUESTROS HERMANOS.
CON CARÍÑO.
- A NUESTROS FAMILIARES, PROFESORES Y AMIGOS.
AFECTUOSAMENTE.

AGRADECIMIENTO :

- AL DOCTOR JUAN JOSE COSTA LARROMANA, NUESTRO ASESOR.

- A TODAS LAS PERSONAS QUE CON SU VALIOSA COLABORACION
CONTRIBUYERON A LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO, EN ESPECIAL
AL T.M. JAIME SOUNDY CALL Y AL SEÑOR DAGOBERTO MORAN.

C O N T E N I D O

		<u>PAGINA N°</u>
I	- INTRODUCCION	1 - 3
II	- O B J E T I V O	4
III	- CONSIDERACIONES SOBRE LA SALMONELLA	5 - 10
IV	- PATOGENIA Y EPIDEMIOLOGIA	11 - 14
V	- MATERIAL Y METODO	15 - 18
VI	- R E S U L T A D O S	19 - 20
VII	- C O N C L U S I O N E S	21
VIII	- R E C O M E N D A C I O N E S	22
IX	- A P E N D I C E	23 - 38
X	- B I B L I O G R A F I A	39 - 41

I -

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

De todos es conocido que las enfermedades infecciosas constituyen el mayor porcentaje de la patología que se presenta en nuestro país. La Fiebre Tifoidea es una de ellas y posee un alto índice de morbi-mortalidad. La Salmonella typhi, como otras salmonellas, pueden localizarse en varios sitios incluyendo las conjuntivas, meninges, articulaciones, riñones y vesícula biliar; esto ocurre debido a la bacteriemia temprana de la fiebre tifoidea. Las infecciones de la vesícula biliar persisten después de la cura clínica causando el estado de portador en 3% de los pacientes aparentemente curados.

En trabajos anteriores de salvadoreños y extranjeros (1-3-13-19) se han enfocado diversos aspectos de las infecciones con Salmonella typhi, pero hasta donde nosotros hemos podido investigar ninguna ha sido dirigida a demostrar la presencia de esta bacteria en el contenido de la vesícula biliar en forma post-mortem. (13)

En nuestro medio la fiebre tifoidea es una enfermedad endémica que en el curso del año presenta brotes hiperendémicos aislados, a finales de la estación seca y principios de la estación lluviosa. Se ha demostrado que la mayor proporción de casos de enfermedad, aproximadamente 85%, ocurren en los primeros siete meses del año (de enero a julio). Esto tiene relación con la precipitación pluvial, la cual tiene cifras mínimas en los meses de enero a abril, inicia un ascenso en mayo y alcanza su máximo de septiembre a octubre.

El descenso de casos en el mes de julio coincide con la acumulación de unos 400 a 500 mm. de precipitación pluvial. (7)

No sabemos si se trata de una coincidencia sin relación alguna de los dos fenómenos, o si hay influencia de uno para el otro. De existir relación, resulta probable la hipótesis de una acción mecánica de lavado de las heces de pacientes o de portadores asintomáticos y de la contaminación de las aguas de consumo directo o aguas de riego de vegetales principalmente.

La epidemia de fiebre ocurre fundamentalmente en la población que reside en las áreas urbanas, con tanta mayor intensidad cuanto mayor sea la concentración poblacional. Por esta razón nos propusimos hacer este trabajo en la zona metropolitana de la ciudad de San Salvador por tratarse de la mayor concentración poblacional de nuestro país.

HISTORIA Y DEFINICIONES

- 1804, Prost mencionó por primera vez la presencia de lesiones intestinales en el curso de las fiebres que se designaban como adinámicas y atóxicas. (18)
- 1826, Brentonmeau hizo mayor énfasis en la lesión intestinal que la caracterizaba y propuso el término "dotinenteria", del griego dotie-ne-botón o grano, y enteron-intestino, nombre que más tarde empleó su discípulo Trousseau. (18)
- 1874, Liebermeister destacó la importancia del agua como un vehículo transmisor de la tifoidea. (18)

- 1880, Eberth descubrió el agente etiológico, el cual fue hallado casi simultáneamente por Koch y Meyer.
- 1884, la bacteria fue aislada por Gaffky. (18)
- 1886, Anton y Futterer demostraron bacilos típicos en la bilis y dedujeron que podría ser causa de recaídas.
- 1896, se descubrió la reacción de Widal, prueba de aglutinación en lámina para investigar anticuerpos circulantes sobre Salmonella typhi. (18)
- 1914 - 1918, durante la Primera Guerra Mundial, se empleó la "vacuna" anti-tífica con resultados satisfactorios, aunque después algunos autores han demostrado lo contrario. (18)
- 1917, Duarte y Segovia comprobaron por primera vez la existencia del bacilo tífico en El Salvador. (18)

II

O B J E T I V O

El objetivo primordial de este trabajo es el de investigar prospectivamente la presencia de Salmonella typhi en el contenido de la vesícula biliar de cadáveres de pacientes con o sin historia de haber padecido fiebre tifoidea, con la esperanza de aportar elementos de juicio que contribuyan a estudiar el estado del " Portador " de fiebre tifoidea en nuestro país.

III. CONSIDERACIONES SOBRE LAS SALMONELLAS.

Hasta fines de la década de 1920 se incluía en el género Bacterium diversos sub-grupos de Enterobacteriáceas, tales como la Salmonella, Shigella, el Bacterium coli (que posteriormente fue denominado Escherichia), Klebsiella aerobacter. (10)

La Salmonella typhi, esencialmente clasificada en el sub-grupo Eberthella, fue asimilada posteriormente en el sub-grupo Salmonella por tener características similares.

En el año de 1934, el sub-comité de Nomenclatura de la Sociedad Internacional de Microbiología recomendó la adopción de la clasificación propuesta por Kauffmann que reconoce el status de género para la Salmonella, dándole un rango de especificidad a los distintos tipos de antígeno, los que en esa época sumaban 130. Al presente los serotipos reconocibles de Salmonella suman más de 1000. (11)

CLASIFICACION ECOLOGICA

De acuerdo con la adaptación o preferencia por un determinado huésped las especies del género Salmonella pueden clasificarse en tres grupos:

- 1 - Aquellas que se han adaptado en forma más o menos estricta en el hombre provocando fiebres entéricas.
 - Salmonella typhi
 - Salmonella paratyphi A

- Salmonella paratyphi C
- Salmonella paratyphi B

Esta última no está adaptada en forma estricta al hombre, siendo huéspedes secundarios las aves, el ganado vacuno y porcino. Las otras son encontradas muy raramente en animales e infecciones accidentales.

Características de este grupo son:

- a) Dosis infectante pequeña.
- b) Período de incubación prolongado, 10-20 días, cuando produce fiebre entérica; cuadro septicémico, posiblemente corto, pocos días después cuando producen enteritis.
- c) Tendencia a persistir en portadores sanos y mantenerse en forma endémica.

2 - Especies que se han adaptado a un huésped animal (ver cuadro # 2). Esta Salmonella puede infectar al hombre y otros animales, produciendo enteritis y raramente septicemias.

3 - Salmonella no adaptada a un huésped en particular, que infecta por igual al hombre y animales. Se conocen aproximadamente 1300 serotipos, pero únicamente 50 de ellos son los que se encuentran usualmente. (5)

Características de este grupo:

- a) Producen por lo general enteritis, aunque pueden producir septicemias.
- b) Período de incubación corto, horas o pocos días.

- c) Dosis infectante relativamente grande especialmente en adultos sanos.

En el cuadro # 3 se encuentran las Salmonellas aisladas con más frecuencia de acuerdo con el grupo Serológico a que pertenecen. Estos serotipos constituyen el 95.6 % de los aislamientos. (2)

Puede apreciarse que hay, aparentemente, diferencias sustanciales en los diferentes grupos serológicos, pero la diferencia de fondo la constituye el elevado número de aislamientos de Salmonella typhimurium en los países desarrollados y la Salmonella typhi en los sub-desarrollados. (6)

MORFOLOGIA E IDENTIFICACION

Las Salmonellas son bacilos gram negativos no esporulados, de longitud variable.

La mayoría de las especies son móviles merced a flagelos peritricos (excepto S. pollorum y S. gallinarum). Las Salmonellas crecen fácilmente en los medios de cultivos ordinarios pero no fermentan la lactosa, la sacarosa ni la salicina; forman ácido y generalmente gas a partir de glucosa, maltosa, manitol y dextrina.

La fermentación de azúcares constituye un método para la diferenciación de varias especies pero no es tan exacto como el análisis antigénico. (Ver Cuadro # 5 de utilización de azúcares).

Las Salmonellas son resistentes a la congelación en agua y a ciertos agentes químicos, como por ejemplo el verde brillante y el

desoxicolato de sodio.

Las especies de *Salmonella* pueden ser identificadas por reacciones bioquímicas y por análisis antigénico. Diversas cepas de la misma especie pueden ser clasificadas por lisis con bacteriofago específico.

En el análisis antigénico de la *Salmonella typhi* se deben considerar tres tipos de antígeno: (8, 12)

- Antígeno somático (O)
- Antígeno flagelar (H)
- Antígeno capsular (Vi)

Antígeno Somático "O"

- Localización: Está localizado en el cuerpo o soma de la bacteria.
- Propiedades físicas:
 - a) Es termoresistente, resiste a temperaturas de 100° C hasta por una y dos horas, sin modificar sus características antigénicas.
 - b) Al confrontar un antígeno "O" somático de la *Salmonella typhi* con su antisuero específico, la reacción es manifestada por aglutinación con poder antigénico bastante bajo.
 - c) Soporta estar suspendida en alcohol de 95 % sin modificar su estructura antigénica, pero si pierde antigenicidad en presencia de formalina arriba de la concentración de 0.3 %

estas características físicas son muy importantes pues sirve para preparar los antígenos para la identificación de Salmonella typhi.

- Propiedades químicas: Está formado eminentemente por lipopolisacárido, (8).

Antígeno Flagelar "H"

- Localización: Está localizado en los flagelos de Salmonella typhi, los cuales están distribuidos peritriquicamente y se aumenta al estimular la movilidad de la bacteria.
- Propiedades físicas:
 - a) Son termolábiles, su antigenicidad empieza a deteriorarse los 60° C para arriba.
 - b) Cuando se le confronta con su antisuero específico, la reacción resulta ser de floculación.
 - c) Los antígenos flagelares son altamente estimulantes provocando la formación de anticuerpos de título elevado (hasta 1:1000 en reacción de tubo) y 1:100 en reacciones de floculación en lámina.
 - d) La formalina en concentraciones altas no deteriora los antígenos flagelares (0.6 al 1 %).
 - e) Los antígenos flagelares pueden presentarse en cualquiera de sus dos fases o en ambas fases, llamándose fase I y fase II. La fase I es compartida por sólo unas cuantas especies

diferentes; la fase II por muchas.

La *Salmonella typhi* posee sólo una fase.

Antígeno Capsular "Vi"

- Localización: Está localizado en la cápsula de la bacteria.
- Características físicas:
 - a) Es parcialmente termolábil, resistente al calor pero no tanto como los factores somáticos.
 - b) Sus reacciones contra antisuero son del tipo aglutinación.
 - c) Actúa como cápsula o envoltura alrededor de los factores somáticos de Salmonella typhi, enmascarando las reacciones somáticas.
 - d) Resiste la presencia del alcohol absoluto (95%) a diferencia de los factores flagelares que se deterioran con éste.
- Propiedades Químicas: Está formado por lipopolisacáridos.

Importancia del Factor Vi:

- a) Solamente la Salmonella typhi y paratyphi C, lo poseen en todo el género *Salmonella*.
- b) Algunos autores consideran que la virulencia de la bacteria está relacionada con la presencia del factor Vi. (ver esquema #1)

- Fuente de infección

La fuente de infección en las Salmonellas del primer grupo, la adaptadas en el hombre, S. typhi, S. sendai y paratyphi A, B y C, constituyen los portadores sanos y los sujetos infectados o convalecientes. La infección puede ocurrir por contacto directo con material infectante, a través de utensilios personales, juguetes y especialmente alimentos contaminados por heces de un portador o sujeto infectado. Pueden jugar un papel muy importante los portadores sanos que manipulan alimentos tanto en el hogar como en restaurantes. A este propósito vale mencionar un estudio de alimentos verificado localmente por Soundy (3) et al que dice a la letra: "Fue posible aislar cuatro cepas de bacterias patógenas entre 520 muestras de alimentos, o sea un porcentaje de menos del 1 %. Tres de estas cepas se aislaron de alimentos cocidos indicándose una contaminación post-culinarias. Contaminación fecal se identificó en un 17.9 % de las muestras. Estas circunstancias no demuestran que la principal causa de contaminación está ligada a la falta de buenos hábitos higiénicos personales, ocurriendo la contaminación en el hogar mismo. Reforzando este supuesto, tenemos la elevada contaminación del agua clorada de cañerías."

Toda esta información nos pone de manifiesto el papel importante que juega la contaminación fecal intradomiciliaria y por consi-

guiente toda campaña para luchar contra ésta, deberá estar dirigida esencialmente en este sentido.

Otra fuente de contaminación fecal es el consumo de verduras - que se comen sin cocimiento previo, las que pueden ser contaminadas por las aguas de riego o por el transporte y manipuleo personal.

Dimas et al (9) encontraron en un mercado de la ciudad de San Salvador, que las lechugas tenían contaminación fecal en un 4.7 % y los repollos en un 20 %, reportando en estos últimos, 3 % de Salmonella sp.

Para que se produzca la infección, la S. typhi debe llegar al intestino delgado en una cantidad suficiente y tratar de sobrepasar esta barrera penetrando por las placas de Peyer. Al parecer la S. typhi es incapaz de penetrar en el epitelio intestinal y se dirige a las placas de Peyer, una formación de tejido linfático, penetrando - posiblemente por los vasos linfáticos. Se supone que el epitelio de intestino delgado tiene una disposición anatómica que impide el paso de las bacterias en general.

En la infección natural, el inóculo infectante es ingerido en un alimento sólido o líquido en el que puede proliferar la bacteria. Sabemos que la S. typhi tiene requerimientos nutricionales simples, pudiendo proliferar en un medio con un carbohidrato y algunos minerales, sin necesidad de proteínas. La proliferación de la bacteria que es de orden geométrico, puede alcanzar cifras de muchos cientos de

millones de bacterias en cuestión de pocas horas.

El inóculo infectante encuentra condiciones adversas al pasar por el estómago donde se encuentra con un medio hostil con un pH. de 2.0. Cuando se encuentra en un alimento líquido tiene la oportunidad de pasar en forma más o menos rápida al intestino delgado, a los pocos minutos de su llegada al estómago. Cuando el inóculo se encuentra en un alimento sólido, tiene la oportunidad de un contacto menos directo con el jugo gástrico y el alimento puede tener una acción también neutralizante (buffer). Al iniciarse la sepsis se presentan los primeros síntomas de la enfermedad, correspondiendo al primer septenario. El bacilo va localizándose poco a poco en el sistema retículo endotelial (S. R. E.) por lo que disminuye progresivamente en la sangre circulante, observándose un aumento de los anticuerpos, fenómeno que se acentúa al final de la segunda semana. Ya en la tercera semana la Salmonella se encuentra reproduciéndose de manera importante en las vías biliares y en general en el sistema retículo endotelial, el cual se hipertrofia. Habiendo una constante eliminación de bacilos por vías biliares, se les encuentra presente en el contenido fecal, lo mismo que en orina pero en grado menor.

Las lesiones tíficas en el intestino delgado ocurren en general al final del segundo y tercer septenario. Para algunos la formación de la úlcera depende de un fenómeno intenso de alergia semejante al de Koch. (19)

La excreción fecal de gérmenes del género Salmonella durante días e incluso meses después de una infección es bastante común. De

un 10 a un 15 % de los pacientes que han padecido enterocolitis, tienen cultivos de heces positivos durante los dos primeros meses que siguen a la enfermedad. Estos sujetos reciben el nombre de portadores convalecientes. Si bien representan un peligro para la salud pública, ellos mismos no presentan síntomas e invariablemente dejan de excretar gérmenes, sin que sea necesario aplicar un tratamiento antimicrobiano.

Las personas que excretan Salmonella durante un período mínimo de un año se denominan portadores crónicos. Dos tercios de los sujetos que tienen antecedentes de haber padecido fiebre tifoidea, y muchos de ellos presentan patología del tracto biliar. (8)

La Salmonella typhi se excreta por la bilis y las deposiciones contienen un número de gérmenes que oscila entre 10^6 y 10^9 /g de heces. Estos individuos son asintomáticos pero actúan como reservorios naturales de Salmonella typhi. El estado de portador crónico persiste a veces durante toda la vida si el sujeto no es sometido a un tratamiento antibiótico o cirugía del tracto biliar o a ambos.

V -

MATERIAL Y METODO.

Equipo :

- Estufa 37° C.
- Microscopio binocular.
- Refrigerador a 4° - 6° C
- Autoclave a 121° C y 15 libras a presión.
- Mechero de gas propano.

Material :

- Frascos para hemocultivos.
- Placas de petri 100 mm. de diámetro.
- Asa bacteriológica.
- Espátula.
- Jeringa de 3 ml. y su respectiva aguja # 16 ó 18.

M E T O D O :

Población estudiada :

En el presente estudio se tomaron muestras de contenido vesícula biliar a 190 cadáveres dentro de las seis horas de cimiento.

Las edades de los cadáveres oscilaron entre 12 y 99 a éstos, 50 eran del sexo femenino y 140 eran del sexo masculino.

1- COLECCION DE LA MUESTRA.

Después de la exposición de la vesícula biliar por el patólogo o su ayudante, se procedió a esterilizar el fondo de este órgano con una espátula al rojo vivo y luego, utilizando agujas N° 18, se recolectó el contenido de vesícula biliar.

2- A I S L A M I E N T O .

Se inoculó una gota de esa bilis en una placa de Agar MacConkey y otra en una placa de Agar Hektoen enteric y seguidamente en cantidad de 1 ml., fue inoculada en un frasco de 50 ml. conteniendo 10 ml. de caldo MacConkey. Las placas y el frasco previamente identificados fueron transportados al laboratorio del Hospital Militar. En una hoja apropiada se anotaron los datos del paciente pertinentes a la investigación propuesta.

En el laboratorio del hospital mencionado, las muestras obtenidas se incubaron durante un período de 24-48 horas en una estufa a T° de 37° C.

3- IDENTIFICACION.

A las 24 horas se revisaron las placas y el caldo. Cuando se aislaron bacilos gram negativos lactosa positiva o lactosa negativa, se procedió a identificarlos por medio de pruebas de fermentación de azúcar (Cuadro N°5) y otras pruebas. Si la cepa correspondía a Salmonella se le tipeo serológicamente, utilizando antisueros comerciales (BBL).

horas más y el caldo fue subcultivado en placas de Agar MacConkey y Hektoen enteric, a la vez que se le hizo un frotis que fué coloreado con Gram para detectar la presencia de bacilos gram negativos. Las placas fueron incubadas para ser leídas en las 24 horas siguientes. Las muestras con bacilos gram negativos fueron estudiadas como se describió en el párrafo anterior. (Ver Cuadro N°4).

TECNICA PARA LA CLASIFICACION SEROLOGICA DE SALMONELLA TYPHI.

- a) Para confirmar su identidad somática, se colecta de la superficie de un Agar nutritivo, colonias puras de no más de 24 horas de crecimiento; se coloca en solución salina estéril (1 ml.) y se hace una suspensión homogénea, la cual se tiene que calentar a 10 C. por una hora, con el objeto de destruir los factores flagelares "H" y Capsulares "Vi" para evitar el fenómeno del enmascaramiento del Somático "O". Luego se verifica la prueba de aglutinación en lámina con el antisuero de factores 9, 12 el cual corresponde a la Salmonella typhi.

- b) Para investigar la identidad capsular, una suspensión bacteriana colectada en la misma forma que el paso (a), se calienta a 60 por una hora, con el objeto de destruir los factores flagelares que pueden interferir en la lectura del factor "Vi" investigado con antisuero específico.

- c) Para investigar flagelar (d) se siembra un Caldo de tripticas con soya conteniendo 5 ml. de medio y se incuba a 37° C por 18 24 horas luego en un tubo de hemólisis (12 x 75 mm.) se colocan aproximadamente 0.5 ml. de este crecimiento joven y se le agrega 0.05 ml. (aproximadamente una gota) de antisuero "d" se mezcla por agitación y se deja reposar aproximadamente dos horas a la par de un control preparado en la misma forma, pero sin antisuero, luego al término de 2 horas, se observa si hay fluctuación.

De los 190 especímenes estudiados, 10 (5.2%) casos Nos. (1, 5, 14, 17, 41, 131, 141, 142, 150 y 151), pertenecían a pacientes con diagnóstico de fiebre tifoidea o cuadros sépticos agudos que evolucionaron rápidamente a la muerte por shock séptico (Cuadro No. 7). A seis de estos pacientes se les había indicado exámenes de laboratorio pertinentes, observándose leucopenia como factor común en dos ellos, y elevación de antígenos febriles en cuatro. Cultivo positivo a Salmonella typhi del contenido de vesícula biliar se obtuvo únicamente de cuatro de ellos (2.1%) casos Nos. (5, 14, 141). Se aisló Escherichia coli, de los casos Nos. (17, 142 y 151) y no hubo crecimiento bacteriano en tres casos Nos. (131, 142 y 158).

Se practicó estudio post-mortem completo en cinco casos (1, 5, 14, 131 y 142) de los diez que tenían historia de fiebre tifoidea, demostrándose patología histológica característica de fiebre tifoidea en los órganos ricos en retículo endotelio, tales como: intestino, bazo, hígado, ganglios linfáticos y médula ósea. No se pudo demostrar inflamación en la vesícula biliar de ninguno de ellos, aunque el cultivo fue positivo en tres de ellos.

Ninguno de los 180 casos restantes tenía antecedentes de fiebre tifoidea, ni en los casos autopsiados se pudo encontrar lesiones que sugieran esa enfermedad.

Las diferentes bacterias Gram negativas obtenidas en este estudio se presentan en el Cuadro No. 7. Las bacterias que se aislaron en mayor porcentaje fueron Escherichia coli y Enterobacter genus. No hubo relación directa entre el aislamiento y el diagnóstico.

nóstico del paciente, aunque predominaron los problemas hepáticos.

Los aislamientos de estas bacterias, que no siempre se consideran patógenas puede haber sido debido a que transcurrió un tiempo muy largo entre la hora del fallecimiento del paciente y la toma de la muestra, favoreciendo que estas bacterias proliferaran rápidamente. Es posible que el contenido de vesícula biliar sea un medio apropiado para el crecimiento de estos microorganismos.

Algunos de los pacientes con cultivo positivo presentaban sepsis, de manera que la bacteria aislada podría haber sido el agente etiológico. Es por ello que a las 24 horas de incubación se subcultiva la muestra en placas de Agar MacConkey y Hektoenteric, pues después de las 24 horas de incubación la curva de crecimiento de las bacterias contaminantes se eleva, produciendo inhibición del crecimiento de S. typhi.

Además pudiera ser que pocos casos fueran tifoidea.

VII -

CONCLUSIONES .

- 1- De ninguno de los casos estudiados se obtuvo historia previa de fiebre tifoidea curada, que permitiera establecer alguna correlación, que contribuyera al estudio del estado "portador" en nuestro medio. De esto se deduce de que la muestra no fue representativa del problema endémico que constituye la fiebre tifoidea en El Salvador.
- 2- Todos los casos de los que se aisló Salmonella Typhi del contenido de vesícula biliar eran de evolución aguda con resultado fatal a corto plazo por shock séptico. Lo mismo sucedió con los casos con antígenos febriles elevados de los que no se aisló Salmonella. Estos casos consideramos que no corresponden a portador y que la presencia de Salmonella typhi en la vesícula biliar se debía a la septicemia que el paciente presentaba al momento de la muerte.
- 3- Es evidente que con el presente trabajo no se lograron los objetivos propuestos, deduciéndose que las causas primordiales de esto fueron :
 - A - Insuficiencia de la muestra poblacional.
 - B - Falta de representatividad de la muestra.
 - C- Falta de selección de la muestra.

VIII -

RECOMENDACIONES .

Realizar estudios sobre el problema de portadores de *S. typhi* teniendo el cuidado de :

- 1- Seleccionar la muestra de población, incluyendo únicamente aquellos casos que tengan antecedentes de fiebre tifoidea.

El muestreo post-mortem de una población tomada al azar produce consumo excesivo de tiempo y de material de investigación, con resultados poco satisfactorios.

- 2- Para aprovechar al máximo el número de casos pertinentes al estudio, se debe involucrar a personal idóneo en la obtención de muestras de pacientes fallecidos durante la noche.

IX -

A P E N D I C E .

CALDO DE MACCONKEY.

Medio de cultivo selectivo para ensayo previo orientativo sobre gérmenes coliformes. Este caldo contiene lactosa, cuya de gradación a ácido y formación de gas señalan, por definición la presencia de E. coli.

La formación del ácido se comprueba mediante el indicador púrpura de bromocresol, la bilis de buey favorece el crecimiento de algunas bacterias intestinales e inhibe a los microorganismos ajenos al intestino.

COMPOSICION.

Caldo de MacConkey :

- Bilis de buey 5.0 grs.
- Gelysate peptone 20.0 grs.
- L a c t o s a 10.0 grs.
- Púrpura de Bromocresol 0.01 grs.
- PH 7.3 ± 0.2
- COMPOSICION PARA 1000 ml. DE H₂O DESTILADA

HEKTOEN ENTERIC AGAR.

Agar selectivo para demostración y para aislamiento de bacterias intestinales patógenas.

Su forma de actuación es debida a dos indicadores (Azul bromotimol y fucsina ácida). Las colonias lactosa - positiva presentan una expresiva diferencia cromática frente a las colonias lactosa - negativa. Igual ocurre en el caso de colonias que fermentan lentamente la lactosa y mas facilmente la sacarosa y la sucrosa (Sustancias reaccionantes con facilidad) lo que impide el desarrollo de falsos positivos. La combinación de tiorina, como sustancia reaccionante, y una sal de hierro como indicador, presta coloración negra a las colonias H_2S - positivas. Una mezcla de sales biliares reprime a una gran parte de la flora de acompañamiento.

INTERPRETACION :

COLONIAS	MICROORGANISMOS
Verdes, húmedas planas transparentes.	Shigella, Providencia
Verde-azuladas con o sin centro negro.	Salmonella, Proteus.
Verde hasta azuladas planas, con borde irregular.	Pseudomonas.

COMPOSICION :

- Digerido péptico de tejido animal	12.0 gr
- Extracto de levaduras	3.0 gr
- Sales biliares	9.0 gr
- L a c t o s a	12.0 gr
- S u c r o s a	12.0 gr
- S a l i c i n	2.0 gr
- Cloruro de Sodio	5.0 gr
- Tiosulfato de sodio	5.0 gr
- Citrato amónico férrico	1.5 gr
- Azul de Bromotimol	0.064
- Fuchina ácida	0.1 gr
- A g a r	13.5 gr
- PH	7.6 <u>+</u>
- S a c a r o s a	10.0 gr
- G l u c o s a	1.0 gr
- Sulfato ferroso	0.2 gr
- Cloruro de Sodio	3.0 gr
- Tiosulfato de sodio	0.3 gr
- A g a r	12.0 gr
- Rojo de fenol	0.024
- COMPOSICION PARA 1000 ml. DE H ₂ O DESTILADA	

AGAR MACCONKEY.

Agar selectivo para aislamiento de salmonellas, Shigella y bacterias coliformes.

La actuación de sales biliares y el violeta cristal inhiben considerablemente a la flora gram-positiva.

La lactosa junto con el indicador de ph rojo neutro, sirve para la comprobación de dicho azúcar.

INTERPRETACION .

COLONIAS	MICROORGANISMOS
Incoloras transparentes	Salmonellas, Shigellas y otros
Grandes, rojas halo turbio	<u>Escherichia coli</u>
Grandes, rosadas mucosas	<u>Enterobacter klebsiella</u>
Disminutas de crecimiento aisladas y opacas	Enterococos y otros

COMPOSICION :

- Cristal violeta	0.001	g
- Púrpura de Bromocresol	0.03	g
- Cloruro de Sodio	5.0	g
- Sales biliares	1.50	g
- Lactosa	10.00	g
- Peptona (proteasa)	3.00	g
- Peptona	17.00	g
- Agar	13.5	g

T. S. I. :

Es una modificación del medio de Triple azúcar de Kigler y también empleado para observar producción de SH₂ y cambios de pH. Salmonella typhi utiliza este medio de la forma siguiente : El medio no cambia de PH y se mantiene de color rosado; el centro se modifica por la producción de SH₂, tomando un color negro moderado; la superficie se acidifica tomando un color amarillo sin producción de burbujas de gas. Esta reacción es característica de Salmonella typhi.

Composición :

- Extracto de carne	3 grs.
- Extracto de levadura	3 grs.
- Peptona	15 grs.
- Proteosa peptona	5 grs.
- Lactosa	10 grs.
- Sucrosa	10 grs.
- Dextrosa	1 grs.
- Citrato amónico férrico	0.2 grs.
- Cloruro de sodio	5 grs.
- Tiosulfato de sodio	0.3 grs.
- Rojo de fenol	25 mgs.
- A g a r	12 grs.
- PH	7.4 ± 0.2

AGAR CITRATO.

Agar de ensayo, totalmente sintético, para identificación de microorganismos, especialmente enterobacteriaceas. Estado en el empleo de citrato como única fuente de carbono.

El empleo de citrato por los microorganismos da lugar a una alcalinización del medio de cultivo, lo que manifiesta un viraje a azul oscuro del indicador de ph azul de bromo.

INTERPRETACION.

CRECIMIENTO	MICROORGANISMOS
Positivo : Medio de cultivo azul oscuro.	Citrobacter, Enterobacter <u>S. paratyphi</u> , <u>S. enteridis</u> , S. typhimurium, Arizona
Negativo o Inhibido	Klebsiella, Serratia y otros Escherichia, Shigella, <u>S. typhi</u> , <u>S. paratyphi</u> A y C

COMPOSICION :

- Sulfato de magnesio 0.2
- Fosfato de amonio + H₂O 1.0
- Fosfato Acido de Amonio 1.0
- Fosfato Dipotásico 1.0
- Citrato de Sodio 2.0
- Cloruro de Sodio 5.0
- Bacto Agar 15.0
- Bacto Azul de Bromo Timol 0.0

CALDO DE UREA.

Medio de cultivo de diferenciación, para demostración de microorganismos que utilizan urea.

En este medio de cultivo solo pueden crecer aquellos microorganismos que como el proteus son capaces de utilizar urea como unica fuente de carbono.

Los gérmenes que utilizan ureas producen un viraje del indicador hacia el rojo y eventualmente, su crecimiento produce turbidez del medio de cultivo.

Incubación es de 48 horas a 37° C.

INTERPRETACION .

MEDIO DE CULTIVO	MICROORGANISMOS
R o j o	Urea positiva : <u>Proteus vulgaris</u> , <u>P. mirabilis</u> morganela y otros.
Amarillo	Urea Negativo. Shigella, Escherichiae, Salmonella, Klebsiella, Citrobacter y otros.

COMPOSICION .

- U r e a	20.0	g
- Fosfato monopotásico	9.1	g
- Fosfato disódico	9.5	g
- Extracto de levadura	0.2	g
- Rojo de fenol	0.01	g
- PH final	6.8	± 0.2

Medio de Movilidad :

El medio de movilidad en tubo son inoculados en el centro de la columna del medio hasta la mitad se incuban los tubos por 1 día a 37° C.

Si es negativo se incuba en un tiempo adicional de 5 días a 21° C - 25° C.

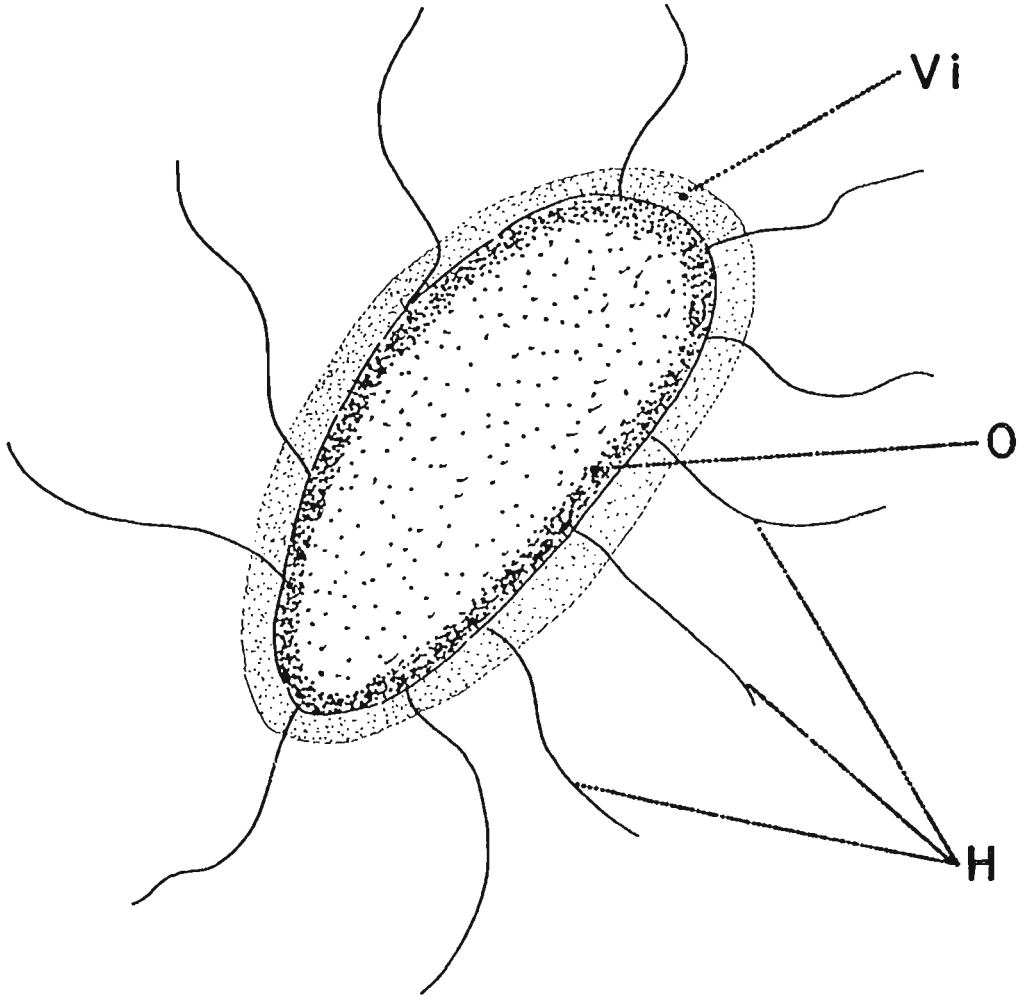
Organismo que no son móviles crecen únicamente en la línea de inoculación, mientras que los móviles se diseminan fuera de línea de inoculación o tienden aún a crecer por todo el medio

COMPOSICION .

- Extracto de carne	3.0	gr
- P e p t o n a	10.0	gr
- Cloruro de Sodio	5.0	gr
- A g a r	4.0	gr
- PH final	7.3 ± 2	
- Antisueros comerciales específicos para Salmonella; polivalentes 9, 12, d, Vi.		

FIGURA # 1.

Estructura Antigénica de Salmonella typhi



- Vi** CAPSULA
- O** SOMATICO
- H** FLAGELAR

C U A D R O # 2.

SALMONELLA ADAPTADA A UN HUESPED EN PARTICULAR

S E R O T I P O	H U E S P E D
<u>S. pollorum</u>	A v e s
<u>S. enteritidis</u>	A v e s
<u>S. dublin</u>	Ganado Vacuno
<u>S. abortus equi</u>	Caballo
<u>S. abortus ovis</u>	Oveja
<u>S. cholerae</u>	C e r d o
<u>S. typhi suis</u>	C e r d o

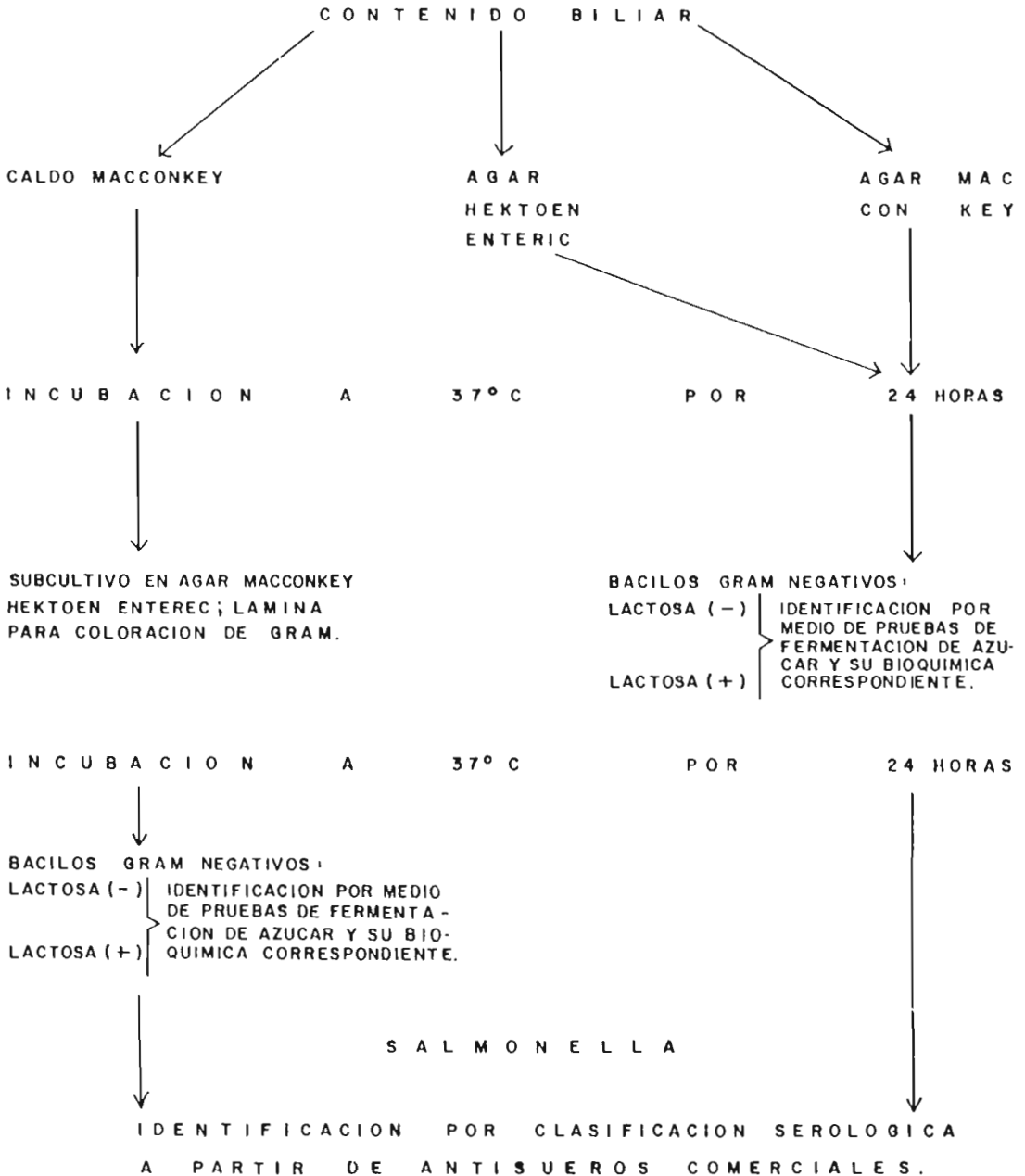
C U A D R O # 3.

CLASIFICACION DE SALMONELLA POR GRUPO SEROLOGICO

GRUPO	S E R O T I P O	GRUPO ANTIGENICO
A	<u>S. paratyphi A</u>	1, 2, 12
B	<u>S. paratyphi B</u>	1, 4, 5, 12
C ₁	<u>S. paratyphi C</u>	6, 7
C ₂	<u>S. curacao</u>	6, 8
D	<u>S. typhi</u>	9, 12

CUADRO N° 4

ESQUEMA DEL AISLAMIENTO A PARTIR DEL CONTENIDO BILIAR



C U A D R O # 5.

REACCIONES BIOQUIMICAS DEL GENERO SALMONELLA.

O R G A N I S M O	Medio de triple azúcar o medio de doble azú - car Roussel.		Pro- du- cen H ₂ S	Xi- lo- sa.	Ma- ni- tol	Sa- ca- ro- sa.	Lac- to- sa.	Glu- co- sa.	M l d
	Porción Inclinada	Fondo							
<u>S. typhi</u>	ALC	A	<u>+</u>	<u>+</u>	A	-	-	A	+
<u>S. paratyphi A</u>	ALC	AG	<u>+</u>	-	AG	-	-	AG	+
<u>S. paratyphi B</u>	ALC	AG	+	AG	AG	-	-	AG	+
<u>S. typhimurium</u>	ALC	AG	+	<u>+</u>	AG	-	-	AG	+
<u>S. choleroesuis</u>	ALC	AG	<u>+</u>	AG	AG	-	-	AG	+
<u>S. enteritidis</u>	ALC	AG	+	AG	AG	-	-	AG	-

(+) VARIABLE

(+) POSITIVA

(-) NEGATIVA

(A) ACIDO (AMARILLO)

(AG) ACIDO GAS

(ALC) ALCALINO

DATOS CLINICOS DE 10 PACIENTES CON SINTOMATOLOGIA AGUDA DE FIEBRE TIFOIDEA.

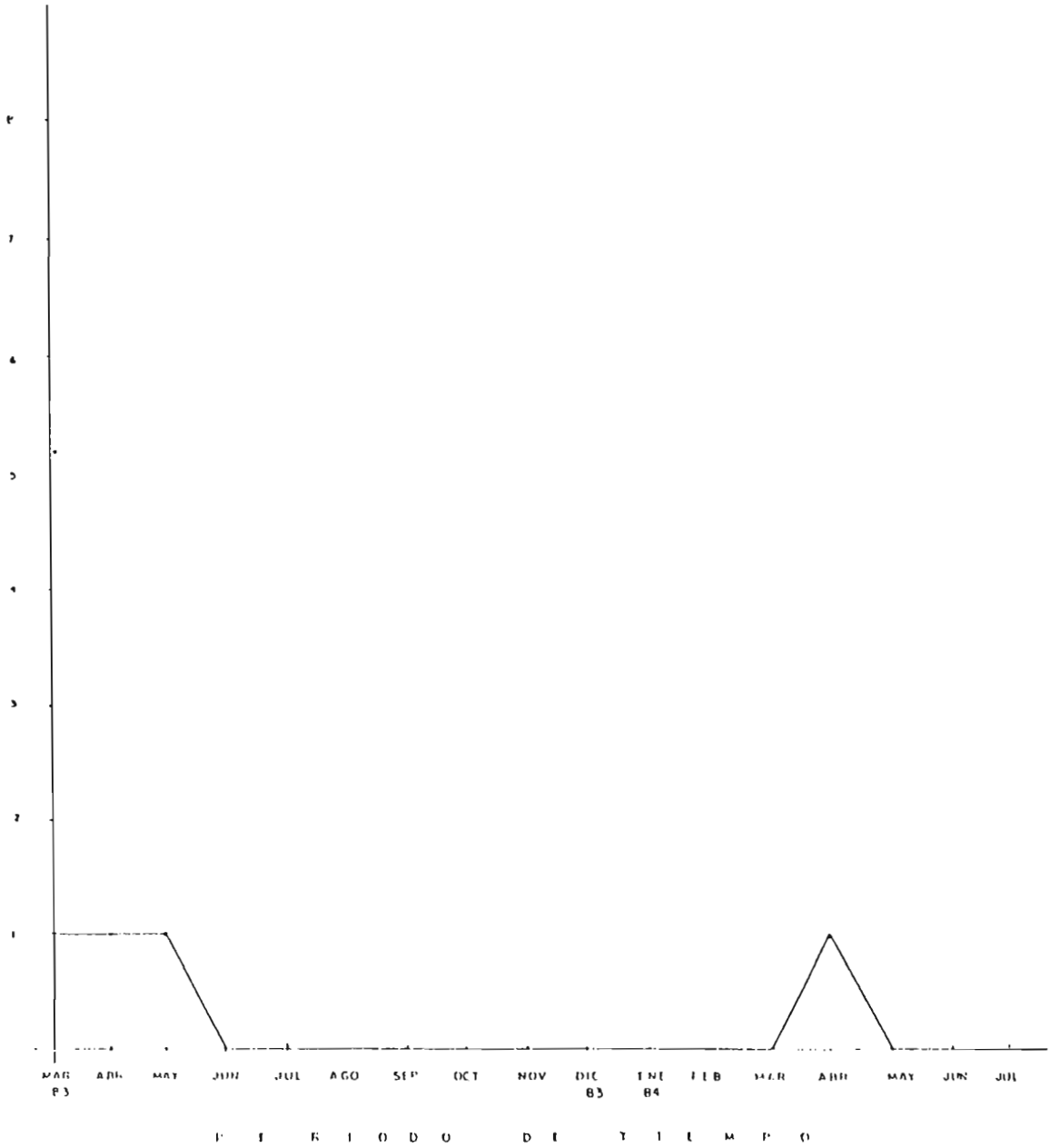
Caso	Fallecido	Nombre	Sexo	Edad	Hospital	Registro	Diag.Clín.	Exam.de Lab.	Bact.aisl.	Necropsia
Nº	en		Años				pertinentes	de Vesíc.		
								Biliar		
1	9-3-83	LdeJ.P.T.	M	26	Militar	1300-79	Septicemia a G. Negativos Shock séptico.	Leucopenia 0= 1:80 H= 1:40 No.	<u>Salmonella typhi</u>	si.
5	11-4-83	D.M.C.	M	18	Militar				<u>Salmonella typhi</u>	si.
14	20-5-83	G.C.Z.	M	17	Militar	3778-83	Sepsis	Leucopenia	<u>Salmonella typhi</u>	si.
17	22-6-83	M.O.A.	M	24	Rosales	21095-83	Absceso Cerebral	Leucopenia 0= 1:320 H= 1:320	<u>Escherichia coli</u>	no.
41	12-7-83	J.J.M.M.	M	25	Rosales	24729-83	Encefalitis tifoidea.	No.	<u>Escherichia coli</u>	no.
131	23-3-84	D.M.Q.	F	20	Rosales	12357-84	Fiebre tifoidea	Leucopenia 0= 1:320 H= 1:320	N.H.C.B.	si
141	25-4-84	S.V.M.	F	25	Rosales	16924-84	Fiebre tifoidea	Leucopenia	<u>Salmonella typhi</u>	no.
142	25-4-84	M.C.S.	F	23	Rosales	17260-84	Fiebre tifoidea	Leucopenia 0= 1:320 H= 1:320	N.H.C.B.	si.
150	25-5-84	A.C.M.	F	28	Rosales	20388-84	Fiebre tifoidea	No.	N.H.C.B.	no.
151	25-5-84	M.H.M.	F.	28	Rosales	20310-84	Fiebre	No.	<u>Escherichia</u>	no.

C U A D R O # 7.

MES/AÑO	Nº Muestras Positivas	<u>Salmonella typhi</u>	<u>Escherichia coli</u>	<u>Enterob. freundi</u> aerog.	<u>Pseudom. sp.</u>	<u>Alcal. faeca-</u> Lis.	<u>Klebs. aerog.</u>	<u>Prot. morganii</u>	<u>Prot. Mirab.</u>	<u>Prot. vulg.</u>
Mzo./83	2	1	1	-	-	-	-	-	-	-
ABR./83	6	1	-	2	2	-	-	-	-	-
MAY./83	4	1	2	-	1	-	-	-	-	-
JUN./83	11	-	8	-	-	1	-	-	1	-
JUL./83	14	-	8	-	1	-	1	2	-	-
AGO./83	5	-	4	-	-	-	1	-	-	-
SEP./83	2	-	2	-	-	-	-	-	-	-
OCT./83	5	-	3	2	-	-	-	-	-	-
NOV./83	4	-	2	2	-	-	-	-	-	-
DIC./83	4	-	3	1	-	-	-	-	-	-
ENE./84	3	-	3	-	-	-	-	-	-	-
FEB./84	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MZO./84	5	-	4	-	-	-	-	-	-	1
ABR./84	2	1	1	-	-	-	-	-	-	-
MAY./84	8	-	5	-	1	1	-	1	-	-
JUN./84	5	-	2	1	-	-	2	-	-	-
JUL./84	8	-	3	4	-	-	-	1	-	-
AGO./84	2	-	4	-	-	-	-	-	-	-
SEP./84	3	-	3	-	-	-	-	-	-	-
OCT./84	2	-	1	-	-	-	1	-	-	-

TOTAL DE CASOS DE S. TYPHI ENCONTRADOS EN 190 MUESTRAS DE
COMUNIDAD DE VENEZUELA MERID, COMO RESULTADO DEL PERIODO COMPRENDE
ENTRE LOS MESES DE MARZO DE 1983 HASTA OCTUBRE DE 1984

Nº DE CASOS



CUADRO DE LAS DIFERENTES BACTERIAS GRAM NEGATIVAS AISLADAS
DE CONTENIDO DE VESICULA BILIAR POST MORTEN COMPRENDIDO
MARZO/83 - OCTUBRE/84

Nº DE CASOS
POSITIVOS

51

40

30

20

10

0

E. COLI

S. TYPHI

CITROBACTER
FREUNDII

ENTEROBACTER
AEROGENES

PSUDOMONA
S.P

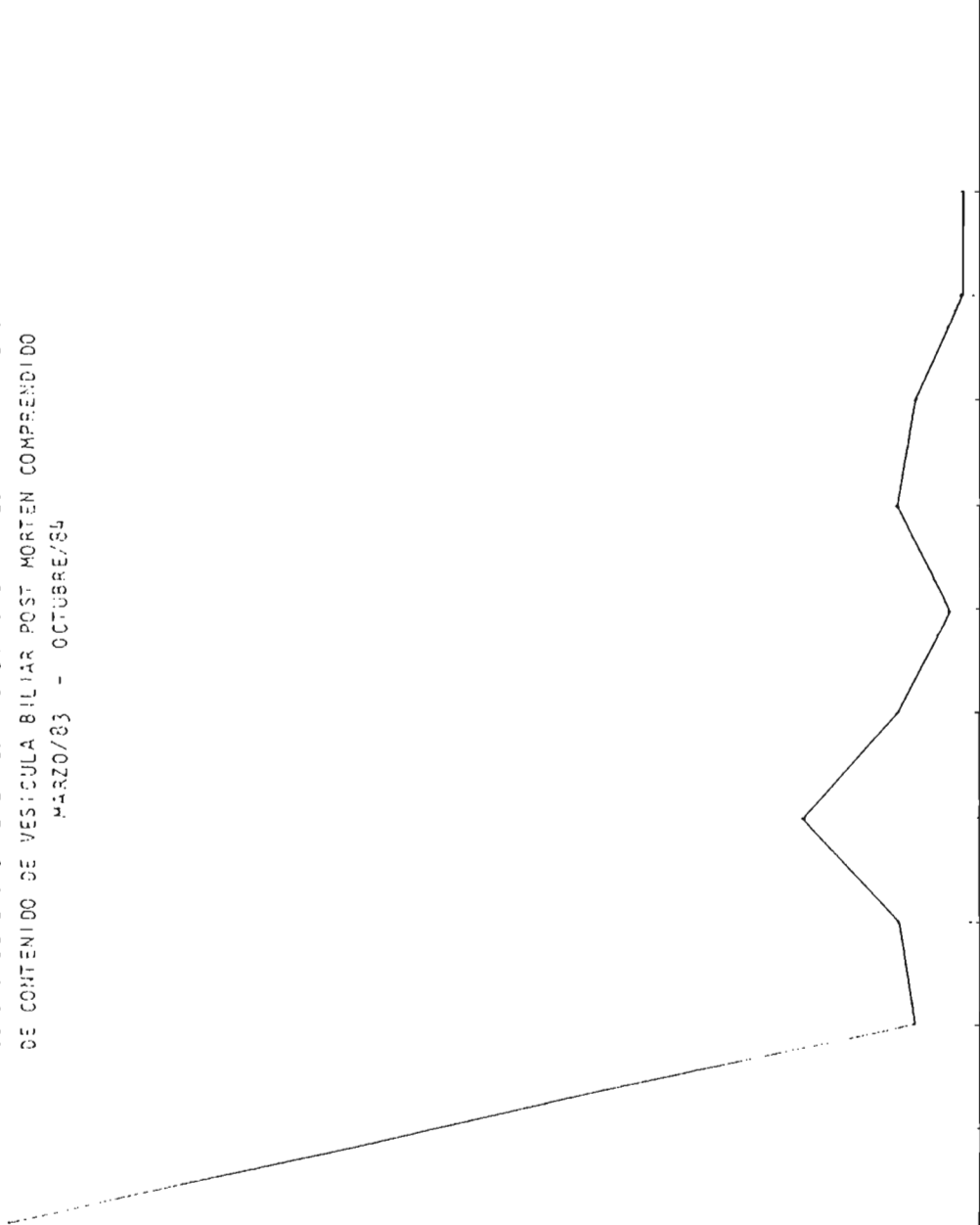
ALCALIGENES
FAECALIS

KLEBSIELLA
AEROGENES

PROTEUS
MORRANII

PROTEUS
MIRABILIS

PROTEUS
VULGARIS



X.

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

- 1 - Bessude, D., Olarte, J. Mendoza H.P., Galindo, E. Carrillo, J. Gutiérrez, T.G. y Rimate, J. Aislamiento de Salmonella typhi resistente a altas concentraciones de Cloranfenicol. Bull Ofic. S nit. Panamer. 74.1, 1973.
- 2 - Bloch, M. : La Enfermedad Diarréica Aguda. Definición, Fisiopatología. Etiología. Rev. Inst. Med. El Salvador. 11:243. 1972
- 3 - Bloch M. Cortez, G.A., y Rivera G.H. : La Fiebre Typhoidea. I Lesión Hepática y Renal, Manifestaciones Hemorrágicas, Manifestaciones intestinales. Rev. Inst. Invest. Med. El Salvador, : 2 1978.
- 4 - Bloch M., Moreno, B.D., Soundy, C.J. Sermeño, R.M.: Salmonellosis en El Salvador, Bacteriología. Epidemiología y Clínica. R Inst. Invest. Med. El Salvador, 18: 189, 1974.
- 5 - Bloch, M. y Sermeño, R.M. : Tipeo de Salmonella typhi por Bacteriofago. Rev. Inst. Invest. Med. El Salvador. 3: 260. 1973.
- 6 - Bloch, M. Soundy, C.J. y Taura, V. de : Problema de la Fiebre Typhoidea en la ciudad de San Salvador. Epidemiología. Rev. I Invest. Med. El Salvador. 7: 219. 1978.
- 7 - Bloch, M. Soundy, C.J. y Sermeño, R.M. : Hiperhemia de Fiebre typhoidea en el Area Metropolitana de San Salvador, Rev. Invest. Med. El Salvador. 5: 275. 1976.
- 8 - Davis. Dulbeco, Eisen, Ginsberg. Wood., Microbiology. 1976 3a Edic. E.U. Cap. No.26, Págs. 756-773.
- 9 - Dimas P. D. Hernández, A., Cedillos, R.A. : Estudio Bacteriol

- ∞ y Parasitológico de Muestras de Verduras del Mercado de San Salvador. Rev. Inst. Invest. Med., El Salvador,
- 10 - Ewing, W.H. ; and Edwards, P.R. : The Principal Divisi
Groups of Enterobacteriaceae. Inst. Bull.Bact.Nome.Tax
1960.
 - 11 - Ewing, W.H. : Enterobacteriaceae : Taxonomy and Nomencl
tional Communicable Disease Center, Atlanta, Georgia, U
 - 12 - Hunter Peter General Microbiology the student's textbo
V. mosby Company P.P. 158-217 copy right 1977.
 - 13 - Index Medicus, Cumulated. January 1930-December 1984.
 - 14 - Infante S. S. Ponce E. Bibliografía Medicina de El Sal
1970, Edit. Dirección de Publicaciones Ministerio de E
San Salvador, El Salvador, C. A.
 - 15 - Jay H. Stein, M.D., Edit. Salvat. Editores S.A. Versió
Dirigida por el Dr. Juan Roder Teixidor, Profesor Adju
logía y Clínicas Médicas, Hospital Clínico y Providenc
celona. Capítulo 242, págs. 1438 - 1442, 1984.
 - 16 - Jawetz; Ernest, Joseph L. Melnick, Edward A. Adelberg,
Microbiología Médica 1981. Novena Edic. México, Cap. N
 - 17 - Lynch, M.J.R., Métodos de Laboratorio. 1972. 2a Edició
Nueva Editorial Interamericana, Cap. No.27 P.H. 962.
 - 18 - Lovo Castelar, Honorato. Estudio Clínico Patológico de
de Fiebre typhoidea en el Hospital Rosales. 1967.
 - 19 - Merck, Franckfurter Strasse 250 D- 6100 Darmstadt'1 R.I
Manual de Medios de Cultivos, pág. 54-70, 88-144, 152.

- 20 - Pavon Moncada, Mario, Estudio Clínico de 90 casos de typho
Honduras, Tegucigalpa. 1962.
- 21 - Pereira Rojas, Isidro. Brote epidémico sospechoso de fiebr
dea en el municipio de Metapán. (Estudio Clínico Epidemiol
San Salvador, C.A. 1966.
- 22 - Robbin S. L., Cotran, R., Kumar V. : Pathologic Basis of I
W. B. Saunders Company, 1984.