



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA DE QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA

MANUAL INTEGRAL DE DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE
Yersinia enterocolítica

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA

PRESENTA:

SELENE BERENICE GUERRERO FUENTES

DIRECTOR DE TESIS

M en C. ROBERTO CRUZ GOZÁLEZ MELÉNDEZ



MÉXICO, D.F.

2013

DEDICATORIA

A mis padres

Como un testimonio de mi amor y eterno agradecimiento por su apoyo, guía, amor y comprensión invaluable que me han brindado a lo largo de mi vida; por enseñarme a sonreír, disfrutar, compartir, vivir.

GRACIAS por lucha, esfuerzo, constancia, determinación, entrega, humildad que siempre me han enseñado a tener frente a la vida, por todos esos momentos de regaños, aprendizaje y sobre todo gracias por creer y confiar en mí en la persona que ahora soy y en la que voy a llegar a ser.

A mi Papá

Por tu apoyo incondicional, por estar siempre conmigo en todo momento, por darme siempre lo mejor, por darme la confianza de viajar sola a lugares que gracias a ti he podido conocer y por quererme y no dejar que nada me pase. Te Amo papi.

A mi Mamá

En todo momento confiaste incondicionalmente en mí, me apoyaste, creíste y nunca dudaste de mí ni un momento. Gracias por esas palabras de aliento y apoyo que siempre me das, sabes que siempre te voy a querer y a estar contigo. Te Amo mamá.

Los quiero con todo mi corazón y este trabajo que me exigió tanto esfuerzo es para ustedes, por ser la más chica aquí esta lo que ustedes me han dado durante toda su vida. Para ustedes con profundo cariño, respeto y admiración.

A mi hermano y Abuelo

Porque su presencia de vida representa una verdadera alegría y bendición en todo momento, son un gran ejemplo para mí, GRACIAS por cuidarme, apoyarme, comprenderme, aconsejarme, por enseñarme a sonreírle a la vida, en fin, por todas las hermosas e insustituibles experiencias de vida que juntos hemos compartido y que por ahora puedo disfrutar con ustedes. Los quiero mucho...

Abuelo

Este logro es para ti porque siempre estuviste en todo momento a mi lado y nunca me dejaste sola y hasta este día sigues conmigo cumpliendo mis sueños, experiencias y alegrías.

A mi familia y amigos

*Gracias por compartir tantos momentos de alegría y satisfacción, por su apoyo, palabras de aliento y por saber que siempre cuanto con ustedes. **Cynthia** por tu apoyo en cada etapa de mi vida y porque sé que no pudiste cumplir tu sueño de estudiar en la UNAM, esta tesis es un regalo para ti.*

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a M en C. Roberto Cruz González Meléndez por su invaluable ayuda en la elaboración de esta tesis así como por su enseñanza y orientación para llevar a cabo este trabajo.

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México, la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza y a todos los profesores que contribuyeron a mi formación profesional, y a todas aquellas personas, que de una u otra manera, me han permitido terminar este trabajo.

Agradezco a mis sinodales por su tiempo y dedicación hacia ese trabajo, GRACIAS.

ÍNDICE

| | |
|----------------------------------|-----|
| Introducción | 1 |
| Marco Teórico | 3 |
| Planteamiento del problema | 20 |
| Objetivos | 21 |
| Metodología | 22 |
| Diagrama de flujo | 23 |
| Resultados | 24 |
| Discusión | 120 |
| Conclusiones | 122 |
| Referencias | 123 |

Introducción

Yersinia enterocolítica es un cocobacilo gramnegativo con bordes redondeados, aerobios y anaerobios facultativos¹, de amplia distribución mundial cuyo reservorio natural se encuentra en una gran variedad de animales. La transmisión a los humanos se realiza principalmente a través de la vía fecal-oral aunque también se han descrito casos de transmisión a través de transfusiones sanguíneas. Su aislamiento se realiza habitualmente dentro de un cuadro gastrointestinal y rara vez produce trastornos extraintestinales como bacteriemia, abscesos, manifestaciones cutáneas, etc. Éstos se han asociado a diferentes enfermedades de base como alteraciones del metabolismo del hierro, diabetes mellitus, alcoholismo, malnutrición, tumores, terapia inmunosupresora y cirrosis.²

Yersinia enterocolítica, una enterobacteria capaz de producir enfermedades en el hombre y en varias especies animales, aparece como causa frecuente de infecciones entéricas en niños y adultos en países desarrollados. Comunicaciones canadienses, estadounidenses y alemanas la señalan como agente importante de diarrea endémica infantil, con frecuencias de aislamiento superiores a las de otros patógenos enterales como *Shigella* y, además, como responsable de brote de gastroenteritis asociada a ingestión de alimentos contaminados.³

En niños preescolares y adultos, *Yersinia enterocolítica* es capaz de producir linfadenitis mesentérica que clínicamente puede simular apendicitis aguda, septicemia, abscesos hepáticos o esplénicos, y procesos autoinmunes como eritema nodoso o artritis reactiva.³

Hay escasa información disponible acerca de la incidencia y de la epidemiología de las infecciones por *Yersinia enterocolítica* en países en vías de desarrollo. Algunos estudios describen incidencias entre 0 y 1% en pacientes con diarrea, muy inferiores a las de otras bacterias enteropatógenas como *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) y enterotoxigénica (ETEC), *Shigella* y *Campylobacter*.³

Las cepas patógenas para el hombre se caracterizan fisiológicamente por ser pirazinamidasa positiva y poseer un plásmido relacionado con la virulencia (pYV), que codifica la expresión de diversas características involucradas con la capacidad de adherencia, invasividad y persistencia dentro de los macrófagos. La presencia de este plásmido confiere también a las colonias la capacidad de captar colorantes como el cristal violeta o el rojo congo, debido a la modificación de las proteínas de la membrana externa de *Yersinia enterocolítica*.³

Existen más de 50 serogrupos de *Yersinia enterocolítica*⁴ en base al antígeno somático (antígeno O), de los cuales varios han sido considerados como ambientales o que afectan a especies animales.¹ Estos serotipos son denominados O:1 a 3; O:3; O:5,27; O:8; y O:9 considerados generalmente patógenos para el hombre⁴; el O:1, O:2 y el O:16. Otros serotipos como el O:3, O:5, O:7, O:8 y O:9 se aceptan como patógenos primarios del humano.¹

Se ha encontrado una asociación entre serotipos y capacidad de virulencia del microorganismo con la producción de infecciones mortales. Estos serotipos son el O:8 y el O:21; en tanto que el O:3, O:5, O:7 y O:9 producen procesos infecciosos intestinales o simplemente se eliminan en heces en forma prolongada.¹

Yersinia enterocolitica presenta serotipos patogénicos y no patogénicos. Se pueden diferenciar porque los primeros hacen que la prueba de **pirazinamidasa**, la **fermentación de salicina** y la **hidrólisis de esculina** sean positivas, mientras que en los no patogénicos las tres pruebas son negativas. Presenta cinco biotipos, que se obtienen por la utilización de indol, xilosa y trehalosa, presencia de lipasa y ADNasa. El biotipo más importante como patógeno es el 4, aunque según algunos estudios, en ocasiones se relaciona con el 1 y el 2 con una capacidad patogénica.¹

El propósito de este manual, es dar a conocer al profesional de la salud como al módulo de microbiología médica de la carrera de Q.F.B. información de forma integral sobre esta bacteria, las complicaciones que puede ocasionar, así como el correcto tratamiento y la prevención ante dicha infección.

Es de suma importancia que conozcan la marcha diagnóstica para evitar confusión con otras enterobacterias que producen diarrea y por consiguiente se realice un mal diagnóstico.

Marco Teórico

Yersinia enterocolítica es un bacilo gramnegativo aerobio⁵ y anaerobio facultativo¹ que no fermenta la lactosa y que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Es móvil a una temperatura de 22°C⁵, ya que presenta movimientos ondulatorios y giratorios gracias a sus flagelos peritricos¹, pero dicha movilidad no se presenta a 37°C⁵, es capaz de crecer a bajas temperaturas de 0 a 8° C y toleran un amplio rango de pH (5.0–9.6)⁶. Forman pilis y fimbrias, no producen cápsula de gran espesor y no fabrican esporas. Metabólicamente, son fermentadores positivos, catalasa positivos, en ocasiones producen gas, ureasa positivos, lactosa negativos y oxidasa negativos.¹

Se han descrito más de 10 especies, de las cuales tres son patógenos en el ser humano: *Y. enterocolítica*, *Y. pseudotuberculosis* y *Y. pestis*. *Y. enterocolítica* es la causa más frecuente de infección. Ampliamente distribuida en la naturaleza, el reservorio principal es el agua y el tubo digestivo de diversos animales, especialmente cerdos.⁷

La mayoría de las infecciones son esporádicas y ocurren en varones jóvenes. Se han descrito brotes de gastroenteritis en los meses más fríos del año.⁷

La infección por *Yersinia enterocolítica* se reconoce como una importante zoonosis porque produce enfermedad en liebres, monos y humanos. Este microorganismo tiene una distribución mundial, se aísla de diferentes hábitats naturales y animales, como cerdos, los que constituyen un importante reservorio.⁸

El cuadro clínico se caracteriza por la presencia de diarrea, fiebre y dolor abdominal, generalmente con desarrollo autolimitado. Se describen varias complicaciones como linfadenitis mesentérica, íleitis terminal, apendicitis, septicemia, Síndrome de Reiter⁵ y eritema nodoso en adultos. Además se asocia con otras infecciones extraintestinales como neumonía, meningitis, celulitis y endocarditis; lo que depende, entre otros factores, del serogrupo infectante y el estado inmune del hospedero.⁸

Patogenia e inmunidad

La capacidad patogénica de *Yersinia enterocolítica* depende de una serie de factores de virulencia, algunos de los cuales están codificadas por genes cromosómicos, mientras que otros, incluyendo un sistema de secreción de tipo III antifagocítica, están codificada por un plásmido de virulencia 70-kb (PyV).⁹

Yersinia enterocolítica penetra en el hospedero humano mediante alimentos contaminados e invade células las células M de las placas de Peyer. El proceso de invasión y sus efectos en la célula hospedadora dependen de una amplia gama de factores de virulencia que se despliegan bajo una compleja regulación genética y ambiental. Estas proteínas incluyen la invasina, que se une a las integrinas en la superficie de las células hospedadoras, y la proteína efectora denominada **Yops**, la cual es suministrada por otro sistema de secreción de inyección (tipo III). Cuando se inyecta en la célula hospedadora desencadena efectos citotóxicos, lo que incluye alteración de las vías bioquímicas (desfosforilación, cinasa de serina) y alteración de funciones sensoriales y de citoesqueleto de actina.¹⁰

Algunas de los factores de virulencia producidos por *Yersinia* son regulados en un sistema en el cual la expresión responde a la temperatura o a la concentración de calcio libre (Ca^{2+}). La temperatura fisiológica en el hospedador mamífero es diferente de la que se encuentra en un insecto o en el ambiente, y la concentración de calcio extracelular es notablemente diferente de la que se encuentra en los líquidos extracelulares. Al percibir al medio ambiente, *Yersinia* es capaz de expresar o suprimir factores de virulencia en diferentes etapas del proceso patógeno.¹⁰

Los resultados biológicos de este proceso extraordinario y multiplicador consisten en el incremento de la capacidad patógena de las bacterias del género *Yersinia* para entrar y replicarse en el sistema retículo endotelial y retrasar la respuesta inmunitaria celular. Esto conduce a la formación de microabscesos y destrucción de la estructura de las placas de Peyer y de los ganglios linfáticos mesentéricos. Los síntomas sistémicos que se observan con la diseminación pueden atribuirse en gran medida a los efectos de las endotoxinas.¹⁰

Una característica común de las especies patógenas de *Yersinia* es su capacidad para resistir la destrucción por fagocitosis. Esta propiedad se basa en el sistema de secreción de tipo III. Al entrar en contacto con células fagocíticas, las bacterias secretan unas proteínas en el fagocito que desfosforilan varias proteínas que son necesarias para la fagocitosis (producto de gen *YopH*), inducen citotoxicidad a través de la alteración de los filamentos de actina e inician la apoptosis en los macrófagos. El sistema de secreción de tipo III inhibe, igualmente, la producción de citocinas, con lo que disminuye la respuesta inflamatoria inmunitaria a la infección.¹¹

Aproximadamente dos tercios de las infecciones por *Yersinia enterocolítica* originan enterocolitis, como su propio nombre indica. La gastroenteritis se asocia de forma característica a la ingestión de alimentos o agua contaminados. Después de un periodo de incubación comprendido entre 1 y 10 días (media de 4 a 6), el afectado desarrolla una entidad que se caracteriza por la presencia de diarrea, fiebre y dolor abdominal, y que puede durar hasta 1 o 2 semanas. Se puede desarrollar una forma crónica de la enfermedad que llega a persistir a lo largo de varios meses. La enfermedad afecta al íleon terminal y puede parecer una apendicitis aguda en caso de afectación de los ganglios linfáticos mesentéricos. La infección por *Y. enterocolítica* es más frecuente en niños, siendo la pseudoapendicitis un problema particular de este grupo de edad.¹¹

En 1987 se descubrió por primera vez la producción de bacteriemia postransfusional y shock endotóxico por *Yersinia enterocolítica*. Debido a que los microorganismos de *Yersinia* pueden desarrollarse a 4°C, estos microorganismos se pueden multiplicar hasta alcanzar elevadas concentraciones en los productos sanguíneos ricos en nutrientes que se almacenan en el refrigerador.¹¹

Epidemiología

Mundialmente, las infecciones gastrointestinales son una de las causas más importantes de morbimortalidad entre los lactantes y niños. Se ha estimado que en Asia, África y Latinoamérica la probabilidad de que un niño muera antes de los 5 años puede llegar a 50%, aunque esto depende de factores socioeconómicos y nutricionales.¹²

Las infecciones agudas del tracto gastrointestinal figuran entre las enfermedades infecciosas más frecuentes.¹²

Los cuadros gastrointestinales pueden presentarse en cualquier época del año, pero el riesgo de sufrir estas enfermedades se incrementa en la temporada de calor.¹²

La gastroenteritis es uno de los principales motivos de demanda de atención médica en los centros de salud. A pesar de que su mayor incidencia se presenta en personas de 20 a 40 años, los niños y los ancianos son los que suelen sufrir sus efectos fulminantes, debido a la excesiva pérdida de electrolitos que aflige al cuerpo durante la enfermedad y que puede causar una deshidratación grave.¹²

El espectro de enfermedades infecciosas está cambiando en conjunto, y se observan variaciones dramáticas en nuestra sociedad y medio ambiente. En los últimos 20 años se han logrado varios avances en el conocimiento de las infecciones gastrointestinales. Entre las enfermedades del tracto gastrointestinal más frecuentes se encuentran las diarreas. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cada año tienen lugar 1,500 millones episodios en países en vías de desarrollo, resultando de éstos en 1,5 millones de muertes.¹²

En México, un estudio gubernamental realizado en 2003, reportó 4 556 decesos causados por infecciones intestinales.¹²

En 2001, la Secretaría de Salud (SSA) informó que las enfermedades gastrointestinales, ocasionadas por bacterias o parásitos, ocupaban la decimocuarta causa de fallecimientos en el nivel nacional, y que los estados con mayor incidencia eran: Chiapas, Oaxaca, Guanajuato, Veracruz, Puebla, y el Distrito Federal.¹²

Tan solo en 2008, el Seguro Social brindó 2 millones 188 consultas por enfermedades gastrointestinales, y los estados con mayor incidencia de estas infecciones fueron: Chihuahua, Coahuila, Jalisco, Michoacán, Guerrero, y Oaxaca. De acuerdo con estadísticas del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), las infecciones, como gastroenteritis, salmonelosis, tifoidea, cólera y rotavirus representan un severo problema de salud pública para nuestro país.¹²

Las epidemias de diarrea en lactantes, niños y adultos suelen ser causadas por microorganismos presentes en el agua o en alimentos contaminados.¹²

Los microorganismos que causan disentería (*E. coli* diarreagénicas, *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae*, *Clostridium difficile*, *Rotavirus*, *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*), pueden provocar cambios inflamatorios y destructivos en la mucosa del colon, por invasión directa o mediante la producción de citotoxinas.¹²

En el **cuadro 1** se hace mención de los agentes etiológicos de los diversos síndromes diarreicos existentes, por otra parte en el **cuadro 2** se mencionan las etiologías de las gastroenteritis en diversos grupos de población.¹²

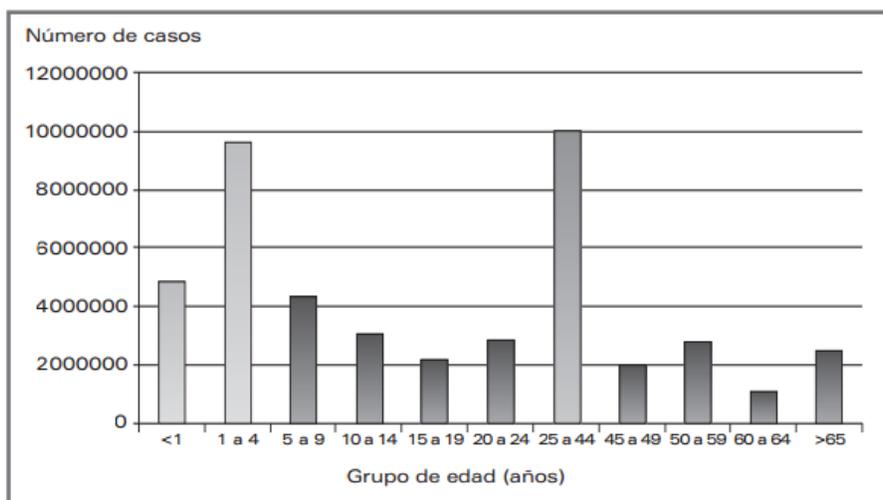
| Síndromes | Características | Agentes etiológicos |
|-------------------------------|---|--|
| Diarrea aguda líquida | Mecanismo no inflamatorio, mediado por enterotoxinas | Rotavirus <i>Escherichia coli</i> enterotoxigénica (ETEC) <i>Escherichia coli</i> enteropatógena (EPEC) <i>Escherichia coli</i> enteroadherente (EAEC) <i>Salmonella</i> spp <i>Cryptosporidium</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Giardia lamblia</i> Virus Norwalk Adenovirus 40, 41 <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Campylobacter coli</i> <i>Aeromonas</i> spp |
| Diarrea con sangre | Mecanismo inflamatorio por invasión del epitelio intestinal, denominado usualmente disentería. También hay presencia de moco y leucocitos en las heces | <i>Shigella</i> spp <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica (EHEC) <i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva (EIEC) <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Salmonella enterica</i> (Serovar Enteritidis, Choleraesuis, Paratyphi) <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Trichinella spiralis</i> <i>Schistosoma japonicum</i> <i>Balantidium coli</i> <i>Clostridium difficile</i> <i>Aeromonas</i> spp |
| Diarrea crónica/Mal absorción | Interferencia del agente infeccioso con la actividad normal del tracto gastrointestinal, pero sin daño aparente en pacientes no inmunodeficientes | <i>Giardia lamblia</i> <i>Áscaris lumbricoides</i> <i>Necator americanus</i> <i>Strongyloides stercoralis</i> <i>Trichuris trichura</i> <i>Cryptosporidium</i> <i>Isospora belli</i> <i>Enterocytozoon bienensei</i> |
| Fiebre entérica | Mecanismo invasivo con penetración a través de la mucosa intestinal y diseminación hematógena a todo el organismo <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi | <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>fetus</i> <i>Salmonella enterica</i> serovar Paratyphi A y B <i>Salmonella choleraesuis</i> <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> |
| Gastritis o atrofia gástrica | Colonización del epitelio gástrico con ulceración | <i>Helicobacter pylori</i> |

Cuadro 1. Agentes etiológicos de los diversos síndromes diarreicos existentes.¹²

| Microorganismo | Niños (0-5 años) países desarrollados | Niños (0-5 años) países en vías de desarrollo | Adultos | Diarrea del viajero |
|--------------------------------|---|---|---------|------------------------|
| Bacterias | | | | |
| <i>Escherichia coli</i> | ND | 37% | ND | 42%* |
| <i>Shigella</i> spp. | < 1% | 10% | <1% | 10% |
| <i>Salmonella</i> spp. | 25% | 1.5% | 60% | 3% |
| <i>Campylobacter</i> spp. | 40% | 3% | 5% | 2% |
| <i>Yersinia enterocolítica</i> | 2% | <1% | 2% | 2% |
| <i>Aeromonas</i> spp. | 7% | 1% | 6% | 2% |
| Virus | | | | |
| Rotavirus | 44% | 24% | ND | 1% |
| Parásitos | | | | |
| <i>Giardia lamblia</i> | 35% | 10% | ND | 10% |
| <i>Entamoeba histolytica</i> | < 1% | 3% | 5% | 7% |

Cuadro 2. Etiologías de las gastroenteritis en diversos grupos de población.¹²

La siguiente gráfica (**ver gráfica 1**) se construyó de acuerdo con la clasificación de las enfermedades infecciosas del aparato gastrointestinal (cólera, fiebre tifoidea, infecciones intestinales por otros organismos, y las mal definidas intoxicación alimentaria bacteriana, paratifoidea y otras salmonelosis y shigelosis) y teniendo presentes los datos reportados, de 2000 a 2008, en el boletín epidemiológico de México.¹²



Gráfica 1. En la gráfica se muestran los datos recopilados desde 2000 hasta 2008. Se observa que los grupos de edad más afectados son los niños menores de cinco años y los adultos de entre 25 y 44 años.¹²

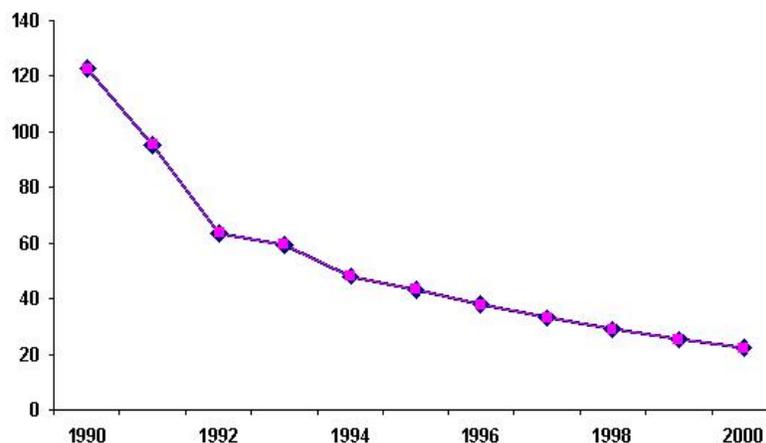
En cuanto al predominio estacional, hay mayor incidencia de gastroenteritis vírica en otoño-invierno; mientras que las bacterias afectan preferentemente en primavera-verano. En países tropicales, se observa una mayor prevalencia de gastroenteritis por rotavirus en la época seca que en la de lluvias.¹²

Panorama Epidemiológico 1990 – 2000.

En México, para 1996 las enfermedades diarreicas ocuparon uno de los primeros lugares como causa de enfermedad en los menores de cinco años, y generan el 7.4% de la demanda de consulta en los servicios de salud y el 10% de las hospitalizaciones pediátricas.¹³

El número de episodios diarreicos por niño y por año, se redujo de 4.5 a 2.2, tal como lo han demostrado diversas encuestas de carácter nacional y regional. Lo anterior se ha debido fundamentalmente a acciones específicas de los servicios de salud así como a las de otros sectores, principalmente los de educación y saneamiento básico. Es necesario destacar que el fenómeno es más grave en las áreas marginadas, urbanas y rurales.¹³

El principal componente de la reducción de la mortalidad en los menores de cinco años ha sido, en los últimos años, la disminución de la mortalidad por enfermedades diarreicas. Entre 1990 y 1997 se han evitado 55,043 defunciones por esta causa y para 1998 se espera reducir 10756 más. La tasa por 100 000 habitantes menores de 5 años disminuyó de 125.6 en 1990 a 33.32, en 1997 lo que significa una reducción de 73.5%, superior a la meta original de 50% que se implanto en la Cumbre Mundial en Favor de la Infancia. Es por eso que México se ha comprometido con una nueva meta para el año 2000, reducirla 80.7%. En 1997 se registraron 574 defunciones menos que en 1996. Si se conserva esa tendencia, la ambiciosa meta será alcanzada. En la **gráfica 2** se muestra la mortalidad por enfermedades diarreicas en México en niños menores de cinco años en un periodo de 1990 al 2000.¹³ En el 2009 se confirmaron 7595 casos de yersiniosis en humanos.⁶



Gráfica 2. Mortalidad por enfermedades diarreicas en menores de cinco años en un periodo de 1990-2000 en México.¹³

Etiología

Las enfermedades diarreicas son de naturaleza casi siempre infecciosa y de carácter autolimitado. Los agentes infecciosos que causan diarrea, generalmente se transmiten por vía fecal-oral.¹³

No es necesaria la práctica rutinaria de realizar exámenes de laboratorio para identificar al agente causal, de una diarrea aguda, excepto con fines epidemiológicos, como en el caso del cólera. En el **cuadro 3** se observa la frecuencia expresada en porcentaje y los principales mecanismos de transmisión de los diferentes microorganismos que causan diarrea.¹³

| Frecuencia | % | Agente | Mecanismo de Transmisión |
|------------|---------|--------------------------------|---|
| ALTA | | | |
| | 12 - 20 | <i>Rotavirus</i> | Contacto directo y, posiblemente aérea. |
| | 10 - 22 | <i>Escherichia coli</i> | Agua y alimentos contaminados. |
| | 12 - 15 | <i>Campylobacter jejuni</i> | Leche y otros alimentos, agua. |
| MEDIA | | | |
| | 8 - 12 | <i>Shigella sp.</i> | Contacto directo y alimentos contaminados. |
| | 2 - 6 | <i>Salmonella sp.</i> | Agua, y alimentos contaminados. |
| | 2 - 6 | <i>Giardia lamblia</i> | Agua y alimentos contaminados. |
| BAJA | 1- 3 | <i>Yersinia enterocolítica</i> | Agua y alimentos contaminados. |
| | 1 | <i>Entamoeba histolytica</i> | Contacto directo y alimentos contaminados por quistes |

Cuadro 3. Frecuencia y principales mecanismos de transmisión de los diferentes microorganismos que causan diarrea.¹³

Factores predisponentes

En los niños, los factores asociados a un mayor riesgo de enfermar o morir por enfermedades diarreicas, son los siguientes:

- Higiene personal deficiente (lavado de manos).
- Desnutrición y prácticas inapropiadas de lactancia materna.
- Peso bajo al nacimiento.
- Esquema de vacunación incompleto.
- Falta de capacitación de la madre para la higiene familiar.
- Contaminación fecal del agua y alimentos.
- Deficiencia de vitamina "A".¹³

Medidas de bioseguridad

El trabajo en el laboratorio de bacteriología médica debe ser considerado de alto riesgo para todo el personal de laboratorio debido al manejo de muestras clínicas potencialmente contaminadas con patógenos microbianos y de cultivos de microorganismos obtenidos a partir de dichas muestras clínicas. La exposición del personal de laboratorio a este riesgo debe ser minimizada y controlada mediante un plan de bioseguridad en el laboratorio clínico. Los riesgos biológicos infecciosos más comunes en el laboratorio clínico incluyen cultivos de microorganismos (bacterias, micobacterias, hongos, virus y parásitos) en altas concentraciones, muestras clínicas de origen humano o animal conteniendo agentes infecciosos y otros riesgos como toxinas, alérgenos, productos recombinantes, etc.¹⁴

Yersinia enterocolitica es un microorganismo que pertenece a nivel de bioseguridad 2 por presentar riesgo moderado para el individuo; puede provocar enfermedades humanas o en animales.

Nivel de Bioseguridad 2 (BSL-2)

Los agente asociados con enfermedades humanas se estudian en laboratorios BSL-2. Un laboratorio BSL-2 se requiere generalmente para trabajar con cualquier derivado de sangre humana, otros fluidos corporales (especialmente cuando estén visiblemente contaminados con sangre) o tejidos en los cuales la presencia de un agente infeccioso puede ser desconocida.¹⁵

Al trabajar con agentes BSL-2, los principales peligros para el personal son pinchaduras accidentales con agujas, infección potencial mediante exposición a los ojos y nariz (membranas mucosas) e ingestión de materiales infecciosos.¹⁵

Los laboratorios BSL-2 trabajan con organismos tales como el virus del sarampión, muchas especies de *salmonella*, especies patógenicas de *Toxoplasma*, *Clostridium botulinum*, virus hepatitis B y otros patógenos de la sangre.¹⁵

Los agentes BSL-2 no causan infecciones mortales y no son transmitidos por el aire. Esto significa que no causan infección si gotas minúsculas del material se transmiten por aire (se vuelven aerosol) y son inhaladas, lo que podría ocurrir si el material genera salpicaduras. Además, los

agentes estudiados en un laboratorio BSL-2 son patógenos para los cuales hay inmunización o tratamiento antibiótico disponible. Sin embargo, se debe tener extremo cuidado con las agujas e instrumentos punzantes cuando éstos están contaminados con estos agentes.¹⁵

Para reducir la infección accidental, en los laboratorios BSL-2 se incluyen las prácticas estandarizadas para laboratorios BSL-1, y adicionalmente:

- Políticas especiales y procedimientos para restringir el acceso al laboratorio mientras se desarrollan trabajos.
- Señales de advertencia de peligro biológico desplegadas fuera del laboratorio.
- Vigilancia del personal de laboratorio al cual se le ofrece inmunización adecuada.
- Manual de bioseguridad que incluye definiciones de cualquier política de descontaminación de desechos o vigilancia médica específicos a las actividades y agentes del laboratorio.
- Personal de supervisión con experiencia en el trabajo con agentes infecciosos y entrenamiento específico para personal que maneja estos agentes.¹⁵

Algunas barreras primarias en laboratorios BSL-2 son gabinetes de bioseguridad u otros aparatos de almacenamiento aprobados. Estas áreas minimizan una contaminación potencial mientras se trabaja con un agente, especialmente si hay derramamiento o aerosolización de materiales infecciosos.¹⁵

El equipo protector para el personal incluye batas de laboratorio, guantes y protección para la cara según se necesite al trabajar con agentes infecciosos. El personal debe despojarse de la ropa protectora cuando abandona el área del laboratorio.¹⁵

Los gabinetes deben descontaminarse cuidadosamente a diario y si se usan materiales radioactivos, se deben monitorear por la radioactividad, como forma de protección personal.

Las barreras secundarias incluyen todas las barreras BSL-1 además de un autoclave (máquinas de esterilización) para material de vidrio.¹⁵

Control de calidad

Fase pre-analítica

Llevar la solicitud expedida por el médico.

Todas las muestras deben ir acompañadas de una solicitud debidamente formulada. La solicitud debe contener la siguiente información:

- La identificación completa del paciente debe incluir:
 - Nombre completo
 - Sexo
 - Fecha de nacimiento
 - Datos para localizarlo
 - Dirección
 - Número de identificación que proporcione una forma única de identificarlo.
- El médico solicitante debe identificarse con:
 - Nombre completo

-Dirección

-Número de teléfono o código.

➤ Tipo de material biológico

-Especificar la fecha (en ocasiones la hora del día o intervalo de tiempo) en que se colecto la muestra.¹⁶

Muestreo de heces

La obtención de las heces se realiza, por lo general, para análisis microbiológico o parasitológico. Se obtienen permitiendo que las heces caigan dentro de un recipiente de boca ancha. Algunas veces, sobre todo en los niños, es necesario obtener una muestra con un hisopo. El hisopo se introduce por el esfínter anal y se rota cuidadosamente. Al extraerlo se coloca en el medio de transporte Cary-Blair.¹⁶

Las muestras de heces se deben trasportar rápidamente al laboratorio (en menos de 1 hora), ya que muchas bacterias enteropatógenas no toleran los cambios de pH que ocurren en las heces.¹⁶

CULTIVO E IDENTIFICACION DE ENTEROBACTERIAS

1. Indicaciones:

En casos de diarrea aguda y de disentería.¹³

2. Muestra:

Hisopo rectal o materia fecal.¹³

HISOPO RECTAL

Toma: La muestra se toma introduciendo la punta de un hisopo de algodón humedecido en solución salina o medio de transporte en el recto y haciéndolo rotar ligeramente. Estará bien tomada si observamos un ligero color café en el hisopo. Una vez tomada la muestra se introduce el hisópo hasta el fondo en un tubo con medio de transporte Cary-Blair que debe estar bien tapado (tapón de rosca). Para estudios bacteriológicos se envía inmediatamente después de haberse tomado. En caso de ser para estudios virales mandarlo en refrigeración, aunque no se recomienda usar hisópo para el caso de virus.

Envío: Si se trata de estudios bacteriológicos no hay que refrigerar el paquete, pero sí en el caso de estudios virales.¹³

MATERIA FECAL

Toma: Las muestras fecales pueden ser obtenidas en recipientes limpios de boca ancha y con tapa hermética que permitan su fácil transporte, de preferencia que no sean de vidrio. Las heces obtenidas del suelo, excusado así como del pañal no son satisfactorias, debido a que pueden contaminarse con material extraño.

Envío: La muestra se debe enviar de inmediato al laboratorio.¹³

3. Procedimiento:

El cultivo de heces se conoce como coprocultivo y permite el aislamiento de enterobacterias que con frecuencia son causa de cuadros diarreicos. Las más importantes son *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Yersinia enterocolítica*, *Campylobacter* spp y *Escherichia coli*. Si no se tiene alguna sospecha en particular acerca del agente etiológico responsable, la muestra se siembra en un medio de enriquecimiento (caldo tetracionato) y en por lo menos dos medios selectivos (MacConkey, EMB, verde brillante, Salmonella-Shigella, sulfito de bismuto, etc). Posteriormente a la incubación se seleccionan las colonias características y se identifica el género y la especie. En caso de tratarse de *Salmonella*, *Shigella* o *Escherichia coli*, se determinan sus antígenos de superficie (serotipificación). En el caso de *Escherichia coli*, se recurre a técnicas de biología molecular para el estudio de la producción de toxinas.¹³

4. Resultado:

Se reporta el aislamiento de las bacterias patógenas dando género, especie y serotipo.¹³

Fase analítica

Diagnóstico de laboratorio

Yersinia puede cultivarse a partir de muestras adecuadas en un agar MacConkey o en un agar de cefsulodina-irgasán-novobiocina (CIN, un medio selectivo para *Yersinia*)¹⁸, que inhibe el crecimiento de otras bacterias. Por otra parte, aprovechando su capacidad de crecimiento a temperaturas inferiores a 37°C, es conveniente cultivarla **en un medio enriquecido en frío, para permitirle crecer selectivamente**. Una variante para el cultivo es la incubación del hisopo rectal a 4°C por dos o tres semanas, antes de inocular el medio de cultivo¹. La identificación se realiza mediante pruebas bioquímicas. En ausencia de cultivos positivos, las pruebas serológicas para detectar anticuerpos anti *Yersinia* pueden ayudar a establecer un diagnóstico.¹⁷

Y. enterocolítica produce colonias en ojo de buey (centros de color rojo oscuro o rojo oscuro con variantes purpúreas rodeados por un borde traslúcido) en CIN a las 48 horas. Sin embargo, como la mayoría de las especies de *Aeromonas* produce colonias similares en CIN, es importante realizar una prueba de oxidasa para verificar que los microorganismos son especies de *Yersinia*. (oxidasa negativas).¹⁸

Yersinia enterocolítica crece en agar MacConkey y agar SS (en los que forma colonias transparentes), en agar entérico de Hektoen (las colonias son de color salmón porque fermenta la

sacarosa) y en agar XLD (donde forma colonias amarillas por fermentar la xilosa). Al crecer más lentamente que el resto de las enterobacterias a 37°C las colonias son muy pequeñas y pueden pasar desapercibidas. Para mejorar su recuperación se usan medios selectivos y diferenciales, como el agar (CIN) que incorpora cefsulodina, irgasan, novobiocina y manitol. Los métodos de enriquecimiento no son rentables para el diagnóstico de la diarrea, ya que no incrementan significativamente la recuperación de fenotipos patógenos de *Yersinia enterocolitica*. No todas las cepas aisladas poseen significación clínica, lo que hace recomendable estudiar marcadores epidemiológicos (serotipificación, biotipificación, fagotipificación) que ayuden a caracterizar el aislado. La serotipificación es sencilla y parece ser una buena marcadora de virulencia. En España hay un claro predominio del serogrupo O:3.¹⁹

Prueba de pirazinamidasa

- ✓ Sembrar una asada de un cultivo en fase de desarrollo activo en la superficie de dos tubos de agar pirazinamidasa.
- ✓ Incubar los tubos con tapas flojas a temperatura ambiente.
- ✓ Sacar uno de los tubos después de 4 días
- ✓ Agregar 1.0ml de sulfato amónico ferroso al 1%.
- ✓ Observar el tubo en busca de la aparición de una banda rosada en el agar después de 30 minutos a temperatura ambiente.
- ✓ Colocar en el refrigerador los tubos negativos y examinar nuevamente a las 4 horas en busca de la banda rosada.⁴

Interpretación

Después de 4 horas observar los tubos en busca de la aparición de una banda rosada en la capa de reactivo sobre la superficie del agar (reacción positiva), utilizando luz incidente contra un fondo blanco. Repetir el procedimiento con el tubo restante después de 7 días de incubación.⁴

Prueba de hidrólisis de la esculina

El medio de esculina sin bilis es útil para diferenciar varias especies de bacilos no fermentadores. La esculina es un compuesto fluorescente bajo luz ultravioleta a 360nm. Cuando se hidroliza la fluorescencia se pierde y el medio vira al negro.⁴

Después de tomar el centro de una colonia bien aislada, con un asa sembrar el microorganismo en la superficie de un tubo de agar en pico de flauta o en un tubo de caldo. Incubar de 18 a 24 horas a temperatura ambiente.⁴

Interpretación

El desarrollo de un color negro o la pérdida de fluorescencia bajo la luz ultravioleta (360nm) se interpreta como un resultado positivo. La presencia de fluorescencia o la ausencia de color negro indican un resultado negativo.⁴

Las relaciones antigénicas existentes entre el género *Yersinia* y otras bacterias gramnegativas, han sido determinadas por inmunoelectroforesis. *Y. enterocolitica*, *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* poseen una estructura antigénica muy similar. Han podido demostrarse 12 componentes

antigénicos comunes. Estas 3 especies, por otra parte, poseen al menos de 4 a 6 componentes antigénicos comunes con miembros de la familia Enterobacteriaceae, 1 a 2 con *Pasteurella multocida*, y ninguno con *Pseudomonas aeruginosa*.²⁰

A pesar del desarrollo basado en DNA (principalmente métodos de PCR en tiempo real) que han mejorado la sensibilidad de la detección e identificación de patógenos de *Yersinia* no son ni prácticos ni rápidos. El PCR en tiempo real tiene el potencial de superar algunas de las limitaciones fundamentales del PCR convencional, pero su aplicación sigue siendo dudosa para la detección directa y cuantificación de la carga bacteriana en muestras complejas, tales como leche, carne, etc. La pre-PCR en la etapa de enriquecimiento es el principal obstáculo para la cuantificación de *Yersinia spp.*⁶

Serotipificación de *Yersinia enterocolitica*

La tipificación se realiza utilizando un prueba de aglutinación específica O:1, O:2, O:3, O:5, O:8, y O:9 de *Yersinia enterocolitica*.²¹

La serotipificación en base al antígeno O con técnicas de aglutinación y ELISA permite establecer el diagnóstico de infección en forma rápida, ya que el cultivo puede demorarse de una a tres semanas.¹

El diagnóstico serológico se establece a través de hemaglutinación indirecta, aglutinación bacteriana directa, inmunoprecipitación, aglutinación por anticuerpos monoclonales. El fundamento de estas técnicas diagnósticas es la detección del antígeno O de *Yersinia enterocolitica*. El problema con la serología es que en menores de dos años la respuesta de anticuerpos es relativamente pobre, y por lo tanto, da falsas negativas. Es frecuente la reacción cruzada del serotipo O:9 de *Yersinia enterocolitica* con *Brucella abortus*, lo cual arroja pruebas falsas positivas. Se consideran títulos diagnósticos los de 1:128. Títulos menores son considerados positivos en lactantes e inmunodeficientes. Por otra parte, es factible determinar con antisueros específicos el serotipo, así como sus biotipos, lo que tiene importancia sobre todo por fines epidemiológicos.¹

Susceptibilidad antimicrobiana

La susceptibilidad a los antibióticos en el aislamiento de enteropatógenos está determinada por el método de difusión en disco en placas de agar Mueller-Hinton usando los inóculos de calibración de la escala de McFarland con los siguientes antibióticos: ampicilina (AM), amoxicilina (AC), cloranfenicol (C), tetraciclina (T), cefalexina (CN), trimetoprim/sulfametoazol (STX), ceftazidima (CAZ), ceftriaxona (CRO), gentamicina (GN), amikacina (AK), cefuroxima (CXM), ciprofloxacina (CIP) y meropenem (MER).²¹

Fase post-analítica

Para dar un diagnóstico seguro de *Yersinia enterocolitica* se debe tomar en cuenta todos los resultados de las diferentes pruebas que se realizaron tanto microscópicas, macroscópicas y bioquímicas para evitar confusión con otras enterobacterias.

El médico interpretara los resultados obtenidos por los diferentes métodos y recetara el medicamento más indicado para el paciente.

INFORME DE RESULTADOS

OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA: Tinción de Gram:

Yersinia enterocolitica es un bacilo gramnegativo, con bordes redondeados, no producen cápsula de gran espesor y no forman esporas como se observa en la **figura 1**.¹

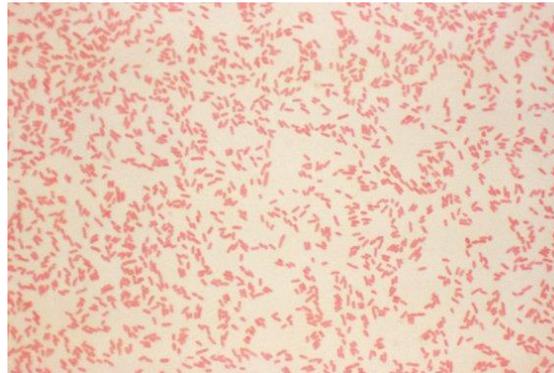


Figura 1. Morfología microscópica de *Yersinia enterocolitica* mediante la tinción de Gram.²²

OBSERVACION MACROSCOPICA: Identificación en medios de cultivo:

En la **figura 2** se observan las colonias de *Yersinia enterocolitica* “en ojo de buey” en agar cefsoludina-irgasán-novobiocina (CIN).¹⁸



Figura 2. Colonias de *Yersinia enterocolitica* “en ojo de buey” en agar CIN.²³

En la **figura 3** se observa que en el agar entérico de Hektoen las colonias son de color salmón porque fermenta la sacarosa.



Figura 3. Colonias de *Yersinia enterocolitica* en agar Hektoen.²⁴

En la **figura 4** se muestra la fermentación de la xilosa en al agar XLD donde se observan colonias amarillas.

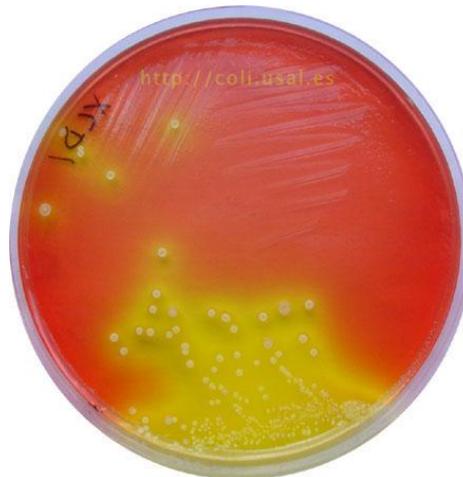


Figura 4. Colonias de *Yersinia enterocolitica* en agar XLD.²⁵

Pruebas bioquímicas

En el **cuadro 4** se muestran los resultados de las pruebas bioquímicas de *Yersinia enterocolitica*.²⁶

| Pruebas | <i>Yersinia enterocolitica</i> |
|--------------------------------|--------------------------------|
| Catalasa | + |
| Oxidasa | - |
| Reducción de nitratos | + |
| O/F glucosa | F |
| Xilosa | V |
| Trehalosa | A |
| Producción de H ₂ S | - |
| Indol | V |
| RM | + |
| VP 22°C 37°C | V ⁺ - |
| Citrato de Simmons | - |
| Ureasa | V |
| ONPG | + |
| Movilidad 22°C | + |
| Movilidad 37°C | - |
| Pirazinamidasa | + |
| Fermentación de salicina | + |
| Hidrólisis de esculina | + |

Cuadro 4. Resultado de las principales pruebas bioquímicas de *Yersinia enterocolitica*.²⁶

- + 90-100%
- 0-10%
- F fermentación
- V resultados variables, 26-75%
- V⁺ 76-90%
- A ácido

Tratamiento

La necesidad de tratamiento antimicrobiano para la enterocolitis y la linfadenitis mesentérica no está establecida. En los casos de bacteriemia, piperaciclina, cefalosporinas de tercera generación, aminoglucósidos y trimetoprim/sulfametoxazol pueden ser eficaces. *Yersinia enterocolítica* con frecuencia es resistente a ampicilina y cefalosporinas de primera generación.¹⁸

Prevención

Las medidas preventivas son las necesarias para cualquier proceso infeccioso intestinal. Para la comunidad: lavado de manos después de ir al baño, manejo adecuado de excretas y un correcto procesamiento de los alimentos, especialmente de la leche. Para evitar brotes nosocomiales, se recomienda el aislamiento entérico, con las siguientes medidas: lavado de manos del personal de salud al manejar al paciente, uso de bata y de guantes al tener contacto con pacientes y precaución con las excretas mientras haya coprocultivos positivos.¹

Planteamiento del problema

Yersinia enterocolítica se ha transformado en causa importante de diarrea, los cerdos parecen ser el principal reservorio de la infección.⁴

Yersinia enterocolítica es un patógeno de transmisión alimentaria y la mayoría de los casos ocurren en forma esporádica.⁷

Las enfermedades gastrointestinales son una de las primeras causas de consulta médica y también una de las primeras causas de muerte en México y en el mundo. Por ello, se les considera un problema de salud pública en el nivel mundial, que afecta a personas de cualquier edad y condición social, aunque los grupos más vulnerables son los niños y los ancianos.¹²

En México, un estudio gubernamental realizado en 2003, reportó 4 556 decesos causados por infecciones intestinales. En 2001, la Secretaría de Salud (SSA) informó que las enfermedades gastrointestinales, ocasionadas por bacterias o parásitos, ocupaban la decimocuarta causa de fallecimientos en el nivel nacional, y que los estados con mayor incidencia eran: Chiapas, Oaxaca, Guanajuato, Veracruz, Puebla, y el Distrito Federal.¹⁵

Tan solo en 2008, el Seguro Social brindó 2 millones 188 consultas por enfermedades gastrointestinales, y los estados con mayor incidencia de estas infecciones fueron: Chihuahua, Coahuila, Jalisco, Michoacán, Guerrero, y Oaxaca. De acuerdo con estadísticas del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), las infecciones, como gastroenteritis, salmonelosis, tifoidea, cólera y rotavirus representan un severo problema de salud pública para nuestro país.¹⁵

Se dio a conocer en este manual integral la correcta identificación de *Yersinia enterocolítica* por medio de pruebas especiales que son: su capacidad para crecer a bajas temperaturas (de 0 a 22°C), aprovechando esta capacidad de crecimiento es conveniente utilizar un enriquecimiento en frío para permitirle crecer selectivamente, permitir un amplio rango de pH (5.0–9.6), los medios de cultivo adecuados son agar MacConkey y agar CIN, en este último *Yersinia enterocolítica* produce colonias en ojo de buey (centros de color rojo oscuro o rojo oscuro con variantes purpúreas rodeados de un borde traslúcido), prueba de oxidasa para verificar que se trata de *Yersinia* y no de especies de *Aeromonas* ya que producen colonias similares en CIN. La identificación clínica se logra incubando las placas durante 24 horas a temperatura ambiente, y las indicaciones al paciente para la recolección de la muestra.

Con este manual se fortalece la marcha diagnóstica para la identificación de este género ya que se confunde con otras Enterobacterias.

Objetivos

- ✓ Realizar un manual que proporcione información integral sobre la marcha microbiológica para la correcta identificación de *Yersinia enterocolitica*.
- ✓ Dar a conocer al personal de la salud como al Q.F.B. un manual que presenta la marcha diagnóstica de esta bacteria así como la confusión con otro género de Enterobacterias.
- ✓ Fortalecer por medio de este manual la enseñanza aprendizaje en el módulo de microbiología médica de la carrera de Q.F.B. y áreas afines.

Metodología

Se realizó la revisión bibliográfica de fuentes secundarias tanto libros: Microbiología médica, Diagnóstico microbiológico, Bacteriología diagnóstica y artículos electrónicos de *Yersinia enterocolítica* de hace 10 años sin omitir la información clásica.

Se seleccionó y evaluó la información.

Se organizó la información:

- ❖ Introducción
- ❖ Taxonomía
- ❖ Características microbiológicas generales
- ❖ Reservorio y fuente de infección
- ❖ Epidemiología
- ❖ Tipos de diarrea
- ❖ Patogénesis
- ❖ Mecanismos de transmisión
- ❖ Anatomía y fisiología de órganos afectados
- ❖ Aparato digestivo
- ❖ Cuadro clínico
- ❖ Medidas de bioseguridad
- ❖ Control de calidad
- ❖ Tratamiento
- ❖ Prevención
- ❖ Referencias
- ❖ Anexos
- ❖ Glosario

Se transcribió la información.

Se hizo la revisión del avance por el director de tesis.

Se llevo a cabo la elaboración del Manual de Diagnóstico Microbiológico en apoyo a la docencia.

Diagrama de flujo



Resultados

Se elaboró un Manual Integral para el Diagnóstico Microbiológico de *Yersinia enterocolitica* en donde se da a conocer información microbiológica abarcando su morfología, tipo de muestra, medios de cultivo útiles, pruebas específicas para su correcta identificación, cuadro clínico entre otros, e información epidemiológica donde nos dice que no es el único microorganismo que causa diarrea por lo tanto se confunde con otros microorganismos, y la tasa de morbimortalidad que existe en México.

Se muestra el manual integral de diagnóstico microbiológico como resultado de la investigación.



ÍNDICE

| | |
|--|----|
| Introducción | 27 |
| Capítulo 1 Taxonomía..... | 28 |
| 1.1 Características microbiológicas generales | 28 |
| 1.2 Reservorio y fuentes de infección | 29 |
| Capítulo 2 Epidemiología..... | 31 |
| 2.1 Reservorio- Fuente de infección | 31 |
| 2.2 Sujeto sano susceptible..... | 31 |
| Capítulo 3 Tipos de diarrea | 36 |
| Capítulo 4 Patogénesis | 38 |
| Capítulo 5 Mecanismo de transmisión..... | 41 |
| Capítulo 6 Anatomía y fisiología de órganos afectados por <i>Yersinia enterocolitica</i> | 45 |
| 6.1 Aparato digestivo | 45 |
| Capítulo 7 Cuadro clínico | 47 |
| 7.1 Síndrome diarreico (enterocolitis) | 48 |
| 7.2 Ileítis terminal | 48 |
| 7.3 Linfadenitis mesentérica (síndrome pseudoapendicular)..... | 48 |
| 7.4 Septicemia | 48 |
| 7.5 Lesiones focales supurativas | 49 |
| 7.6 Alteraciones post-infecciosas..... | 49 |
| 7.7 Complicaciones | 50 |
| Capítulo 8 Medidas de bioseguridad..... | 51 |
| 8.1 Nivel de Bioseguridad 2 (BSL-2) | 51 |
| Capítulo 9 Diagnóstico Microbiológico | 53 |
| 9.1 Control de calidad | 53 |
| 9.1.1 Etapas del control de calidad | 53 |
| Capítulo 10 Tratamiento | 69 |
| Capítulo 11 Prevención | 70 |
| Referencias..... | 71 |
| Capítulo 12 Anexos..... | 80 |
| Anexo 1..... | 80 |
| Anexo 2..... | 82 |

| | |
|----------------|-----|
| Anexo 3..... | 90 |
| Anexo 4..... | 107 |
| Anexo 5..... | 110 |
| Anexo 6..... | 115 |
| Anexo 7..... | 116 |
| Glosario | 117 |

Introducción

La familia Enterobacteriaceae constituye el conjunto mayor y más heterogéneo de bacilos gramnegativos de importancia médica.

Las Enterobacterias como *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*, *Vibrio*, *Campylobacter* y *Yersinia* están muy distribuidas en la naturaleza y el hombre forma parte de la flora comensal del intestino.

Yersinia enterocolítica está reconocida como un patógeno importante que ocasiona una serie de infecciones que abarcan desde diarreas inespecíficas hasta afecciones invasivas, dependiendo de la cepa, la dosis, edad y condiciones inmunológicas del huésped.

El objetivo de este manual integral es dar a conocer esta bacteria ya que de las enfermedades diarreicas producidas por Enterobacterias, *Yersinia enterocolítica* es muy poco identificada en los laboratorios clínicos por falta de conocimiento y su confusión con otras Enterobacterias, por lo tanto se pretende que el Q.F.B y el personal de salud conozca las condiciones de enriquecimiento, su capacidad de crecer con amplios rangos de temperatura, la adecuada selección de medios de cultivo ideales para *Yersinia enterocolítica* y una batería de pruebas bioquímicas para completar su identificación, así como las enfermedades que causa para comparar con el probable diagnóstico entre otras pruebas más específicas que se mencionan como es la serología.

Estas manifestaciones se encuentran muy distribuidas en todo el mundo, y es más frecuente de lo que se piensa. Lo que sucede es que en algunos casos no se manifiesta clínicamente, muchos otros con sintomatología leve, que nos obliga a acudir al médico.

Se muestra la marcha diagnóstica para poder diferenciar a *Yersinia enterocolítica* de otras bacterias pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae.

Capítulo 1 Taxonomía

Yersinia es un género de la familia *Enterobacteriaceae* de acuerdo a lo establecido por Ewing y Edwards.¹

Yersinia enterocolitica fue descrita en 1939 como causal de patología en el humano, clasificándola inicialmente como *Bacterium enterocolitica*, posteriormente ha sido reclasificada en varias ocasiones, pero en el año de 1964 recibe su clasificación definitiva dentro de las especies de *Yersinia*.¹

1.1 Características microbiológicas generales

Yersinia enterocolitica es una bacteria pequeña de 0.5-0.8µm de ancho y 1-3 µm de longitud es un bacilo, cocobacilo gramnegativo, con bordes redondeados, aerobios y anaerobios facultativos de coloración bipolar, pleomórfico, no esporulado, no producen cápsula de gran espesor (**ver figura 1**) e inmóvil a temperatura de 37°C y móvil a 22°C, sus condiciones de cultivo son entre 0°C y 45°C siendo el óptimo a 25-28°C, es capaz de crecer a bajas temperaturas de 0 a 8°C y tolerar un amplio rango de pH (5.0-9.6) . Metabólicamente, son fermentadores positivos, catalasa positivos, en ocasiones producen gas, ureasa positivos, lactosa negativos, oxidasa negativos y crece en forma de colonias pequeñísimas en medios altamente selectivos.²⁻⁶

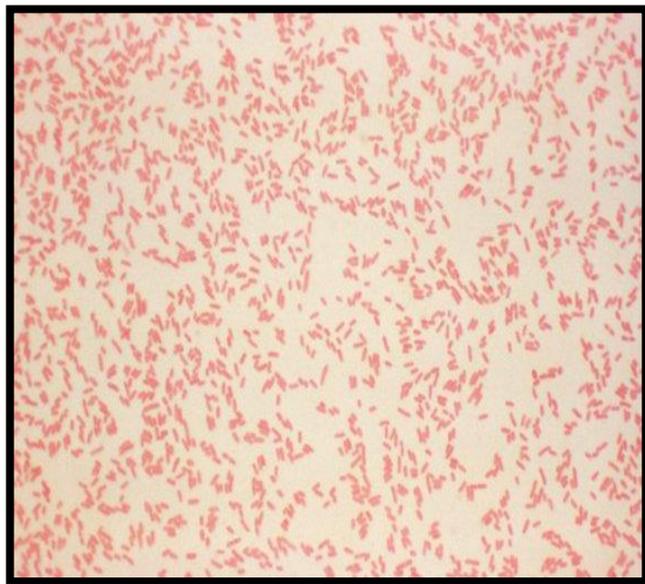


Figura 1. Morfología microscópica de *Yersinia enterocolitica*.⁹

El primer aislamiento en medios sólidos, aparecen colonias lisas de aproximadamente 0.5-2.0mm de diámetro, mientras que en los subcultivos pueden aparecer colonias rugosas. Posee varias características fenotípicas dependientes de la temperatura; cuando la bacteria se cultiva a 25° C posee flagelos peritricos, pero no cuando se cultiva a 35°C.⁷

Constituyen un grupo heterogéneo que puede sobrevivir y crecer a temperaturas de refrigeración (un argumento fuerte para el uso de enriquecimiento en frío).⁸

Se reconoce que existen dos variedades muy importantes de *Yersinia enterocolítica*. Una variedad compuesta por cepas de tipo ambiental o no invasoras que son no patógenas y otra compuesta por cepas invasoras o virulentas que producen enfermedad en los humanos.⁷

1.2 Reservorio y fuentes de infección

Los agentes infecciosos son variados: bacterias, virus, hongos, protozoos, y por lo general no se encuentran aislados, sino en seres vivos que los eliminan al exterior, por lo que también pueden localizarse en objetos inanimados que les sirven de soporte. Se considera reservorio donde el microorganismo vive habitualmente y se multiplica en condiciones normales: la fuente de infección constituye el hábitat ocasional a partir del cual se transmite. Reservorio y fuente de infección pueden ser: el hombre, los animales y objetos inanimados (fómites). Cuando la fuente de infección es el hombre se habla de infecciones homólogas (gripe); cuando es un animal, de infecciones heterólogas (zoonosis, brucelosis, rabia); el suelo es a menudo reservorio.¹⁰

Yersinia enterocolítica se ha detectado de fuentes ambientales tales como¹⁰ suelo, agua, animales y una variedad de alimentos.^{8,11}

Se puede encontrar en las carnes (cerdo, carne de vaca, cordero, etc.), las ostras, los pescados. La causa exacta de la contaminación de los animales es desconocida. Sin embargo, el predominio de este organismo en el suelo y en animales tales como castores, cerdos y las ardillas, ofrece las oportunidades amplias para que se incorpore a nuestro suministro de alimentos. El saneamiento pobre y las técnicas incorrectas de esterilización de los manipuladores de los alimentos, incluyendo el almacenaje incorrecto, no se pueden pasar por alto como contribuyentes a la contaminación. Los alimentos refrigerados son vehículos potenciales porque la contaminación es posible en el sitio de fabricación o en el hogar. Este organismo puede sobrevivir y crecer durante almacenaje refrigerado.¹¹

La contaminación de los cerdos en las granjas con *Yersinia enterocolítica*, se produce principalmente por las heces de los animales y por los suelos contaminados.⁷

Esta contaminación también se puede adquirir durante el transporte y en los locales de desecho del matadero.⁷

Durante el proceso por los que se transforman los seres vivos en productos de consumo humano directo e industriales (carnización) las canales pueden contaminarse con este microorganismo en las etapas de eviscerado, inspección post-mortem y durante las operaciones de separación de la cabeza, de la lengua y durante la eliminación de la faringe y las amígdalas.⁷

La transmisión de *Yersinia* en humanos se produce principalmente por la ingestión de agua o alimentos contaminados con cepas patógenas. La infección está fuertemente asociada al consumo de carne de cerdo fresca o poco cocida.⁷

El cerdo es el principal reservorio de las cepas patogénicas para el humano, la transmisión a partir de alimentos contaminados es la principal ruta de infección, aunque puede no siempre ser identificada. Algunas otras vías que se han encontrado son: contacto con animales domésticos enfermos, diseminación hematológica secundaria a productos contaminados y la transmisión indirecta a lactantes y niños de adultos que manejan productos de cerdo crudos. El inóculo para causar infección de persona a persona por la vía oro-fecal es alto 10^9 UFC ($\geq 10^5$) lo que hace poco probable la transmisión.^{11, 12}

La mayoría de los aislamientos ambientales no son virulentos, sin embargo, los aislamientos recuperados a partir de fuentes porcinas contienen serogrupos patógenos de humanos. Además, otros estudios han sugerido que los perros, ovejas, roedores silvestres y agua del medio ambiente también pueden ser un reservorio de las cepas de *Yersinia enterocolítica* patógena.²

Vías de exposición

Las yersinias se transmiten por vía fecal-oral y se considera que la fuente de infección principal son los alimentos, en particular la carne y los productos cárnicos, la leche y los productos lácteos. También puede producirse infección por ingestión de agua contaminada, y se ha comprobado asimismo la transmisión directa entre personas y de animales a personas.¹³

Los casos se producen, en su mayoría, durante la temporada fría. También se han notificado casos de transmisión nosocomial y por transfusión de sangre almacenada obtenida de donantes asintomáticos o que tenían una afección digestiva leve.¹⁴

Periodo de incubación

El periodo de incubación es de 3 a 7 días, por lo común menos de 10 días.¹⁴

Periodo de transmisibilidad

La transmisión secundaria parece ser rara. El agente se excreta por las heces mientras duran los síntomas, por lo general 2-3 semanas, pero en enfermos no tratados se puede excretar el microorganismo durante 2-3 meses. Se han señalado casos de portadores asintomáticos tanto en adultos como en niños.¹⁴

Capítulo 2 Epidemiología

Los microorganismos patógenos no sólo son capaces de producir infección, sino que además pueden ser transmisibles, es decir, pueden llegar a otros huéspedes por diversos mecanismos y difundir la enfermedad en la población. La epidemiología es la ciencia que se ocupa de las enfermedades transmisibles y de los factores que determinan su frecuencia y distribución en la población.¹⁰

Para que una infección transmisible se produzca es necesario la existencia de los llamados factores epidemiológicos primarios:

- Reservorio.
- Fuente de infección.
- Mecanismo de transmisión.
- Huésped o población susceptible.¹⁰

Los factores epidemiológicos secundarios incluyen: factores de tipo social, factores económicos, políticos, religiosos, etc.¹⁰

2.1 Reservorio- Fuente de infección

Los agentes infecciosos son variados y por lo general no se encuentran aislados, sino en seres vivos que los eliminan al exterior, por lo que también pueden localizarse en objetos inanimados que les sirven de soporte. Se considera reservorio donde el microorganismo vive habitualmente y se multiplica en condiciones normales: la fuente de infección constituye el hábitat ocasional a partir del cual se transmite. A veces el reservorio y la fuente de infección coinciden en determinados procesos (fiebre tifoidea), si bien pueden darse perfectamente por separado. Reservorio y fuente de infección pueden ser: el hombre, los animales y objetos inanimados (fómites). Cuando la fuente de infección es el hombre se habla de infecciones heterólogas (zoonosis, antropozoonosis) (brucelosis, rabia); el suelo es a menudo reservorio.¹⁰

El hombre puede ser fuente de infección como enfermo y portador, sano, en el período de incubación y en la convalecencia.¹⁰

Los animales como fuente de infección pueden ser: vertebrados e invertebrados.¹⁰

2.2 Sujeto sano susceptible

El individuo sano dispone en su cuerpo de barreras naturales contra las infecciones, que pueden ser mecánicas, químicas e inmunológicas.¹⁰

Las barreras mecánicas inhiben físicamente la adherencia y penetración de los agentes infecciosos. La piel, los pelos, las cubiertas mucosas, la actividad natural del aseo y las células epiteliales

ciliadas, constituyen barreras mecánicas que ayudan a eliminar microorganismos patógenos, así como otras funciones fisiológicas tales como: estornudos, tos, vómitos, micción, diarrea.¹⁰

Las barreras químicas están constituidas por el sudor y los productos secretados por las glándulas sebáceas, las lagrimales y el pH de la mayoría de las secreciones fisiológicas.¹⁰

Las barreras inmunológicas comprenden las respuestas humorales (creación de anticuerpos específicos, activación inespecífica del sistema del complemento) y la respuesta mediada por células (células fagocíticas y células inmunocompetentes). En el momento en que se producen alteraciones del estado inmunitario hay más probabilidad de que se produzca la infección. La situación del individuo respecto a: edad, sexo, estado de salud, calidad de vida, etc., influye en el desarrollo de la infección al condicionar la respuesta inmune.¹⁰

Mundialmente, las infecciones gastrointestinales son una de las causas más importantes de morbimortalidad entre los lactantes y niños. Se ha estimado que en Asia, África y Latinoamérica la probabilidad de que un niño muera antes de los 5 años puede llegar a 50%, aunque esto depende de factores socioeconómicos y nutricionales. Las enfermedades gastrointestinales infecciosas son causadas por bacterias, parásitos y virus al consumir alimentos y agua contaminados con materia fecal.¹⁵

Las infecciones agudas del tracto gastrointestinal figuran entre las enfermedades infecciosas más frecuentes. Los cuadros gastrointestinales pueden presentarse en cualquier época del año, pero el riesgo de sufrir estas enfermedades se incrementa en la temporada de calor.¹⁵

Las enfermedades gastrointestinales son una de las primeras causas de consulta médica y también una de las primeras causas de muerte en México y en el mundo. Por ello, se las considera un problema de salud pública en el nivel mundial, que afecta a personas de cualquier edad y condición social, aunque los grupos más vulnerables son los niños y los ancianos.¹⁵

Las manifestaciones clínicas más destacadas de la gastroenteritis son: fiebre, vómito, dolor abdominal, y diarrea moderada o intensa. La gastroenteritis es uno de los principales motivos de demanda de atención médica en los centros de salud. A pesar de que su mayor incidencia se presenta en personas de 20 a 40 años, los niños y los ancianos son los que suelen sufrir sus efectos fulminantes, debido a la excesiva pérdida de electrolitos que aflige al cuerpo durante la enfermedad y que puede causar una deshidratación grave.¹⁵

El espectro de enfermedades infecciosas está cambiando en conjunto, y se observan variaciones dramáticas en nuestra sociedad y medio ambiente. En los últimos 20 años se han logrado varios avances en el conocimiento de las infecciones gastrointestinales. Entre las enfermedades del tracto gastrointestinal más frecuentes se encuentran las diarreas. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cada año tienen lugar 1,500 millones episodios en países en vías de desarrollo, resultando de éstos en 1,5 millones de muertes.¹⁵

En México, un estudio gubernamental realizado en 2003, reportó 4 556 decesos causados por infecciones intestinales. En 2001, la Secretaría de Salud (SSA) informó que las enfermedades gastrointestinales, ocasionadas por bacterias o parásitos, ocupaban la decimocuarta causa de

fallecimientos en el nivel nacional, y que los estados con mayor incidencia eran: Chiapas, Oaxaca, Guanajuato, Veracruz, Puebla, y el Distrito Federal.¹⁵

Tan solo en 2008, el Seguro Social brindó 2 millones 188 consultas por enfermedades gastrointestinales, y los estados con mayor incidencia de estas infecciones fueron: Chihuahua, Coahuila, Jalisco, Michoacán, Guerrero, y Oaxaca. De acuerdo con estadísticas del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), las infecciones, como gastroenteritis, salmonelosis, tifoidea, cólera y rotavirus representan un severo problema de salud pública para nuestro país.¹⁵

Según la OMS se estima que 1,8 millones de personas mueren cada año en el mundo debido a enfermedades diarreicas (incluido el cólera), 90% de esas personas son niños menores de cinco años, principalmente procedentes de países en desarrollo. Se considera que 88% de las enfermedades diarreicas son producto de un abastecimiento de agua insalubre y de un saneamiento y una higiene deficientes lo cual si fuera corregido habría una reducción entre 21% y 32% de la morbilidad por diarrea, además las medidas de higiene, entre ellas la educación sobre el tema y la insistencia en el hábito de lavarse las manos, pueden reducir el número de casos de diarrea en hasta 45%.¹⁶

En la última década del siglo XX, la Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) fue uno de los problemas de salud pública más serios en los países en desarrollo y se constituye en una de las principales causas de enfermedad y muerte en los niños menores de 5 años, la mayor morbimortalidad la sufren los niños menores de dos años y se estima que aproximadamente de 80% a 90% de las muertes por diarrea, ocurre en ese grupo de edad.¹⁶

De acuerdo con estudios efectuados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF), las dos principales complicaciones de las EDA son la deshidratación y la desnutrición. Cada año en las Américas, más de 250.000 niños mueren antes de los 5 años por enfermedades que podrían prevenirse fácilmente. Estas muertes ocurren principalmente por diarrea, neumonía, desnutrición, y otras enfermedades prevenibles por vacunación. Estas enfermedades son también la causa de 60 a 80% de las consultas pediátricas en los servicios de salud y de 40 a 50% de las hospitalizaciones de niños menores de 5 años. Esta abrumadora carga de sufrimiento y muerte ocurre en todos los países de América Latina y el Caribe, pero es más seria en países donde las tasas de mortalidad infantil superan 40 muertes por mil nacidos vivos.¹⁶

En 2004, las enfermedades diarreicas fueron la tercera mayor causa de muerte en países de ingresos bajos, donde ocasionaron el 6,9% de los fallecimientos. Son la segunda mayor causa de muerte de niños menores de cinco años, tras la neumonía. De los 1,5 millones de niños que fallecieron por enfermedades diarreicas en 2004, el 80% tenían menos de dos años.¹⁷

En el **cuadro 1** se exponen los microorganismos relacionados más a menudo con procesos diarreicos en donde *Yersinia enterocolitica* se encuentra presente, el posible mecanismo de patogenicidad del agente y el sitio de acción.¹⁸

| Cuadro 1. Características de los síndromes infecciosos gastrointestinales.¹⁸ | | | | |
|--|--------------------------------------|---|---|-----------------------------|
| Microorganismo | Síndrome clínico | Mecanismo de patogenicidad | Localización anatómica | Microscopía de heces |
| Virus | | | | |
| Rotavirus | Diarrea acuosa | Alteración de células absortivas | Intestino grueso | |
| Bacterias | | | | |
| ECET | Diarrea acuosa | Enterotoxina (s) | Intestino delgado | |
| ECEP | Diarrea acuosa | Adherencia y destrucción de microvellosidades | Intestino delgado | |
| ECEH | Colitis hemorrágica | Citotoxina | Intestino grueso | GR |
| ECEI | Diarrea disenteria | Invasión de la mucosa | Intestino grueso | PMN (85%),GR |
| Serotipos de <i>Salmonella</i> | Disenteria | Invasión de la mucosa | Intestino delgado/grueso | PMN |
| <i>Salmonella typhi</i> | Fiebre entérica o tifoidea | Translocación bacteriana intestinal (penetración y diseminación) | Intestino delgado/grueso | Monocitos (95%) |
| <i>Shigella</i> sp. | Diarrea disenteria | Invasión de la mucosa, citotoxina | Intestino grueso | PMN (85%),GR |
| <u><i>Yersinia enterocolítica</i></u> | <u>Fiebre entérica</u> | <u>Translocación bacteriana intestinal (penetración y diseminación)</u> | <u>Intestino delgado/grueso</u> | |
| <i>Plesiomonas shigellosis</i> | Diarrea acuosa Diarrea disenteria | Enterotoxina Invasión de la mucosa | Intestino delgado/grueso | PMN, GR |
| <i>Campylobacter jejuni</i> | Diarrea disenteria Diarrea acuosa | Invasión de la mucosa, citotoxina Enterotoxina | Intestino delgado/grueso Intestino delgado | PMN, GR |
| <i>Aeromonas</i> sp. | Diarrea disenteria Diarrea acuosa | Invasión de la mucosa Enterotoxina | Intestino delgado/grueso Intestino delgado | PMN, GR |
| <i>Vibrio cholerae</i> | Diarrea acuosa | Enterotoxina | Intestino delgado | |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | Diarrea acuosa | Se desconoce | Intestino delgado | |

| Parásitos | | | | |
|------------------------------|---------------------|-----------------------|--------------------------|-----------|
| <i>Entamoeba histolytica</i> | Diarrea disentérica | Invasión de la mucosa | Intestino grueso | Monocitos |
| <i>Giardia lamblia</i> | Diarrea acuosa | Invasión de la mucosa | Intestino delgado | |
| <i>Cryptosporidium</i> sp. | Diarrea acuosa | ¿Enterotoxina? | Intestino delgado | |
| <i>Blastocystis hominis</i> | | Desconocido | Intestino delgado/grueso | |

Capítulo 3 Tipos de diarrea

Al valorar la enfermedad diarreica aguda, para el clínico es básico considerar su tipo, mismo que le orienta por posibilidades a los agentes etiológicos involucrados.¹

Las diarreas se pueden clasificar de diferentes maneras. Desde el punto de vista fisiopatológico este fenómeno se explica por uno o más de los siguientes mecanismos:¹⁵

1. Presencia en el lumen intestinal de una cantidad elevada de sustancias osmóticamente activas (diarrea osmótica), generalmente ocurre cuando una persona se conserva en ayuno.¹⁵
2. Incremento exagerado de las secreciones del tubo digestivo (diarrea secretoria).¹⁵
3. Anomalías en los mecanismos de transporte a través de las membranas de las células epiteliales.¹⁵
4. Alteraciones morfológicas que afectan la superficie de absorción y la permeabilidad de la mucosa intestinal.¹⁵
5. Trastornos en la motilidad.¹⁵

La clasificación en función del tiempo es: diarrea aguda (corta duración), y diarrea crónica (evolución prolongada).¹⁵

La clasificación de acuerdo con su manera de presentación es aquella de etiología bacteriana o viral y, según el agente causal, puede ser diarrea líquida (acuosa o secretora) y diarrea con sangre (invasiva o disentería).¹⁵

Es así que se tienen los siguientes tipos de diarrea.¹

Diarrea no inflamatoria, acuosa o secretora. La forma más común de gastroenteritis se caracteriza por evacuaciones intestinales frecuentes, más o menos líquidas.¹⁵ En ella se presenta una disminución del proceso de absorción de agua y glucosa de la luz intestinal, en ocasiones acompañada de una disminución de las enzimas degradadoras de disacárido (lactasa, sacarosa, etc.); muestra también en la evolución del moco fecal ausentes o escasos leucocitos polimorfonucleares. Generalmente es causada por virus o por microorganismos que producen enterotoxinas, pero cuando se trata de estas últimas se tiene mayor cantidad de líquido circulando hacia la luz intestinal. El ejemplo más dramático es el dado por la diarrea en la infección por *Vibrio* colérico, donde las cantidades de líquido en la luz intestinal son del orden de litros. Otros microorganismos involucrados con sus toxinas son *Escherichia coli* enterotoxigénica y *Staphylococcus aureus*.¹

Diarrea inflamatoria, invasora o disentería. La disentería comienza con evacuaciones intestinales frecuentes, pero las heces son de menor volumen que en la diarrea acuosa y contienen sangre, moco y pus. La fiebre, el dolor abdominal y el tenesmo son síntomas habituales.¹⁵ En ésta se presentan evacuaciones con moco y sangre, en ocasiones son purulentas, hay lesión de la mucosa intestinal y por tanto la evaluación de los leucocitos en heces se presenta con más de 10 leucocitos por campo seco fuerte. Los microorganismos que por frecuencia se relacionan con esta diarrea son bacterias de las que predominan algunas *Escherichia coli*, *Shigella sp.*, *Salmonella sp.*, *Yersinia enterocolítica* y *Campylobacter sp.*¹

Capítulo 4 Patogénesis

Todo microorganismo capaz de producir enfermedades es patógeno y su patogenicidad puede tener una intensidad variable según su virulencia, entendiéndose como tal su capacidad de penetración, invasión, adherencia a los tejidos y multiplicación en el huésped. Existen diversos factores que determinan la patogenicidad: presencia de fimbrias o pili (adherencia), de factores antifagocíticos, heterogeneidad antigénica, producción de toxinas y enzimas, etc. El factor antifagocítico más común es el material capsular, rico en polisacáridos, que protege a las bacterias capsuladas de la fagocitosis.¹⁰

Las toxinas pueden ser de dos clases:

-**Exotoxinas:** de naturaleza polipeptídica, poco estables, presentes en las bacterias grampositivas generalmente, liberadas por secreción, altamente antigénicas y tóxicas.

-**Endotoxinas:** de naturaleza lipopolisacáridica, relativamente estables, presentes sólo en bacterias gramnegativas, liberadas por lisis, poco antigénicas y moderadamente tóxicas (enterobacterias).

Las enzimas ayudan a la penetración de los microorganismos al actuar sobre los tejidos del huésped.¹⁰

En los pacientes con diarreas infecciosas causadas por bacterias se han identificado cuatro mecanismos patógenos diferentes (**ver figura 2**) y corresponden cada uno de ellos a una lesión anatomopatológica distinta: (1) invasión, (2) enterotoxigenicidad, (3) adherencia, y (4) citotoxicidad.¹⁹

Las bacterias capaces de invadir la mucosa intestinal incluyen diversas especies del género *Shigella*, *Campylobacter*, *Yersinia enterocolítica* y algunas cepas de *Escherichia coli* no productoras de enterotoxinas o enteroinvasivas. Las lesiones se localizan inicialmente en el intestino delgado y después en el colon, en donde causan ulceración e inflamación del epitelio mucoso.¹⁹

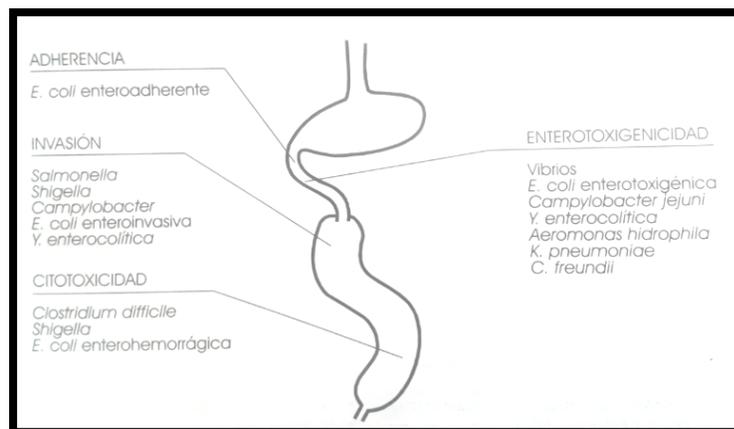


Figura 2. Mecanismos patógenos en la diarrea.¹⁹

La puerta de entrada es el tubo digestivo y se requiere un inóculo elevado ($> 10^9$ organismos) para producir infección.^{20,21,5}

Yersinia enterocolítica es un grupo heterogéneo de cepas, que son clasificadas tradicionalmente por biotipificación en seis biogrupos sobre la base de las características fenotípicas, y por serotipificación en más de 57 serogrupos O, sobre la base de su antígeno O de superficie (lipopolisacárido o LPS). Cinco de los seis biogrupos se consideran como patógenos. Sin embargo, sólo unos pocos de estos serogrupos se han asociado con la enfermedad en humanos o en animales.²

Las cepas que pertenecen a los serogrupos O:3 (biogrupo 4), O:5,27 (biogrupos 2 y 3), O:8 (biogrupo 1B) y O:9 (biogrupo 2) son los más frecuentemente aislados en todo el mundo. Sin embargo, el serogrupo más importante de *Yersinia enterocolítica* en muchos países europeos es el serogrupo O:3 seguido por O:9, mientras que el serogrupo O:8 se detecta principalmente en Estados Unidos.²

Yersinia enterocolítica penetra en el hospedero humano mediante alimentos contaminados e invade las células M de las placas de Peyer (**ver figura 3**). El proceso de invasión y sus efectos en la célula hospedadora dependen de una amplia gama de factores de virulencia que se despliegan bajo una compleja regulación genética y ambiental. Estas proteínas incluyen la invasina, que se une a las integrinas en la superficie de las células hospedadoras, y la proteína efectora denominada **Yops**, la cual es suministrada por otro sistema de secreción de inyección (tipo III). Cuando se inyecta en la célula hospedadora desencadena efectos citotóxicos, lo que incluye alteración de las vías bioquímicas (desfosforilación, cinasa de serina) y alteración de funciones sensoriales y de citoesqueleto de actina.²²

Una característica común de las especies patógenas de *Yersinia* es su capacidad para resistir la destrucción por fagocitosis. Esta propiedad se basa en el sistema de secreción de tipo III. Al entrar en contacto con células fagocíticas, las bacterias secretan unas proteínas en el fagocito que desfosforilan varias proteínas que son necesarias para la fagocitosis (producto de gen *YopH*), inducen citotoxicidad a través de la alteración de los filamentos de actina e inician la apoptosis en los macrófagos. El sistema de secreción de tipo III inhibe, igualmente, la producción de citocinas, con lo que disminuye la respuesta inflamatoria inmunitaria a la infección.²³

1. *Yersinia* atraviesa las células del epitelio intestinal a través de la vía de las células de la submucosa.
2. Los macrófagos de la submucosa fagocitan el patógeno y entran en el sistema linfático alcanzando así el MLN (ganglios linfáticos mesentéricos).
3. Como alternativa, las bacterias pueden ser engullidas por las células M.
4. Una vez en el PP (placas de Peyer) *Yersinia* forma microcolonias y comienza la replicación
5. Finalmente las células bacterianas se encuentran en el MLN y pueden igualmente formar microcolonias y permitir la replicación.²

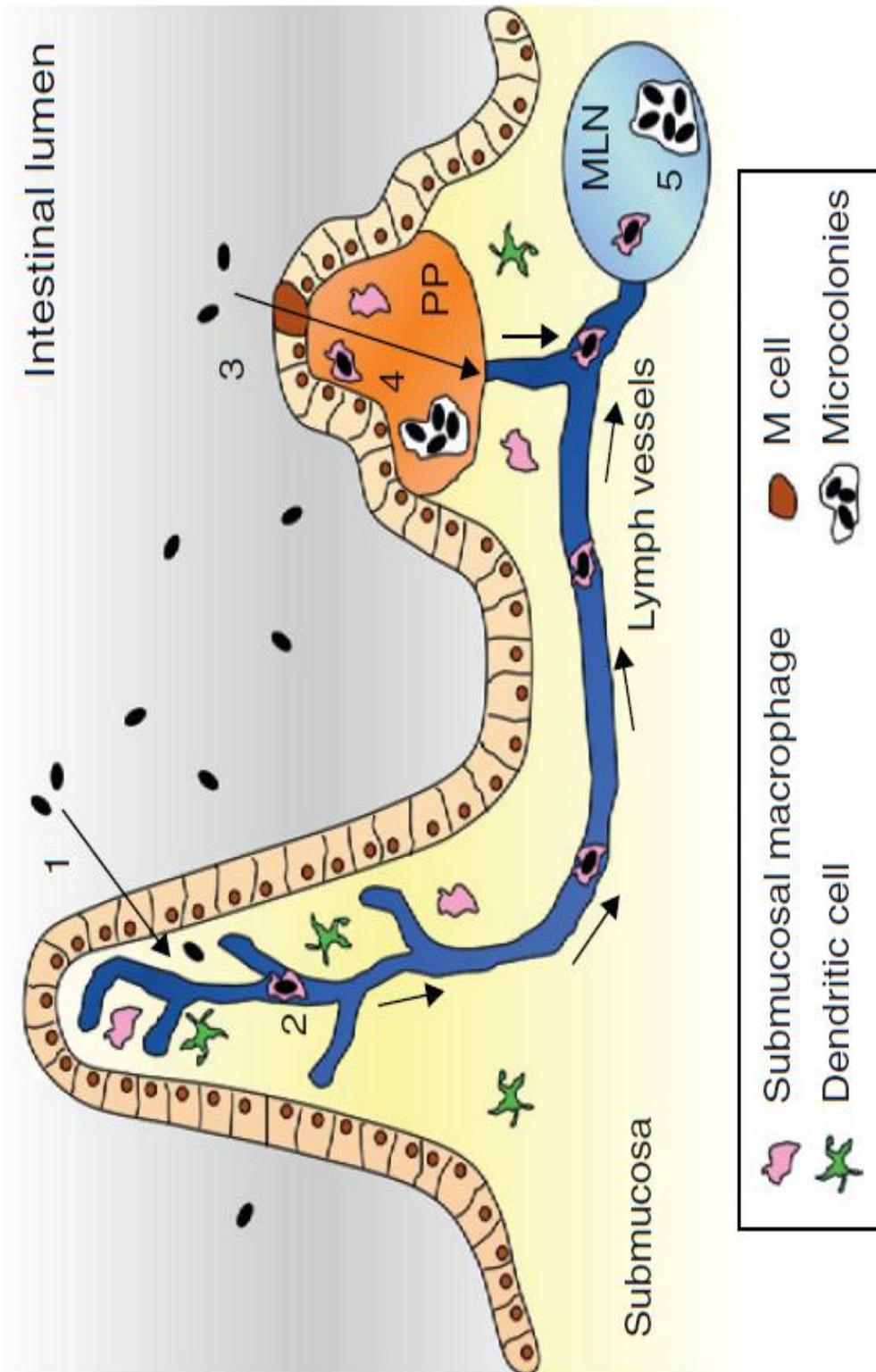


Figura 3. Modelo de patogénesis de *Yersinia enterocolitica*.²

Capítulo 5 Mecanismo de transmisión

Es el mecanismo que los microorganismos utilizan para transmitirse desde la fuente de infección a la población sana susceptible. Depende de los siguientes factores:

- ❖ Vía de eliminación: respiratoria, digestiva, urogenital, cutánea.
- ❖ Capacidad de supervivencia del agente.
- ❖ Puerta de entrada en el nuevo huésped.
- ❖ Dosis infectante.¹⁰

Los principales mecanismos de transmisión son:

Contagio directo. Desde un sujeto enfermo a un sujeto sano en un plazo de tiempo corto mediante: contacto físico con la fuente o con los productos del enfermo o transmisión congénita de la madre al feto, por gotitas recientemente emitidas (gotitas de Pflügge), por manos sucias (infecciones nosocomiales), por objetos recientemente contaminados (SIDA), por inoculación directa.¹⁰

Contagio indirecto. Cuando el agente permanece fuera del sujeto enfermo un largo período de tiempo, lo que supone una cierta resistencia a los agentes externos y posibles variaciones en su poder patógeno. Puede darse: a través del aire, del agua, de la leche y derivados, de los alimentos, de los fómites y artrópodos, que pueden actuar como vectores pasivos o mecánicos, por contacto con el material infeccioso o eliminación en sus heces sin que el agente sufra modificaciones.¹⁰

Algunos microorganismos son patógenos, perjudiciales y causan infecciones. Los microorganismos que no suelen provocar infecciones no son patógenos.²⁴

Yersinia enterocolitica es un microorganismo patógeno que causa infección, su mecanismo de transmisión es por contagio directo (infecciones nosocomiales) e indirecto (por carne, suelo, agua, leche, etc.).

Una infección es un estado patológico provocado por la invasión y el crecimiento de microorganismos en el cuerpo. La *infección local* está en una parte del cuerpo. La *infección diseminada* afecta a todo el cuerpo. El afectado presenta todos o algunos de los siguientes signos y síntomas: fiebre, aceleración del pulso y de la respiración, dolor a la palpación, cansancio, pérdida de apetito, náuseas, vómitos, enrojecimiento e hinchazón y secreción o drenaje de la zona infectada.²⁴

La cadena infecciosa constituye un proceso (ver figura 4). Empieza con una fuente, un microorganismo patógeno. El microorganismo patógeno necesita tener un reservorio donde poder crecer y multiplicarse. Los animales y los seres humanos son reservorios habituales. Si no presentan signos ni síntomas, son portadores. Los portadores pueden transmitir el microorganismo patógeno a otros. El microorganismo patógeno debe abandonar el reservorio, necesita una puerta de salida. Hay salidas en los tractos respiratorio, gastrointestinal, urinario y reproductor, en las heridas de la piel y en la sangre.²⁴

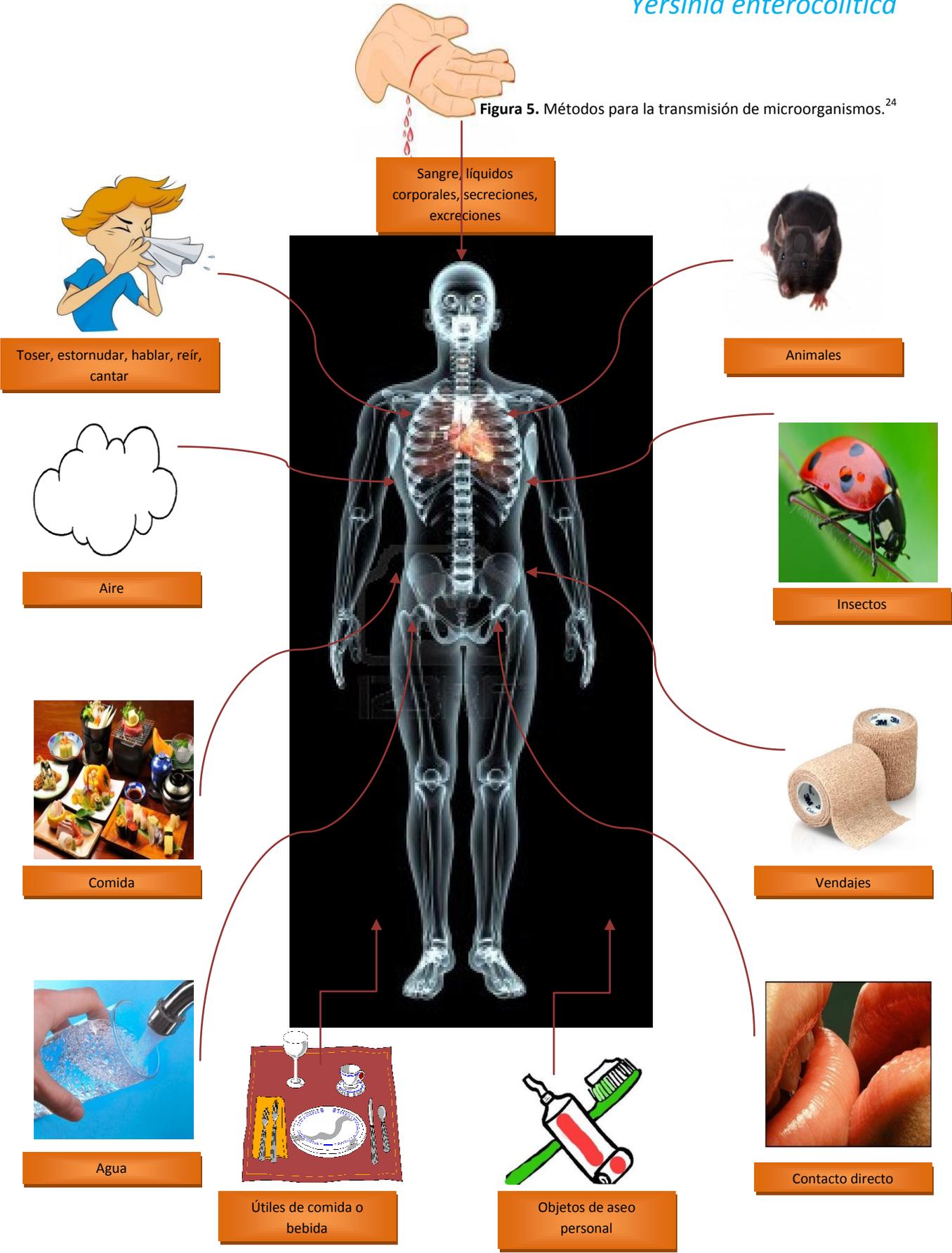


Figura 4. Cadena de infección.²⁴

Cuando un microorganismo patógeno abandona el reservorio, debe transmitirse a otro huésped (**ver figura 5**). El microorganismo patógeno debe entrar en el cuerpo a través de una puerta de entrada, que son las mismas que las de salida. El microorganismo patógeno necesita un posible huésped (persona con riesgo de infección) para crecer y multiplicarse.²⁴

El cuerpo humano puede protegerse así mismo de las infecciones. La capacidad para resistirlas está relacionada con la edad, la alimentación, el estrés, el cansancio, la salud general, las medicinas y la presencia de enfermedades.²⁴

Figura 5. Métodos para la transmisión de microorganismos.²⁴



Capítulo 6 Anatomía y fisiología de órganos afectados por *Yersinia enterocolítica*

Por la capacidad de invasión y de generar bacteremias, puede haber, aunque afortunadamente en poca frecuencia diseminación a cualquier parte del organismo, como riñón, hígado, corazón, pulmón, causando lesiones con contenido purulento.⁴

No existe información suficiente que describa como *Yersinia enterocolítica* afecta cada órgano, lo que se sabe es que varios antígenos de superficie de esta bacteria tienen semejanza con los de la membrana de las células humanas.¹

6.1 Aparato digestivo

Se encuentra situado en la cavidad abdominal, en su mayor parte, pero una porción superior se localiza en la cabeza y en la región del tórax; el tracto intestinal de localización abdominal se divide en intestino delgado y grueso, el primero integrado por el duodeno, yeyuno e íleon; tiene una extensión de alrededor de 7 metros de longitud; el intestino grueso está integrado por el ciego, apéndice, colon ascendente, colon transverso, colon descendente, sigmoidees y recto, en su conjunto con una longitud de metro y medio (**ver figura 6**).¹

El intestino tiene forma tubular y su pared está integrada por cuatro capas, las cuales, de adentro a afuera, son la mucosa, la submucosa, la *muscularis* y la serosa.¹

La mucosa tiene una enorme superficie para absorción; se encuentra plegada y contiene vellosidades y microvellosidades. Las vellosidades intestinales son prolongaciones de la mucosa cubiertas de enterocitos, los cuales en su porción luminal tienen el borde de un cepillo, integrado por gran cantidad de prolongaciones pequeñas conocidas como microvellosidades. Las microvellosidades producen el glicocáliz, en donde se encuentran las sustancias transportadoras del intestino y las enzimas digestivas que hacen la hidrólisis.¹

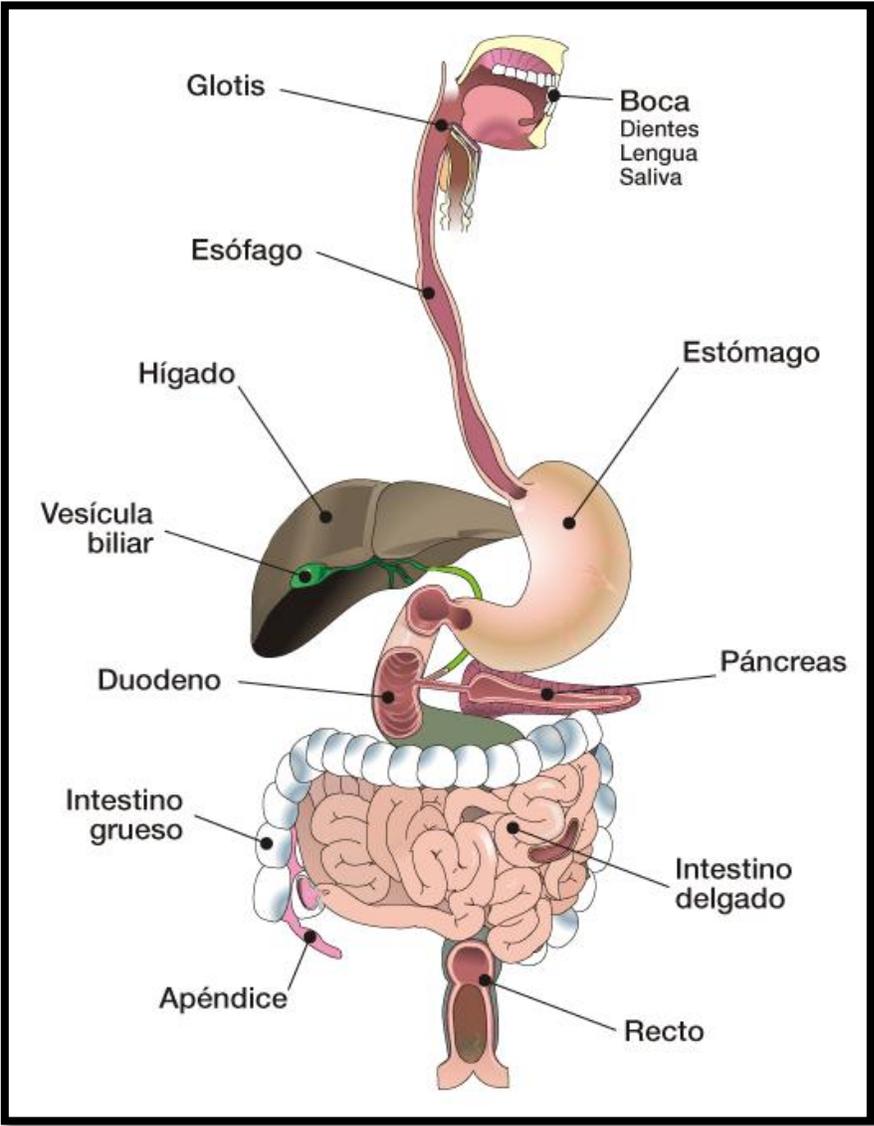


Figura 6. Aparato digestivo.²⁵

Capítulo 7 Cuadro clínico

Y*ersinia enterocolítica* origina un cuadro clínico caracterizado por diarreas líquidas o mucoides con presencia de leucocitos polimorfonucleares en las heces, las deposiciones aparecen después de tres a siete días de contacto con la bacteria y puede acompañarse de fiebre y dolor abdominal semeja un cuadro apendicular.³

En general la enfermedad presenta un periodo de incubación que varía de 1 a 3 semanas, aunque hay informes en donde se refiere un contacto comunitario de 2 días; a nivel clínico puede generar diarrea aguda y crónica en niños menores de seis años; diarrea o pseudoapendicitis en pacientes mayores de seis años; eritema nodoso en mujeres adultas y septicemia en ancianos o pacientes con enfermedades predisponentes. Se ha informado sobre el contagio nosocomial con un período de incubación de 16 a 48 horas. La duración de la enfermedad en su presentación intestinal es de 5 a 16 días, aunque un estudio en niños establece una duración de 14 a 46 días. La eliminación fecal del microorganismo es prolongada (por algunos serotipos), pudiendo durar de 2 a 3 meses. La infección puede dar lugar a un cuadro clínico variado, el cual puede ser desde un proceso autolimitado que se manifiesta sólo por diarrea hasta una septicemia.^{1, 4, 26}

Yersinia enterocolítica produce enteritis más frecuentemente en los niños, pero el padecimiento se manifiesta en cualquier edad. Las primeras manifestaciones clínicas se presentan después de 2 a 8 días de incubación, con fiebre, generalmente menor de 40°C, dolor abdominal sin caracteres específicos, náuseas, vómito, evacuaciones diarreicas semilíquidas abundantes, en ocasiones acompañadas de moco y sangre.⁴

Las variedades clínicas se pueden agrupar por grupos etarios como sigue:

- Diarrea aguda y crónica en menores de 6 años.
- Diarrea o pseudoapendicitis en pacientes mayores de 6 años.
- Eritema nodoso en mujeres adultas.
- Septicemia en ancianos o pacientes son enfermedades predisponentes.^{1,4}

Las manifestaciones clínicas a su vez se clasifican de acuerdo a la variedad clínica en:

- Síndrome diarreico (enterocolitis)
- Ileítis terminal
- Linfadenitis mesentérica (síndrome pseudoapendicular)
- Septicemia
- Lesiones focales supurativas
- Alteraciones post-infecciosas.^{1,4}

7.1 Síndrome diarreico (enterocolitis)

Es más frecuente en población pediátrica menor de 6 años y dentro de esta edad es más frecuente en lactantes. La diarrea presenta un patrón invasor, es decir, con lesión a mucosa intestinal y la consecuente evacuación sanguinolenta, reportándose hasta en casi el 40% de los casos. Se puede confundir con shigelosis. Habitualmente al primero o segundo día, el paciente presenta diarrea acuosa y fiebre de baja intensidad y posteriormente diarrea con estrías de sangre, la diarrea dura de 5 a 30 días. Puede haber tenesmo rectal. El dolor abdominal puede ser intenso y se localiza en fosa ílica derecha debido al sitio principal de afección intestinal. Algunos pacientes desarrollan un exantema. La enfermedad es generalmente autolimitada. Las manifestaciones clínicas características son la presencia de fiebre, dolor abdominal y evacuaciones mucosanguinolentas. La citología del moco fecal muestra leucocitos polimorfonucleares.^{1,4}

7.2 Ileítis terminal

Secundaria a la infección de íleon terminal y ganglios linfáticos con involucro apendicular. En la ileítis terminal puede haber una evolución inadecuada con necrosis hemorrágica ileocecal, sepsis abdominal y muerte del paciente. Frecuentemente es posible confundirse en pacientes mayores con enfermedad de Crohn.^{1,4}

7.3 Linfadenitis mesentérica (síndrome pseudoapendicular)

Se presenta por la predilección que tiene la *Yersinia* por el sistema ganglionar linfático, causando con frecuencia la formación de abscesos. Las manifestaciones clínicas son básicamente: fiebre y dolor localizado en el cuadrante inferior derecho, aunque puede ser difuso. En ocasiones, se presenta un cuadro indistinguible clínicamente de la apendicitis aguda, lo cual conduce a cirugía. La resección apendicular habitualmente muestra microabscesos. La *Yersinia* ha sido cultivada de los nódulos linfáticos e íleon.^{1,4}

7.4 Septicemia

Se debe considerar como una posibilidad etiológica en todo paciente con sepsis que tenga un cuadro entérico de tipo invasor, y que además, presente algún factor predisponente.^{1,4}

Debe sospecharse en caso de fiebre intensa o hipotermia, asociada a ataque al estado general, sin deshidratación, y fundamentalmente cuando existen varios focos infecciosos. En estas circunstancias deben tomarse hemocultivos.¹⁹

7.5 Lesiones focales supurativas

Por la capacidad de invasión y generar bacteriemias, puede haber, aunque afortunadamente en poca frecuencia, diseminación a cualquier parte del organismo como hígado, hueso, articulaciones, sistema nervioso central, riñón y pulmón causando lesiones con contenido purulento.^{1,4}

7.6 Alteraciones post-infecciosas

Debido a que varios antígenos de superficie de *Yersinia enterocolítica* tienen semejanza a los de membrana de las células humanas, se pueden presentar alteraciones de tipo autoinmune, como la tiroiditis, artritis reactiva, síndrome de Reiter, eritema nodoso, carditis y glomerulopatías, sobre todo en adultos y principalmente en mujeres. Estas alteraciones se demuestran por la presencia de anticuerpos contra *Yersinia*. **(Cuadro 2)**^{1,4}

Cuadro 2. Manifestaciones clínicas.⁴

| |
|--|
| <ul style="list-style-type: none">• Incubación de 1 a 3 semanas• Síndrome diarreico (enterocolitis) <p>Diarrea acuosa Fiebre de baja intensidad Posteriormente diarrea con estrías de sangre Dolor abdominal en fosa ilíaca derecha Algunos pacientes presentan un exantema</p> <ul style="list-style-type: none">• Ileitis terminal <p>Necrosis hemorrágica ileocecal Sepsis abdominal Muerte Similar a enfermedad de Crohn</p> <ul style="list-style-type: none">• Linfadenitis mesentérica o síndrome pseudoapendicular <p>Fiebre Dolor en cuadrante inferior derecho</p> <ul style="list-style-type: none">• Septicemia <p>Paciente con sepsis Y cuadro entérico de tipo invasor</p> <ul style="list-style-type: none">• Alteraciones post-infecciosas (adultos, más en mujeres) <p>Tiroiditis Artritis reactiva Síndrome de Reiter Eritema nodoso Carditis Glomerulopatías</p> |
|--|

7.7 Complicaciones

Las principales complicaciones son: septicemia, adenitis mesentérica, formación de abscesos, lesiones supurativas, hemorragia, necrosis, perforación intestinal, peritonitis, así como otros procesos como tiroiditis, artritis reactiva y eritema nodoso. Comienzan de manera típica varias semanas después del inicio de la enfermedad aguda y duran de 3 a 5 meses.^{1, 26}

Capítulo 8 Medidas de bioseguridad

El trabajo en el laboratorio de bacteriología médica debe ser considerado de alto riesgo para todo el personal de laboratorio debido al manejo de muestras clínicas potencialmente contaminadas con patógenos microbianos y de cultivos de microorganismos obtenidos a partir de dichas muestras clínicas. La exposición del personal de laboratorio a este riesgo debe ser minimizada y controlada mediante un plan de bioseguridad en el laboratorio clínico. Los riesgos biológicos infecciosos más comunes en el laboratorio clínico incluyen cultivos de microorganismos (bacterias, micobacterias, hongos, virus y parásitos) en altas concentraciones, muestras clínicas de origen humano o animal conteniendo agentes infecciosos y otros riesgos como toxinas, alérgenos, productos recombinantes, etc.²⁷

Toda muestra clínica; fluidos corporales, tejidos y cultivos microbianos deben ser considerados como infecciosos para el personal de laboratorio y deben ser manipulados bajo determinadas medidas de contención, las cuales incluyen adecuadas prácticas microbiológicas, la utilización de barreras físicas, un adecuado diseño de laboratorio y cámaras de bioseguridad.²⁷

Yersinia enterocolitica es un microorganismo que pertenece a nivel de bioseguridad 2 por presentar riesgo moderado para el individuo; puede provocar enfermedades humanas o en animales.²⁸

Las medidas que se deben tener para este microorganismo son: uso de bata, guantes, cubrebocas, anteojos, caretas, cofia o trajes completos para protección a ropa.²⁸

Cada nivel de bioseguridad tiene barreras establecidas para ofrecer protección contra los microorganismos. Las barreras primarias son barreras físicas o equipos de protección personal entre el trabajador del laboratorio y el patógeno, como por ejemplo guantes, máscaras o aparatos respiratorios especiales. Los laboratorios usan estos tipos de equipos de seguridad para patógenos directamente al trabajar con organismos.²⁹

Las barreras secundarias son aspectos estructurales del laboratorio que hacen que el ambiente de trabajo sea más seguro frente al riesgo de infección. Estas incluyen lavamanos, áreas de concentración especiales para trabajar directamente con los organismos, y patrones especiales de ventilación diseñados para prevenir la contaminación de otras salas y otros trabajadores en el edificio.²⁹

8.1 Nivel de Bioseguridad 2 (BSL-2)

Los agente asociados con enfermedades humanas se estudian en laboratorios BSL-2. Un laboratorio BSL-2 se requiere generalmente para trabajar con cualquier derivado de sangre

humana, otros fluidos corporales (especialmente cuando estén visiblemente contaminados con sangre) o tejidos en los cuales la presencia de un agente infeccioso puede ser desconocida.²⁸

Al trabajar con agentes BSL-2, los principales peligros para el personal son pinchaduras accidentales con agujas, infección potencial mediante exposición a los ojos y nariz (membranas mucosas) e ingestión de materiales infecciosos.²⁹

Los laboratorios BSL-2 trabajan con organismos tales como el virus del sarampión, muchas especies de *salmonella*, especies patogénicas de *Toxoplasma*, *Clostridium botulinum*, virus hepatitis B y otros patógenos de la sangre.²⁹

Los agentes BSL-2 no causan infecciones mortales y no son transmitidos por el aire. Esto significa que no causan infección si gotas minúsculas del material se transmiten por aire (se vuelven aerosol) y son inhaladas, lo que podría ocurrir si el material genera salpicaduras. Además, los agentes estudiados en un laboratorio BSL-2 son patógenos para los cuales hay inmunización o tratamiento antibiótico disponible. Sin embargo, se debe tener extremo cuidado con las agujas e instrumentos punzantes cuando éstos están contaminados con estos agentes.²⁹

Para reducir la infección accidental, en los laboratorios BSL-2 se incluyen las prácticas estandarizadas para laboratorios BSL-1, y adicionalmente:

- Políticas especiales y procedimientos para restringir el acceso al laboratorio mientras se desarrollan trabajos.
- Señales de advertencia de peligro biológico desplegadas fuera del laboratorio.
- Vigilancia del personal de laboratorio al cual se le ofrece inmunización adecuada.
- Manual de bioseguridad que incluye definiciones de cualquier política de descontaminación de desechos o vigilancia médica específicos a las actividades y agentes del laboratorio.
- Personal de supervisión con experiencia en el trabajo con agentes infecciosos y entrenamiento específico para personal que maneja estos agentes.²⁹

Algunas barreras primarias en laboratorios BSL-2 son gabinetes de bioseguridad u otros aparatos de almacenamiento aprobados. Estas áreas minimizan una contaminación potencial mientras se trabaja con un agente, especialmente si hay derramamiento o aerosolización de materiales infecciosos.²⁹

El equipo protector para el personal incluye batas de laboratorio, guantes y protección para la cara según se necesite al trabajar con agentes infecciosos. El personal debe despojarse de la ropa protectora cuando abandona el área del laboratorio.²⁹

Los gabinetes deben descontaminarse cuidadosamente a diario y si se usan materiales radioactivos, se deben monitorear por la radioactividad, como forma de protección personal.³⁴

Las barreras secundarias incluyen todas las barreras BSL-1 además de un autoclave (máquinas de esterilización) para material de vidrio.²⁹

Capítulo 9 Diagnóstico

Microbiológico

9.1 Control de calidad

Al ser *Yersinia enterocolitica* un microorganismo patógeno con un nivel de bioseguridad II, es importante realizar un control de calidad adecuado ya que es difícil de identificar y fácil de confundir con otras Enterobacterias por lo tanto este apartado es de suma importancia para su correcta identificación.

El control de calidad en un laboratorio microbiológico, debe evaluar y documentar el desempeño de todos los aspectos de sus procedimientos. Esto incluye la calidad de la muestra, la eficiencia de los reactivos, los medios de cultivo, el funcionamiento de los diversos instrumentos o equipos la verificación o validación de los resultados obtenidos.³⁰

El desarrollo de un sistema de control de calidad completo es un proceso perpetuo. Debe empezarse por revisar los procesos microbiológicos corrientes para asegurar que se toman todos los pasos necesarios para suministrar rápidamente información clínica importante.³¹

9.1.1 Etapas del control de calidad

Etapa pre-analítica: proporciona una muestra apta y confiable.

Etapa analítica: permite una medición confiable.

Etapa post-analítica: aporta un informe confiable.³²

La muestra debe ser representativa del proceso infeccioso que se pretende diagnosticar, teniendo siempre en cuenta que en determinadas infecciones, muestras no relacionadas directamente con la focalidad clínica, pueden tener también un buen rendimiento microbiológico. El síndrome clínico y los posibles agentes etiológicos implicados condicionan no sólo el tipo de muestra a enviar sino también su procedimiento de obtención y el transporte al laboratorio.³³

En el **cuadro 3** se muestran los distintos tipos de muestras adecuadas en función de las infecciones más comunes.

Igualmente, la información clínica es la que permite al laboratorio aplicar las técnicas diagnósticas disponibles de manera más eficiente.³³

Cuadro 3. Muestras clínicas recomendadas para el diagnóstico microbiológico de las infecciones más comunes.³³

| TIPO DE INFECCION | MUESTRA | COMENTARIO |
|--|---|--|
| Bacteriemia | Hemocultivo | |
| Infecciones cardiovasculares y asociadas a dispositivos intravasculares | | |
| Endocarditis | Hemocultivo /válvula /verrugas | |
| Infección del catéter | Catéter IV, piel pericatóter, conexión del catéter | |
| Pericarditis | Líquido pericárdico | |
| Sistema nervioso central | | |
| Meningitis | LCR | |
| Abscesos cerebrales | Aspirados de abscesos | |
| Tracto Respiratorio | | |
| Faringoamigdalitis | Exudado Faringeo | |
| Sinusitis | Aspirado sinusal | No validos Exudados nasales |
| Otitis media | Timpanocentesis | |
| Otitis externa | Exudado oído externo | |
| Neumonía | Espudo, muestra por fibrobroncoscopia, punción transtorácica aspirativa, broncoaspirado | |
| Empiema y abscesos pulmonares | Líquido pleural, aspirados de abscesos Nasofaríngeos Nasal | Diagnostico tosferina/I.virica Detección de S.Aureus |
| Infecciones Oculares | | |
| Conjuntivitis | Exudado conjuntival/raspado | |
| Queratitis | Raspado corneal | |
| Endoftalmitis | Líquido intraocular | |
| Infecciones Gastrointestinales | | |
| Diarrea | Heces/biopsia intestinal /aspirado duodenal | |

9.1.1.1 Fase pre-analítica

OBTENCIÓN Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

La idoneidad de las muestras enviadas depende del cumplimiento de una serie de medidas o reglas referentes a: procedimiento de obtención, cantidad enviada y transporte rápido y adecuado al laboratorio.³³

Como reglas generales cabe indicar las siguientes:

1. Antes de obtener la muestra, considerar el riesgo/beneficio de la obtención de la muestra para el paciente.³³

2. Cada muestra deberá ir acompañada de una orden de petición, que deberá estar correcta y legible.³³

- Identificación del paciente

Apellidos y Nombre(s)

Número de folio

Fecha de nacimiento

Sexo

Diagnóstico permanente

Teléfono/dirección.³⁹

- Identificación de la orden de solicitud

Fecha de solicitud

Datos de la muestra: fecha y hora de obtención de la muestra, naturaleza de la muestra, localización exacta del producto, procedimiento de la extracción (señalando la utilización de técnicas especiales)

Médico que lo solicita

Tipo de solicitud (ordinario o urgente)

Datos clínicos: diagnóstico clínico de presunción, estado inmunitario del paciente, tratamiento (principio activo administrado y tiempo transcurrido desde la última toma)

Profesional que toma la muestra.³³

- Estudios/pruebas solicitadas

Servicio al que se envía

Motivo de envío

Indicando claramente el tipo o tipos de estudio que se desean solicitar para la investigación de patógenos especiales.³³

3. Se debe recoger una cantidad de muestra adecuada a la petición. **En ocasiones una escasa cantidad de muestra puede ser la causa de falsos negativos.**³³

4. El material destinado a cultivo no debe estar en contacto con sustancias desinfectantes o anestésicas.³³

5. La muestra se debe recoger antes de iniciar cualquier terapia antimicrobiana. Cuando esto no es posible, se obtendrán justo antes de la administración de la dosis del antimicrobiano, o tras 48 horas de suspender el mismo, indicándolo en la solicitud de petición.³³

6. La muestra debe transportarse en envases adecuados, con tapa de rosca.³³

7. La muestra debe etiquetarse con el nombre del paciente, el servicio solicitante y el tipo de muestra.³³

8. Se recomienda que cada muestra se introduzca en una bolsa de plástico que a su vez se introducirá en otra donde se incluya la solicitud. Así se evita que los posibles derrames de la muestra invaliden la solicitud de petición.³³

9. El envío al laboratorio de microbiología debe ser lo más rápido posible con objeto de asegurar la supervivencia de microorganismos de difícil crecimiento y de evitar el sobrecrecimiento de la flora normal, acortar el tiempo de contacto con anestésicos locales o con otras sustancias con acción antimicrobiana utilizadas en la recogida de la muestra.³³

Criterios de rechazo de las muestras

No se aceptará una muestra sin identificar, mal identificada o en la que no coincida la identificación de la solicitud de petición con la de la muestra.³³

No se aceptarán muestras derramadas y se solicitará una nueva muestra. En el caso de no ser posible la obtención de una nueva muestra, se indicará en el informe que la muestra estaba derramada y que los resultados deben ser interpretados con la debida precaución.³³

No se aceptarán muestras cuyo transporte y/o conservación sean inadecuados y se solicitará una nueva muestra. En el caso de muestras que no se puedan volver a recoger se puede optar por procesarlas, informando al servicio solicitante de la incidencia y alertando de que los resultados obtenidos deben ser interpretados con precaución.³³

Datos clínicos y epidemiológicos del paciente: Edad, síntomas, tiempo de evolución del cuadro diarreico, tipo de alimentos ingeridos, contacto con animales y cuáles, procedencia, ocupación.¹⁸

La ingestión de *Yersinia enterocolítica* causa infecciones, que pueden quedar limitadas al tracto gastrointestinal originando un cuadro clínico caracterizado por diarreas; las tomas de muestra para poder identificar a esta bacteria son: el muestreo de heces e hisopado rectal.

Muestreo de heces

La obtención de las heces se realiza, por lo general, para análisis microbiológico o parasitológico. Se obtienen permitiendo que las heces caigan dentro de un recipiente de boca ancha. Algunas veces, sobre todo en los niños, es necesario obtener una muestra con un hisopo.³⁴

Las muestras de heces se deben transportar rápidamente al laboratorio (en menos de 1 hora), ya que muchas bacterias enteropatógenas no toleran los cambios de pH que ocurren en las heces.³⁴

Toma de muestras

Las muestras para cultivo se deben recoger lo antes posible en el curso de la enfermedad, antes de iniciar cualquier antibiótico.³⁵

Las heces se deben recoger en un frasco estéril de boca ancha hermético.³⁵

Las torundas rectales no son muestras idóneas para el estudio microbiológico de infección gastrointestinal, aunque pueden utilizarse para la recogida de muestras fecales en niños donde no es posible la toma de heces por vía normal. En tal caso deben recogerse dos torundas con medio de transporte.³⁵

Material necesario

- Recipiente de boca ancha para recoger las heces. No es necesario que esté estéril, sólo es preciso que esté limpio. No contendrá restos de jabones o desinfectantes.
- Contenedor de boca ancha estéril, con cucharilla y tapa de rosca.
- Se emplearán medios de transporte para hisopado rectal.
- Cucharillas o depresores.³³

Obtención de la muestra

Las muestras de heces deben colectarse en recipientes limpios, sin desinfectarse ni residuos de detergentes, y con las tapas bien cerradas y a prueba de derrames. Las muestras no deben sacarse de pañales, porque pueden contener residuos de desinfectantes u otros contaminantes. Las muestras fecales no preservadas deben, en lo posibles, refrigerarse, y procesarse como máximo 2 horas después de haberlas obtenido. Las muestras que no se pueden cultivar en un plazo de 2 horas después de haberse obtenido, se deben colocar en medio de transporte y refrigerar inmediatamente; en el **cuadro 4** se muestra obtención y transporte de las muestras para el diagnóstico de laboratorio.³⁶

Cuadro 4. Obtención y transporte de muestras fecales para el diagnóstico de laboratorio.³⁶

| | | |
|--------------------------------------|--|---|
| Muestras fecales para el laboratorio | Cuándo se toma la muestra | Cuando el paciente tiene diarrea, lo antes posible luego del comienzo de la enfermedad (preferiblemente dentro de los cuatro primeros días) y antes de comenzar el tratamiento con antimicrobianos. |
| | Cuánto se debe obtener | Un hisopo rectal o aplicador de muestra fresca en un medio de transporte. |
| | Medio de transporte | Cary-Blair u otro medio de transporte conveniente (NO debe usarse glicerol salino de tampón para el transporte de muestras de <i>V. cholerae</i>). |
| | Almacenamiento después de la colección | Refrigerar a 4°C si los especímenes se recibirán en el laboratorio antes de las 48 horas o congelar a -70°C. Las muestras fecales de pacientes con sospecha de tener cólera pueden ser transportadas a temperatura ambiente y mantenidas por largo tiempo si es necesario; sin embargo, se prefiere la refrigeración. |
| | Transporte | Tubos sellados o recipientes a prueba de pérdidas; colocar en un recipiente hermético para proteger del hielo o hielo seco. Remitir en una caja aislada con paquetes de congelación, hielo o hielo seco, para entrega al día siguiente. |

Medios de transporte para muestras fecales

Cary-Blair

Este medio sirve para transportar muchos microorganismos patógenos entéricos. La consistencia semisólida del medio facilita el transporte, y el medio preparado puede ser almacenado a temperatura ambiente por un año después de preparado. Debido a su alto pH (8.4), es un medio de elección para el transporte y la preservación de *V. cholerae* (**ver anexo 2**).³⁶

Si las heces son formadas o pastosas se toma una porción del recipiente donde hayan sido emitidas y se seleccionan zonas donde haya sangre, moco o pus.³³

No debe utilizarse para la recogida papel higiénico.³³

Utilizar cucharilla o depresor. No son válidas las heces mezcladas con orina o agua.³³

Volumen mínimo

Heces formadas o pastosas: Muestras de 4-6 gramos (del tamaño de una nuez).

Heces líquidas: entre 5 y 10 ml.³³

Observaciones

Las muestras para coprocultivo, deberán tomarse antes de la administración de antimicrobianos o agentes antidiarréicos.³³

Si con la primera muestra no se detecta la presencia de enteropatógenos, es necesario enviar en los días siguientes, dos tomas adicionales.³³

Obtención de hisopados rectales

Algunas veces se obtienen hisopados rectales en lugar de muestras de heces.³⁶

La muestra se toma introduciendo la punta de un hisopo de algodón humedecido en solución salina o medio de transporte en el recto y haciéndolo rotar ligeramente sobrepasando un poco el esfínter rectal 2 a 3 cm; dejar 10-30 segundos para que se absorban los microorganismos. Estará bien tomada si observamos un ligero color café en el hisopo (Si no, repetir el procedimiento con el mismo hisopo). Una vez tomada la muestra se introduce el hisopo hasta el fondo en un tubo con medio de transporte Cary-Blair en frío que debe estar bien tapado (tapón de rosca).^{33,36,37}

El número de hisopos necesarios dependerá del número de placas a inocular. En general, si las muestras se van a examinar para detectar la presencia de más de un agente patógeno, será necesario obtener al menos dos hisopos con heces o rectales por paciente, y ambos hisopos deben ser inoculados dentro del mismo tubo de medio de transporte. Una vez que el hisopo está colocado en el medio, debe permanecer en el tubo hasta que sea procesado en el laboratorio.³⁶

Observaciones

En general, debe desaconsejarse su uso, aunque hay que recurrir a él si no se puede disponer de heces, como en neonatos o adultos debilitados.³³

Materia fecal

Las muestras pueden ser obtenidas en recipientes limpios de boca ancha y con tapa hermética que permitan su fácil transporte, de preferencia que no sea de vidrio. Las heces obtenidas del suelo, excusado así como del pañal **no son satisfactorias**, debido a que pueden contaminarse con material extraño.³⁷

Nota: La muestra se debe enviar de inmediato al laboratorio.⁴

9.1.1.2 Fase analítica

Diagnóstico de laboratorio

Examen directo de las heces

Los frascos con contenido duodenal o heces en el laboratorio de Microbiología para el estudio de parásitos, han de ser analizadas mediante técnicas de visualización directa, como principal método de diagnóstico. Los frascos de heces para el estudio bacteriológico y vírico, también es conveniente que se visualicen macroscópicamente y microscópicamente (examen en fresco), pero como método complementario.³⁵

Examen macroscópico: consistencia, color, olor, presencia o ausencia de moco y/o sangre.¹⁸

Tan pronto como se reciban en el laboratorio las heces en el frasco, se debe observar su consistencia (grado de humedad) y anotar en el recipiente una de las letras: F (formadas), B (blandas), S (suelta), A (acuosa); también es importante ver si presentan mucosidad o sangre. Estos datos nos ayudarán a clasificar el tipo de síndrome, si acuoso o disentérico. La consistencia o grado de humedad además servirá de orientación para saber si es más probable encontrar trofozoítos o quistes como se muestra en la **figura 7**.³⁵

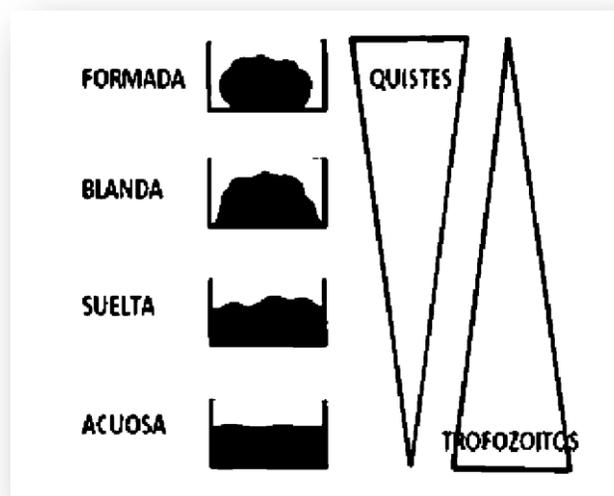


Figura 7. Relación del aspecto de las heces con la probabilidad de encontrar formas parasitarias.³⁵

Examen microscópico

Para determinar rápidamente la naturaleza de una enfermedad diarreica es de gran ayuda y tiene un alto grado de confiabilidad la investigación de leucocitos fecales (**ver la técnica en el anexo 6**), que consiste en determinar el tipo de células inflamatorias presentes en las heces; esta información orienta sobre todo la naturaleza del proceso infeccioso.¹⁸

Aislamiento bacteriano

En las muestras de heces, las bacterias entéricas patógenas se encuentran siempre asociadas a una gran variedad de bacterias comensales, es por ello, que para facilitar el aislamiento y posterior identificación de estas bacterias, se emplean diferentes medios de cultivo, los de enriquecimiento, selectivos y diferenciales (**ver el fundamento en el anexo 2**).¹⁸

Examen microscópico: Tinción de Gram (**ver la técnica en el anexo 1**)

Yersinia enterocolítica es un bacilo gramnegativo, con bordes redondeados, no producen cápsula de gran espesor y no forman esporas como se observa en la **figura 8**.⁴

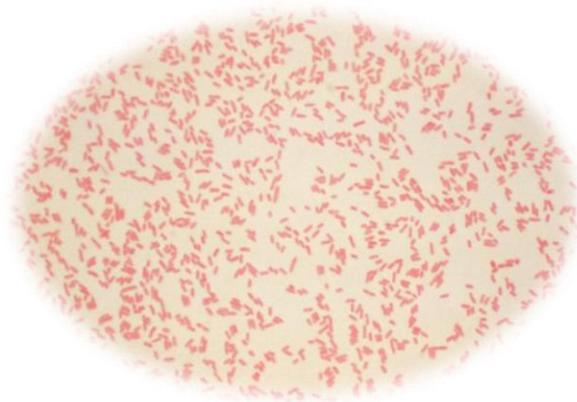


Figura 8. Morfología microscópica de *Yersinia enterocolítica* mediante la tinción de Gram.⁹

Yersinia puede cultivarse a partir de muestras adecuadas en un agar MacConkey (**ver anexo 2**) o en un agar de cefsulodina-irgasán-novobiocina (CIN, un medio selectivo para *Yersinia*. **Anexo 2**) que inhibe el crecimiento de otras bacterias. Una variante para el cultivo es la incubación del hisopo rectal a 4°C por dos o tres semanas, antes de inocular el medio de cultivo. Por otra parte, aprovechando su capacidad de crecimiento a temperaturas inferiores a 37°C (temperatura óptima de crecimiento, 28°C), es conveniente cultivarla **en una técnica denominada “enriquecimiento en frío”, para permitirle crecer selectivamente**; se coloca una pequeña cantidad de heces o de hisopado rectal en solución salina amortiguadora a pH 7.6; muchos microorganismos fecales no sobreviven, pero *Yersinia enterocolítica* se multiplica. La identificación se realiza mediante pruebas bioquímicas, muchas pruebas son positivas a 25°-28°C y negativas a 37°C. En ausencia de cultivos positivos, las pruebas serológicas para detectar anticuerpos anti *Yersinia* pueden ayudar a establecer un diagnóstico.^{4,20,26,38-42}

Yersinia enterocolítica produce colonias en ojo de buey por la fermentación de manitol (centros de color rojo oscuro o rojo oscuro con variantes purpúreas rodeados por un borde traslúcido) en CIN a las 48 horas (**ver figura 9**). Sin embargo, como la mayoría de las especies de *Aeromonas* produce colonias similares en CIN, es importante realizar una prueba de oxidasa (**ver anexo 4**) para verificar que los microorganismos son especies de *Yersinia*. (Oxidasa negativas).³⁸



Figura 9. Colonias de *Yersinia enterocolitica* "en ojo de buey" en agar CIN.⁴³

Yersinia enterocolitica crece en agar MacConkey y agar SS (en los que forma colonias transparentes, ver la **figura 10** y **anexo 2**), en agar entérico de Hektoen (las colonias son de color salmón porque fermenta la sacarosa, ver **figura 11** y **anexo 2**) y en agar XLD (donde forma colonias amarillas por fermentar la xilosa ver **figura 12** y **anexo 2**). Al crecer más lentamente que el resto de las enterobacterias a 37°C las colonias son muy pequeñas y pueden pasar desapercibidas. Para mejorar su recuperación se usan medios selectivos y diferenciales, como el agar (CIN) que incorpora cefsulodina, irgasan, novobiocina y manitol. En la **figura 13** se muestra la marcha diagnóstica para realizar un coprocultivo (**ver anexo 5**) y así poder identificar el microorganismo causante de diarrea.⁴⁴



Agar MacConkey



Agar SS

Figura 10. Colonias de *Yersinia enterocolitica* en agar MacConkey y agar SS.⁴⁵

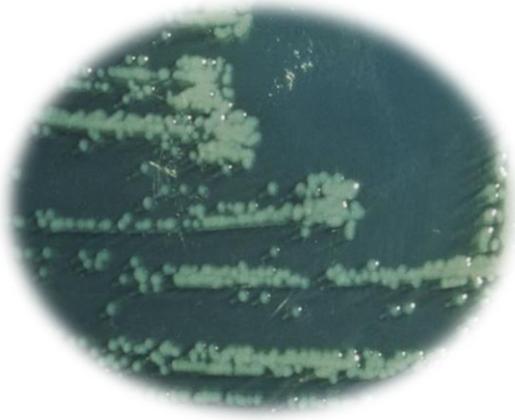


Figura 11. Colonias de *Yersinia enterocolitica* en agar Hektoen.⁴⁶

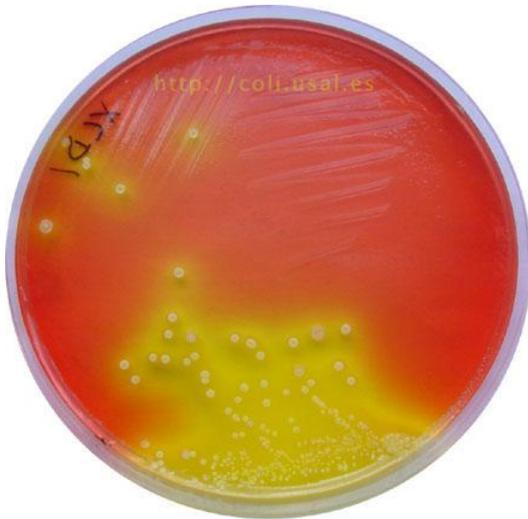


Figura 12. Colonias de *Yersinia enterocolitica* en agar XLD.⁴⁵

La identificación clínica de las cepas de *Yersinia enterocolitica* se logra después del crecimiento de las muestras de heces en placas de MacConkey, así como en agar CIN (Cefsulodin, Irgasan, Novobiocina), también conocido como agar selectivo yersinia. Las placas se incuban durante 24 horas a temperatura ambiente.²

Los métodos de enriquecimiento no son rentables para el diagnóstico de la diarrea, ya que no incrementan significativamente la recuperación de fenotipos patógenos de *Yersinia enterocolitica*. No todas las cepas aisladas poseen significación clínica, lo que hace recomendable estudiar marcadores epidemiológicos (serotipificación, biotipificación, fagotipificación) que ayuden a caracterizar el aislado. La serotipificación es sencilla y parece ser una buena marcadora de virulencia. En España hay un claro predominio del serogrupo O:3.⁴⁴

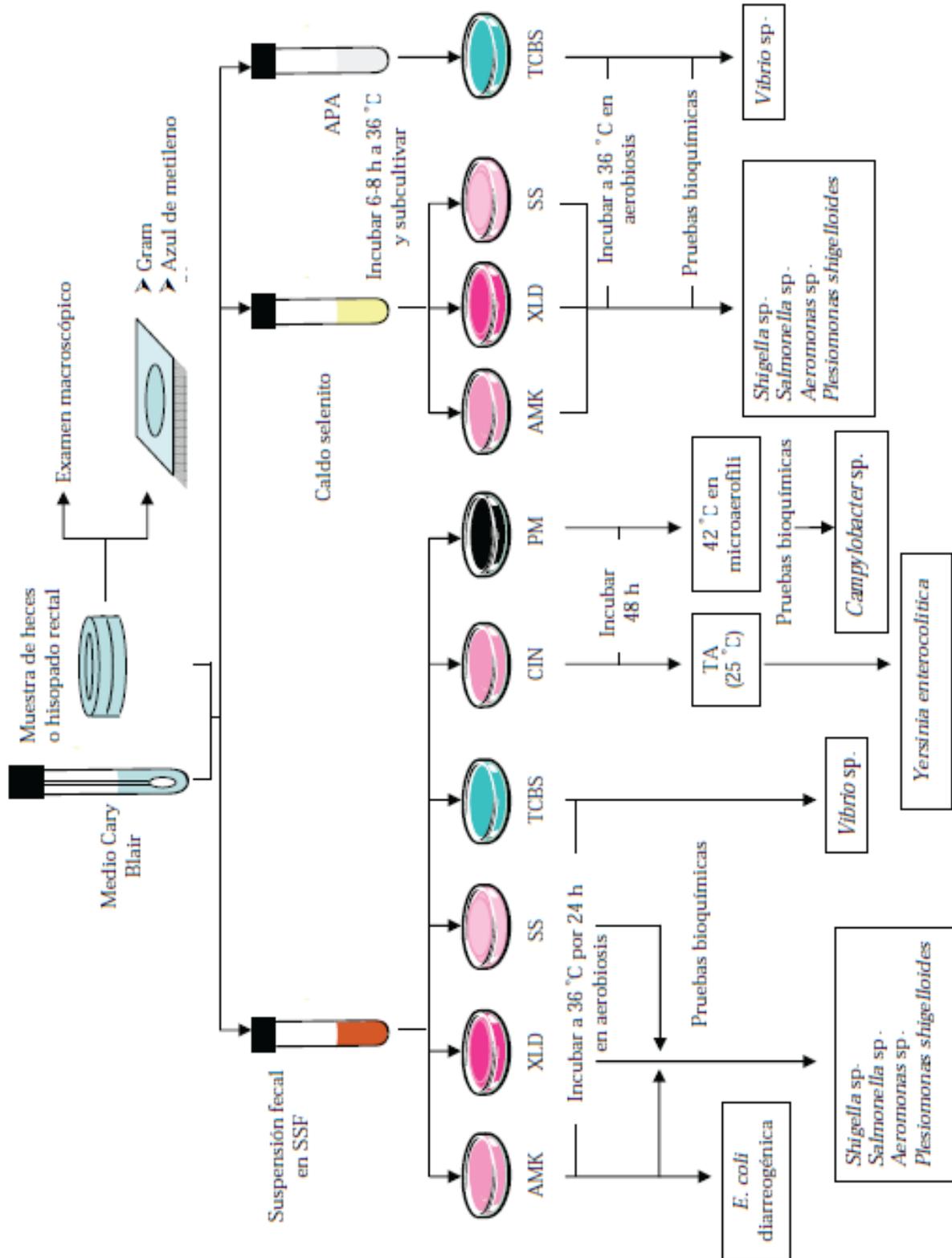


Figura 13. Coprocultivo.¹⁸

Yersinia enterocolitica presenta serotipos patogénicos y no patogénicos. Se pueden diferenciar porque los primeros hacen que la prueba de pirazinamidasa (**ver su fundamento en el anexo 3**), la fermentación de salicina y la hidrólisis de esculina (**ver su fundamento en el anexo 3**) sean positivas, mientras que en los no patogénicos las tres pruebas son negativas.⁴

Serotipificación de *Yersinia enterocolitica*

La tipificación se realiza utilizando un aprueba de aglutinación específica O:1, O:2, O:3, O:5, O:8, y O:9 de *Yersinia enterocolitica*.⁴⁷

La serotipificación en base al antígeno O con técnicas de aglutinación y ELISA permite establecer el diagnóstico de infección en forma rápida, ya que el cultivo puede demorarse de una a tres semanas.⁴

El diagnóstico serológico se establece a través de hemaglutinación indirecta, aglutinación bacteriana directa, inmunoprecipitación, aglutinación por anticuerpos monoclonales. El fundamento de estas técnicas diagnósticas es la detección del antígeno O de *Yersinia enterocolitica*. El problema con la serología es que en menores de dos años la respuesta de anticuerpos es relativamente pobre, y por lo tanto, da falsas negativas. Es frecuente la reacción cruzada del serotipo O:9 de *Yersinia enterocolitica* con *Brucella abortus*, lo cual arroja pruebas falsas positivas. Se consideran títulos diagnósticos los de 1:128. Títulos menores son considerados positivos en lactantes e inmunodeficientes. Por otra parte, es factible determinar con antisueros específicos el serotipo, así como sus biotipos, lo que tiene importancia sobre todo por fines epidemiológicos.⁴

Susceptibilidad antimicrobiana

La susceptibilidad a los antibióticos en el aislamiento de enteropatógenos está determinada por el método de difusión en disco en placas de agar Mueller-Hinton (**ver su fundamento en el anexo 2**) utilizando los siguientes antibióticos: ampicilina (AM), amoxicilina (AC), cloranfenicol (C), tetraciclina (T), cefalexina (CN), trimetoprim/sulfametozazol (STX), ceftazidima (CAZ), ceftriaxona (CRO), gentamicina (GN), amikacina (AK), cefuroxima (CXM), ciprofloxacina (CIP) y meropenem (MER).⁴⁷

Identificación:

Género *Yersinia*:

Se investiga fundamentalmente en el medio CIN. Después de 48 horas de incubación a temperatura ambiente (22°C), se seleccionan colonias fermentadoras del manitol, la identificación bioquímica se realiza mediante las pruebas de: oxidasa, TSI, urea, motilidad a 36°C y 22°C (**ver figura 14 y su fundamento en el anexo 3,4**).¹⁸

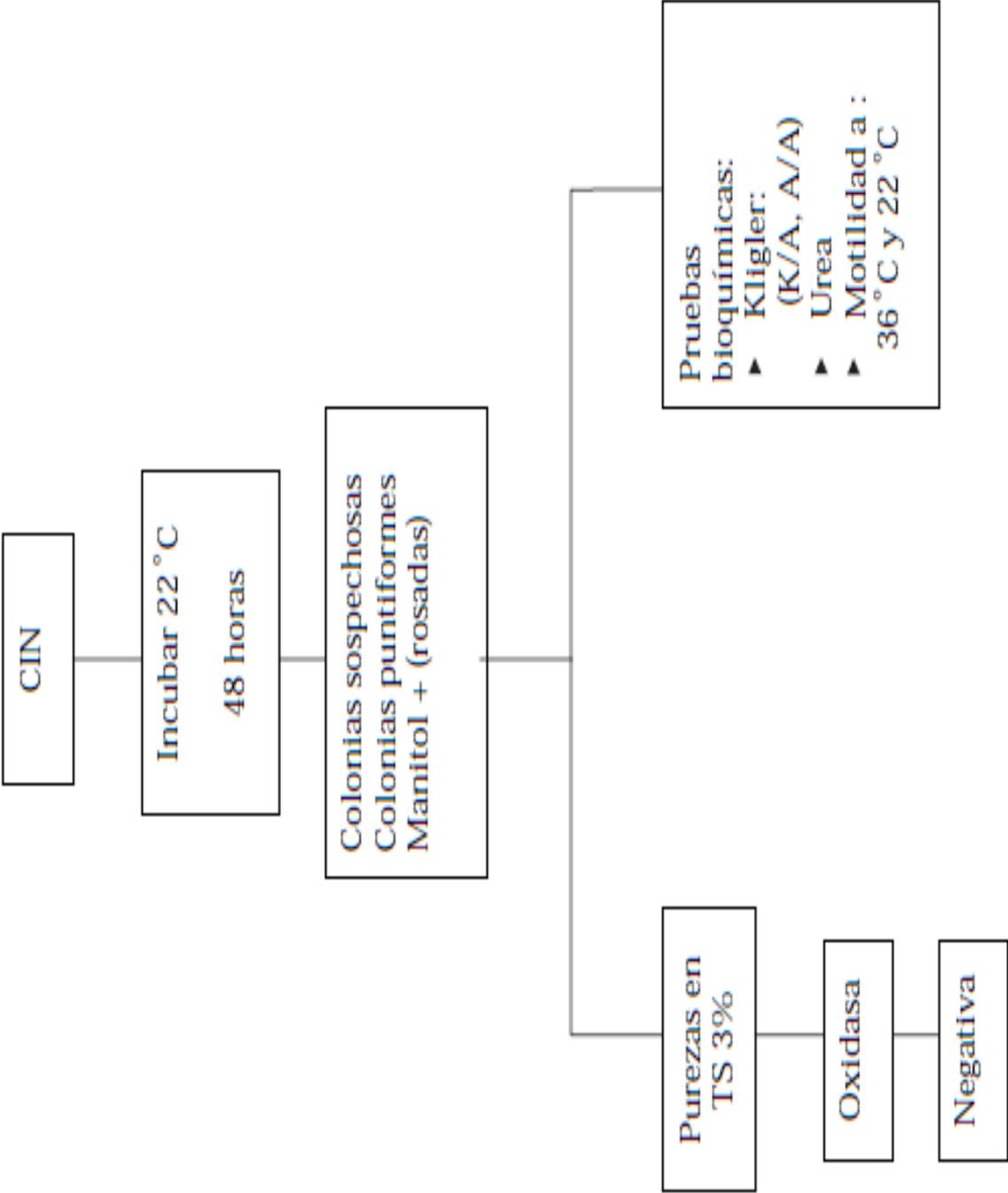


Figura 14. Identificación de Yersinia enterocolitica.¹⁸

Prueba de pirazinamidasa

La desaminación de la pirazinamida a ácido pirazinoico en 4 días es una característica fenotípica útil. (Ver el fundamento en el anexo 3).⁴⁸

Prueba de hidrólisis de la esculina

El medio de esculina sin bilis es útil para diferenciar varias especies de bacilos no fermentadores. La esculina es un compuesto fluorescente bajo luz ultravioleta a 360nm. Cuando se hidroliza la fluorescencia se pierde y el medio vira al negro. (Ver su fundamento en el anexo 3).⁴⁸

Las relaciones antigénicas existentes entre el género *Yersinia* y otras bacterias gramnegativas, han sido determinadas por inmunoelectroforesis. *Y. enterocolitica*, *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* poseen una estructura antigénica muy similar. Han podido demostrarse 12 componentes antigénicos comunes. Estas 3 especies, por otra parte, poseen al menos de 4 a 6 componentes antigénicos comunes con miembros de la familia Enterobacteriaceae, 1 a 2 con *Pasteurella multocida*, y ninguno con *Pseudomonas aeruginosa*.⁴⁹

A pesar del desarrollo basado en DNA (principalmente métodos de PCR en tiempo real) que han mejorado la sensibilidad de la detección e identificación de patógenos de *Yersinia* no son ni prácticos ni rápidos. El PCR en tiempo real tiene el potencial de superar algunas de las limitaciones fundamentales del PCR convencional, pero su aplicación sigue siendo dudosa para la detección directa y cuantificación de la carga bacteriana en muestras complejas, tales como leche, carne, etc. La pre-PCR en la etapa de enriquecimiento es el principal obstáculo para la cuantificación de *Yersinia spp.*⁶

Pruebas bioquímicas

Los miembros del género *Yersinia* se caracterizan por reacciones negativas o variablemente positivas para la mayoría de las pruebas comúnmente utilizadas. Todos los miembros del género son negativos para arginina dihidrolasa, utilización de citrato, DNasa, H₂S, movilidad, fenilalanina desaminasa, Voges Proskauer, y utilización de malonato. Son positivos para fermentación de manitol y trehalosa. Algunas cepas dan reacciones positivas adicionales (especialmente para movilidad y Voges Proskauer) si se incuban a 25°C en lugar de 34°-37°C (ver los fundamentos en el anexo 3).⁵⁰

En el **cuadro 5** se muestran los resultados de las pruebas bioquímicas de *Yersinia enterocolitica*.⁵¹

+ 90-100%
 - 0-10%
 F fermentación
 V resultados variables, 26-75%
 V⁺ 76-90%
 A ácido
 A/A ácido/ácido
 (amarillo/amarillo)

| Pruebas | <i>Yersinia enterocolitica</i> |
|--------------------------------|--------------------------------|
| Catalasa | + |
| Oxidasa | - |
| Reducción de nitratos | + |
| O/F glucosa | F |
| TSI | A/A |
| Lactosa | - |
| Xilosa | V |
| Trehalosa | A |
| Producción de H ₂ S | - |
| Indol | V |
| RM | + |
| VP 22°C 37°C | V ⁺ - |
| Citrato de Simmons | - |
| Arginina dihidrolasa | - |
| Ureasa | V |
| Fenilalanina desaminasa | - |
| DNAasa 25°C | - |
| Utilización de malonato | - |
| ONPG | + |
| Movilidad 22°C | + |
| Movilidad 37°C | - |
| Pirazinamidasa | + |
| Fermentación de salicina | + |
| Hidrólisis de esculina | + |

Cuadro 5. Resultado de las principales pruebas bioquímicas de *Yersinia enterocolitica*.⁵¹

9.1.1.3 Fase pos-analítica

Para dar un diagnóstico seguro de *Yersinia enterocolitica* se debe tomar en cuenta todos los resultados de las diferentes pruebas que se realizaron tanto microscópicas, macroscópicas y bioquímicas para evitar confusión con otras enterobacterias.

El médico interpretara los resultados obtenidos por los diferentes métodos y recetara el medicamento más indicado para el paciente.

Informe de resultados (Ver anexo 7).

Nombre del responsable y número de cedula profesional:

Datos personales del paciente: nombre y apellidos.¹⁸

Edad, sexo

Número de solicitud:

Precedencia:

Fecha y hora de petición:

Tipo de muestra: heces completas o hisopado rectal.¹⁸

Examen realizado: coprocultivo o cultivo y antibiograma.¹⁸

Nombre del médico tratante.¹⁸

Clave de laboratorio:

Hora de toma de muestra:

Probable diagnóstico:

Examen directo: fresco o frotis: azul de metileno al 1% o Gram: observación o no de leucocitos mononucleares o polimorfonucleares (cantidad por campo microscópico).¹⁸

Cultivo:

Antibiograma: solo se debe realizar en los siguientes casos.¹⁸

Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana para el tratamiento específico se realizan en los siguientes casos:

- a) Fiebre tifoidea causada clásicamente por *S.typhi*, sin embargo, otras salmonelas como *S. paratyphi* A, B, *S. choleraesuis* producen cuadros clínicos similares.¹⁸
- b) Síndrome disentérico: los agentes asociados son diversos: *Sigella* sp., ECEI, *Campylobacter jejuni*, *Aeromonas* sp., *Plesiomonas shigelloides*, *S. typhimurium*, *V. parahaemoliticus* entre otros. Se recomienda tratamiento específico para *Salmonella* sp. en el caso de menores de un año o cuando se sospeche de infecciones extraintestinales.¹⁸
- c) Diarrea crónica o persistente que puede ser causada por *C. jejuni*, *Salmonella* sp. y ECEP.¹⁸
- d) Cólera: producido por *V. cholerae* O1 Y O139. El tratamiento no cura la enfermedad, pero acorta el volumen y duración de la diarrea y reduce el período de excreción del *Vibrio*. Se recomienda sugerir al médico tratante realizar un estudio de control post-tratamiento.¹⁸

Observaciones:

Agente microbiano aislado (género y especie):

Capítulo 10 Tratamiento

La forma localizada a intestino es autolimitada y por tanto no se recomienda dar tratamiento antibiótico; esto es avalado en varios trabajos en donde el tratamiento antimicrobiano no modifica substancialmente la evolución de la enfermedad ni la excreción en heces de la bacteria. El tratamiento antibiótico se recomienda sólo en las formas extraintestinales, en las que, dependiendo de la localización de la infección y el tipo de lesión, debe darse un tratamiento mínimo por tres semanas.¹

La necesidad de tratamiento antimicrobiano para la enterocolitis y la linfadenitis mesentérica no está establecida.^{20,37} En los casos de bacteriemia, piperaciclina, cefalosporinas de tercera generación, aminoglucósidos y trimetoprim/sulfametoxazol pueden ser eficaces.^{38,39}

La sensibilidad de *Yersinia enterocolítica* es buena para tetraciclina, doxiciclina, gentamicina, kanamicina, cloranfenicol, sulfisoxazol, nitrofurantoína, cefotaxima, trimetoprim-sulfametoxazol (TMP/SMX), colistina, ácido nalidíxico, norfloxacin, ciprofloxacina y ofloxacina; se ha informado resistencia a la ampicilina, eritromicina, cefalotina, estreptomina y cefalosporinas de primera generación.^{1, 4, 38, 39}

La elección del tratamiento antibiótico en las formas complicadas o extraintestinales debe hacerse considerando el sitio de la infección y la edad del paciente. Un esquema de tratamiento recomendado es el empleo de un aminoglucósido aunado a TMP/SMX (trimetoprim/sulfametozazol) a dosis convencionales; en infecciones graves se recomienda TMP/SMX a la dosis de 10/50 mg/kg/día más gentamicina a 5 mg/kg/día, por un tiempo que definirá el tipo y sitio de la infección.¹

Capítulo 11 Prevención

Y*ersinia enterocolítica* se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, con características específicas para su desarrollo como son; crecer a bajas temperaturas, permitir un amplio rango de pH, entre otras por lo que las medidas para prevenir una infección por este microorganismo se debe seguir correctamente.

El contacto con animales domésticos y de granja, sus heces, o materiales contaminados por ellos, quizá explique casi todas las infecciones en humanos.³⁹

Las medidas preventivas son las necesarias para cualquier proceso infeccioso intestinal. Para la comunidad: lavado de manos después de ir al baño, manejo adecuado de excretas y un correcto procesamiento de los alimentos, especialmente de la leche. Para evitar brotes nosocomiales, el aislamiento entérico es el recomendado con las siguientes medidas: lavado de manos del personal de salud al manejar al paciente, uso de bata y de guantes al tener contacto con pacientes y precaución con las excretas mientras haya coprocultivos positivos.^{1,4}

- Evite comer el cerdo crudo o poco cocinado.
- Consuma solamente la leche o los productos lácteos pasteurizados.
- Lave las manos con jabón antes de comer y de preparar el alimento, después de contacto con los animales, y después de manejar la carne cruda.
- Prevenga la contaminación cruzada en la cocina.
- Limpie cuidadosamente todos los tableros, contador-tapas, y utensilios del corte con el jabón y agua caliente después de preparar la carne cruda.
- Guarde los alimentos preparados hasta que los necesite.¹¹

Referencias

1. Romero C. Herrera B. Síndrome diarreico infeccioso. México: Médica Panamericana; 2002.pp. 23, 183-190.
2. *Yersinia enterocolitica*: Pathogenesis, virulence and antimicrobial resistance.22 de Octubre 2011. (Publicación periódica en línea) Se consigue en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X11002655>
3. *Yersinia enterocolitica*. Reporte de dos casos con enfermedad diarreica aguda (publicación periódica en línea) Vol. 11, Núm. 2. 2007. Se consigue en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=211118015015>
4. Romero C. Microbiología y parasitología humana.3ª ed. México: Médica Panamericana; 2007. pp466-467, 472.
5. *Yersinia enterocolitica*. Benemérita Universidad Autónoma De Puebla. (Diapositivas). 17 diapositivas. (Publicación periódica en línea) Se consigue en: http://www.slideshare.net/edmundo_Inc/yersinia-enterocolitica
6. Quantification of *Yersinia enterocolitica* in raw milk using qPCR (publicación periódica en línea) Veterinary Microbiology, Volume 160, Issues 3–4, 7 December 2012. Se consigue en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113512003653>
7. Sánchez RJA, Serrano JS, Marfil NR, Jodral VML. Patógenos emergentes en la línea de sacrificio de porcino. Fundamentos de seguridad alimentaria. España: Ediciones Díaz de Santos; 2009. Pp 91-104.
8. Bacteriological Analytical Manual Chapter 8 *Yersinia enterocolitica*. (Publicación periódica en línea) Agosto 2007. Se consigue en: <http://www.fda.gov/food/scienceresearch/laboratorymethods/bacteriologicalanalyticalmanualbam/ucm072633.htm>

9. *Yersinia enterocolitica*. Disponible en: <http://www.britannica.com/EBchecked/media/117302/Photomicrograph-of-Gram-stain-of-Yersinia-enterocolitica-the-causative-agent>. Acceso el 10 de Junio 2013.
10. García MP, Fernández del barrio MT, Paredes SF. Microbiología clínica aplicada. 3ª ed. Madrid España: Díaz de Santos; 1997. Pp 10-13.
11. González VE, Tercero AJ, Quiñónez RIE, Vázquez SC. Falsa Apendicitis *Yersinia enterocolitica*. Revista Digital Universitaria. Abril 2005. Volumen 6 Número 4. ISSN: 1067-6079. Se consigue en: http://www.revista.unam.mx/vol.6/num4/art31/abr_art31.pdf Acceso el 28 de Mayo 2013.
12. Aspectos microbiológicos y epidemiológicos para el uso racional de antibióticos en niños con gastroenteritis bacteriana aguda. (Publicación periódica en línea). Revista mexicana de pediatría. Vol. 68, Núm. 5. 2001, pp 204. Se consigue en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/pediat/sp-2001/sp015g.pdf> Acceso el 3 de Abril 2013.
13. *Yersinia*. (Publicación periódica en línea). Se consigue en: http://www.bvsde.paho.org/cd-gdwa/docs_microbiologicos/Bacterias%20PDF/Yersinia.pdf
14. Protocolo de vigilancia y alerta de Yersiniosis (publicación periódica en línea) Red Nacional De Vigilancia Epidemiológica. 2012. Se consigue en: http://www.juntadeandalucia.es/salud/export/sites/csalud/galerias/documentos/p_4_p_1_vigilancia_de_la_salud/p_YERSINIOSIS_2012.pdf
15. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México (publicación periódica en línea) ENF INF Microbiol 2011 31 (4): 137-151. Se consigue en: http://www.amimc.org.mx/revista/2011/31_4/situacion.pdf
16. Daza JA. Protocolo de vigilancia y control de la Mortalidad por Enfermedad Diarreica Agudas (EDA) en menores de 5 años. Instituto Nacional De Salud (publicación periódica en línea). Se consigue en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/EDA.pdf>
17. Enfermedades diarreicas. Organización Mundial de la Salud (publicación periódica en línea). Se consigue en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/es/index.html>

18. Velasco J, Araque MC, Araujo E, Longa A, Nieves B, Ramírez AC, et al. Manual práctico de bacteriología clínica. 1ª ed. Digital. Venezuela. 2011. (Publicación periódica en línea) Se consigue en:
<http://www.serbi.ula.ve/serbiula/librose/pva/Libros%20de%20PVA%20para%20libro%20digital/Manual%20de%20Bacteriologia.pdf>
19. Kumate J, Gutiérrez G, Muñoz O, Santos PJI. Manual de Infectología clínica. 16ª ed. México: Méndez Editores; 2001. pp 143-145.
20. Ausina RV, Moreno GS. Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Madrid: Médica Panamericana; 2005. Pp335.
21. Southwick SF. Enfermedades infecciosas. 2ª ed. México: McGraw-Hill; 2009. Pp 196.
22. Ryan KJ, Ray CG. *Sherris* Microbiología médica. 5ª ed. México: McGraw-Hill; 2011. pp 461, 462.
23. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiología médica. 6ª ed. Barcelona España: ELSEVIER; 2009. pp 312, 313.
24. Sorrentino SA, Gorek B. Fundamentos de Enfermería Práctica. 2ª ed. Madrid España: ELSEVIER; 2002. pp 106-107.
25. Aparato digestivo. Disponible en:
http://biologiaygeologia.org/unidadbio/a_eso3/2_nutricion/u1_contenido/122_veamos_uno_de_los_responsables_aparato_digestivo.html. Acceso el 10 de Junio 2013.
26. Ramos JJ. Infectología clínica. México: El Manual Moderno; 2008. Pp 71-73.
27. Bacteriología diagnóstica (publicación periódica en línea) 2006. Se consigue en:
http://www.fcv.uagrm.edu.bo/sistemabibliotecario/doc_libros/576%202631Bacteriolog%C3%ADa%20diagn%C3%B3stica%20by%20Bros-20100817-170030.pdf

28. Manual de Procedimientos de Bioseguridad. (publicación periódica en línea). Se consigue en:
http://www.biomedicas.unam.mx/administracion/unidades_apoyo_inst/manual_bioseguridad.pdf
29. Niveles de bioseguridad en el laboratorio (publicación periódica en línea) Volumen 5, Número 1 pp3. Se consigue en: http://cphp.sph.unc.edu/focus/vol5/issue1/5-1BiosafetyLevels_espanol.pdf
30. Control de la Calidad para un Laboratorio de Microbiología (publicación periódica en línea). Se consigue en: <http://www.scielo.sa.cr/pdf/rmhnn/v40n1/3567.pdf>
31. Dharan M. Control de calidad en los laboratorios clínicos. 2ª ed. México: Reverté;2002.pp 129.
32. Etapas del control de calidad: Aplica las etapas de control de calidad en los laboratorios de análisis clínicos siguiendo las normatividades vigentes. (Publicación periódica en línea). Se consigue en: <http://controldcalidadv6.blogspot.mx/2010/10/unidad-iii-etapas-del-control-de.html>
33. Manual de extracción y transporte de muestras. Recogida y transporte de muestras. Laboratorio de microbiología (publicación periódica en línea) Se consigue en: <http://www.carloshaya.net/LinkClick.aspx?fileticket=e3d3-bqofQk%3D&tabid=162>
34. Castillo de S. L y Fonseca Yerena E. Mejora Continua de la Calidad: Guía para los laboratorios clínicos de América Latina. 1ª ed. México: Médica Panamericana; 1995. Pp 32.
35. López GJ, Cárdenas PM, Osuna MA. Manual de laboratorio de microbiología para el diagnóstico de infecciones gastrointestinales. Manual clínico y técnico de ayuda al diagnóstico microbiológico de las diarreas infecciosas. 1ª ed. OmniaScience.2012. pp 15,18
36. Prácticas de Seguridad Estándar en el Laboratorio de Microbiología (publicación periódica en línea). Se consigue en: http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_RMD_2003.6_apendices_spa.pdf

37. Secretaria de Salud. Disponible en:
http://www.salud.gob.mx/indre/web_nueva/documentos/Bacteriologia.pdf. Acceso el 27 de Febrero 2013.
38. Forbes B, Sahm DF y Weissfeld AS. Bailey & Scott: diagnóstico microbiológico. 11ª ed. México: Médica Panamericana; 2004. pp 385.
39. Brooks FG, Carroll CK, Butel SJ, Morse AS, Mietzner AT. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 25ª ed. México: McGraw-Hill; 2011. Pp 259-260.
40. Diarrea por *Yersinia enterocolitica* Reporte de un caso. (publicación periódica en línea). Se consigue en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1017-85462000000100012&script=sci_arttext#7
41. Levinson W. Microbiología e inmunología médicas. 8ª ed. México: MacGraw-Hill; 2006. Pp188
42. Harvey AR, Champe CP, Fisher DB. Microbiología. 2ª ed. Barcelona: Lippincott Williams & Wilkins; 2008. pp 124.
43. *Yersinia enterocolitica* en agar CIN. Disponible en: <http://www.eolabs.com/productdetail.html?id=PP0350>. Acceso el 5 de Junio 2013.
44. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. (Publicación periódica en línea) España. Elsevier. 2009. Se consigue en: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apua-cuba/diagnostico_microbiologico_de_las_infecciones_gastrointestinales.pdf
45. MacConkey y XLD. Disponible en: http://virus.usal.es/web/demo_fundacua/demo1/shigella.html. Acceso el 8 de Junio de 2013.

46. Hektoen. Disponible en: http://www.publicdomainfiles.com/show_file.php?id=13519897216433. Acceso el 8 de Junio 2013.
47. *Yersinia enterocolitica* infection among children aged less than 12 years: a case-control study (publicación periódica en línea) 1 de septiembre 2010. Se consigue en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S120197121002518X>
48. Koneman EW, et al. Diagnóstico microbiológico. 5ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1999. pp 216, 1290, 1291, 1332, 1337, 1338.
49. Microbiología española (publicación periódica en línea) Vol. 27 Núm. 1 enero- marzo 1974 pp 11. Se consigue en: http://www.semicrobiologia.org/info/revista_hist/1974_27_01.pdf
50. Lennette HE, Balows A, Hausler JW, Shadomy HJ. Manual de microbiología clínica. 4ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1987. Pp 348.
51. MacFaddin JF. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2003. pp 113, 121, 291, 294, 719.
52. García del Valle A, Zamudio DMM. Manual de biología médica. México: Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 1998. Pp 237, 240, 247, 249, 250, 263.
53. Delgado IA, Prieto MS, Salve MML. Laboratorio de microbiología. 1ª ed. España: McGraw-Hill; 1994. pp 77
54. Tinción de Gram. Disponible en: http://microbiano.blogspot.mx/2008_05_01_archive.html. Acceso el 10 de Junio 2013.
55. Manual Básico de Microbiología CULTIMED. 4ª ed. Panreac Química SA; 2003. Pp 125, 71, 82, 138, 62, 103.
56. Medio Cary-Blair. Disponible en: <http://www.ictsl.net/mobile/pda/productos/instrumental/hisoposconmediocaryblairesterilesdeltalab.html>. Acceso el 10 de Junio 2013.

57. Prats G. Microbiología clínica. 2ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2008.pp 30, 34,35
58. Agar MacConkey y Hektoen. Disponible en: <http://www.madsci.org/~lynn/micro/media/>. Acceso el 10 de Junio 2013.
59. Zimbro JM, Power AD, Miller MS, Wilson EG, Johnson AJ. Difco™ & BBL™ Manual. Manual of Microbiological Culture Media. 2ª ed. United States of America: BD; 2009.pp 113, 265, 566.
60. Agar SS. Disponible en: <http://www.gobizkorea.com/blog/ProductView.do?blogId=dcskorea&id=906085>. Acceso el 10 de Junio de 2013.
61. Agar XLD. Disponible en: <http://www.vetbact.org/vetbact/index.php?showgrowthmedia=1&PHPSESSID=08ec606c2df9ff38f1013c366ee95df1>. Acceso el 7 de Junio 2013.
62. Agar Mueller Hinton. Disponible en: <http://www.gobizkorea.com/blog/ProductView.do?blogId=dcskorea&id=906083>. Acceso el 7 de Junio 2013.
63. Bailón LL, González MRC, Cervantes SA. Atlas de pruebas bioquímicas para identificar bacterias. 1ª ed. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 2005. Pp 41,48.
64. Bailón LL, González MRC, Cervantes SA. Atlas de pruebas bioquímicas para identificar bacterias. (Diapositivas) México: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 2004. (209 diapositivas) <http://es.scribd.com/doc/39602083/Atlas-Interactivo-de-pruebas-bioquimicas>
65. Agar SIM. Disponible en: http://microbiology.scu.edu.tw/micro/microbe-exp/exp_website/exp_24.htm. Acceso el 8 de Junio 2013.
66. SIM movilidad. Disponible en: <http://www.softchalk.com/lessonchallenge10/lesson/he%20final/%20identification%20of>

- [%20an%20Unknown%20Bacterium/unknownsublesson_print.html](#). Acceso el 3 de Junio de 2013.
67. Citrato de Simmons, DNAsa. Disponible en: <http://www.slideserve.com/raghnall/pruebas-bioqu-micas-o-f-metabolismo-oxidativo>. Acceso el 13 de Mayo 2013.
68. Fenilalanina, Red. de nitratos. Disponible en: <http://perso.wanadoo.es/microdominguez/a.htm>. Acceso el 3 de Mayo 2013.
69. Rojo de metilo, VP. Disponible en: <http://avoga.wordpress.com/2013/03/26/imvic/>. Acceso el 3 de Mayo 2013.
70. Prueba de pirazinamidasas. Disponible en: http://www.fcq.uach.mx/phocadownload/Academico/Material_de_Estudio/micobacterias/diagnostico/diagnostico.html. Acceso el 13 de Mayo 2013.
71. Rodríguez CE, Gamboa CMM, García HJD. Bacteriología General: principios y prácticas de laboratorio. 1ª ed. San José, Costa Rica: Editorial de la Universidad de Costa Rica; 2005. pp 323.
72. Detección de leucocitos fecales. Disponible en: http://www.imcordoba.com.ar/2013/01/leucocitos-fecales_26.html. Acceso el 9 de Junio 2013.
73. Duerden BI, Reid TMS, Jewsbury JM, Turk DC. Microbiología de Enfermedades Infecciosas. 1ª ed. México: Limusa; 1993. pp 373, 374.
74. Carditis. Disponible en: <http://www.atsu.edu/faculty/chamberlain/Website/lectures/tritid/CARDITIS.htm>. Acceso el 9 de Junio 2013.
75. Rodríguez CFP, Genís CJM, Guerrero GJL, Pertíñez DM, Guerrero MY, Aldea AMJ, Redondo GP. Bases de la producción animal. 1ª ed. España: RC Impresores; 2003. pp 455.

76. Enteritis. Disponible en: <http://salud.doctissimo.es/diccionario-medico/enteritis.html>. Acceso el 9 de Junio 2013.
77. DeGowin LE, DeGowin LR. Procedimientos a la cabecera del enfermo. Examen y diagnóstico clínicos. 2ª ed. México: La Prensa Médica Mexicana; 1985. Pp 596, 999, 1052
78. Glomerulopatías. Disponible en: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2309859>. Acceso el 9 de Junio 2013.

Capítulo 12 Anexos

Anexo 1

Tinciones

Tinción de Gram

Esta es una tinción diferencial usada para demostrar las propiedades tintoriales de bacterias de todos tipos.⁵²

Las bacterias grampositivas retienen el colorante de cristal violeta después de la decoloración y se ven de color azul oscuro.⁵²

Las bacterias gramnegativas no son capaces de retener el colorante cristal violeta después de la decoloración y se contratiñen de color rojo con el colorante de safranina.⁵²

Las características tintoriales pueden ser atípicas en cultivos muy jóvenes, viejos, muertos o en degradación.⁵²

La tinción de Gram puede utilizarse no sólo para bacterias procedentes de colonias aisladas, sino también para el examen directo de muestras clínicas.⁵³

Técnica

Se hace un frotis delgado del material a estudiar y se deja secar al aire.⁵²

Se fija el material en el portaobjetos pasándolo 3 o 4 veces a través de la llama de un mechero de modo que el material no sea lavado durante el procedimiento de tinción.⁵²

Se coloca el frotis sobre un soporte para tinción y se cubre la superficie con solución de cristal violeta.⁵²

Después de 1 minuto de exposición al cristal violeta se lava totalmente con agua destilada.⁵²

Se cubre el frotis con solución de yodo de Gram durante 1 minuto. Se lava nuevamente con agua.⁵²

Se sostiene el frotis sobre los dedos pulgar el índice y se cubre la superficie con unas gotas de decolorante de alcohol y acetona hasta que no se desprenda cristal violeta.⁵²

Se lava con agua corriente y se coloca otra vez sobre el soporte. Se cubre la superficie con contratinción de safranina durante 1 minuto, se lava con agua corriente.⁵²

Se coloca el preparado en posición vertical dejando que drene el exceso de agua.⁵²

Se examina el frotis en el microscopio.⁵²

Interpretación

Las bacterias grampositivas se tiñen de color azul oscuro y las bacterias gramnegativas se ven de color rojo rosado.⁵²

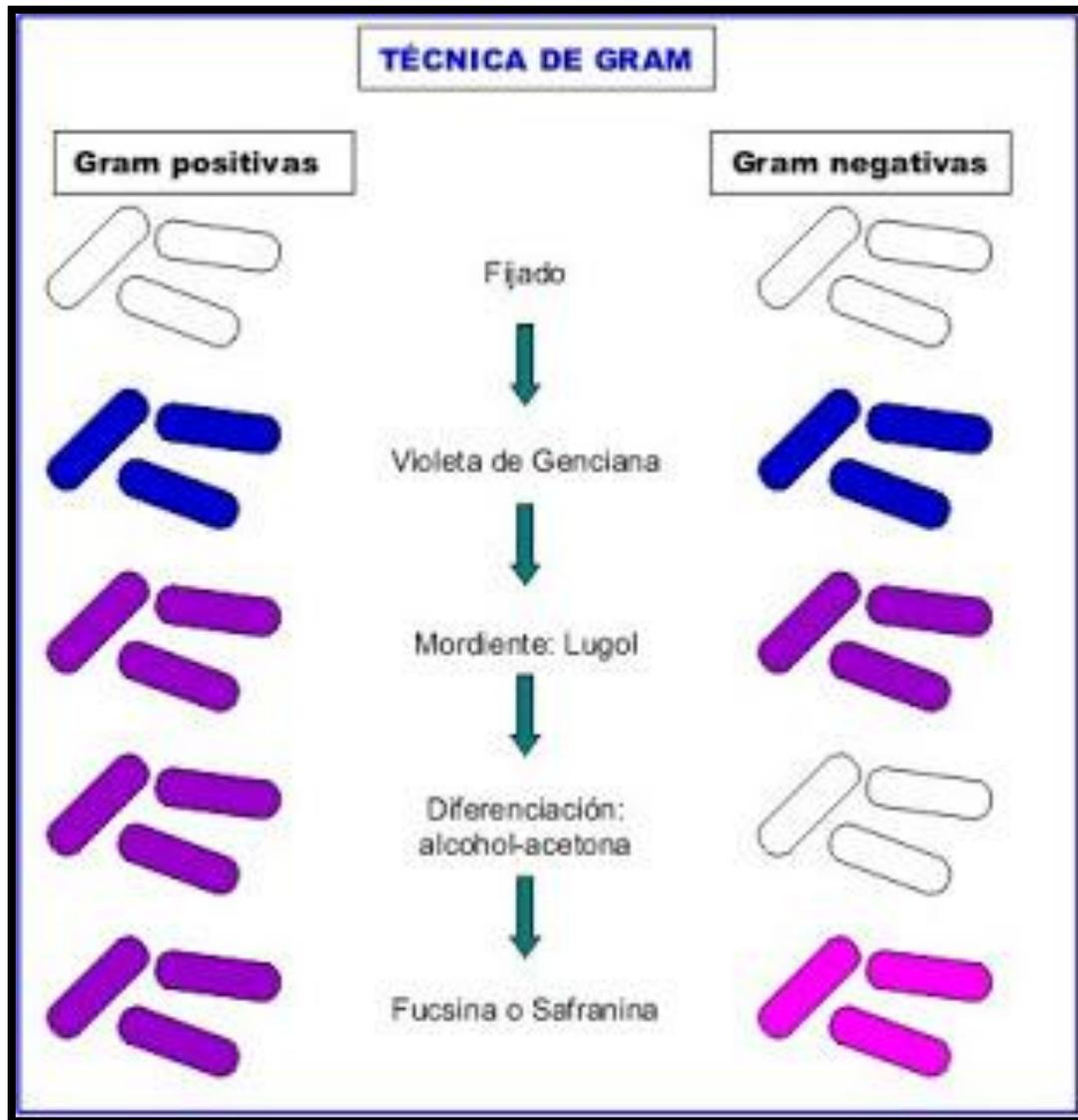


Figura 15. Técnica de la Tinción de Gram.⁵⁴

Anexo 2

Medios de cultivo

Medios selectivos y diferenciales

Medios diferenciales o de aislamiento

Contienen colorantes, azúcares e indicadores, concebidos para provocar una respuesta bioquímica conocida, generalmente de color.⁵³

Medios selectivos e inhibidores

Además de contar en su composición con los mismos productos que los medios diferenciales, presentan una serie de agentes que sirven para inhibir la flora acompañante de la muestra a estudiar, y aislar, de esta forma, el microorganismo que se busca.⁵³

La muestra completa (suspensión fecal en solución salina fisiológica) o conservada en Cary Blair se siembra en los medios agar MacConkey (MK), agar Xilosa-lisina-desoxicolato (XLD), agar salmonella-shigella (SS), agar cefsulodin-irgasan-novoviocina (CIN), agar desoxirribonucleico-ampicilina (ADN-AMP), agar tiosulfato-citrato-sales biliares (TCBS) y agar preston modificado (PM). Todos los medios a excepción del CIN y PM, son incubados a 36°C durante 24 horas y luego a temperatura ambiente por 24 horas más. Los medios CIN y PM se incuban durante 48 horas a temperatura ambiente (25°C), 42°C y en microaerofilia, respectivamente.¹⁸

Medios de enriquecimiento

Suelen ser medios con un nutriente simple que presentan enriquecedores, tales como la sangre de carnero, caballo, etc. Son medios destinados a desarrollar microorganismos muy exigentes.⁵³

Se utiliza el caldo selenito (para enterobacterias) y agua peptonada alcalina (APA) pH 8.4, para *Vibrio*, los cuales después de transcurridos 6-8 horas de incubación a 36°C, del caldo selenito se toma una muestra con el asa en aro de la parte más superficial del caldo y se inoculan los medios agar MK, XLD y SS, luego estos medios se incuban en las condiciones anteriormente señaladas.¹⁸

Medio de transporte Cary-Blair

Se emplea para favorecer y conservar la viabilidad de los microorganismos mientras son transportados al laboratorio.⁵⁵

Se trata de un medio no nutritivo, semisólido y reductor que previene la destrucción de los microorganismos y los mantiene en estado estacionario. Su composición salina permite conservar la muestra hasta su entrega al laboratorio.⁵⁵

Colocación de las heces en el medio de transporte

Si es posible, enfríe el medio de transporte durante 1 a 2 horas en un refrigerador o caja nevera antes de utilizarlo. Se puede obtener una pequeña cantidad de heces insertando en ellas un hisopo de punta de algodón estéril o de poliéster y rotándolo. Si están presentes mucus o detritus del epitelio intestinal, también debe obtenerse una muestra en el hisopo. Para seguir el muestreo de las heces en el hisopo:

- a) Inserte inmediatamente el hisopo que contiene material fecal dentro del medio de transporte.
- b) Empuje el hisopo completamente, hasta el fondo del tubo del medio de transporte.
- c) Rompa la parte superior del palillo con los dedos y deséchelo.
- d) Ponga nuevamente la tapa de rosca en el tubo del medio de transporte y ciérrela bien.
- e) Coloque el tubo en el refrigerador o en la caja nevera.³⁶

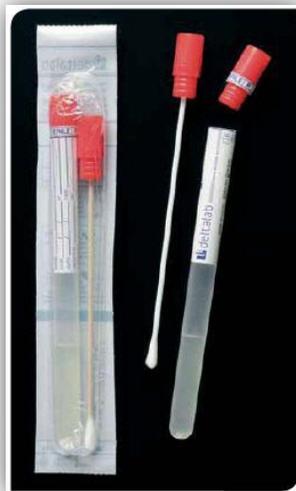


Figura 16. Medio de transporte Cary-Blair.⁵⁶

Agar McConkey

Es un medio diferencial, selectivo para bacilos gramnegativos no exigentes (enterobacterias, etc.) debido a la incorporación de sales biliares y cristal violeta (inhibe el crecimiento de las bacterias grampositivas). Contiene, además, lactosa y rojo neutro, las bacterias capaces de fermentarla acidifican el medio, cambiando el color del rojo neutro y formando colonias rojas o rosadas, pudiendo presentar un halo turbio correspondiente al precipitado biliar. Las bacterias lactosa-negativas dan colonias incoloras.^{55, 57}



Figura 17. Agar MacConkey.⁵⁸

Agar Cefsulodin-Irgasan Novobiocina (CIN)

Es un agar suplementado con cefsulodin y novobiocina es un medio selectivo y diferencial utilizado en procedimientos cualitativos para el aislamiento de *Yersinia enterocolitica* a partir de una variedad de muestras clínicas y no clínicas.⁵⁹

La fermentación de manitol en presencia de de rojo neutro da como resultado la característica colonial “ojo de buey”, incoloro con centro rojo. La inhibición selectiva de organismos gramnegativos y grampositivos se obtiene por medio de cristal violeta, desoxicolato de sodio e Irgasan.⁵⁹

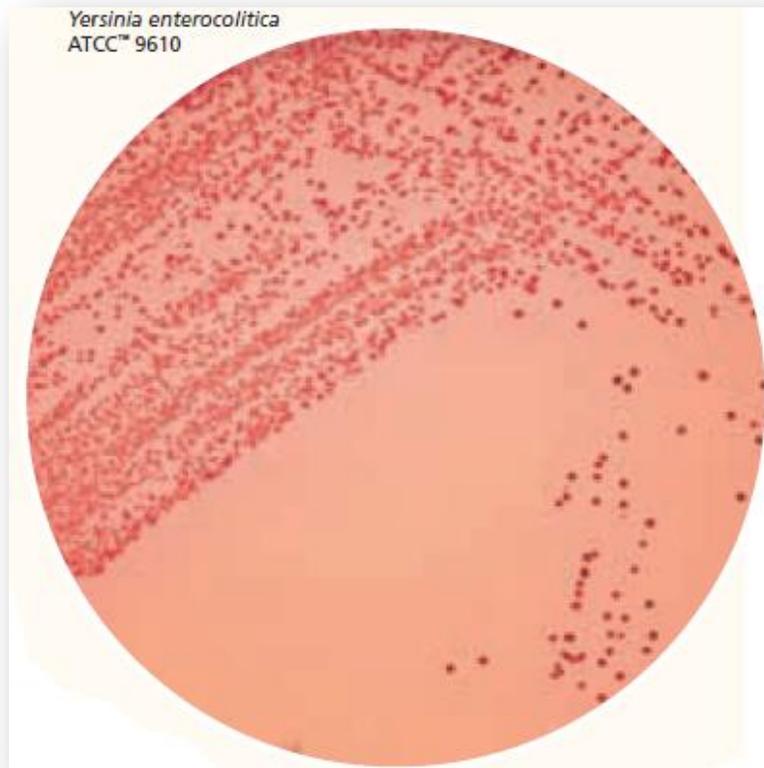


Figura 18. *Yersinia enterocolitica* en agar CIN.⁵⁹

Agar Salmonella-Shigella (SS)

Medio para el aislamiento de *Salmonella* y *Shigella*. Los elementos selectivos son las sales biliares, citrato sódico y férrico (inhiben a las bacterias grampositivas), tiosulfato y el colorante verde brillante. El carácter diferencial se basa en la fermentación de la lactosa, siendo el indicador utilizado el rojo neutro. Las colonias lactosa-positivas son de color rojo, mientras que las colonias lactosa- negativas son incoloras. El tiosulfato sódico y el citrato férrico amónico permiten detectar las colonias productoras de H₂S. Las colonias de *Shigella* son incoloras, y las de *Salmonella*, incoloras con el centro negro.^{55,57}



Figura 19. Agar SS.⁶⁰

Agar entérico Hektoen (HE)

Es un medio diferencial, selectivo utilizado en procedimientos cualitativos para el aislamiento, diferenciación y cultivo de microorganismos entéricos gramnegativos patógenos en heces, sueros biológicos, agua, leche y alimentos en general, especialmente *Shigella*, a partir de una variedad de muestras clínicas y no clínicas.^{55, 53, 59}

Por la presencia de dos indicadores se diferencian las colonias de bacterias lactosa positivas de las colonias lactosa negativas, las primeras toman un color amarillo anaranjado y las segundas un azul verdoso. Los microorganismos que fermentan la sacarosa y la salicina también toman un color amarillo anaranjado. La presencia de sacarosa y salicina evita la selección de patógenos falsamente positivos. Con el tiosulfato de sodio y el amonio hierro citrato se detectan los productos de sulfuro de hidrogeno que presentan el centro de las colonias. La presencia de sales biliares inhibe el crecimiento de una gran parte de la flora acompañante.⁵⁵

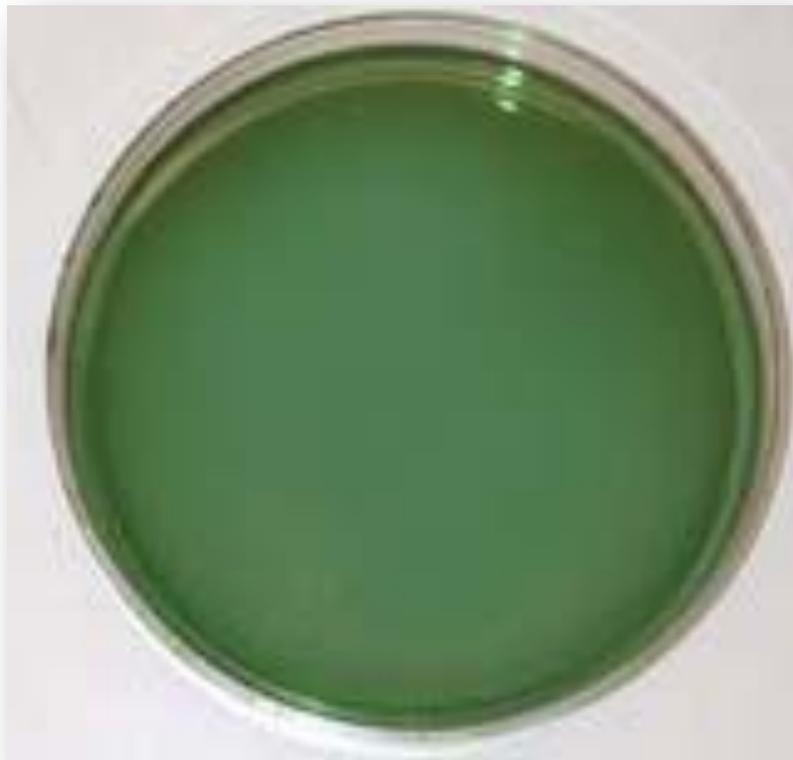


Figura 20. Agar Hektoen.⁵⁸

Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD)

Medio diferencial y selectivo utilizado para el aislamiento y diferenciación de bacterias enteropatógenas de muestras clínicas. Contiene azúcares y extracto de levadura como base nutritiva, desoxicolato sódico como agente selectivo que inhibe el crecimiento de la flora contaminante grampositiva y rojo de fenol como indicador. La mayoría de las Enterobacterias patógenas, a excepción de *Shigella*, fermentan la D (+)-Xilosa. El ácido producto de la fermentación de D (+)-Xilosa, de la lactosa o de sacarosa producen un viraje a amarillo del rojo de fenol contenido en el medio. La presencia de tiosulfato sódico y de citrato férrico amónico permite la detección de colonias productoras de H₂S dando colonias ennegrecidas siempre y cuando el pH del medio se mantenga alto, la presencia de xilosa y lisina ayuda a la diferenciación de las colonias de *Shigella* y *Salmonella*.^{55, 57}



Figura 21. Agar XLD.⁶¹

Agar Mueller-Hinton

Se emplea para ensayos de sensibilidad de los microorganismos frente a antibióticos y sulfamidas. En la preparación de este medio es fundamental que las concentraciones de timina, timidina y ácido 4-aminobenzoico, sean lo suficiente bajas para no inhibir la actividad antibacteriana de antibióticos y sulfamidas. Las dos primeras inhiben los antibióticos y el último las sulfamidas.⁵⁵



Figura 22. Agar Mueller-Hinton.⁶²

Anexo 3

Pruebas Bioquímicas

Fermentación de los hidratos de carbono más rojo de fenol

Determina la capacidad de un organismo de fermentar (degradar) un hidrato de carbono específico incorporado a un medio básico, produciendo ácido.⁵²

Las bacterias que fermentan un hidrato de carbono son por lo general anaerobios facultativos.⁶³

Interpretación

Positivo: Amarillo (ácido).

Retardada: Anaranjado “volver a incubar”.

Negativo: Rojo (alcalino).⁵²



Figura 23. Fermentación de carbohidratos. El tubo de la derecha muestra una reacción positiva mientras que el tubo de la izquierda negativa.⁶⁴

Agar triple azúcar hierro (TSI)

Determina la capacidad de un microorganismo de atacar un hidrato de carbono específico incorporado en un medio de crecimiento básico, con producción o no de gases, junto con la determinación de posible ácido sulfhídrico.⁶³

Interpretación

1. Rojo en el pico de flauta: alcalino; degradación aeróbica de glucosa
Amarillo en capa profunda: ácido; degradación anaeróbica de la glucosa.
2. Amarillo en pico: ácido
Amarillo en capa profunda: ácido
3. Rojo en pico de flauta: alcalino
Sin cambio de color en capa profunda: alcalino
4. Producción de H₂S: precipitado negro.
5. Producción de gases: producción de burbujas, descomposición del medio, ligera muesca del medio sobre el costado del tubo o desplazamiento del medio del fondo, dejando un espacio libre.⁶³

Reporte de resultados

K/K: no fermentación de glucosa y lactosa.⁶³

A/A: fermentación de la glucosa y lactosa.⁶³

Producción de ácido sulfhídrico.⁶³

K/A: fermentación de glucosa solamente.⁶³



Figura 24. Reporte de resultados.⁵⁹

Reacción de la ureasa

Se emplea para la diferenciación de bacilos entéricos. Está indicado para detectar aquellas bacterias capaces de producir ureasa.⁵⁵

Determina la capacidad de un organismo de desdoblar la urea formando dos moléculas de amoníaco por la acción de la enzima ureasa, esto hace virar el color del indicador rojo de fenol (de amarillo a rojo) poniéndose así de manifiesto la actividad ureasa.^{55, 63}

Interpretación

Positivo: rojo rosado intenso en el pico de flauta.

Negativo: amarillo.⁶³



Figura 25. Prueba de ureasa.⁴²

Prueba de Sulfuro Indol Movilidad (SIM)

Determina si un organismo es móvil o inmóvil, si es capaz de liberar ácido sulfhídrico por acción enzimática de los aminoácidos que contienen azufre produciendo una reacción visible de color negra y por último la capacidad de desdoblar el indol de la molécula triptófano, además que la consistencia del medio permite la observación de la movilidad de algunas bacterias.⁶³

Interpretación

Ácido sulfhídrico

Positivo: ennegrecimiento del medio.

Negativo: sin ennegrecimiento.⁶³



Figura 26. Producción de ácido sulfhídrico.⁶⁵

Indol (Agregar dos o tres gotas de Kovac)

Positiva: Rojo púrpura en la superficie del medio.

Negativa: No se produce color o color naranja en la superficie del medio.⁶³



Figura 27. Producción de indol.⁶⁵

Motilidad

Positiva: Los organismos móviles migran de la línea de siembra y se difunden en el medio provocando turbiedad.⁶³

Negativa: Crecimiento bacteriano acentuado siguiendo la línea de siembra.⁶³

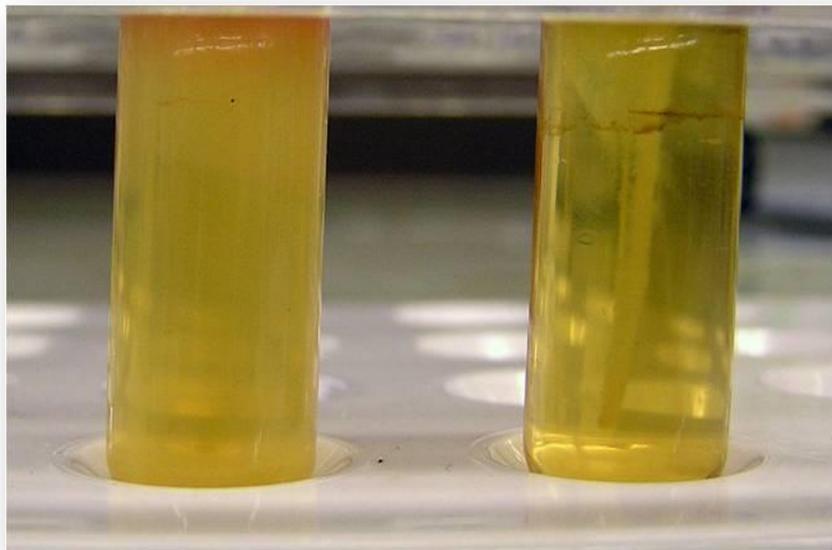


Figura 28. El tubo de la izquierda demuestra la turbidez uniforme, el tubo de la derecha muestra el crecimiento de los organismos no móviles.⁶⁶

Citrato de Simmons

Se emplea para la diferenciación e identificación de Enterobacterias, basándose en la utilización del citrato.⁵⁵

Determina si un microorganismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono para el metabolismo y crecimiento, provocando alcalinidad.⁶³

Interpretación:

Positiva: Crecimiento aunque no exista cambio de color.

Positiva: Crecimiento en el pico de flauta y el medio vire a color azul intenso.

Negativo: No se observa crecimiento y el medio es de color verde.⁶³



Figura 29. Prueba de citratos, los tubos del lado izquierdo muestran un resultado positivo, el tubo del lado derecho representa un resultado negativo.⁶⁷

Prueba de Fenilalanina desaminasa

Determina la capacidad de un organismo de desaminar la fenilalanina en ácido fenilpirúvico por su actividad enzimática, con la consiguiente acidez resultante.^{52, 63}

Interpretación

Positiva: Formación de un color verde claro a intenso en el pico de flauta y en el líquido de sinéresis.^{52,63}

Negativo: No se produce cambio de color; se mantiene amarillo por el color del reactivo cloruro férrico.^{52,63}

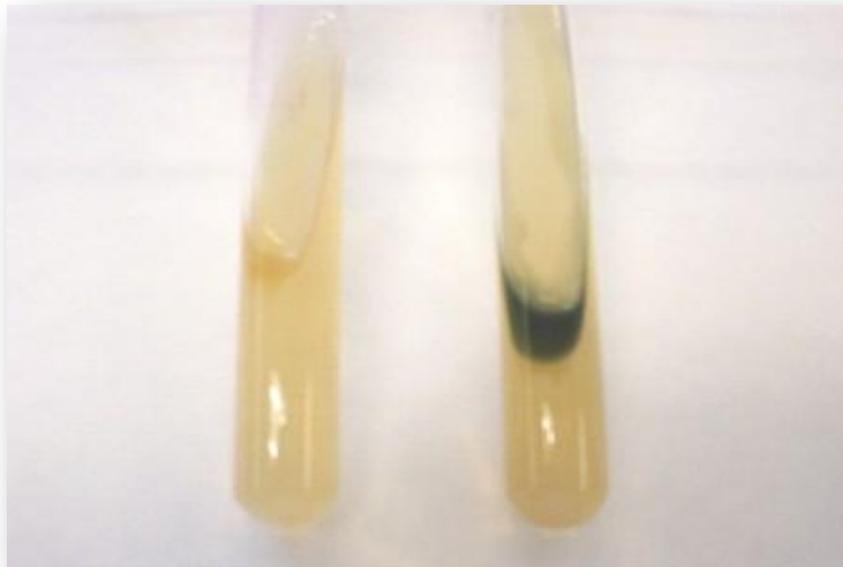


Figura 30. Prueba de fenilalanina desaminasa tubo derecho reacción es positiva, tubo izquierdo tenemos un resultado negativo.⁶⁸

Prueba de Voges- Proskauer

Se emplea como medio diferencial para bacterias, principalmente Enterobacterias. Determina la capacidad de algunos organismos de producir un producto final neutro, la acetoina a partir de la fermentación de la glucosa.^{55,63}

VP: Adicionar hidróxido de potasio al 40%, a-naftol.⁵²

Interpretación

Positivo: Color rojo rosado en la superficie del medio (presencia de acetoina).

Negativa: Amarillo. Puede formarse un color cobrizo pero aún así la reacción es negativa.⁶³

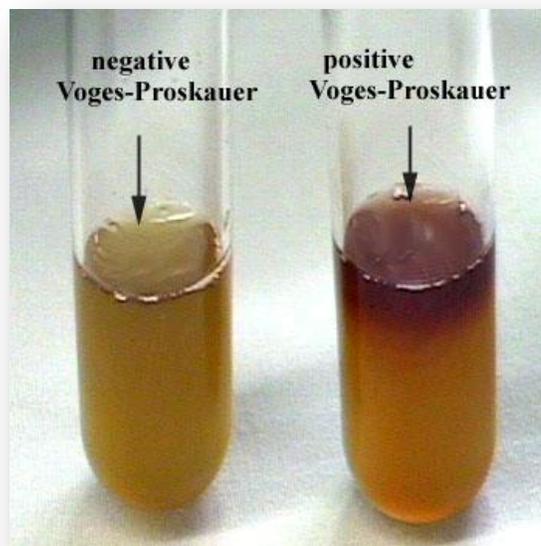


Figura 31. El tubo izquierdo representa una reacción negativa y el tubo derecho una reacción positiva.⁶⁹

Reducción de nitratos

Determina la capacidad de un microorganismo de reducir al nitrato en nitritos o en nitrógeno libre.^{52, 63}

Interpretación

Se interpretan los resultados un minuto después de adicionar los reactivos.⁶³

Positivo: Rosa a rojo intenso.

Negativo: Amarillo.^{52, 63}

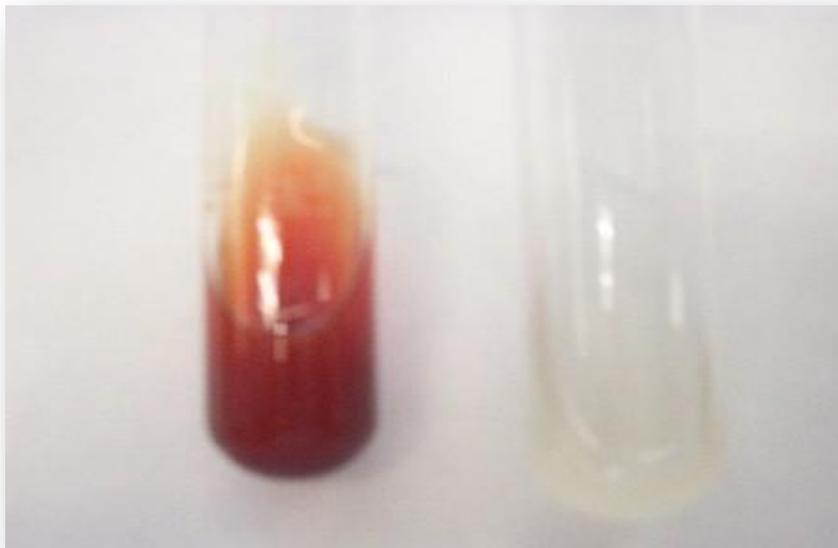


Figura 32. Reacción positiva tubo izquierdo, negativo tubo derecho.⁶⁸

Prueba de oxidación fermentación (O/F)

Determina el metabolismo oxidativo o fermentativo de un hidrato de carbono. Algunas bacterias son capaces de metabolizar un carbohidrato solo en condiciones aeróbicas, mientras que otras producen ácido tanto aeróbica como anaeróbicamente. La diferencia principal entre el metabolismo fermentativo y oxidativo depende de los requerimientos de oxígeno atmosférico y de la fosforilación inicial.⁶³

Interpretación

OXIDACIÓN

- | | |
|-----------------|--------------------------|
| A) Tubo abierto | Amarillo (A) |
| Tubo sellado | Verde (N). ⁵² |

FERMENTACIÓN

- | | |
|-----------------|-----------------------------|
| B) Tubo abierto | Amarillo (A) |
| Tubo sellado | Amarillo (A). ⁵² |

NO UTILIZA EL CARBOHIDRATO

- | | |
|---------------------------|-------------------------------------|
| C) Tubo abierto y sellado | Verde o Azul (N o K). ⁵² |
|---------------------------|-------------------------------------|

Reporte de resultados.

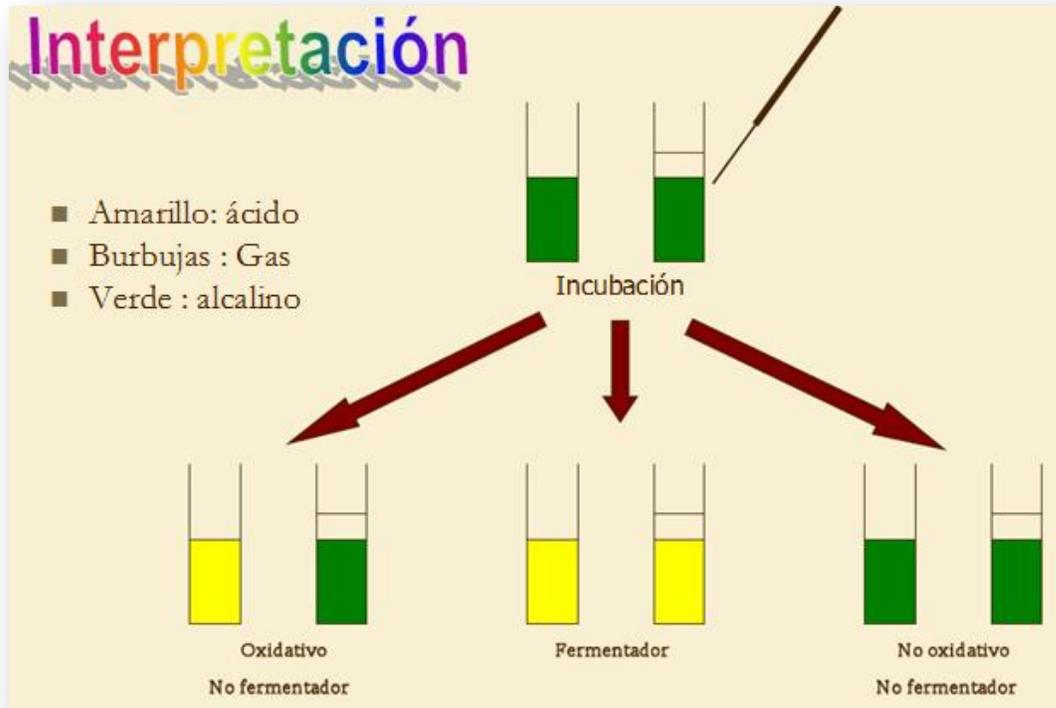


Figura 33. Reporte de resultados del medio O/F. ⁶⁴

Reacción de Rojo de Metilo (RM)

Comprueba la capacidad de un organismo de producir y mantener estables los productos terminales ácidos de la fermentación de la glucosa y vencer la capacidad amortiguadora del sistema.⁶³

El rojo de Metilo presenta color amarillo por encima de un pH de 5.1 y sólo presenta color rojo cuando el pH desciende hasta 4.4.⁵⁵

RM: Adicionar el indicador rojo de metilo.⁵²

Interpretación

Positiva: Rojo en la superficie del medio (pH= 4.4)

Algunas bacterias pueden producir menos cantidades de ácido a partir del sustrato por ello es posible que aparezca un color naranja, esto indica una prueba positiva.

Negativo: Amarillo (pH=6) ó naranja.^{52,63}

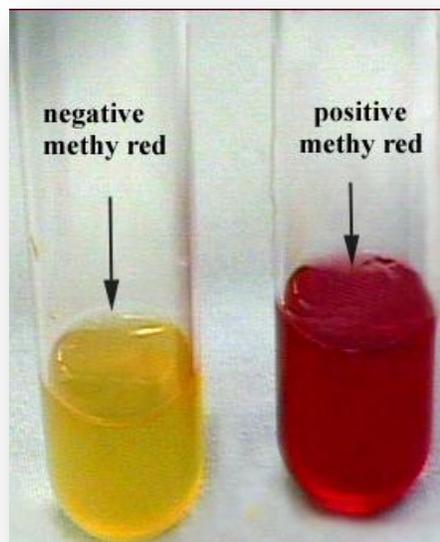


Figura 34. Prueba de rojo de metilo, tubo derecho prueba positiva, tubo izquierdo prueba negativa.⁶⁹

Orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosido (ONPG)

Por hidrólisis, a través de la enzima β -galactosidasa, el ONPG produce dos residuos, galactosa y *o*-nitrofenol. El ONPG es un compuesto incoloro; *o*-nitrofenol es amarillo, lo que permite la visualización de la hidrólisis.⁴⁸

Al colocar una asada del microorganismo en un tubo de ensayo con 0.5 ml de una solución del reactivo ONPG, que es de color blanco, a los 10-20 minutos aparece un color amarillo intenso por la acción de la enzima β -galactosidasa producida por la bacteria que hidroliza el ONPG liberando ortonitrofenol, que es amarillo.⁵⁷

El color amarillo suele ser bien definido e indica que el microorganismo ha producido *o*-nitrofenol a partir del sustrato ONPG por acción de la β -galactosidasa.⁴⁸

Las reacciones no deben ser consideradas negativas antes de las 24 horas de incubación.⁴⁸

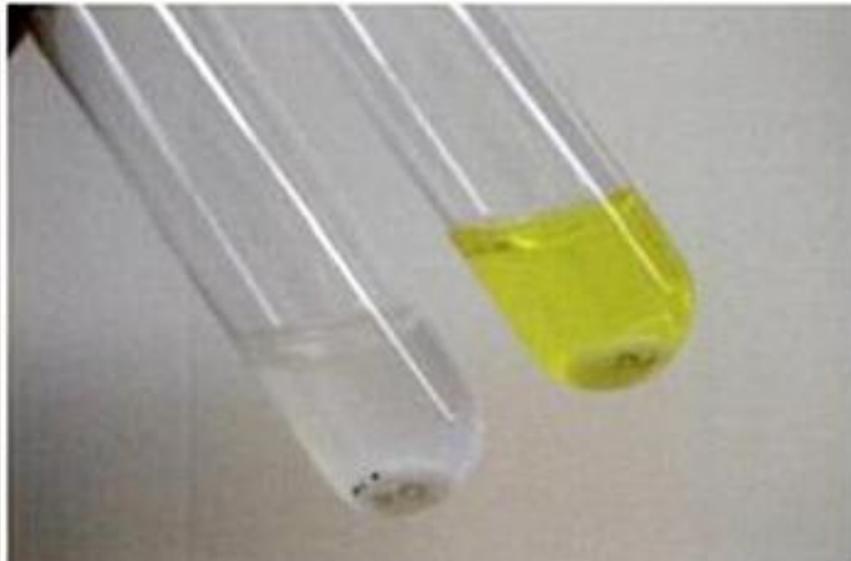


Figura 35. Prueba de β -galactosidasa.⁵⁷

Prueba de pirazinamidasas

La desaminación de la pirazinamida a ácido pirazinoico en 4 días es una característica fenotípica útil.

Técnica

- ✓ Sembrar una asada de un cultivo en fase de desarrollo activo en la superficie de dos tubos de agar pirazinamidasas.
- ✓ Incubar los tubos con tapas flojas a temperatura ambiente.
- ✓ Sacar uno de los tubos después de 4 días
- ✓ Agregar 1.0ml de sulfato amónico ferroso al 1%.
- ✓ Observar el tubo en busca de la aparición de una banda rosada en el agar después de 30 minutos a temperatura ambiente.
- ✓ Colocar en el refrigerador los tubos negativos y examinar nuevamente a las 4 horas en busca de la banda rosada.⁴⁸

Interpretación

Después de 4 horas observar los tubos en busca de la aparición de una banda rosada en la capa de reactivo sobre la superficie del agar (reacción positiva), utilizando luz incidente contra un fondo blanco. Repetir el procedimiento con el tubo restante después de 7 días de incubación.⁴⁸

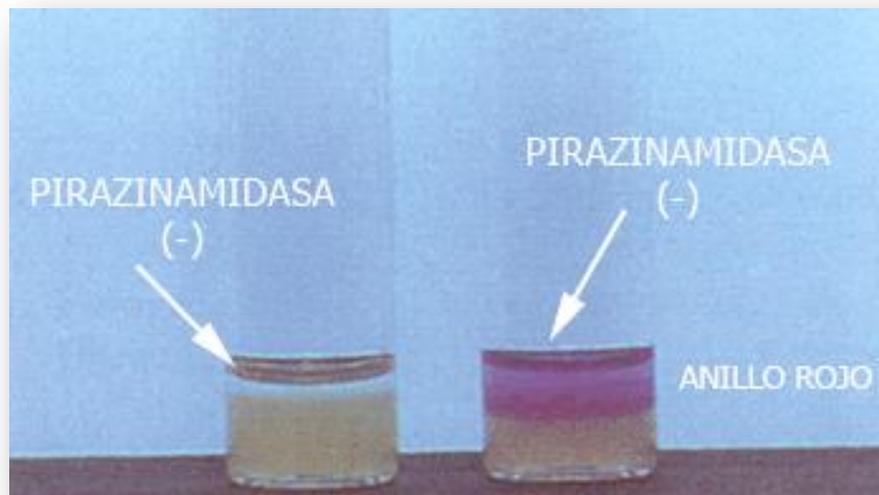


Figura 36. Prueba de pirazinamidasas.⁷⁰

Prueba de hidrólisis de la esculina

El medio de esculina sin bilis es útil para diferenciar varias especies de bacilos no fermentadores. La esculina es un compuesto fluorescente bajo luz ultravioleta a 360nm. Cuando se hidroliza la fluorescencia se pierde y el medio vira al negro.⁴⁸

Después de tomar el centro de una colonia bien aislada, con un asa sembrar el microorganismo en la superficie de un tubo de agar en pico de flauta o en un tubo de caldo. Incubar de 18 a 24 horas a temperatura ambiente.⁴⁸

Interpretación

El desarrollo de un color negro o la pérdida de fluorescencia bajo la luz ultravioleta (360nm) se interpreta como un resultado positivo. La presencia de fluorescencia o la ausencia de color negro indican un resultado negativo.⁴⁸



Figura 37. Bilis esculina negativo.⁶⁷

Figura 38. Bilis esculina positivo.⁶⁷



Prueba de Arginina dihidrolasa

Determina la capacidad enzimática de un microorganismo de descarboxilar un aminoácido para formar una amina con la resultante alcalinidad.⁵¹

Transforma la Arginina en ornitina, amonio y dióxido de carbono.⁷¹

El amonio eleva el pH y hacen virar el indicador (rojo de fenol) de amarillo a rojo.⁷¹

Interpretación

Positivo: Color púrpura turbio a amarillo-púrpura apagado.

Negativo: Color amarillo brillante, claro.⁵¹

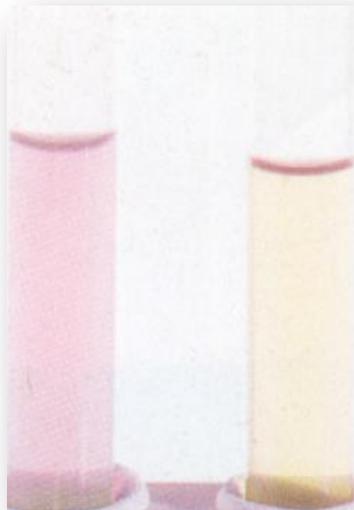


Figura 39. Prueba de Arginina dihidrolasa. Tubo izquierdo reacción positiva, tubo derecho reacción negativa.⁵¹

Prueba de malonato

Determina la capacidad de un microorganismo de utilizar el malonato de sodio como única fuente de carbono con la resultante alcalinidad.⁵¹

Interpretación

Positivo: reacción alcalina.

Color azul pálido a color azul Prusia oscuro en todo el medio.

Negativo: sin cambios de color (verde) o amarillo (sólo fermentación de la glucosa).⁵¹

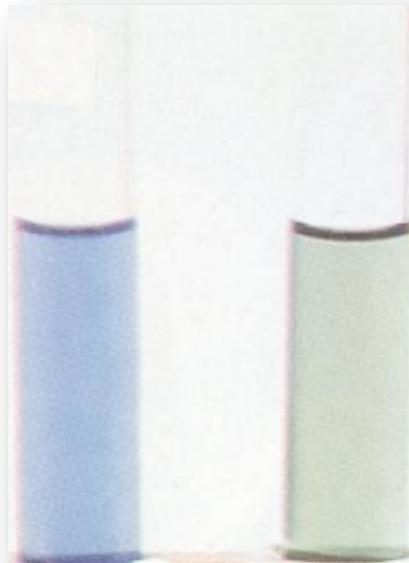


Figura 40. Prueba del medio con malonato. Tubo izquierdo reacción positiva, tubo derecho reacción negativa.⁵¹

Anexo 4

Pruebas especiales

Prueba de oxidasa

La prueba de la oxidasa está basada en la producción bacteriana de una enzima oxidasa. Esta reacción de la oxidasa se debe a la presencia de un sistema citocromooxidasa que activa la oxidación del citocromo reducido por el oxígeno molecular, el que a su vez actúa como aceptor de electrones en la etapa terminal del sistema de transferencia de electrones.⁵²

La producción de oxidasa se evalúa poniendo unas gotas de una solución de N-dimetil-p-fenilendiamina (reactivo de Kovacs), preparada recientemente, en una tira de papel secante, situada sobre un portaobjetos o una placa de petri. Con ayuda de un asa, se deposita sobre el papel el microorganismo tomado del cultivo. En caso de positividad, aparece de inmediato un color violeta intenso.⁵⁷



Figura 41. Prueba de oxidasa.^{42, 57}

Prueba de Catalasa

Comprueba la presencia de la enzima catalasa.⁵²

La enzima catalasa se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen citocromo y por lo tanto descomponen el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno.⁵²

Se toma la bacteria a partir del cultivo en medio sólido con un asa bacteriológica. Se introduce en un tubo con agua oxigenada. Puede observarse la formación de burbujas, lo que indica la producción de catalasa. Esta prueba, alternativamente, puede efectuarse depositando una gota de agua oxigenada en un portaobjetos en la que se emulsiona la bacteria.⁵⁷



Prueba de DNAsa

Determina la capacidad del microorganismo de producir la desoxirribonucleasa. Esta prueba se realiza a temperatura ambiente, en un medio de base de agar conteniendo verde de metilo como indicador y ADN como sustrato.^{53, 52}

Interpretación

Prueba positiva: los cultivos que producen DNAsa muestran una zona de aclaramiento alrededor de las franjas de diseminación, y el medio no afectado aparece turbio.⁵²

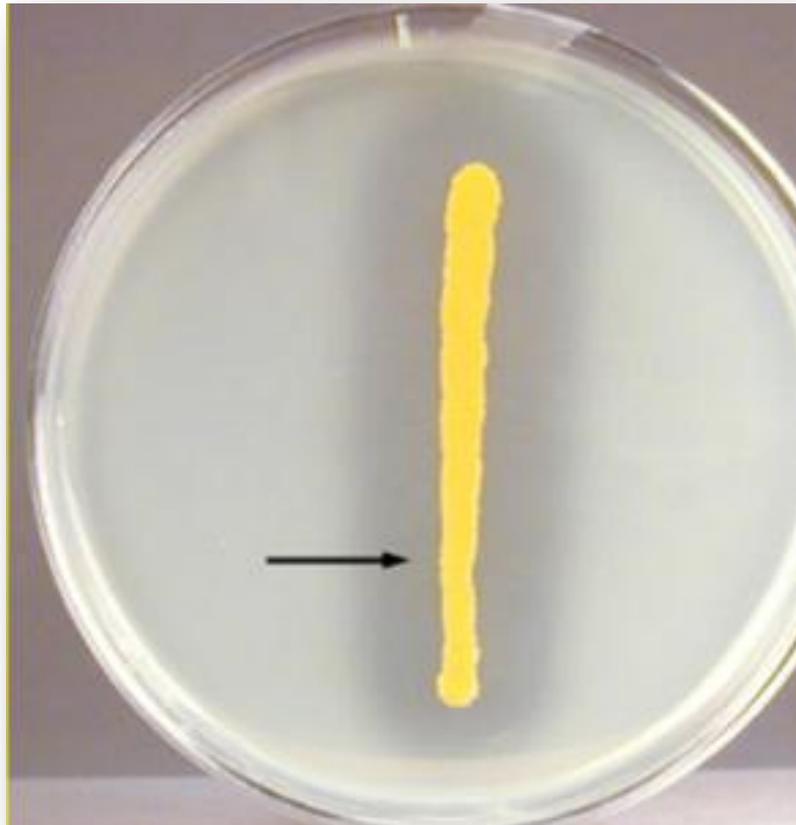


Figura 43. Prueba de DNAsa.⁶⁷

Anexo 5

Técnicas y marcha diagnóstica

Coprocultivo

En cualquier caso, es importante contar con procedimientos de laboratorio bien controlados que permitan detectar la presencia de agentes patógenos o bien dar alguna información sobre alteraciones en el equilibrio de la forma normal.⁶³

Procedimiento

- Llenar la planilla de registro del laboratorio con los datos personales, epidemiológicos y clínicos del paciente.¹⁸
- Realizar el examen macroscópico y microscópico (leucocitos fecales) de una muestra de heces y describir lo observado en cada caso.¹⁸
- Preparar una suspensión fecal en SSF y sembrar en los diferentes medios de cultivo, incubar en las condiciones ya señaladas.¹⁸

Segundo período

Observar las placas sembradas, describir las características observadas en cada medio y seleccionar las colonias de interés, inocular las pruebas bioquímicas según el caso, incubar a 37°C en aerobiosis durante 12-18 horas.¹⁸

Tercer período

Realizar la prueba de oxidasa de las colonias seleccionadas y ubicar la bacteria según el resultado obtenido, utilizando el anexo 4.¹⁸

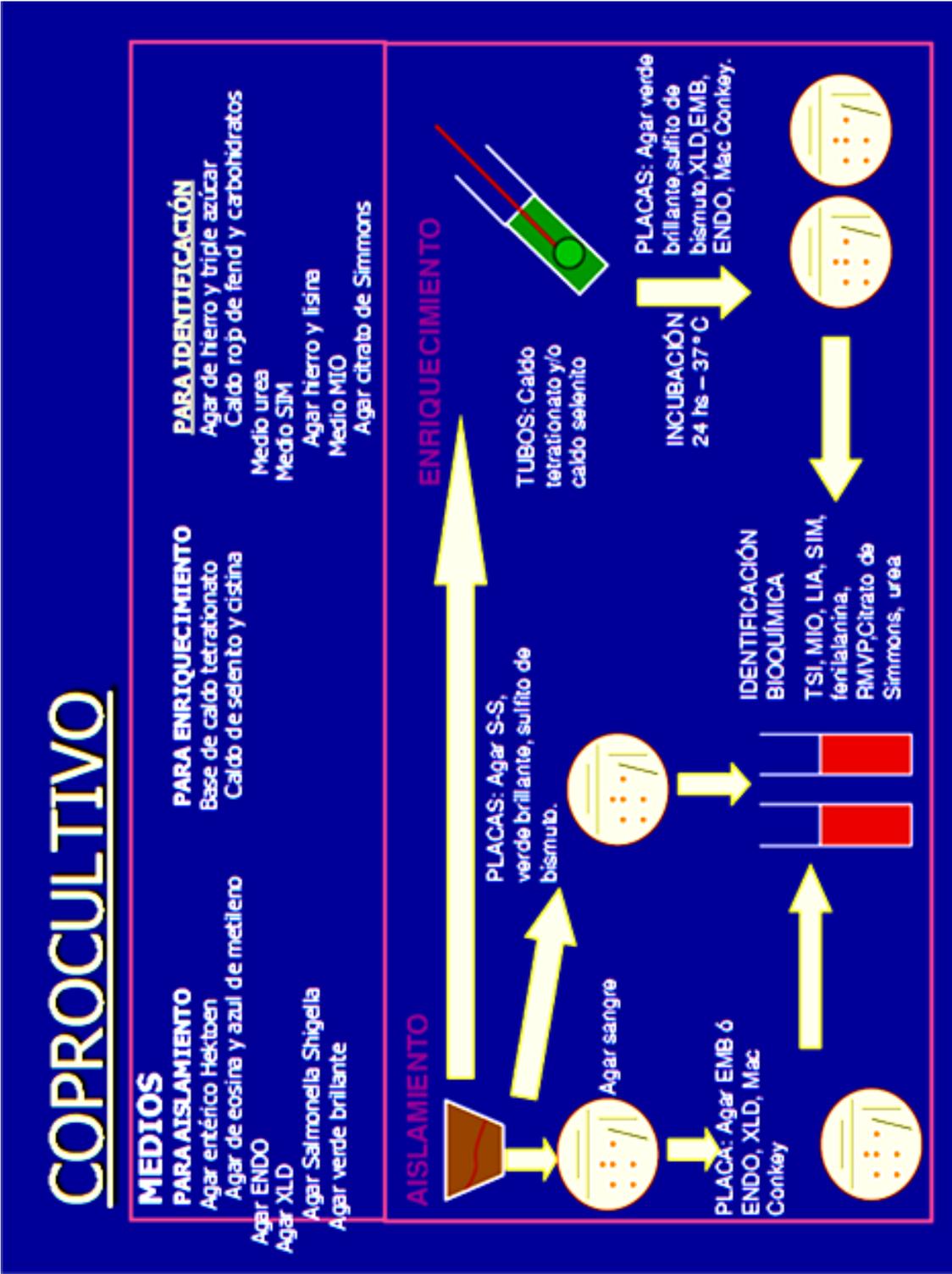
Realizar la lectura de las pruebas bioquímicas montadas en el período anterior e identificar la(s) bacteria(s) presente(s), utilizando tablas y esquemas.¹⁸

Realizar las pruebas serológicas en caso necesario.¹⁸

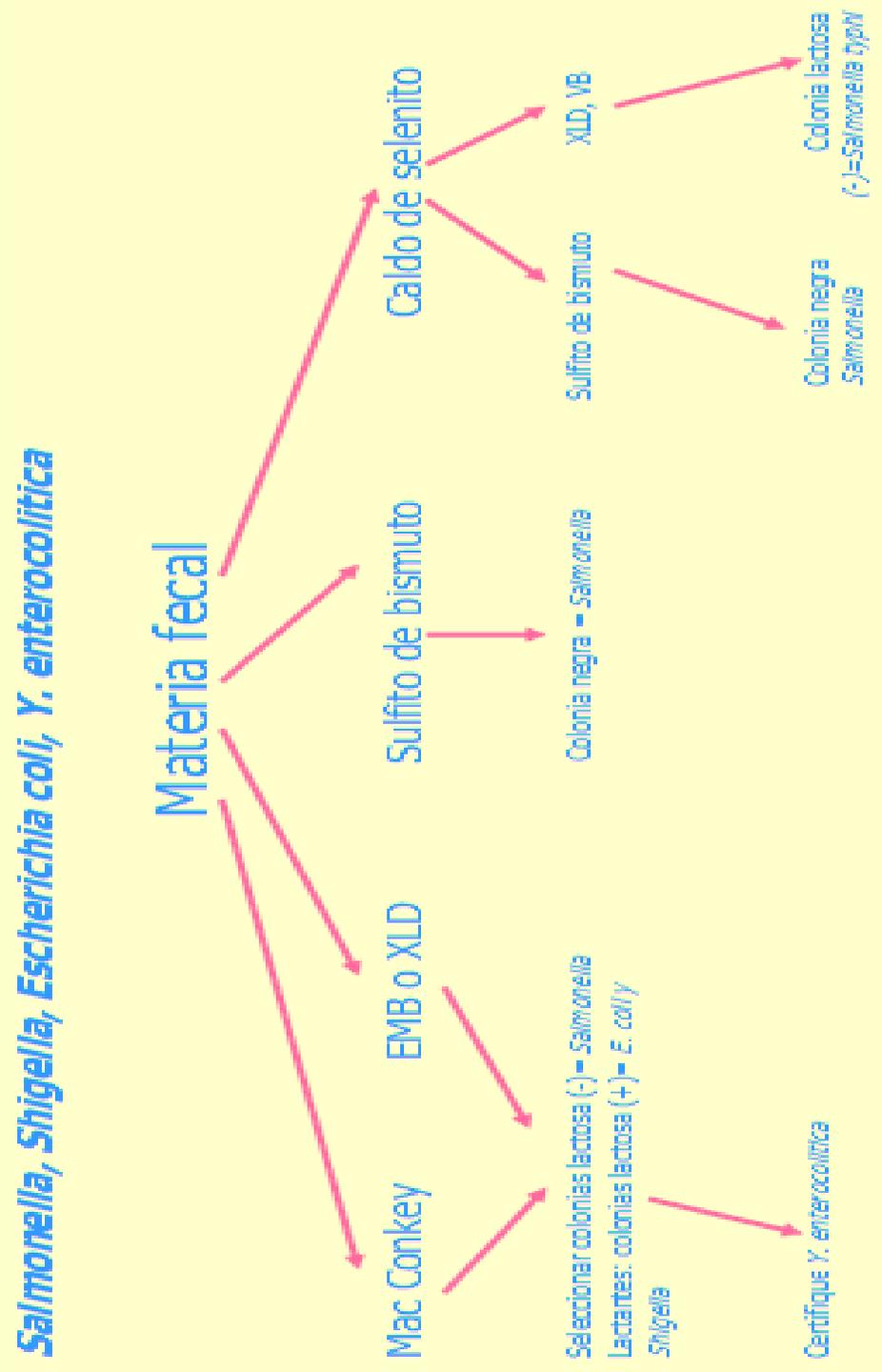
Realizar el antibiograma si el caso lo amerita, de lo contrario realizar el reporte.¹⁸

Cuarto período

Realizar la lectura del antibiograma.¹⁸

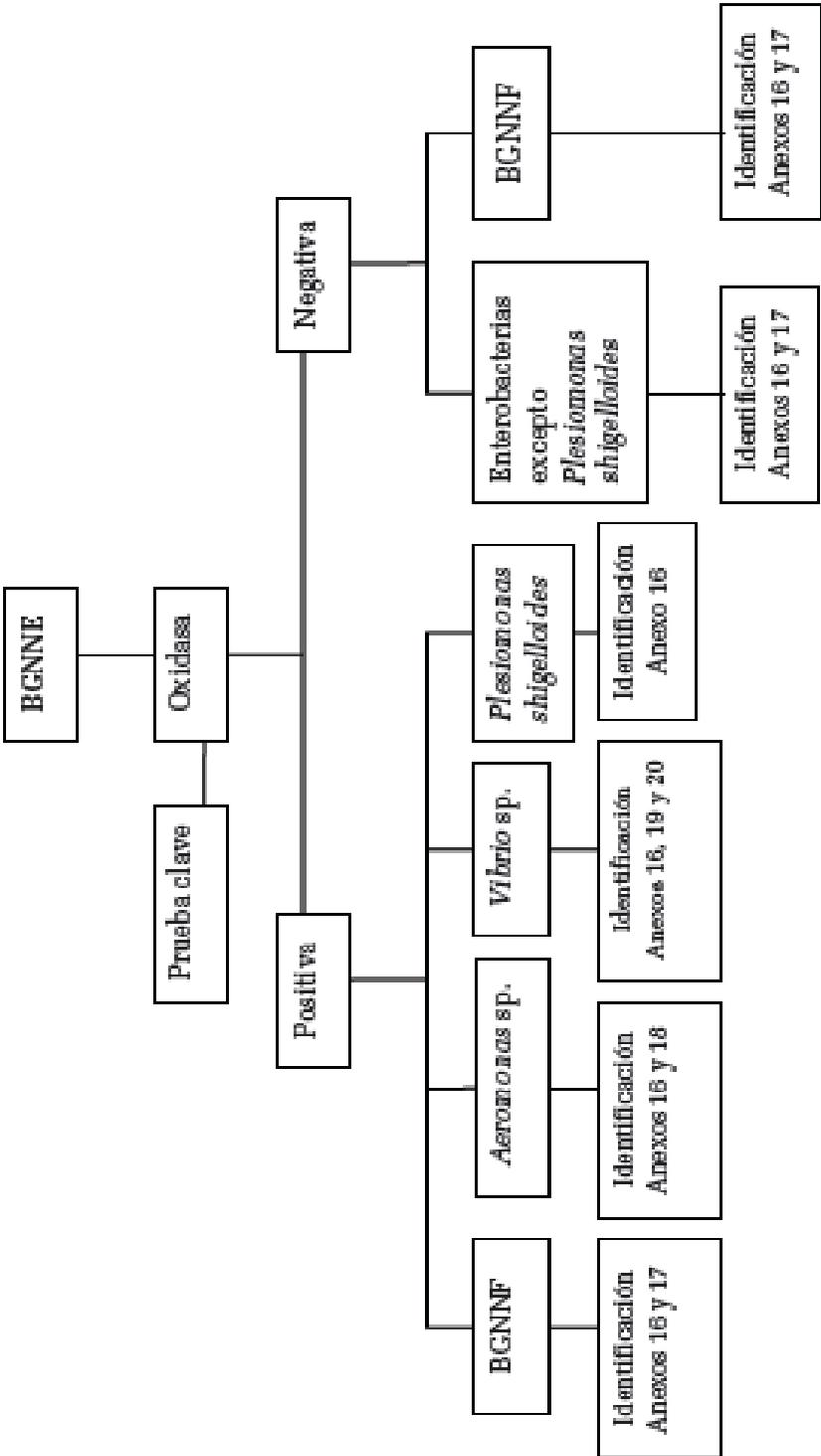


Esquema 1. Coprocultivo.⁶⁴



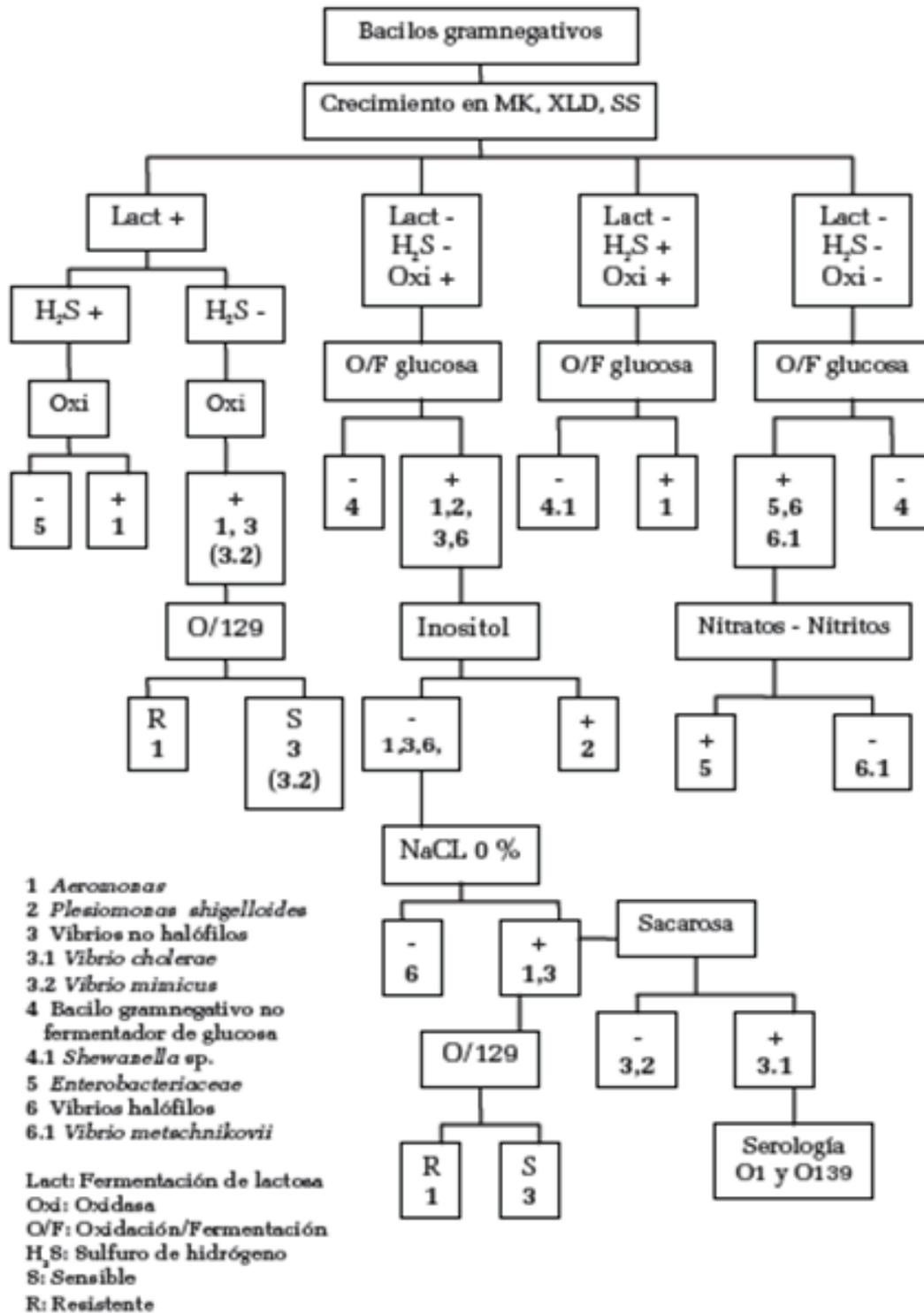
Esquema 2. Aislamiento de bacterias patógenas de heces.⁶⁴

Esquema de identificación de bacilos gramnegativos no exigentes (BGNNE).¹⁸



Esquema 3. Identificación de bacilos gramnegativos no exigentes (BGNNE).¹⁸

Esquema general para identificación de algunos bacilos gramnegativos no exigentes (BGNNE).¹⁸



Esquema 4. Identificación de algunos bacilos gramnegativos no exigentes (BGNNE).¹⁸

Anexo 6

Otras pruebas

Detección de leucocitos fecales

Colocar una pequeña cantidad de moco o de heces en una lámina y mezclar con 2-3 gotas de azul de metileno al 1%.¹⁸

Cubrir con una laminilla y esperar 2 a 3 minutos con la finalidad de obtener una buena coloración nuclear.¹⁸

Observar al microscopio con los objetivos secos (10X y 40X).¹⁸

Nota: también se puede realizar un frotis y colorearlo con una coloración simple o compuesta.¹⁸

Interpretación:

La presencia de 5 o más leucocitos por campo microscópico sugiere la presencia de un agente enteroinvasor. La ausencia de células inflamatorias sugiere la presencia de un agente toxigénico **(Ver cuadro 1)**.¹⁸

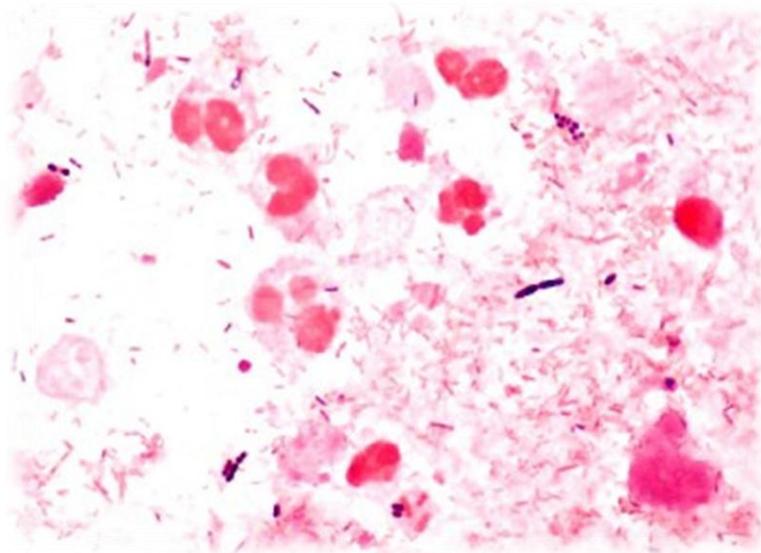


Figura 44. Detección de leucocitos fecales.⁷²

Anexo 7

Reporte de resultados

| | | |
|---|---|-------------------------------------|
|  | UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO | |
| | FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA | |
| | LABORATORIO CLÍNICO | |
| | Responsable: _____ | Número de Cédula Profesional: _____ |
| Nombre: | _____ | |
| Edad: | _____ | Número de solicitud: _____ |
| Sexo: | _____ | Procedencia: _____ |
| Fecha de petición: | _____ | Hora de petición: _____ |
| Tipo de muestra: | _____ | Examen realizado: _____ |
| | _____ | Médico tratante: _____ |
| Clave de laboratorio: | _____ | Hora de toma de muestra: _____ |
| Probable diagnóstico: | _____ | |
| Examen directo (técnica utilizada): | _____ | |
| Cultivo: | _____ _____ | |
| Antibiograma: | _____ _____ | |
| Observaciones: | _____ _____ | |
| Género y especie: | _____ | |
| | Firma y sello del responsable. | |

Glosario

Artritis reactiva

La infección por shigelas, campilobacterias o yersinias procedentes del tubo digestivo puede ir seguida por una artritis reactiva, una a tres semanas después del establecimiento de los síntomas intestinales y, con frecuencia, después de que éstos han desaparecido.⁷³

Puede haber dolor e inflamación de una o más articulaciones durante cierto tiempo, aunque la situación se resuelve de manera espontánea, sin efectos perdurables. La artritis tiene las características de una reacción mediada por inmunidad y es más común en personas con el antígeno de histocompatibilidad HLA-B27; se desconocen los mecanismos de reacción.⁷³

Bacteriemias

Presencia de bacterias en la sangre.⁴

Carditis

O inflamación del corazón, es más conveniente dividir en tres categorías.⁷⁴

Pericarditis: inflamación del pericardio.

Miocarditis: inflamación del músculo cardíaco.

Endocarditis: inflamación del endocardio.⁷⁴

Carnización

Todo conjunto de procesos por los que se transforman los seres vivos en productos de consumo directo e industriales. Para el consumo directo las canales deben sufrir una serie de transformaciones hasta que el músculo se convierte en el producto comestible.⁷⁵

Enteritis

Inflamación del intestino delgado, aguda o crónica. Cuando se presenta como un trastorno agudo suele estar provocado por una infección bacteriana, vírica o por toxinas bacterianas. Los síntomas más comunes son dolor abdominal, diarrea y, en ocasiones, vómito, que puede acabar

provocando deshidratación. La enteritis de tipo crónico suele afectar al íleon y puede estar ocasionada por el bacilo tuberculoso. Viene acompañada de diarrea, anorexia y pérdida de peso.⁷⁶

Eritema nodoso

Una erupción de la piel que ocurre en asociación con infección generalizada o reacción alérgica. Los síntomas son: malestar, náusea y vómito, cólicos abdominales.⁷⁷

Gastroenteritis

Término que se utiliza para designar la inflamación del estómago o del intestino delgado. Los signos referidos son náuseas, vómito, dolor abdominal difuso, en ocasiones acompañado de cólicos y frecuentemente de diarrea.⁴

Glomerulopatías

Designa un conjunto de enfermedades que se caracterizan por una pérdida de las funciones normales del glomérulo renal. Se caracterizan por la aparición de elementos formes o proteínas en la orina, con grados variables de insuficiencia renal.⁷⁸

Peritonitis

Inflamación aguda o crónica del peritoneo que puede estar localizada alrededor de un órgano o ser de carácter generalizado.⁷⁶

Septicemia

Un estado clínico agudo, acompañado de síntomas muy severos. La sangre contiene microorganismos en multiplicación y con producción de factores tóxicos.⁴

Desarrollo persistente de bacterias en la corriente sanguínea. Síntomas: escalofríos, fiebre y malestar.⁷⁷

Síndrome de Crohn

Aunque frecuentemente limitada a la porción terminal del íleon, esta enfermedad es un trastorno inflamatorio crónico que puede progresar hacia arriba a través del intestino delgado. Los ataques de cólico ocurren en el cuadrante abdominal inferior derecho, acompañados comúnmente por

diarrea. La pérdida de peso puede ser importante. Un ataque agudo puede ser tan semejante a la apendicitis que se requiere la intervención quirúrgica.⁷⁷

Síndrome de Reiter

Esta tríada de uretritis, artritis y conjuntivitis tienen las características de una reacción mediada por inmunidad; no necesariamente se presentan los tres miembros clásicos de la tríada en todos los casos. Es más común en el varón (15:1 respecto a la mujer) con ciertos antígenos HLA-B, en especial el HLA-B27. Se encuentra muy relacionado con la uretritis por clamidias.⁷³

Los síntomas aparecen de 8 a 28 días después de la infección inicial, cuando el agente infectante puede ya no estar presente, pero es posible utilizar pruebas serológicas para confirmar la infección. Es frecuente la recurrencia, especialmente de la artritis. El síndrome completo (no sólo la artritis) también puede ser desencadenado por la infección intestinal con salmonelas, shigela, campilobacterias o yersinias.⁷³

Tenesmo rectal

Deseo continuo, doloroso e ineficaz de defecar debido a una irritación del recto.⁷⁶

Tiroiditis

Toda afección inflamatoria de la glándula tiroides, ya sea causada por una infección, por problemas autoinmunológicos u otras causas.⁷⁶

Vector

Un huésped susceptible, comúnmente un artrópodo, cuyo papel es transmitir una enfermedad. *Mecánicos*: cuando sólo se transporta al parásito. B) *Biológico*: cuando el parásito se multiplica o continúa su ciclo biológico en el vector.⁴

Discusión

El presente manual es una recopilación de información bibliográfica y de artículos electrónicos que muestran información específica, actualizada, concisa y estructurada; que proporciona una herramienta que sirva de apoyo y guía para la identificación correcta y oportuna de *Yersinia enterocolitica*, para el módulo de Microbiología Médica del área de Bioquímica Clínica de la carrera de Q.F.B. y personal del área de la salud.

Durante la práctica del aparato digestivo en el área de microbiología médica de la carrera de Q.F.B. y para el personal del área de la salud será de fácil comprensión ya que marca la diferencia que existe con otros géneros de la familia Enterobacteriaceae por constituir un conjunto mayor y heterogéneo de bacilos gramnegativos de importancia médica.

El propósito de este manual integral es dar a conocer la información más completa de *Yersinia enterocolitica*; ya que es fácil confundirla con otro género de enterobacterias, al ser también bacilos gramnegativos, anaerobios facultativos, no esporulado, móviles e inmóviles, crecer en medios de cultivo comunes y causante de diarrea.

Se da a conocer la marcha microbiológica con el fin de poder identificar este microorganismo, la cual consta de las tres fases del control de calidad; la fase pre analítica es la recolección de la muestra, la fase analítica nos muestra el procesamiento de la muestra y la fase pos analítica nos muestra un informe para reportar los resultados.

La ventaja que proporciona este manual es dar información rápida y eficaz para llevar a cabo su correcta identificación mediante la marcha diagnóstica y que la pueden utilizar todo tipo de laboratorios; como son:

Enriquecimiento en frío en solución salina.

Medios de cultivo más utilizados MacConkey, Cefsulodin-Irgasan Novobiocina (CIN)

Tinción de Gram

Prueba de oxidasa.

Prueba de catalasa

Pruebas bioquímicas: TSI, Urea, motilidad (22°C) entre otras.

Yersinia enterocolitica presenta condiciones de cultivo que van de 0°C y 45°C, siendo el óptimo de 25-28°C, constituyendo un grupo heterogéneo que puede sobrevivir y crecer a temperaturas de refrigeración, lo cual permite utilizar una técnica denominada enriquecimiento en frío que le otorga crecer selectivamente.

Yersinia puede cultivarse en agar MacConkey, SS, Hektoen, y Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD). Al crecer más lentamente que el resto de las enterobacterias a 37°C las colonias son muy pequeñas

y pueden pasar desapercibidas. Para mejorar su recuperación se utiliza el agar CIN ya que es un medio selectivo para *Yersinia* porque inhibe el crecimiento de otras bacterias.

Produce colonias en ojo de buey por la fermentación de manitol formando colonias con centros de color rojo oscuro o rojo oscuro con variantes purpúreas rodeadas por un borde traslúcido. Como la mayoría de las especies de *Aeromonas* producen colonias similares en CIN es importante realizar la prueba de oxidasa para verificar que los microorganismos son especies de *Yersinia*.

Para la identificación clínica de las cepas de *Yersinia enterocolitica* es importante incubar las placas durante 24 horas a temperatura ambiente.

Se presentan 7 anexos en el cual los más importantes son: el tercero porque describe las técnicas e interpretación de una batería amplia de pruebas bioquímicas y el cuarto pruebas especiales más específicas para poder identificar a *Yersinia enterocolitica*.

Es de suma importancia que el Q.F.B. y el personal de salud conozcan las condiciones en que esta bacteria puede crecer para evitar confusión con otros géneros y así poder identificarla correctamente.

Conclusiones

Considerando lo siguiente, los dos primeros objetivos planteados en la presente tesis se cumplieron satisfactoriamente:

- ✓ Se elaboró un manual integral de diagnóstico microbiológico para la identificación de: *Yersinia enterocolitica* presentado en capítulos que van desde taxonomía hasta tratamiento y prevención, así como anexos y glosario, dando como resultado la enseñanza aprendizaje para el área de Bioquímica Clínica de la carrera de Q.F.B. en el módulo de microbiología médica y el personal de salud.
- ✓ Se proporciono información general como específica para identificar a **Yersinia enterocolitica** mediante la marcha microbiológica, ya que como QFB's del área clínica y personal de salud, es de suma importancia conocer y llevar a cabo este apartado para así complementar con el cuadro clínico y dar un diagnóstico correcto.
- ✓ Se dio a conocer como esta bacteria se puede confundir con otro género de Enterobacterias, y al emplear pruebas básicas, rápidas y específicas que se pueden realizar en cualquier laboratorio se puede identificar a **Yersinia enterocolitica**.
- ✓ Se menciona un argumento importante para poder aislar esta bacteria ya que por su amplio rango de temperatura se puede realizar la técnica de enriquecimiento en frío, el cual es útil para que esta bacteria crezca selectivamente.
- ✓ Se hablo de medios de cultivo más utilizados para el aislamiento e identificación de *Yersinia enterocolitica*, siendo el más utilizado el agar CIN ya que es un medio selectivo para *Yersinia* y las colonias crecen en forma de ojo de buey.
- ✓ Se desarrollo un manual que integra toda la información importante necesaria y pertinente acerca de **Yersinia enterocolitica**, como un material de apoyo invaluable para el módulo de Microbiología Médica de la carrera de Q.F.B.

Referencias

1. Romero C. Microbiología y parasitología humana. 3ª ed. México: Médica Panamericana; 2007. pp 466-467, 472.
2. Bacteriemia y absceso hepático causado por *Yersinia enterocolitica* (publicación periódica en línea) An. Sist. Sanit. Navar. 2004; Vol. 27 Núm.2. Se consigue en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1137-66272004000300011&script=sci_arttext
3. Perfil clínico y microbiológico de las infecciones entéricas por *Yersinia enterocolitica* en niños de Santiago, Chile (publicación periódica en línea) Rev. Chil. Pediatr. 63 (3); 121-127, 1992. Se consigue en: <http://www.scielo.cl/pdf/rcp/v63n3/art01.pdf>
4. Koneman EW, et al. Diagnóstico microbiológico. 5ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1999. pp 216, 1290, 1291, 1338.
5. Spicer J. Microbiología clínica y enfermedades infecciosas. 2ª ed. España: ELSEVIER; 2009. pp 56.
6. Quantification of *Yersinia enterocolitica* in raw milk using qPCR (publicación periódica en línea) Veterinary Microbiology, Volume 160, Issues 3–4, 7 December 2012. Se consigue en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113512003653>
7. Apendicitis aguda, bacteriemia y artritis: manifestaciones de infección por *Yersinia enterocolitica* en un adolescente (publicación periódica en línea) 26 de julio 2012. Arch. Pediatr. Urug. 2012. Se consigue en: <http://www.sup.org.uy/Archivos/Adp83-3/pdf/adp83-3-arocena-yersinia.pdf>
8. ¿Es *Yersinia enterocolitica* un importante enteropatógeno en Cuba? (publicación periódica en línea) Revista Cubana de Medicina Tropical. 2012; 64(3):342-343. Se consigue en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602012000300015
9. Immunomodulation by *Yersinia enterocolitica*: comparison of live and heat-killed bacteria (publicación periódica en línea) 12 de Julio 2003 Immunology and Medical Microbiology. Se consigue en: <http://hera.ugr.es/doi/14976195.pdf>
10. Ryan KJ, Ray GC. Microbiología médica. 5ª ed. Mc Graw Hill; 2010. pp 461, 462.
11. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiología médica. 6ª ed. Barcelona España: ELSEVIER; 2009. pp 312, 313.

12. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México (publicación periódica en línea) ENF INF Microbiol 2011 31 (4): 137-151. Se consigue en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2011/ei114f.pdf>
13. Secretaria de Salud. Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades. Panorama epidemiológico 1990-2000, enfermedades diarreicas. Se consiguen en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/conava/edas/panoramaedas.htm#arriba>, <http://www.encuentra.gob.mx/resultsAPF.html?q=YERSINIA%20ENTEROCOLITICA&client=salud>
14. Bacteriología diagnóstica (publicación periódica en línea) 2006. Se consigue en: http://www.fcv.uagrm.edu.bo/sistemabibliotecario/doc_libros/576%202631Bacteriolog%C3%ADa%20diagn%C3%B3stica%20by%20Bros-20100817-170030.pdf.
15. Niveles de bioseguridad en el laboratorio (publicación periódica en línea) Volumen 5, Número 1 pp3. Se consigue en: http://cphp.sph.unc.edu/focus/vol5/issue1/5-1BiosafetyLevels_espanol.pdf
16. Castillo de S. L y Fonseca Yerena E. Mejora Continua de la Calidad: Guía para los laboratorios clínicos de América Latina. 1ª ed. México: Medica Panamericana; 1995. Pp 32.
17. Harvey RA, Champe PC, Fisher BD. Microbiología. 2ª ed. Barcelona: Lippincott Williams & Wilkins; 2008. pp 124.
18. Forbes B, Sahm DF y Weissfeld AS. Bailey & Scott: diagnóstico microbiológico. 11ª ed. México: Médica Panamericana; 2004. pp 385.
19. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. (publicación periódica en línea) España.Elsevier.2009. Se consigue en: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apua-cuba/diagnostico_microbiologico_de_las_infecciones_gastrointestinales.pdf
20. Microbiología española (publicación periódica en línea) Vol. 27 Núm. 1 enero- marzo 1974 pp 11. Se consigue en: http://www.semicrobiologia.org/info/revista_hist/1974_27_01.pdf
21. Yersinia enterocolitica infection among children aged less than 12 years: a case–control study (publicación periódica en línea) 1 de septiembre 2010. Se consigue en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S120197121002518X>

22. *Yersinia enterocolitica*. Disponible en: <http://www.britannica.com/EBchecked/media/117302/Photomicrograph-of-Gram-stain-of-Yersinia-enterocolitica-the-causative-agent>. Acceso el 10 de Junio 2013.
23. *Yersinia enterocolitica* en agar CIN. Disponible en: <http://www.eolabs.com/productdetail.html?id=PP0350>. Acceso el 5 de Junio 2013.
24. Hektoen. Disponible en: http://www.publicdomainfiles.com/show_file.php?id=13519897216433. Acceso el 8 de Junio 2013.
25. XLD. Disponible en: http://virus.usal.es/web/demo_fundacua/demo1/shigella.html. Acceso el 8 de Junio de 2013.
26. MacFaddin JF. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2003.pp 718.
27. Romero C. Herrera B. Síndrome diarreico infeccioso. México: Médica Panamericana; 2002.pp. 23, 183-190.
28. *Yersinia enterocolitica*: Pathogenesis, virulence and antimicrobial resistance. 22 de Octubre 2011. (Publicación periódica en línea) Se consigue en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X11002655>
29. *Yersinia enterocolitica*. Reporte de dos casos con enfermedad diarreica aguda (publicación periódica en línea) Vol. 11, Núm. 2. 2007. Se consigue en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=211118015015>
30. *Yersinia enterocolitica*. Benemérita Universidad Autónoma De Puebla. (Diapositivas). 17 diapositivas. (Publicación periódica en línea) Se consigue en: http://www.slideshare.net/edmundo_inc/yersinia-enterocolitica
31. Sánchez RJA, Serrano JS, Marfil NR, Jodral VML. Patógenos emergentes en la línea de sacrificio de porcino. Fundamentos de seguridad alimentaria. España: Ediciones Díaz de Santos; 2009. Pp 91-104.
32. Bacteriological Analytical Manual Chapter 8 *Yersinia enterocolitica*. (Publicación periódica en línea) Agosto 2007. Se consigue en: <http://www.fda.gov/food/scienceresearch/laboratorymethods/bacteriologicalanalyticalmanualbam/ucm072633.htm>
33. García MP, Fernández del barrio MT, Paredes SF. Microbiología clínica aplicada. 3ª ed. Madrid España: Díaz de Santos; 1997. Pp 10-13.

34. González VE, Tercero AJ, Quiñónez RIE, Vázquez SC. Falsa Apendicitis *Yersinia enterocolitica*. Revista Digital Universitaria. Abril 2005. Volumen 6 Número 4. ISSN: 1067-6079. Se consigue en: http://www.revista.unam.mx/vol.6/num4/art31/abr_art31.pdf Acceso el 28 de Mayo 2013.
35. Aspectos microbiológicos y epidemiológicos para el uso racional de antibióticos en niños con gastroenteritis bacteriana aguda. (Publicación periódica en línea). Revista mexicana de pediatría. Vol. 68, Núm. 5. 2001, pp 204. Se consigue en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/pediat/sp-2001/sp015g.pdf> Acceso el 3 de Abril 2013.
36. *Yersinia*. (Publicación periódica en línea). Se consigue en: http://www.bvsde.paho.org/cd-gdwq/docs_microbiologicos/Bacterias%20PDF/Yersinia.pdf
37. Protocolo de vigilancia y alerta de Yersiniosis (publicación periódica en línea) Red Nacional De Vigilancia Epidemiológica. 2012. Se consigue en: http://www.juntadeandalucia.es/salud/export/sites/csalud/galerias/documentos/p_4_p_1_vigilancia_de_la_salud/p_YERSINIOSIS_2012.pdf
38. Daza JA. Protocolo de vigilancia y control de la Mortalidad por Enfermedad Diarreica Agudas (EDA) en menores de 5 años. Instituto Nacional De Salud (publicación periódica en línea). Se consigue en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/EDA.pdf>
39. Enfermedades diarreicas. Organización Mundial de la Salud (publicación periódica en línea). Se consigue en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/es/index.html>
40. Velasco J, Araque MC, Araujo E, Longa A, Nieves B, Ramírez AC, et al. Manual práctico de bacteriología clínica. 1ª ed. Digital. Venezuela. 2011. (Publicación periódica en línea) Se consigue en: <http://www.serbi.ula.ve/serbiula/librose/pva/Libros%20de%20PVA%20para%20libro%20digital/Manual%20de%20Bacteriologia.pdf>
41. Kumate J, Gutiérrez G, Muñoz O, Santos PJI. Manual de Infectología clínica. 16ª ed. México: Méndez Editores; 2001. pp 143-145.
42. Ausina RV, Moreno GS. Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Madrid: Médica Panamericana; 2005. Pp335.

43. Southwick SF. Enfermedades infecciosas. 2ª ed. México: McGraw-Hill; 2009. Pp 196.
44. Sorrentino SA, Gorek B. Fundamentos de Enfermería Práctica. 2ª ed. Madrid España: ELSEVIER; 2002. pp 106-107.
45. Aparato digestivo. Disponible en:
http://biologiaygeologia.org/unidadbio/a_eso3/2_nutricion/u1_contenido/122_veamos_u_no_de_los_responsables_aparato_digestivo.html. Acceso el 10 de Junio 2013.
46. Ramos JJ. Infectología clínica. México: El Manual Moderno; 2008. Pp 71-73.
47. Manual de Procedimientos de Bioseguridad. (publicación periódica en línea). Se consigue en:
http://www.biomedicas.unam.mx/administracion/unidades_apoyo_inst/manual_bioseguridad.pdf
48. Control de la Calidad para un Laboratorio de Microbiología (publicación periódica en línea). Se consigue en: <http://www.scielo.sa.cr/pdf/rmhnn/v40n1/3567.pdf>
49. Dharan M. Control de calidad en los laboratorios clínicos. 2ª ed. México: Reverté;2002.ppp 129.
50. Etapas del control de calidad: Aplica las etapas de control de calidad en los laboratorios de análisis clínicos siguiendo las normatividades vigentes. (Publicación periódica en línea). Se consigue en: <http://controldcalidadv6.blogspot.mx/2010/10/unidad-iii-etapas-del-control-de.html>
51. Manual de extracción y transporte de muestras. Recogida y transporte de muestras. Laboratorio de microbiología (publicación periódica en línea) Se consigue en: <http://www.carloshaya.net/LinkClick.aspx?fileticket=e3d3-bqofQk%3D&tabid=162>
52. López GJ, Cárdenas PM, Osuna MA. Manual de laboratorio de microbiología para el diagnóstico de infecciones gastrointestinales. Manual clínico y técnico de ayuda al diagnóstico microbiológico de las diarreas infecciosas. 1ª ed. OmniaScience.2012. pp 15,18

53. Prácticas de Seguridad Estándar en el Laboratorio de Microbiología (publicación periódica en línea). Se consigue en: http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_RMD_2003.6_apendices_spa.pdf
54. Secretaria de Salud. Disponible en: http://www.salud.gob.mx/indre/web_nueva/documentos/Bacteriologia.pdf. Acceso el 27 de Febrero 2013.
55. Brooks FG, Carroll CK, Butel SJ, Morse AS, Mietzner AT. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 25ª ed. México: McGraw-Hill; 2011. Pp 259-260.
56. Diarrea por *Yersinia enterocolitica* Reporte de un caso. (publicación periódica en línea). Se consigue en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1017-85462000000100012&script=sci_arttext#7
57. Levinson W. Microbiología e inmunología médicas. 8ª ed. México: McGraw-Hill; 2006. Pp188
58. MacConkey y XLD. Disponible en: http://virus.usal.es/web/demo_fundacua/demo1/shigella.html. Acceso el 8 de Junio de 2013.
59. Lennette HE, Balows A, Hausler JW, Shadomy HJ. Manual de microbiología clínica. 4ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1987. Pp 348.
60. García del Valle A, Zamudio DMM. Manual de biología médica. México: Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 1998. Pp 237,240, 247, 249, 250, 263.
61. Delgado IA, Prieto MS, Salve MML. Laboratorio de microbiología. 1ª ed. España: McGraw-Hill; 1994. pp 77
62. Tinción de Gram. Disponible en: http://microbiano.blogspot.mx/2008_05_01_archive.html. Acceso el 10 de Junio 2013.
63. Manual Básico de Microbiología CULTIMED. 4ª ed. Panreac Química SA; 2003. Pp 125, 71,82, 138,62, 103.

64. Medio Cary-Blair. Disponible en:
<http://www.ictsl.net/mobile/pda/productos/instrumental/hisoposconmediocaryblairesterilesdeltalab.html>. Acceso el 10 de Junio 2013.
65. Prats G. Microbiología clínica. 2ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2008.pp 30, 34,35
66. Agar MacConkey y Hektoen. Disponible en: <http://www.madsci.org/~lynn/micro/media/>. Acceso el 10 de Junio 2013.
67. Zimbro JM, Power AD, Miller MS, Wilson EG, Johnson AJ. Difco™ & BBL™ Manual. Manual of Microbiological Culture Media. 2ª ed. United States of America: BD; 2009.pp 113, 265, 566.
68. Agar SS. Disponible en:
<http://www.gobizkorea.com/blog/ProductView.do?blogId=dcskorea&id=906085>. Acceso el 10 de Junio de 2013.
69. Agar XLD. Disponible en:
<http://www.vetbact.org/vetbact/index.php?showgrowthmedia=1&PHPSESSID=08ec606c2df9ff38f1013c366ee95df1>. Acceso el 7 de Junio 2013.
70. Agar Mueller Hinton. Disponible en:
<http://www.gobizkorea.com/blog/ProductView.do?blogId=dcskorea&id=906083>. Acceso el 7 de Junio 2013.
71. Bailón LL, González MRC, Cervantes SA. Atlas de pruebas bioquímicas para identificar bacterias. 1ª ed. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 2005. Pp 41,48,
72. Bailón LL, González MRC, Cervantes SA. Atlas de pruebas bioquímicas para identificar bacterias. (Diapositivas) México: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de

- Estudios Superiores Zaragoza; 2004. (209 diapositivas)
<http://es.scribd.com/doc/39602083/Atlas-Interactivo-de-pruebas-bioquimicas>
73. Agar SIM. Disponible en: http://microbiology.scu.edu.tw/micro/microbe-exp/exp_website/exp_24.htm. Acceso el 8 de Junio 2013.
74. SIM movilidad. Disponible en: http://www.softchalk.com/lessonchallenge10/lesson/he%20final/%20Identification%20of%20an%20Unknown%20Bacterium/unknownsublesson_print.html. Acceso el 3 de Junio de 2013.
75. Citrato de Simmons, DNAsa. Disponible en: <http://www.slideserve.com/raghnall/pruebas-bioquimicas-o-f-metabolismo-oxidativo>. Acceso el 13 de Mayo 2013.
76. Fenilalanina, Red. de nitratos. Disponible en: <http://perso.wanadoo.es/microdominguez/a.htm>. Acceso el 3 de Mayo 2013.
77. Rojo de metilo, VP. Disponible en: <http://avoga.wordpress.com/2013/03/26/imvic/>. Acceso el 3 de Mayo 2013.
78. Prueba de pirazinamidasas. Disponible en: http://www.fcq.uach.mx/phocadownload/Academico/Material_de_Estudio/micobacterias/diagnostico/diagnostico.html. Acceso el 13 de Mayo 2013.
79. Rodríguez CE, Gamboa CMM, García HJD. Bacteriología General: principios y prácticas de laboratorio. 1ª ed. San José, Costa Rica: Editorial de la Universidad de Costa Rica; 2005. pp 323.
80. Detección de leucocitos fecales. Disponible en: http://www.imcordoba.com.ar/2013/01/leucocitos-fecales_26.html. Acceso el 9 de Junio 2013.

81. Duerden BI, Reid TMS, Jewsbury JM, Turk DC. Microbiología de Enfermedades Infecciosas. 1ª ed. México: Limusa; 1993.pp 373, 374.

82. Carditis. Disponible en:
<http://www.atsu.edu/faculty/chamberlain/Website/lectures/tritid/CARDITIS.htm>. Acceso el 9 de Junio 2013.

83. Rodríguez CFP, Genís CJM, Guerrero GJL, Pertíñez DM, Guerrero MY, Aldea AMJ, Redondo GP. Bases de la producción animal. 1ª ed. España: RC Impresores; 2003. pp 455.

84. Enteritis. Disponible en: <http://salud.doctissimo.es/diccionario-medico/enteritis.html>. Acceso el 9 de Junio 2013.

85. DeGowin LE, DeGowin LR. Procedimientos a la cabecera del enfermo. Examen y diagnóstico clínicos. 2ª ed. México: La Prensa Médica Mexicana; 1985. Pp 596, 999, 1052

86. Glomerulopatías. Disponible en:
<http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2309859>. Acceso el 9 de Junio 2013.