

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

**"INVESTIGACION DE YERSINIA ENTEROCOLITICA EN
CARNES EXPENDIDAS EN DIFERENTES MERCADOS
DE LA CIUDAD CAPITAL DE GUATEMALA"**

TESIS

Presentada a la Facultad de Ciencias Médicas
de la Universidad de San Carlos de Guatemala

POR:

MAURICIO RIVERS SANDOVAL

En el Acto de su Investidura de:

MEDICO Y CIRUJANO

PLAN DE TESIS

- INTRODUCCION
- HIPOTESIS
- OBJETIVOS
- MATERIAL Y METODOS
- GENERALIDADES
- PRESENTACION DE RESULTADOS
- DISCUSION DE LOS RESULTADOS
- RESUMEN
- CONCLUSIONES
- RECOMENDACIONES
- REFERENCIAS.

INTRODUCCION

El vehículo para la transmisión de un número importante de enfermedades son los alimentos (1), por lo que juegan un papel importante en la problemática de salud del país. (2).

Se conoce que las carnes que se expenden en los mercados de Guatemala están contaminadas con bacterias de la familia enterobacteriaceae, en cantidades que van de los 1.8×10^7 microorganismos por gramo para la carne de res, y de 6.24×10^7 a 17.5×10^7 microorganismos por gramo para la carne de cerdo (6).

Se sabe que *Yersinia enterocolitica* se encuentra clasificada en dicha familia, por lo que se decidió realizar esta investigación la cual consiste en aislar dicho (microorganismo) de carnes expendidas en diferentes mercados de Guatemala.

Yersinia Enterocolitica ha sido implicada con frecuencia creciente en una gran variedad de síndromes (3,4,5) entre los cuales el más común es una enteritis acompañada de diarrea, fiebre y dolor abdominal (4,5).

Además estamos concientes que mientras existan problemas socioeconómicos como desnutrición, analfabetismo, contaminación, y estos no sean resueltos adecuadamente, poco se podrá hacer para combatir el síndrome diarreico, el cual en la actualidad es el azote de la población infantil guatemalteca, siendo las tasas de mortalidad para dicho síndrome de 1519 por 100,000 habitantes para los niños menores de un año. (7)

HIPOTESIS

Yersinia enterocolítica se encuentra en las carnes expandidas en las carnicerías de los mercados de la ciudad de Guatemala.

OBJETIVOS:

GENERALES:

- Contribuir a la búsqueda y estudio de la Yersinia enterocolítica en Guatemala.
- Proporcionar una fuente de información sobre Yersinia enterocolítica en nuestro medio.

ESPECIFICOS:

- Investigar Yersinia enterocolítica de carnes expandidas en los mercados de la ciudad de Guatemala.
- Hacer una revisión bibliográfica sobre Yersinia enterocolítica.
- Establecer la disponibilidad de recursos diagnósticos en la búsqueda de Yersinia enterocolítica.
- Conocer los procedimientos empleados para el aislamiento de Yersinia enterocolítica.
- Crear incentivos para la búsqueda sistemática de Yersinia enterocolítica en el estudio microbiológico del paciente diarreico.
- Comparar los resultados del presente estudio con otras investigaciones realizadas.

MATERIAL:

El universo está constituido por 80 muestras tomadas al azar en carnicerías de cinco mercados de distintas zonas de la capital, siendo estos:

- a) La Terminal
- b) La Parroquia
- c) Guarda Viejo
- d) Colón
- e) La Palmita

RECURSOS:

a) HUMANOS:

- Personal técnico y médico del laboratorio multidisciplinario de la facultad de C.C.M.M., de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

b) DE LABORATORIO:

- Mango y hojas de bisturí, pinzas de disección y mechero.
- 80 frascos de 20 c.c. de capacidad con 15 c.c. de solución salina cada uno.
- Morteros.
- 80 tubos de 125 X 20 con solución salina.
- Cajas de petri descartables.
- Incubadora.
- Refrigeradora

c) DE ALISLAMIENTO Y CULTIVO:

- | | |
|----------------------------------|---------|
| - SS agar | (BBL) |
| - MacConkey | (Difco) |
| - Kliegler | (Difco) |
| - Lysine Iron Agar (LIA) | (Difco) |
| - Urea | (Difco) |
| - Fenilalanina desaminasa | (Difco) |
| - Movilidad-Indol-Ornitina (MIO) | (Difco) |
| - Movilidad | (Difco) |
| - Citrato | (Difco) |

TECNICA:

Cada muestra fue recolectada de la siguiente manera: Con una pinza de disección, previamente flameada y enfriada se procedió a la toma del material, el cual era tomado de la superficie de la carne y en cantidad aproximada de 1 c.c., inmediatamente se colocaba en un frasco con solución salina, previamente identificado. Luego las muestras se transportaban al laboratorio, en donde haciendo uso de morteros, se trituraban y se depositaba cada una, en un tubo de 125 X 20 el cual contenía solución salina normal. Dichos tubos fueron incubados a 4 grados centígrados por 10 días; al término de los cuales se tomaba muestra del contenido del mismo con un hisopo y eran sembrados en SS agar y MacConkey con la técnica acostumbrada; fueron incubados a 34 grados centígrados durante 24 horas.

Se identificaron hasta 4 colonias que no fermentaban la lactosa, siendo estas picadas y transplantadas a Kliegler y LIA incubándose a 34 grados centígrados durante 18 a 24 horas.

Las cepas que acidificaron la glucosa pero no la lactosa, que no descarboxilaron ni desaminaron la lisina y que no

produjeron gas ni ácido sulfhídrico, se sembraron en urea, incubándose durante 24 horas. Los que hidrolizaron la urea eran sembradas en fenilalanina desaminasa e incubados durante 24 horas. Los que no produjeran fenilalanina se les haría pruebas bioquímicas para su identificación.

Se considerarían como *Yersinia enterocolítica* aquellos microorganismos que habiendo pasado los procedimientos anteriores tuvieran movilidad negativa a 30 grados centígrados y positiva a 22 grados centígrados, Ornitina descarboxilasa positiva, citrato negativa, Voges Proskauer positiva a 22 grados centígrados y negativa a 37 grados centígrados, y que fermentaran la glucosa con producción de gas, y además fermentaran el manitol, sucrosa y sorbitol.

GENERALIDADES

CARACTERISTICAS DEL GENERO YERSINIA.

El género *Yersinia* pertenece a la familia Enterobacteriaceae y contiene tres especies:

- *Yersinia pestis*.
- *Yersinia pseudotuberculosis*
- *Yersinia enterocolítica*.

Estas tres especies fueron primariamente encontradas en animales por lo que se les denomina bacterias zoonóticas (5).

La *Yersinia pseudotuberculosis* y la enterocolítica son cuasantes de una gran variedad de síndromes, siendo algunos de estos: diarrea, linfadenitis mesentérica, eritema nudoso y septicemia generalizada. La *Yersinia pestis* es el agente causante de la Peste. (8).

CRECIMIENTO:

La *Yersinia* es un báculo gram negativo, corto, no esporulado, es aerobio y anaerobio facultativo, que crece en medios de cultivo ordinarios, incluyendo MacConkey, y otros. La *Yersinia enterocolítica* en términos de 18 horas produce colonias claras en el SS agar, a temperaturas que oscilan de menos 2 a 42 grados centígrados, siendo la ideal para el aislamiento de 30 a 37° C. (9)

CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS:

La mayor parte de estas características son idénticas con otras enterobacteriaceae; ellas son: oxidasa negativas, generalmente reducen el nitrato a nitrito, y atacan a los carbohidratos fermentándolos. La prueba de rojo de metilo es positiva, el Voges

Proskauer es negativo a 37 grados centígrados (la *Yersinia enterocolítica* usualmente positivo a 22°C.), movilidad negativa a 37°C (la *Yersinia enterocolítica* positiva a 22°C). La lisina descarboxilasa, la arginina dehidrolasa, la fenilalanina desaminasa, la gelatina hidrolasa, la utilización de malonato, la reducción de tetrafionato y el citrato de Simons son negativos; además son catalasas positivas. (10).

FERMENTACION:

La glucosa, maltosa, manitol, tetralasa, glicerol, xilosa y fructuosa, son fermentados produciendo ácido pero no gas. La *Yersinia enterocolítica* puede producir pequeñas cantidades de gas cuando se usa el tubo de Durhan.

La lactosa no es fermentada, pero produce B-D galactosidasa. No fermenta el dulcitol, eritrol, la fucosa, el inositol, glicógeno ni la rafinosa. (11).

YERSINIA ENTEROCOLITICA

Este organismo comparte características morfológicas con el cultivo de la *Yersinia pseudotuberculosis*, pero difiere con esta en un número de reacciones bioquímicas, composición antigénica, susceptibilidad bacteriófaga y virulencia en animales de laboratorio. La *Yersinia enterocolítica* ha sido aislada en Europa, de una variedad de animales como: conejos, chinchillas, vacas, caballos, perros y carnes de los mercados (3). También ha sido aislada de materiales como agua, leche, helados y heces (3).

ANTECEDENTES:

En 1939 Schleifstein y Coleman aislaron e identificaron un microorganismo en el hombre similar a la bacteria Liguieri y *Pasteurella pseudotuberculosis* y la llamaron bacteria enterocolítica. En 1949 Hässig aisló una bacteria con las características de la

Pasteurella pseudotuberculosis; este descubrimiento de Hässig fué estudiado por Knapp y Thal, quienes encontraron en ella, diferencias bioquímicas con respecto a la *Pasteurella pseudotuberculosis* y concluyeron que no se trataba de esta especie. (3)

A principios de 1960 los bacteriólogos clínicos trabajaban en el campo humano y medicina veterinaria en varios países, aislando la bacteria, siendo por ellos considerada como "*Pasteurella pseudotuberculosis*"; "organismos similares a *Pasteurella pseudotuberculosis* y la "*Pasteurella Y.*" (8).

Daniels y Goudzwaard describieron el organismo como "*Pasteurella X*". En 1964 Frederiksen encontró que la *Pasteurella X* y los descubrimientos de Hässing eran similares con los aislamientos de Schleifstein; por lo que propuso un nuevo nombre para la especie siendo este: *Yersinia enterocolítica*. El organismo es ahora considerado como un miembro de la familia enterobacteriaceae y esta clasificación ha sido adoptada por la última edición del "Manual de Bacteriología Determinativa de Bergey's (3).

Ultimamente se ha acumulado la evidencia de infecciones por *Yersinia enterocolítica*, siendo frecuente en algunas partes del mundo, y no siendo reconocida en muchos otros países. Solo 23 casos de *Yersinia enterocolítica* fueron reportados en 1966, 642 en 1970, más de 1,000 en 1972 y en 1974 una cifra que sobrepasó los 4,000 (3).

El aumento del aislamiento probablemente se deba a la búsqueda sistemática realizada en otras partes del mundo.

En Guatemala por primera vez se logró el aislamiento de *Yersinia enterocolítica* en 1979 y fué aislada de las heces de dos pacientes estudiados (comunicación personal del Lic. Torres de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia).

ASPECTOS CLINICOS Y MECANISMOS PATOGENICOS

La distribución del aislamiento de *Yersinia enterocolítica* en los especímenes de pacientes estudiados en Estados Unidos en 1966 a 1972, se muestra en la siguiente tabla: (12)

SITIO	No.
Sangre	6
Ganglios Linfáticos Mesentéricos	5
Heces	4
Ojo	2
Absceso Abdominal	2
Absceso de Colón	1
Absceso de cuello	1
Absceso esplénico	1
Bilis	1
Líquido Peritoneal	1
Infección en la piel	1
Espuito	1
Garganta	1
Orina	1

La mayoría de los aislamientos fueron obtenidos de la sangre y de los ganglios linfáticos mesentéricos.

Los síntomas clínicos de *Yersinia enterocolítica* son mostrados en la siguiente tabla. (3)

TABLA No. 2

SINTOMAS Y SIGNOS PRODUCIDOS POR LA INFECCION DE YERSINIA ENTEROCOLITICA EN 2 DIFERENTES PAISES

Síntomas	Porcentaje de casos	
	Japón	USA
Fiebre	61	87
Diarrea	36	69
Dolor abdominal	76	62
Vómitos	12	56
Faringitis	--	31
Cefalea	60	18
Malestar	33	--

Los signos y síntomas más comunes fueron: fiebre, dolor abdominal y diarrea.

Actualmente se considera que el mecanismo por medio del cual la *Yersinia enterocolítica* produce diarrea es por invasión de la mucosa intestinal, con producción de inflamación, ulceración y descamación de la pared intestinal.(14).

La infección de *Yersinia enterocolítica* involucra los órganos abdominales, y frecuentemente causa síntomas gastrointestinales. La dosis infectante para producir enfermedad en voluntarios humanos es de 3.5×10^9

BIOTIPOS:

Wauters divide el grupo en 5 biotipos (5).

TABLA No. 3
BIOTIPOS DE YERSINIA ENTEROCOLITICA

Características	1	2	3	4	5
Lecitinasa	+	—	—	—	—
Indol	+	+ 29°C	—	—	—
Xilosa 48 h.	+	+	+	—	—
Reducción de Nitrito	+	+	+	+	—
Trealosa	+	+	+	+	—
Ornitina descarboxilasa	+	+	+	+	—
B-Galactosidasa	+	+	+	+	—
Oxidación de lactosa	+	+	+	—	—

SEROLOGIA

Basado en el antígeno O termotable, han sido establecidos 17 serotipos. Recientemente ha sido propuesto un esquema antigénico simplificado basado en características bioquímicas, conteniendo 6 grupos (8), las pruebas de aglutinación y hemaglutinación han sido usadas para el análisis antigénico.

La mayoría de yersinia enterocolítica aislada de los pacientes en Estados Unidos son del tipo 8, en Canadá del tipo 3 y en Europa del tipo 3 y 9. Aproximadamente el 2.5o/o de individuos normales en Suecia, poseen títulos significativos de anticuerpos para Yersinia enterocolítica. Se ha observado que existen reacciones cruzadas entre la Brucella abortus y la Yersinia enterocolítica del serotipo 9.

SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIBIOTICOS

La Yersinia enterocolítica ha sido reportada con susceptibilidad in vitro a la gentamicina, kanamicina, colistina, cloranfenicol y estreptomycin; resistencia variable con neomicina y ampicilina, encontrándose resistente a la cefalotina. (5)

PRESENTACION DE RESULTADOS

En cada mercado estudiado se tomó un 20o/o del total de muestras obtenidas, lo que corresponde a 16 muestras por mercado, y que fué dividido en 31o/o para la carne de res, 31o/o para la carne de cerdo y 38o/o para bazo de cerdo.

Cada muestra se obtuvo de un establecimiento diferente, siendo el total de carnicerías estudiadas en el presente trabajo de 80.

TABLA No. 4

ORIGEN, TIPO Y PORCENTAJE DE LAS MUESTRAS
OBTENIDAS DE LAS CARNICERIAS DE LA
CIUDAD DE GUATEMALA MARZO 1979

Mercado	No. de muestras de carne res	de cerdo	de víscera (bazo)	Total de muestras	o/o del total de muestras
Terminal	5	5	6	16	20o/o
Colón	5	5	6	16	20o/o
Parroquia	5	5	6	16	20o/o
Palmita	5	5	6	16	20o/o
Guarda Viejo	5	5	6	16	20o/o

TABLA No. 5

En forma simultanea, fueron sembradas las 80 muestras en SS agar y en MacConkey, identificándose luego las colonias lactosa negativas, picándose hasta cuatro colonias de cada medio de cultivo, y siendo transplantadas a Kligler y LIA un total de 320 colonias.

De estas cepas únicamente 12 dieron la reacción característica en Kligler y LIA; siendo todas estas transplantadas a urea, de estas solamente dos hidrolizaron la urea, por lo que se sembraron en fenilalanina, sin embargo ambas desaminaron la misma, por lo que se descartó el diagnóstico de Yersinia enterocolítica.

TABLA No. 5

ESQUEMATIZACION GRAFICA DE LOS PASOS BIOQUIMICOS
SEGUIDOS PARA LA IDENTIFICACION DE
YERSINIA ENTEROCOLITICA

No. de Muestras	Medios Empleados	Colonias	Cepas Sospechosas	Cepas sospechosas que hidrolizaron la Urea	Cepas sospechosas que desaminaron la fenilalanina	Total de Yersinia enterocolitica
80	Mc Conkey	160	7	2	2	0
80	SS Agar	160	5	0	0	0

NOTA: Las 2 cepas que hidrolizaron la urea y desaminaron la fenilalanina se identificaron como: enterobacter agglomerans

DISCUSION DE RESULTADOS

- En el presente trabajo de investigación, no se aisló Yersinia enterocolitica.
- No se aislaron otros gérmenes de conocida patogenicidad, (salmonella, E. coli, etc.), pues no se emplearon medios de enriquecimientos apropiados para el crecimiento de estos.
- El hecho de no haber encontrado Yersinia enterocolitica no significa que no exista en las carnes.
- Probablemente si se busca en otros alimentos se encuentre, pues ha sido aislada en otras fuentes alimenticias.
- Los resultados de este trabajo sugieren que la Yersinia enterocolitica, no es frecuente en nuestro medio, aunque habría que hacer más investigaciones para descartarla.

RESUMEN

Se tomaron 80 muestras entre carne de res, cerdo y bazo de cerdo, de 5 mercados de diferentes zonas de la ciudad capital, con el objeto de investigar *Yersinia enterocolitica* en las mismas. Las muestras fueron conservadas en solución salina a 4 grados centígrados durante 10 días, para impedir el crecimiento de otras bacterias y luego sembradas en SS agar y MacConkey. Las colonias lactosa negativas fueron transplantadas a Kliegler y Lia, aquellas que acidificaran la glucosa sin producción de gas pero no la lactosa, que no desaminaran ni descarboxilaran la lisina y que no produjeran ácido sulfhídrico, se transplantarían a urea. Las que hidrolizaran la urea se transplantarían a fenilalanina desaminasa. Del total de 160 muestras sembradas en SS agar y en MacConkey solo dos hidrolizaron la urea y ambas desaminaron la fenilalanina, por lo que se concluye afirmando que no se aisló ninguna *Yersinia enterocolitica*.

En otras partes del mundo (9), se ha reportado *Yersinia enterocolitica* asociada principalmente a enfermedad gastrointestinal manifestada por diarrea, fiebre y dolor abdominal.

CONCLUSIONES:

- No se aisló *Yersinia enterocolítica* en las 80 muestras de carne y vísceras estudiadas.
- Los resultados de la investigación no descarta la posibilidad que en otro estudio se aisle *Yersinia enterocolítica* de este y otro tipo de alimentos.
- No se aislaron otros gérmenes de reconocida patogenicidad puesto que no se utilizaron los medios de cultivo y técnicas pertinentes para el caso.

RECOMENDACIONES:

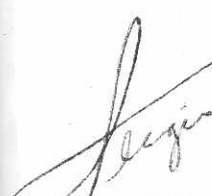
- Que se tome el presente trabajo como una base para el futuro estudio de *Yersinia enterocolítica* no solo en carnes sino también en otras fuentes.
- Se debería buscar *Yersinia enterocolítica* en otros alimentos o tratar de aislarla de pacientes que presenten sintomatología que sugieran infección por *Yersinia enterocolítica*.

REFERENCIAS:

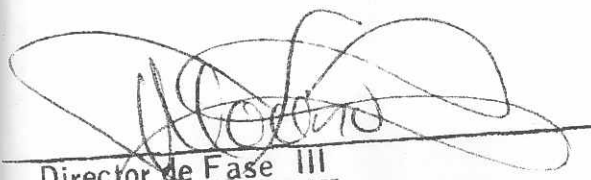
- 1.- Jawetz, Ernest. Los báilos gram negativos pequeños. En: Manual de Microbiología Médica. Quinta edición. El Manual Moderno S.A. 1973. pp 242-249.
- 2.- Díaz, L. Luis Humberto. Implementación del servicio de control de los alimentos a nivel nacional. Documentos de trabajo del II Congreso Nacional de Salud, Guatemala 1973.
- 3.- Morris G.K. y Feeley J.C. Yersinia enterocolítica: a review of its role in food hygiene. Bull W.H.O. Vol. 54 No. 1 (3489) 1976. pp 79-84.
- 4.- Keet, Ernest. Yersinia enterocolítica septicemia. New York State Journal of Medicine. Vol. 74 No. 12 November 1974. pp 92-97.
- 5.- Leenette, Edwin et al. Alex C. Sonnenwirth. Yersinia (Chapter 19). EN: Manual of Clinical Microbiology. Second Edición. American Society for Microbiology 1976 pp 222-229.
- 6.- Del Aguila, Carlos. Carne y subproductos. Documentos de trabajo. II Congreso Nacional de Salud. Guatemala 1973.
- 7.- Romero, Arturo. Algunas de las Características Epidemiológicas de las Enfermedades Diarreicas en Centro América y sus sistemas de vigilancia epidemiológica.
- 8.- Birgitta Nilehn. Studies on Yersinia enterocolítica, With special referen to bacterial diagnosis and ocurrence in human acute enteric disease. Acta pathologica et Microbiologica Scandinavica. Supplementun 206, 1969.

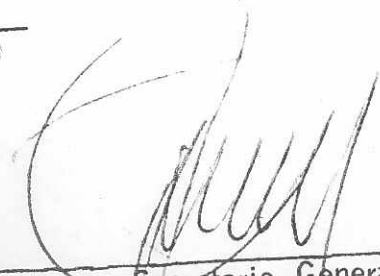
- 9.- Weaver, R.E. Recent human isolates of Yersinia enterocolítica. In: S. Winblad (ed) Contributions to Microbiology and Immunology Vol. 2. 1973. pp 120-125.
- 10.- Sonnenwirth A.C. Gram-negative bacilli, vidrios and spirilla. Gradwohls clinical laboratory methods and diagnosis; 7o. edic. 1970 pp. 1269-1272.
- 11.- Sonnenwirth A.C. and R.E. Weaver. Yersinia enterocolítica N. Engl. J. Med. 283: 1468. 1970 pp. 87-92.
- 12.- Weaver, R.E. and Jordon J.G. Recent human isolates of Yersinia enterocolítica in the United States. Contribution to microbiology and Immunology, Vol 2. April 1972 pp 120-125.
- 13.- Black R.E. Epidemic Yersinia enterocolítica infection due to contaminated chocolate milk. N. Engl. J. Me. Jan 12, 1978. pp 74-78.
- 14.- Evans, Dolores G. Métodos de investigación para el aislamiento y diagnóstico de enterobacterias toxigénicas y de virus. En: Seminario sobre nuevas tendencias para diagnóstico y tratamiento del síndrome diarreico para Centro América y Panama OPS, OMS, INCAP, 1977. pp 41-48.


Br. MAURICIO RIVERS SANDOVAL.

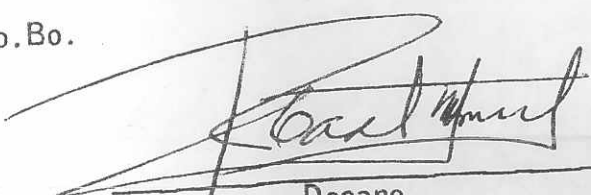

Asesor
Dr. SERGIO LOPEZ CRUZ.


Revisor
Dr. EDUARDO PEREZ GUISASOLA.


Director de Fase III
Dr. JULIO DE LEON.


Secretario General
Dr. RAUL A. CASTILLO R.

Vo.Bo.


Decano
Dr. ROLANDO CASTILLO MONTALVO.