



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE SALMONELLA Y SHIGELLA EN PACIENTES QUE ACUDEN A DISTINTAS UNIDADES DE SALUD, AREA DE BACTERIOLOGÍA DEL HOSPITAL REGIONAL “ISIDRO AYORA” DE LOJA, ÁREA DE SALUD Nº1 Y AREA DE SALUD Nº 2 EN EL PERIODO DICIEMBRE 2010 – MAYO 2011 ,

Tesis de Grado Previa a la Obtención del
Título de Bioquímico Farmacéutico

AUTOR:

Eva Lucía León Piedra

DIRECTOR:

Dr. Escalante V. Luis Santiago

2011

CONTRATO DE CESIÓN DE DERECHO DE TESIS

Yo, Eva Lucía león Piedra declaro ser autora del presente trabajo y eximimos expresamente a la Universidad técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del artículo 67 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice "Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigadores, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad".

Eva Lucía León Piedra.
AUTORA

Dr. Santiago Escalante V.
DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICACIÓN

Dr.

Luis Santiago Escalante V.

DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICA:

Que una vez revisado el trabajo de investigación realizado por la Srta. Eva Lucía León Piedra, previo a la obtención del título de BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO, se autoriza su presentación final para la evaluación correspondiente.

Loja, 22 de julio de 2011

Dr. Santiago Escalante V.
DIRECTOR DE TESIS

AUTORÍA

Los conceptos, ideas, metodologías esquemas, recursos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo son de absoluta responsabilidad de su autora.

Eva lucia León Piedra

AGRADECIMIENTO

Gracias a Dios por demostrarme su existencia y con ello darme fuerzas para seguir saliendo adelante a pesar de cualquier problema.

A mis padres quienes con su paciencia y apoyo incondicional me han permitido dar siempre un paso adelante para el logro de mis metas.

Al Dr. Santiago Escalante V. Docente de la UTPL, Director de la presente Tesis. Quien me a sabido guiar generosamente en la realización del presente Trabajo.

A la Dra. Clara Bravo, Co-tutora de tesis por brindarme parte de su tiempo y colaboración invaluable.

A todos y cada uno de nuestros maestros quienes con su sabiduría nos han orientado de manera teórica y práctica para poder culminar nuestros estudios superiores de la mejor manera.

De todo corazón: GRACIAS

DEDICATORIA

Mi tesis la dedico con todo mi amor y cariño:

A Dios por brindarme su gran amor y fuerza hacia mí.

A mis padres por ser los pilares más importantes en mi vida que siempre estuvieron a mi lado apoyándome y brindándome su confianza y cariño infinito para seguir adelante. Por su energía y apoyo brindado a lo largo de mi carrera, gracias a los quienes eh podido culminar mis estudios superiores para convertirme en profesional.

A mi abuela Raquel Bravo por creer en mi y apoyarme durante el desarrollo de tesis, infinitamente gracias.

CONTENIDO

I. Portada y Contraportada.....	I
II. Certificación de cesión de derechos.....	II
III. Certificación de revisión del tutor.....	III
IV. Certificación de autoría.....	VI
V. Agradecimientos y Dedicatoria.....	V
VI. Contenido.....	VI
VII. Artículo.....	VII
1. Fin, Propósito y Componentes de Proyecto.....	1
2. Introducción.....	2
3. Antecedentes.....	6
3.1 Salmonella y Shigella.....	6
3.2 Características Generales de los Microorganismos.....	7
3.3 Características de detección y cultivo de los microorganismos.....	9
3.4 Características Ecológicas y Epidemiológicas.....	11
3.5 Resistencia Control y Prevención de los microorganism.....	15
4. Materiales y Métodos.....	18
4.1 Esquema de procedimientos para la detección.....	19
4.2 Recolección de Muestras.....	20
4.3 Enriquecimiento de Muestras.....	20
4.4 Aislamiento en Medios Selectivos y Diferenciales.....	20
5. Resultados.....	21
6. Análisis de Resultados.....	25
7. Conclusiones y Recomendaciones.....	29
8. Bibliografía.....	32
9. Anexos.....	36
9.1 Siembra en Agares.....	37
9.2 Pruebas Bioquímicas.....	38

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SALMONELLA AND SHIGELLA IN PATIENTS
ATTENDING TO DIFFERENT UNITS OF AREA HEALTH REGIONAL HOSPITAL BACTERIOLOGY
"Isidro Ayora" HEALTH AREA # 1 AND # 2 HEALTH AREA DURING THE PERIOD DECEMBER
2010 - FEBRUARY 2011**

León Piedra Eva Lucía

School of Biochemistry and Pharmacy, Universidad Técnica Particular de Loja. E-mail: elleon@utpl.edu

Abstract

Gastrointestinal infections worldwide represent a major cause of morbidity and mortality, mainly in underdeveloped countries, being common in populations with low socio-sanitary conditions. The purpose of this research was to detect the prevalence of Salmonella and Shigella from fecal samples taken at the health centers in the city of Loja which are: Health Center # 1 and 2 and the Regional Hospital Isidro Ayora. We processed 180 fecal samples from individuals of all ages with diarrhea, which made the respective stool and biochemical identification. Of all the processed samples, 6 of them (3%) were positive for Salmonella and Shigella. *Salmonella* was detected the 2%, identifying species the 50% *Salmonella enteritidis*, 25% *Salmonella Choleraesuis* and 25% *Salmonella Paratyphi*, while Shigella was isolated the 1%, with the species 50%. *S. flexneri* and *Sonnei* This study received the most positive samples in the rural sector of the city, despite this prevalence was low compared with other studies in other cities of Ecuador in areas with similar characteristics of life.

Key word: Stool, Identification, *Salmonella*, *Shigella*, Sector, population.

Introduccion

The food poisoning caused by microorganisms of the genus Salmonella and Shigella are of great importance to public health due to its socio-economic impact in both developing and developed countries. These are food-borne diseases which cause

most outbreaks infecting hundreds of people. (Trepas 2002)

Considering that both salmonella and shigella are enteric infections that can be attributed to various infectious agents and the epidemiology depends on the host, season, exposure, and in view of that contaminated water is a major source and reservoir causal agents (Giugno 2010), its prevalence has shown that in the summer months is where the greatest number of cases appear, and also reported that the most affected populations by these diseases are infants, children and the elderly because their immune system is much more vulnerable than others. (Parra 2002)

Salmonellosis is a foodborne illness caused by Salmonella bacteria, which is considered one of the most important food poisoning in the globe, because of the large numbers of people and vehicles of transmission. (Trepas 2002) The importance of this disease lies in both the high morbidity among people and the lack of public health, little control of hygiene in hospitals, shops selling food in general. (Tirado 2006) Typhoid fever is the most serious salmonella infections and remains a major problem in many developing countries, annually in the U.S., there are seventeen million cases, with some six hundred thousand deaths. (Trepas 2002). In European countries like France, in 2005, over 70% of human cases were caused by three serotypes: Salmonella Enteritidis (33%), Salmonella Typhimurium (32%) and Salmonella Hadar (6%). (Gutiérrez 2006)

In Uruguay studies of Salmonella serotyping in 2005 showed that the incidence of Salmonella enteritis was 80% higher than Salmonella Typhimurium was 17%, and the other species was 2% equally, showing that over the years, S. Enteritis prevalence has increased causing a statistical difference compared to the S. Typhimurium. (INFOSAN 2005)

In Ecuador there is a high incidence of salmonellosis, particularly in cities of the coastal region, such as Guayaquil, this disease is occupying the third place between the cause of visits to the Children's Hospital, and in the hospital Ycaza Francisco Bustamante, also ranks third in medical consultations, especially for children over 2 years. (El Universo 2002).

In these coastal regions such diseases are usually reported in the winter, because of the presence of rain and the bad system of sewers causing the stagnation of rain. This produce an increase of pathogens, this together with the high temperatures are the reason why the prevalence is increasing especially in marginal urban and rural areas (Breaks 2001), Additionally in the summer neglect and unsanitary conditions when preparing meals can also trigger epidemics at bathing resorts. (El Universo 2002) Similarly, in our country the risk of getting infected with salmonellosis is 50% greater in children and the elderly people. (Breaks 2001) In the Sierra region there are few statistics of the disease, a good reason to conduct research specific to the bacterium Salmonella. Just keep in mind that shigellosis is another relevant case of food poisoning despite of having a lower percentage than other infections of this type, this is also a very important subject of study for health because of its high morbidity within the population. (Trepas 2002)

Many cases of shigellosis are associated with nurseries, prisons and psychiatric hospitals. The military on the ground and people traveling to areas with poor sanitation are also prone to infection. (Alemano 2000),

outbreaks of this disease are associated with poor sanitation, contaminated water and food, as well as crowded living conditions. (Ochoa 2009)

The annual number of cases of shigellosis in the world is 164.7 million, of which 163.2 million are in developing countries and 1.5 million cases in industrialized countries (Alemanos 2000). In U.S.A there are about 18,000 cases of shigellosis per year and the condition is most commonly seen in nurseries and similar places. As well as studies in several Latin American countries like Venezuela found that unique bacteria isolated as pathogens most frequently were: Shigella spp (42.85%), Shigella sonnei (66.67%) in Mexico in a children study the result was Shigella spp. (11%) and Salmonella spp. 4%. (Vizcaya L. 2002)

In Ecuador, a study in nursery centers found that one of the Enterobacteriaceae that most commonly cause diarrhea is Shigella S. flexneri. (Calero 2007)

Loja is also affected with diseases caused by Salmonella and Shigella, because there are a number of people who feed in the food stalls on the street, this foods lack of proper cooking and cleaning before ingestion as well as the poor neighborhoods where there are few basic services and stagnant water is a watershed for the disease, yet their analysis and identification in microbiology laboratories is reduced and the conventional methods do not give the required results. That is why the present study was developed in order to provide epidemiological and statistical study of these bacterias. The study was made at the Regional Hospital Isidro Ayora in a population of different health centers in the city such as the area of Health # 1, Health Area # 2 and HRIA already mentioned before.

General Features and Classification

Salmonella is a genus of the family Enterobacteriaceae (Arévalo 2002). The

members of this family are characterized as Gram-negative, anaerobic, facultative, non-spore forming, rod-shaped and the round ends. The mobile forms have flagella implementation peripheral (Chacon 2009), do not ferment lactose (except *S. enterica* subsp. *Arizonae* and *S. enterica* subsp. *Diarizonae*) ferment glucose with gas production (excluding *S. Typhi*) do not produce indole; not degrade urea; decarboxylated lysine and ornithine. (Caffer 2001)

The genus *Salmonella* was subject to successive amendments over the years in regard to its nomenclature and taxonomy. In their classification are distinguished only three primary pathogenic species: *S. typhi*, *S. choleraesuis* and *S. enteritidis*. In turn, according to the Kauffman and White serotyping, were classified in more than 2000 serotypes based on flagellar H antigens (protein) and O somatic antigens (polysaccharide of the lipopolysaccharide fraction of bacilli). *S. typhi* also has a virulence antigen (Vi). (Aguirre 2005) The current taxonomy of *Salmonella* has simplified the spectrum by consolidating all strains (pathogenic or not) in only two species: *S.* and *S. enterica bongori*, the latter is not pathogenic for humans. (Flores 2005) The species *S.* has six subspecies *enterica* (sometimes presented as subgroups under Roman numerals): I *enteric salamae* II, IIIa *arizonae*, *diarizonae* IIIb, IV *houtenae*, V *S. bongori*, already included in a separate species. (Ochoa 2009) In turn, each subspecies is comprised of various serotypes, having been identified to date over 2500.

With Clinically epidemiological importance, the over 2000 serovars of *Salmonella* can be grouped into three ecological divisions (spp. are subspecies):

- *Salmonella* spp. Adapted to living in humans, including *S. typhi*, *S. paratyphi* A, B and C.
- *Salmonella* spp. not adapted to human

hosts, which incidentally can cause infection in man between them.

- *S. dublin* and *S. cholerae-suis*, *Salmonella* spp. no host-specific adaptation, which includes about 1800 serovars widely distributed in nature, which cause the majority of salmonellosis in the world. (Flores 2005)

Shigella is a genus of rod-shaped bacteria with gram-negative, nonmotile, non spore-forming and unable to ferment lactose, with the exception of some strains of *S. sonnei* that can ferment slowly, do not produce lysine decarboxylase, using acetate as carbon source. (Arzate 2010)

All species have O antigen, heat stable and may or may not possess K antigen, thermolabile. The latter is not involved in serotyping, but can interfere in determining O antigen, which is prevented by boiling the strain. (Perales 2002)

In his classification there are several different species of *Shigella* bacteria, classified into four subgroups:

- Serogroup A: *S. dysenteriae* (12 serotypes), a type found in the countries of the developing world where it causes deadly epidemics.
- Serogroup B: *S. flexneri* (6 serotypes), which causes about one third of cases of shigellosis.
- Serogroup C: *S. boydii* (23 serotypes).
- Serogroup D: *S. sonnei* (1 serotype), also known as *Shigella* Group D, which causes more than two thirds of all cases of shigellosis.

Groups A-C are physiologically similar, *S. sonnei* (group D) can be distinguished from the rest on the basis of biochemical metabolic tests. (Gutiérrez 2006)

Cultural characteristics and detection

In the process of detection of *Salmonella* and *Shigella* from stool cultures there are a number of steps. Including enrichment in

liquid medium in the agars selective differentiation, isolation, biochemical and serological typing by antisera. (Trepata 2002). The enrichment process is the inhibition of growth of other organisms other than Salmonella and coliforms, thereby enhancing the growth of bacteria under study, this is achieved by chemical inhibition, through nutritious as selenite broth which is made peptone or tryptone, lactose and salts, this is incubated at 37 ° C or 34 ° C and the passage to selective media can be done within 6 to 12 hours. (Caffer 2001)

Isolation and identification of these Enterobacteriaceae is through selective solid media in Petri dishes, the most common are:

- MacConkey Agar (MC) containing: peptone, bile salts, neutral red, crystal violet, and salts. The lactose fermenting bacteria (S. typhi, S. paratyphi, Shigella dysenteriae) do not alter the half, giving colorless and transparent colonies. To detect S. Typhi have to use this medium with agar agar and bismuth sulfite SS.
- eosin methylene blue agar (EMB) is a selective and differential isolation of intestinal pathogenic Gram-negative bacteria composed of peptone, bile salts, thiosulfate, calcium carbonate. (CAFF 2001) The lactose and sucrose enables differentiation of Salmonella and Shigella and their combination of colors is what differentiates between fermentation and lactose fermenters.
- Agar Salmonella Shigella (SS) selective medium where the presence of bright green, ox bile, high concentration of thiosulfate and citrate inhibit the accompanying flora. Thiosulfate and iron salt to bring out the formation of iron sulfide. The degradation of lactose to acid causes the neutral red indicator changes to red.
- Blood agar medium to differentiate whether the bacteria are part of gram-positive or gram negative. After the respective culture plates were

incubated at 37 ° C for 18 to 24 hours. (Brock 2009) The characteristics of the means of selective differences are shown in Table 1. which also consist of high selectivity and media XLD Agar, Agar Agar EH and BG acting in isolation but in our study is not accessed. (Caffer 2001)

Culture medium	Selectivity	Colonies Appearance
MacConkey Agar	Low	Colourless
EMB Agar	Low	Colourless
SS Agar	High	Colourless with black center
Blood Agar	Low	Colourless
XLD Agar	High	Red with black center
HE Agar	High	Blue-green with black center
BG Agar	High	Pale pink

(Adapted from Caffer 2001)

The identification was performed by serotyping and biochemical tests, these have varying complexity depending on the capacity of the laboratory is desirable that laboratories with lower availabilities isolates sent to laboratories at the intermediate level (provincial / regional), to complete biochemical tests and serotyping tests. The agars used are: TSI, LIA, SIM, UREA AND CITRATE and each is analyzed by the method described. (Caffer 2001) (Murray et al., 2008)

Biochemistry test	Result for Salmonella sp.
TSI	K/A H ₂ S ⁺⁺
LIA	K/K H ₂ S ⁺⁺
UREA	-
MOTILITY	+
INDOL	-
CITRATO	+

Table 2. Results of biochemical tests for identification of key organisms of the genus Salmonella sp. Source: Pachon 2009

Biochemistry test	Result for <i>Shigella</i> sp.
TSI	K/A H ₂ S ⁻⁻⁻
LIA	K/K H ₂ S ⁻⁻⁻
UREA	-
MOTILITY	-
INDOL	-
CITRATO	+

Table. 3 Results of biochemical tests for identification of key organisms of the genus *Salmonella* sp. Source: Terragno 2007

For these reactions occur in the media mentioned above requires an incubation of about 18 to 24 hours and a temperature of 37 ° C. (Jorda et al., 2005)

Serotyping is an important complement to biochemical and from the epidemiological point of view to determine the prevalence of a serovar in different geographical areas as well is useful for the study of outbreaks and to know the source of infection and routes transmission. To establish the genetic relationships between strains and thus better define epidemiological relationships, using techniques such as phage typing and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and other subtyping methods. (Caffer 2001)

The basis of serotyping for all Enterobacteriaceae is similar: it reveals the presence of somatic antigens, flagellar and capsular.

In the case of *Salmonella* serovars arise from a particular combination of factors somatic O and flagellar antigen H and the only factor *Shigella* somatic antigen O. (Caffer et al., 2001)

Epidemiological and ecological characteristics

Salmonella is spread worldwide and is universally recognized as a zoonotic agent. (Trepatt 2002), its distribution in nature is widespread and is found as a commensal and pathogen in the gastrointestinal tract of humans, domestic and wild mammals, reptiles, birds, insects and rodents, causing a

wide spectrum of diseases in humans and animals. (Flores 2005)

The environmental contamination with *Salmonella* is due solely to the transmission of bacteria through contaminated feces, either through wastewater from infected animals or by infected feces that might contaminate the waters as they may contain a large number of bacteria. When bacteria are introduced into a habitat may remain viable in feces for years outside the host and transmitted to humans through hand contact with animals or that is contaminated by feces. The food, feed and water are the primary vehicles. (Trepatt 2002)

Salmonella is one of the bacterial genera that are also associated with outbreaks of waterborne diseases because they are isolated from fresh water, sewage, freshwater and saltwater, as well as certain foods.

These bacteria can survive in a variety of stress conditions for long periods of time, can withstand dehydration, survive in soil and water, and brine. (Flores 2005) The genus *Salmonella* is the causative agent of various intestinal infection known as salmonellosis, which can be divided into two syndromes: "enteric fever" caused by *S.typhi*, which has an incubation period that can range from 7 to 28 days, depending the initial dose of bacteria ingested. Presents with malaise, headache, high fever, persistent abdominal pain, general body caused by *S. typhi*. The "paratyphoid fever" (caused by *S. Paratyphi B* and *S. Paratyphi C*) and gastroenteritis or food poisoning is an infection restricted to the intestinal mucosa (Trepatt 2002), has an incubation period that can range from 5 hours to 5 days, the main symptoms include diarrhea, nausea, abdominal pain, mild fever and chills. The gastroenteritis is caused by many serotypes, the most common *S. Typhimurium* and *Enteritidis*. (Flores 2005)

Salmonella is an infection stages, the gateway is the digestive tract, where the bacillus must overcome the defensive barrier

represented by gastric acidity before joining and invade intestinal epithelial cells and penetrate through certain genes virulence inside, where it multiplies and produces histopathological changes. (Flores 2005) Have been reported outbreaks of salmonellosis in industrialized countries have a seasonal variation throughout the year. Thus the peak outbreaks occurring during the summer months. 40% of salmonellosis cases are in children under 5 and adults over 60 who have a chronic illness, so demographic studies on the socioeconomic impacts of the disease show that there are high rates of salmonellosis in economic classes low and in areas of high population density. (Trepas 2002)

The information on the diversity and occurrence of Salmonella serotypes in the environment so far is very low, this is partly because the methods required for identification. Survival may depend on the origin of pollution and species. The serotyping is not accessible to all laboratories and this partly explains the lack of information regarding the diversity of strains in natural ecosystems. (Caffer 2001)

The genus Shigella is highly adapted to the host and pathogen is a unique natural human and some primates, transmission from person to person occurs via fecal - oral, usually through direct contact, sometimes by vectors as contaminated food, water, flies, also can be transmitted in contaminated pools and lakes. (Mena 2010)

Shigella survive at low pH so you have little difficulty passing through the gastric acid barrier, then invades the colonic epithelial cells, spreading locally. (Mondragón 2001) The intestine of infected humans is the only known reservoir. Shigella transmission occurs mainly from person to person as mentioned, made easier by low infectious inoculum, in fact the infectious dose can be as low as 100 to 200 bacteria in most species and even less for the case S. dysenteriae. It is therefore

easily transmissible through the hands, water, food contaminated with a common source and can survive up to 30 days in food. (Rivera 2000). It has also been evidence that the fly may act as a vector for this organism. (INPPAZ 2002)

Are considered high risk the vegetables grown in contaminated soil, irrigated with domestic wastewater, fertilized with manure from human feces or manipulated by an infected worker. Fruits and raw vegetables washed or mishandled badly constitute a hazard. (Trepas 2002)

Foods that have been the cause of incidents involving Shigella are: sanitized milk, water, various salads, cheese, cooked rice, seafood and fruits. (Arzate 2010)

As noted above, is a disease that mostly affects children, in whom the infection by fecal-oral route is facilitated, especially in nurseries as well as between populations of asylums for the mentally ill. Another mechanism described is the result of sexual transmission among homosexual men.

Regarding the transmission through food, there are reports linking the disease to a variety of them (milk, fruit and raw vegetables and prepared foods handled by infected people then) and the consumption of contaminated water, and exposure to water recreation (swimming pools, water parks, fountains, etc..) (INPPAZ 2002)

The possibility of infection exists while the organism is excreted in faeces. Even without treatment the bearing in the recovery period does not exceed 4 weeks, chronic carriage beyond one year is exceptional. Regarding the different species in developing countries S.flexneri is the most frequent followed by S.dysenteriae, which may also cause outbreaks in regions like Africa or India. In developed countries clearly dominates followed S.flexneri S.sonnei. In both the U.S. and other developed countries S.sonnei is the most frequent, except in traveler's diarrhea. (Torres 2001)

The species most frequently isolated in Uruguay *S.flexneri* *S.sonnei* followed as in other Latin American countries. More rarely isolated and *S.boydi* *S.dysenteriae*. (Torres 2001)

Characteristics of strength, control and prevention

The ability of Salmonella growth is substantially reduced if the temperature is below 15°C and up to a temperature below 7°C. (Boric 2008) The death of the bacteria will occur if the maximum temperature exceeds 49.5 ° C. Growth Values above this will be adequate to store foods under conditions of high temperatures, avoiding the growth of Salmonella. (Arzate 2010) These values are reflected in Table 4.

Conditions	Minimum	Optimus	Máximus
Temperature	5,2° C	35° C – 43° C	49,5° C
pH	3.8	7-7,5	9,5
Aw	0,94	0,99	>0,99

Table 4. Salmonella growth boundaries

Salmonella is very sensitive to heat and resistance to this parameter is very rare, this resistance is influenced by water activity, the nature of the solutes and the pH of the medium. This resistance increases as the water activity of the substrate is reduced. (Trepát 2002)

The minimum growth pH is 3.8 and maximum 9.5. The type of acid present is very important. Inorganic acids such as HCl and citric acid, allowing the growth of Salmonella to pH values close to 4, while acetic acid, propionic acid and butyric acid, has greater power bacteriostatic preventing growth of Salmonella at pH less than 5. (Trepát 2002)

Water activity is one of the factors that affect the growth of Salmonella can survive for a year or more foods with lower water activities, such as chocolate, black pepper, gelatin or peanut butter. (Flores 2005) The salts present in food or added to preserve them have a bacteriostatic effect, and that collect water in the food by decreasing the water activity and preventing the growth of bacteria. (Trepát 2002)

Pressure values of 500-700 Mpa, rapidly kill vegetative cells of bacteria, yeasts and fungi, but bacterial spores are more resistant. The high pressure treatment can inactivate microorganisms at ambient temperature without use of preservatives, allowing it to maintain the organoleptic characteristics. (Flores 2005)

Shigella

They are mesophilic bacteria whose growth temperature is 10 to 45 ° C. Shigella growth is prevented by applying high temperatures for destruction or preventing microbial growth. The toxins are heat labile and are destroyed at temperatures above 44 ° C for 10 minutes. Unlike heat, freezing and cooling method are not useful for Shigella and survives temperatures below -20 ° c. (Arzate 2010)

Shigella survive at low pH so you have little difficulty passing through the gastric acid barrier, then invades the colonic epithelial cells to spread locally. (Mondragón 2001) The optimum range for growth of Shigella is 5 to 9 in which food that are within this range of pH are susceptible to contamination from bacteria. (Arzate 2010)

As an anaerobic bacteria can use oxygen as final electron acceptor in the absence but also can use a variety of electron acceptors (Eh negative / low). Grow on the surface and inside of food, often their waste products are organic acids. (Adams 2008)

The requirement that allows the numerical

growth of *Shigella* is 0.94 (0.95 to 0.91). (Arzate 2005)

By decreasing the amount of water in foods inhibits the growth of *Shigella* as it requires at least 0.91 Aw to survive. Therefore used the following methods:

- Dehydration: The unit operation through which, it eliminates nearly all the water in a food.
- Freeze drying: drying method in which water is removed by freezing the wet product and after sublimation of ice under vacuum. Supply heat to sublime the ice and avoid passing through the liquid phase.
- Salt: This consists of adding salt to food in solid form. Increasing the salt concentration, the food gives your water, and slows bacterial and enzymatic activity. In turn, changes the aroma and flavor. (Adams 2008)

Conditions	Minimum	Optimus	Maximus
Temperature	10°C	35°-42°C	45°C
pH	5	7	9
aw	0.91	0.93	0.95

Table 5. Limits growth of *Shigella*

Materials and Methods

Specimen Collection:

During the period December 2010 - February 2011 were collected at the health center # 1, # 2 and the Regional Hospital Isidro Ayora (HRIA) a total of 180 samples of liquid stools of patients of all ages and irrespective of sex, HRIA samples were analyzed from both outpatients and hospitalized, due to microbiological analysis.

Sample Enrichment

From each sample took a small amount of liquid stool which were enriched with

thioglycolate or selenite during a period of 18 hours incubation at 37 degrees either to have a partial inhibition of coliforms and then facilitate *Salmonella* development

Isolation on selective media and differential

The characterization was carried out after 6 hours of incubation of sample placed in selenite then we proceeded to sow for the corresponding characterization in the cultives mediums like: SS Agar, MacConkey Agar, Blood Agar and EMB. Finally The plates were incubated at 37 ° C for 18 to 24 hours and colonies are observed, 2 mm in diameter with the characteristics written in Tables 1.

Biochemical and Serotyping ID:

Of the isolation media are selected from 2 to 3 colonies with the appearance described in Table 1 and are with handle and puncture the agars: TSI, LIA, Urea, Citrate and SIM then incubated at 37 ° C for 18 to 24 hours.

Results:

Study Population:

During the analysis period from December 1, 2010 and February 28, 2011 in Health Areas # 1 and # 2, and the Regional Hospital "Isidro Ayora" in the city of Loja, yielding the following results:

Were Collected 180 samples liquids from differents health centers: 98 (54%) samples of RHIA, 63 (29%) came from Health Center # 1 and 19 came from Health Center # 2

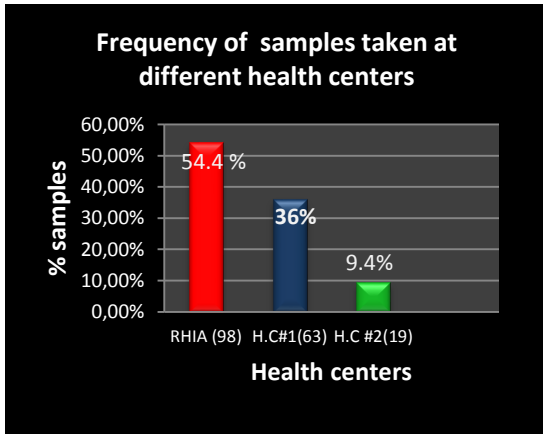


Table. 6 Number of samples analyzed in different Health centers. Source: Author

The 180 samples of various health centers were positive, 6 (3%) all from the Regional Hospital Isidro Ayora.

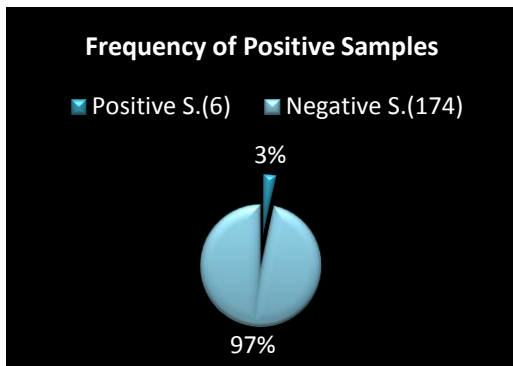


Table.7 Frequency of Positive Samples collected in the Health Centers in the city. Source : Author

Gastroenteric disease incidence by gender in the Regional Hospital Isidro Ayora According to patients' gender and the number of positive samples analyzed were obtained from 6 positive samples 4 (67%) female and 2 (33%) male.

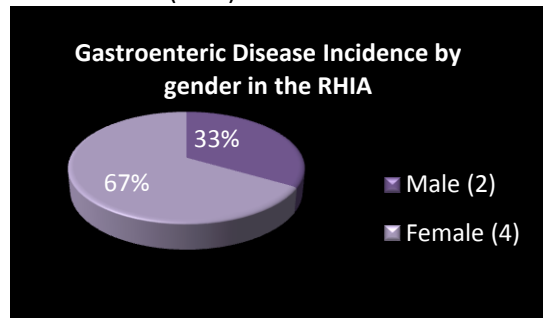


Table 8.Incidence of gastroenteric disease as RHIA gender in Loja. Source: Author

Incidence of Salmonella and Shigella Of the 6 positive stool cultures yielded the following results: 2 (1%) samples were of the genus Shigella and 4 (2%) of the genus Salmonella.

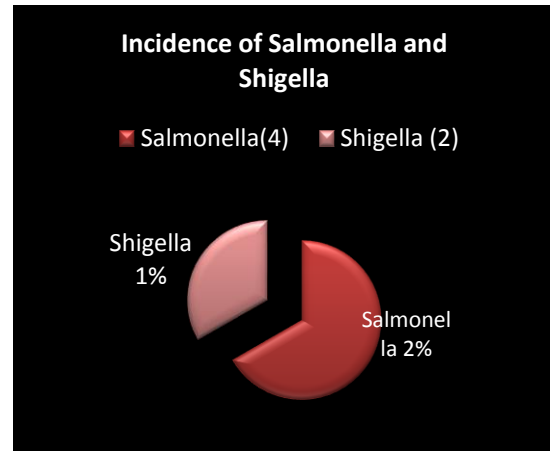


Table. 9 Incidence of Salmonella and Shigella species. Source: Author

Of the genre Salmonella are classified as follows according to their kinds:

Salmonella	Age	Gender	Work	Residence Place
<i>S. Choleraesuis</i>	5	Man	Student	Rural
<i>S. Enteritidis</i>	66	Women	Retired	Rural
<i>S. Paratyphi</i>	40	Women	Market	Rural
<i>S. Paratyphi</i>	6	Women	School	Urban

Table 10. Salmonella incidence by age, sex, Location work. Source: Author

Of the genre Shigella species was obtained:

Shigella	Age	Gender	Work	Residence Place
<i>S. Sonnei</i>	29	Female	Unknow	Urban
<i>S. Flexneri</i>	15	Male	Studiant	Rural

Table 11. Shigella incidence by age, gender, work and residence. Source Author.

Of the 6 positive samples obtained from the Regional Hospital Isidro Ayora, 5 (83%) were collected from outpatients and 1 (17%) of a hospitalized patient.

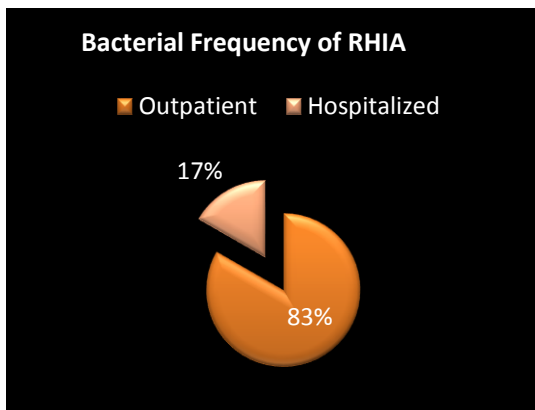


Table. 12. Bacterial Frequency obtained of Hospitalization and Outpatient in the RHIA

The 6 (100%) positive samples were only obtained from RHIA in health centers # 1 and # 2 there was no positive outcome in the study.

Result Analysis

In the present study of samples collected, after its analysis, isolation and biochemical identification made at the laboratory of the Regional Hospital Isidro Ayora, showed 3% percent of positive samples for Salmonella and Shigella (table. 6), this results demonstrate that in the collection period from December 2010 to February 2011, there is a low incidence of bacteria, because this seasonal period in the southern hemisphere corresponds to summer (Pérez, 2006), this results disagree with the cited literature that show that the months which have the highest incidence are months of high temperatures (summer). (*El Universo, 2002*)

The data obtained (table. 9) showed that 1% was positive for Shigella showing that in the town of Loja, although at low prevalence, there are also cases of shigellosis, these cases occur through contamination of food, undercooked, and handling food without proper hygiene before eating and is acquired by ingestion of a small number of bacteria,

hence the propensity of people infected is high. (*Rivera 2000*) (*Mena 2010*)

Also according to data obtained from positive samples showed that 2% incidence was Salmonella, this fact coinciding with the study in 2010 concerning the enterobacteria in HRIA of the city, where the total samples collected obtained the same percentage (2%) of the bacteria. (*Hurtado 2010*)

On the 2% of positive samples were obtained that 4 of 6 were of the Salmonella genus with species that been showed in Table 8, and 2 samples positive for Shigella (1%), with Salmonella bacteria most prevalent, deferring to studies by Alvarado et al. where the genus Shigella (16%) were more prevalent than Salmonella (10%). However, Toledo and Avila (2007) obtained results similar to those identified in this research where the incidence of Salmonella is higher than that of Shigella.

Of the 4 samples positive for Salmonella (Table.10), 2 were positive for Salmonella Enteritidis, which is more prevalent than the other two species coinciding with the study by Gutierrez in 2006 and information obtained in the study INFOSAN 2005. The other species of Salmonella appear in low percentage independently of an outbreak due to the lack of sanity, health and ingestion of improperly prepared or bad foods. (*Pachon 2009*). We also collected data that showed that 3 of the 4 species of Salmonella were in the rural sector of the city, a sector where there is greater propensity due to unsafe environments contaminated with feces containing the pathogens as quoted by the literature (*Trepat 2001*) (*Flores 2005*).

Another important part of the table shows that the ages of the people under study, two are from children of 5 and 6 years and the other two samples are from individuals of 40

and 60 years old, according to data from the literature the most affected people with the disease are children and the elderly. (*Flores 2005*) (*Arzate 2010*) (*Trepat, 2002*).

From the *Shigella* species found (Table 11), were prevalent *S. sonnei* and *S. flexneri* data are consistent with the literature, citing several of the studies by Torres et al. (2007), Vizcaya (2005), these species are the most prevalent worldwide and also in Ecuador the most common prevalence is *S. flexneri*, the literature describing the species most commonly associated with cases of shigellosis in underdeveloped countries is *S. flexneri*, while *S. sonnei* is isolated mostly in developed countries. (*Toledo et al. 2007*) (*Calero 2010*) (*Universe 2002*)

Of the 6 samples identified with *Salmonella* and *Shigella* was observed that there were 1 (17%) *Shigella flexneri* positive sample from a patient admitted to the hospital showing symptoms of gastroenteric disease. Being the main mean of dissemination through the hand, as shown in the literature, the hospitals have to take serious measures to prevent an outbreak of this disease.

In a study of prevalence by sex, for gastroenteric illness is not of high relevance and in the toxi-infections can occur in both male and female in the same way (*Pachon 2010*), although there is more incidence in females, this is probably because of the more direct handling of food and animal through which they could acquire the infection and the lack of hygiene is a major reason for the presence of pathogens. (*Pascual 2005*)

All positive samples obtained were those collected at the Regional Hospital Isidro Ayora (RHIA), noticing that the population attending health centers # 1 and 2 were mostly from urban areas where living conditions are less prone to infections by these bacteria.

As the period of study in the months when temperatures are warmer than present temperatures (December-February) was obtained 3% incidence of Enterobacteriaceae studied, showing that as the results of the study conducted in 2010 during the period shown in the literature there is no significant difference in spite of this have been done in months of varying temperatures both cold and warm (January-August) the percentage was 2% of positive samples obtained for *Salmonella*, (*Hurtado 2010*) showed that in the city these infections can occur almost equally in any month of the year.

Conclusions and Recommendations:

The incidence found in the study of *Salmonella* and *Shigella* Enterobacteriaceae was low so it would recommend further studies with larger numbers of patients for at least a year to measure the prevalence and seasonal variation of the disease.

Another point of importance is that despite the low incidence of *Shigella* should be treated with care since it is easily transmitted and requires small number of pathogens to develop the disease. It is also essential for hospital staff take into account the proper toilet or hand washing to treat an infected patient as through contamination of hands is the highest in hospitals.

It is noteworthy that despite not having the high incidence of these gastroenteric diseases, care must be taken because the result is probably due to existing economic factors represented by low-income, cultural factors, reflected by low levels of education among the population, bad hygiene habits and inadequate food handling, environmental factors expressed by poor sanitation, inadequate availability of drinking water and poor waste disposal, and nutritional factors characterized by malnutrition and lack of food to provide

adequate sources of nutrients to the body. (Alvarado 2005)

Standardization of protocols for sample handling, analysis of samples and especially the preservation and transport of the strains in laboratories to perform microbiological tests, as well as the culture media using specific screening for Salmonella and Shigella, as shown in the table. 1. To provide a more optimal analysis of the bacteria and determine the existence of the pathogen, the methods are recommended to develop proper quality control in the identification methods (enrichment, isolation and identification) prior to the identification and avoid errors later in the study.

Comparative analysis with private laboratories to provide more comprehensive information of the bacteria and inform health agencies about disease outbreaks.

Should bear in mind that not having serotyping analysis in most of the hospital laboratories, biochemical identification should be very well done by the methods described in the literature for the diagnosis of bacteria tested, even though this would be feasible to send positive strains to reference laboratories have the equipment necessary for serotyping and therefore offer the health sector an optimal epidemiological information exists in the population of genus and species so we can control, prevent and make appropriate treatments against infections.

It is hoped that this study will serve as guidance for future bacteriological studies and be useful for health entity, Microbiological Laboratory and medical community, contribute to improving the analysis techniques so they can provide good diagnostic bacteriology, thus controlling and preventing the spread of long-term illnesses, as well as raise public awareness of the risk of these bacterial diseases for which they

must take the necessary measures to modify risk behaviors and facilitate the induction of bacterial infections.

Despite having been a higher incidence of positive samples from patients in the rural sector, where conditions of life in this population such as: low income, overcrowding, poor hygiene, improper food, lack of potable water, improper installation of drainage, among others., these microorganisms were not a high incidence of the bacteria that cause gastrointestinal infections during the study period.

Bibliography:

- Miguel Parra, Johny Durango, Salim Máttar. 2002, **Microbiología, Patogénesis, Epidemiología, Clínica y Diagnostico de las Infecciones Producidas por Salmonella.** Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Montería (Córdoba) Colombia. 7:(2), 187-200.
- Tirado B., Moreno R, Celades M^a ., 2006. **Evolución de los serotipos, fagotipos y resistencia a antimicrobianos de Salmonella sp en el departamento de salud 02 de la provincia de Castellón, España.** Hospital General de Castellón.
- Gutiérrez A. Paasch L. Calderón N .2006. **Salmonelosis y Campilobacteriosis, las zoonosis emergentes de mayor expansión en el mundo.** Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, pag. 3-11

- Giugno S., Oderiz S., 2010. **Etiología bacteriana de la diarrea aguda en pacientes pediátricos.** Sala de Microbiología, Hospital Interzonal de Agudos Especializado en Pediatría "Superiora Sor Maria Ludovica". Calle 14 N° 1631 (1900) La Plata, Buenos Aires, Argentina.
- Velilla A., Terzolo H., et al., 2006. **Avances en el Diagnóstico Molecular de Salmonella.** Mundo Lácteo y Cárnico.
- Hale T, Keusch G., 1996. **Shigella: Structure, Classification, and Antigenic Types.** in: **Baron's Medical Microbiology.** 4th edición. Univ. of Texas Medical Branch. ISBN 0-9631172-1-1.
- Farreras V., et al., , 2007. **Presentación de un caso atípico de fiebre tifoidea,** Medicina Interna, Harcourt, Rev Cub Med Mil. online. ene.-mar, vol.31, no.1 p.54-57.
- Alamanos Y., et al., 2000: **A community waterborne outbreak of gastro-enteritis attributed to Shigella sonnei.** *Epidemiology and Infection*, 125:499–503.
- Flores A., Escolástica L., 2005, **Caracterización Fenotípica y Genotípica de Estirpes de Salmonella Choleraesuis Aisladas de Ambientes marinos.** UNMSM. Pag.1-7
- Chacón C., 2009. **Enterobacteriaceae.** MB-5000 Bacteriología Médica. <http://www.netropica.org/PDFs%20b%20medica/Enterobacterias.pdf>.Revisado: 20 de mayo 2011.
- INFOSAN.2005. **Salmonella.** Red internacional de Autoridades de Inocuidad de los Alimentos.
- Saravia J., 2007. **Salmonelosis.** Manual de Urgencias en Medicina Interna. Asociación Colombiana de Medicina Interna. Ediciones Acta Médica Colombiana.
- Trepas Q. 2002. **Incidencia y comportamiento de Salmonella en Pechugas de Pavo Curadas.** Universidad Autónoma de Barcelona Facultad de Veterinaria. Pag. 2 – 115.
- *Saltos C, Ramírez J., 2001. Análisis Estadístico Multivariante de las Principales Enfermedades Gastroentericas en el cantón Guayaquil.* Escuela Superior Politecnica Nacional. Pag.1-9.
- Diario el Universo. 2002. **Salmonelosis, 50% de riesgo en áreas Marginales.** <http://www.eluniverso.com/2002/03/27/>.html. Revisado: 12 de mayo 2011.
- Calero R.2007. **Shigelosis.** Ediciones de Salud. E.S S.A. <http://www.galeno21.com/PROTOCOLOS%20DE%20MANEJO%20DE%20EMERGENCIAS/POR%20DIAGNOSTICO/GASTROENTEROLOGIA/SHIGELLOSIS/ARTICULO.htm>, Revisado: 8 de Mayo del 2011
- Ochoa T, Cleary T.2009. **Shigella.** Nelson Textbook of Pediatrics. 18th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier:chap 196.

- Perales M, Camina M, et al., 2002. **Infección por campylobacter y Shigella como causa de diarrea aguda en niños menores de dos años en el Distrito de la victoria, Lima – Peru.** Rev Peru Med Exp salud Publica.
- Harrison. 2003. **Shigelosis.** Principios de Medicina Interna, 17^a edición, Parte 7. Enfermedades infecciosas > Sección 6, Enfermedades causadas por bacterias gramnegativas, Capitulo 147.
- Caffer M., Terragno R., 2001, **MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA CARACTERIZACION DE SALMONELLA.** Servicio Enterobacterias, Departamento Bacteriología – INEI
- Mondragón L. 2001. **Estudio de Resistencia IN Vitro de Cepas de Shigella Frente a 20 Antimicrobianos en el Hospital Carrion.** UNMSM. http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/salud/llancce_ml/introd.pdf. Revisado: 09 de Junio 2011.
- Rivera I. Cleary T., 2000. **Foodborne and Waterborne Illness in Children.** Adv Pediatric Infect Dis vol 1
- Torres M, Pérez M, et al., 2001. **Etiology of children's diarrhea in Montevideo, Uruguay: associated pathogens and unusual isolates.** J. Clin. Microbiol. 39:1. 2134-2139.
- Mena A; Valdés R. 2010. **Conocimientos sobre shigelosis y su manejo epidemiológico en personal médico.** Rev Cubana Med. Gen Integr v.26 n.1.
- Boric V.2008. **Aplicaciones de la Epidemiología Molecular en la detección de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos.** Avances en Latinoamérica. INNALSA.vol 6: Pag.92-97.
- Arzate I., Lazcano M. 2010. **Shigelosis.** <http://expresionesveterinarias.blogspot.com>.. Revisado: 10 de Junio 2011.
- Pascual R., Calderon V. 2005. **Microbiología de Alimentos, Metodología Analítica para alimentos y bebidas.** 4ta Edicion.
- Adams M., Moss R. 2008. **M.O.Food Microbiology .RSC** .Cambridge United Kingdom.
- Brock T. 2009. **Pruebas Bioquímicas.** <http://pdf.rincondelvago.com/pruebas-bioquimicas.html>. Revisado: 17 de Junio 2011.
- Pachon D. 2009. **Aislamiento, Identificación y Serotipificación de Enterobacterias del Género Salmonella en una Población de Crocodylus intermedius y testudinos Mantenidos en cautiverio en la Estación de Biología Tropical Roberto Franco**

**de la Facultad de Ciencias –
Universidad Nacional de
Colombia en Villavicencio.**

Pontificia Universidad Javeriana
Facultad de Ciencias Básicas
Agrícola y Veterinaria. Bogotá
D.C. pag: 1 – 104.

- Terragno R, Caffer M, Binsztein N, 2007. **Manual de Procedimientos Diagnóstico y caracterización de Shigella spp.** Departamento Bacteriología Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas A.N.L.I.S. “Dr. Carlos G. Malbrán” Centro Regional de Referencia del WHO Global Salm Surv para América del Sur.
- Van A., et al., 2005. **Distribution of “classic” virulence factors among Salmonella spp.** FEMS Immunol. med. Microbiol, 44 (3):251-259)
- Schauer C, 2007. **Manual de Laboratorio de Microbiología de la Ciencias de la Salud,** Kalamazoo Valley Community College.
- Pérez J, 2006. **Manual de Patología General.** 6ta. Edición. Editorial MASSON, España.
- Organización Mundial de la Salud (OMS), 2005. **Agentes Etiológicos de Enfermedades Entéricas de Interés para la Salud Pública Salmonella serotipo Typhi, Shigella, Vibrio cholerae.**
- Koneman E, Allen S, 2008. **Diagnóstico Microbiológico.** 6ta. Edición. Editorial Médica Panamericana.
- Kroser J, 2008. **Shigelosis.** Clinical Associate Professor of Medicine, Gastroenterology, and Hepatology, Drexel University College of Medicine.
- Lozano J, Carrasco J, 2008. **Panorama epidemiológico de la mortalidad de las neumonías en niños menores de cinco años en México en el período 2000-2007.** Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría.
- Alvarado L., Guzman Y., Guzman M., Betancourt J., 2005. **Salmonella spp. y Shigella spp. asociados con síndrome diarreico agudo en niños menores de seis años de edad.** http://findarticles.com/p/articles/mi_7432/is_2_33/ai_n32039742/pg_2/?tag=mant_eskin;content. Revisado: 28 de Junio 2011
- Toledo S., Avila L., et al., 2007. **Salmonella y Shigella a partir de muestras fecales en la población Santa Rosa, Maracaibo-Venezuela.** Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina, Universidad del Zulia.
- Pérez E, López C., 2006. **Las Estaciones del año.** Sociedad Astronómica del Planetario Alfa, Monterrey N.L. México.

Fin del Proyecto (objetivos de desarrollo):

Contribuir con información estadística epidemiológica de la incidencia de *Salmonella* y *Shigella* de las áreas de salud de la ciudad que entraron en el estudio: Área de Salud N°1, Área de Salud N° 2 y el Hospital Regional Isidro Ayora misma que será un aporte de información relevante al sector salud de nuestra ciudad.

Propósito del Proyecto (objetivo inmediato):

Determinar la prevalencia de *Salmonella* y *Shigella* en nuestra ciudad durante el periodo ya mencionado, en la población que acude a los distintos centros de salud.

Componentes del Proyecto (productos)

Determinación de género y especie más prevalente de las bacterias y, estipular prevalencia en el periodo de recolección de datos.

Resumen

La *Salmonella* y *Shigella* son un género de bacterias que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, se hallan entre los microorganismos más relevantes desde el punto de vista médico, estos géneros son enteropatógenos humanos importantes.(Arévalo *et al.* 2002).

En la actualidad existe un alto número de pacientes que se alimentan en la calle, siendo esto uno de los vehículos para infecciones alimentarias causadas por dichas bacterias gram negativas. En la ciudad de Loja existe un bajo porcentaje de datos estadísticos acerca de estas infecciones lo cual es un gran problema para la salud pública de la misma, debido fundamentalmente a su elevada transmisibilidad, la emergencia de cepas resistentes a antimicrobianos y la falta de vacunas efectivas, siendo así este tipo de bacterias una de las principales causas de morbimortalidad,(OMS, 2008); por esta razón el interés de realizar este estudio ya que constituyen un importante problema de salud pública mundial, por lo cual nos hemos propuesto realizar un estudio completo que comprende: recolección de muestras, aislamiento de las *enterobacterias Salmonella* y *Shigella* e interpretación de resultados.

La salmonella es la causa mayoritaria de los brotes de toxiinfecciones alimentarias y de alteraciones gastroentéricas en España y en muchos otros países europeos. En los Estados Unidos, es la causa más común de las enfermedades transmitidas por alimentos (OMS 2008); como también la cifra anual de shigelosis en el mundo es de 164,7 millones, de los cuales 163,2 millones corresponden a los países en desarrollo y 1,5 millones de casos a los países industrializados. (Díaz L. 2009)

Para la prevención de estas infecciones las medidas de higiene personal en especial lavado de manos, son las más útiles para evitar la transmisión de persona a persona y la contaminación de alimentos por parte de individuos infectados. Especial atención deberán prestar manipuladores de alimentos, personal de guarderías, asilos y casas de salud. (Salyers A. 2001)

El presente estudio se realizó debido a que igualmente en nuestro país, Ecuador la cifra anual de enfermedades gastroentéricas causadas por *Salmonella* y *Shigella* es alta, sin embargo en la ciudad de Loja pocos son los estudios realizados acerca de dichas enfermedades gastroentericas por lo cual se procedió a realizar el estudio, donde como resultados se obtuvo: de las 180 muestras recolectadas de los tres centros de salud fueron durante el periodo : 2 (1%) muestras fueron para el género *Shigella* y 4 (2%) del género *Salmonella*.

INTRODUCCION

Las toxiinfecciones alimentarias provocadas por los microorganismos patógenos del género *Salmonella* y *Shigella* son infecciones de gran importancia en la salud pública debido al impacto socioeconómico que ocasiona tanto en los países en desarrollo como en los desarrollados. Estas son enfermedades transmitidas por los alimentos los cuales causan la mayor parte de los brotes que afectan a centenares de personas. (Trepal 2002)

Tomando en cuenta que tanto la salmonelosis como la shigelosis son infecciones entéricas que pueden ser atribuidas a distintos agentes infecciosos y la epidemiología depende del huésped, estación del año, exposición, y tomando en cuenta también que el agua contaminada es una importante fuente y reservorio de agentes causales (Giugno 2010); su prevalencia ha mostrado que en los meses de verano es donde existe mayor número de casos, como también se reporta que las poblaciones más infectadas por estas enfermedades son neonatos, niños y ancianos ya que su sistema inmune es mucho más vulnerable que los demás. (Parra 2002)

La salmonelosis es una enfermedad de origen alimentario causado por la bacteria en estudio *Salmonella* que afecta a un gran número de personas y sus vehículos de transmisión son tan amplios por lo cual es considerada una de las más importantes toxiinfecciones alimentarias mundiales. (Trepal 2002) La importancia de esta enfermedad radica tanto en la elevada morbilidad entre personas como por la elevada falta de sanidad pública, poco control de higiene en hospitales, locales comerciales de venta de alimentos en general. (Tirado 2006). La fiebre tifoidea es la más grave de las salmonelosis y continúa siendo un problema mayor en muchos países en vías de desarrollo, anualmente en los EEUU, se registran diecisiete millones de casos, con unas seiscientas mil muertes. (Trepal 2002).

En países europeos como en Francia, en el 2005, más de 70% de casos en humanos fueron ocasionados por tres serotipos: *Salmonella* Enteritidis (33%), *Salmonella* Typhimurium (32%) y *Salmonella* Hadar (6%). (Gutiérrez 2006)

En Uruguay estudios realizados de serotipificación de *Salmonella* en el año 2005 mostró que la incidencia de *Salmonella* Enteritidis fue del 80% más que la *Salmonella*. Typhimurium que fue de 17%, y de las otras especies fue de un 2% indistintamente, mostrando así que a través de los años la *S.* Enteritidis ha ido aumentando la prevalencia causando una diferencia estadística frente a la *S.* Typhimurium. (INFOSAN 2005)

En el Ecuador existe una alta incidencia de la enfermedad, principalmente en ciudades de la Región Costa, como Guayaquil ocupando la salmonelosis el tercer lugar entre las consultas del Hospital del Niño; en el hospital Francisco de Ycaza Bustamante, igualmente ocupa el tercer lugar en las consultas médicas, especialmente de niños mayores de 2 años. (El Universo 2002).

En estas regiones costaneras dichas enfermedades generalmente se reportan en los meses de invierno, que son los meses en los que se nota la presencia de lluvias y por el

mal sistema de alcantarillados las aguas lluvias no tienen una libre salida, lo cual provoca el estancamiento de las mismas causando un incremento de agentes patógenos debido a la insalubridad, esto junto con las altas temperaturas son la razón por la cual la prevalencia se incrementa sobre todo en áreas urbano-marginales y rurales,(Saltos 2001), por otro lado en verano, el descuido y la insalubridad al preparar las comidas pueden desencadenar también epidemias en los balnearios.(El Universo 2002). De igual manera en nuestro país se demostró que la población más afectada fueron los niños y los ancianos enfrentando el 50% de riesgo de enfermarse de salmonelosis. (Saltos 2001) En región Sierra existen pocos datos estadísticos de la enfermedad, una buena razón para realizar investigaciones específicas de la bacteria *Salmonella*

Hemos de tener en cuenta que la shigelosis es otro caso relevante de toxiinfección alimentaria a pesar de tener un menor porcentaje que otras infecciones de este tipo, esta también es un tema de estudio muy importante para la salud por su alta morbilidad dentro de la población. (Trepato 2002)

Muchos casos de shigelosis están asociados con guarderías, cárceles y hospitales psiquiátricos. Los militares que trabajan sobre el terreno y las personas que viajan a zonas con saneamiento deficiente también son propensos a infectarse. (Alamanos 2000), los brotes de esta enfermedad están asociados a condiciones sanitarias deficientes, agua y alimentos contaminados, al igual que condiciones de vida en hacinamiento. (Ochoa 2009)

La cifra anual de shigelosis en el mundo es de 164,7 millones, de los cuales 163,2 millones corresponden a los países en desarrollo y 1,5 millones de casos a los países industrializados, (Alamanos 2000).En los Estados Unidos, se presentan aproximadamente 18.000 casos de shigelosis cada año y la afección se observa más comúnmente en guarderías y lugares similares. Como también estudios realizados en diversos países de Latinoamérica como Venezuela se encontró que las bacterias aisladas como patógenos únicos con mayor frecuencia fueron: *Shigella* spp (42,85 %), *Shigella sonnei* (66,67 %); en México en un estudio en niños el resultado fue de *Shigella* spp. (11 %) y *Salmonella* spp. en 4 %. (Vizcaya L. 2002).

En el Ecuador, en un estudio realizado en los centros de cuidado diario se encontró que una de las enterobacterias que más comúnmente producen diarrea, son la *Shigella* con su especie más frecuente *S. flexneri*. (Calero 2007)

Nuestra ciudad Loja no es ajena a dichas enfermedades causadas por las bacterias *Salmonella* y *Shigella*, debido a que existe un sinnúmero de población que se alimenta en los puestos de comidas en la calle, mismas que escasean de una debida cocción y aseo antes de la ingestión, como también por los barrios marginales donde son pocos los servicios básicos y el agua estancada es una vertiente para la enfermedad ; aun así su análisis e identificación en los laboratorios microbiológicos es reducida y los métodos convencionales no dan los resultados requeridos en su mayoría, razón por la cual el presente estudio se desarrolló para así brindar información epidemiológica y estadística

de las bacterias en estudio ya que es muy escasa en la ciudad. El estudio se realizará en el Hospital Regional Isidro Ayora en una población determinada de los diferentes centros de salud de la ciudad como los son El Área de Salud #1 , Área de Salud #2 y el HRIA antes ya mencionado.

1. Antecedentes

1.1 *Salmonella*

En 1856, el médico inglés William Bud., dedujo que, desde el punto de vista epidemiológico, cada caso de fiebre tifoidea tenía conexión con la ingestión de agua o alimentos. El género *Salmonella* recibe su nombre en honor al microbiólogo americano Daniel Elmer Salmon quien en 1876 fue reconocido como el primer doctor en medicina veterinaria graduado en una universidad de los Estados Unidos. Junto a Theobald Smith, conocido por su trabajo en anafilaxis, fueron quienes descubrieron los gérmenes designados como *Salmonella*, en 1885, aislándolos de muestras de cerdos afectados con cólera. (Pachon 2009)

El primer descubrimiento de la *Salmonella* dentro de un laboratorio fue mediante un brote de toxiinfección alimentaria provocado por dicha bacteria donde se vieron implicadas 57 personas las cuales ingirieron carne de un animal infectado. La *Salmonella* Enteritis fue la bacteria aislada de los órganos de una de las personas fallecidas. Desde entonces la *Salmonella* ha sido reconocida como la mayor causante de fiebres entéricas y gastroenteritis. (Mena 2010)

1.2 *Shigella*

Hace 100 años un científico japonés llamado Shiga, del cual se tomó su nombre, descubrió la bacteria *Shigella* a partir de las evacuaciones de pacientes durante una epidemia prolongada y devastadora de disentería. (Harrison 2010). De las epidemias más relevantes por shigelosis en la historia causada por la bacteria fue en América Central entre 1969 y 1973, habiéndose estimado que ocurrieron alrededor de 500.000 casos y 20.000 muertes relacionadas (Basualdo 1999). En estudios realizados en el año 2001 en el distrito Victoria (Lima- Perú) en el periodo abril-octubre se mostró una incidencia del 1.2 % de niños menores de 2 años. (Perales 2002). Hoy en día en América Latina la shigelosis es responsable del 8% a 12% de los episodios de diarrea y de 50% de los episodios de diarrea disentérica que requieren hospitalización. (Allende 2000).

2. Características y Clasificación Generales

2.1 *Salmonella*:

Salmonella es un género de la familia Enterobacteriaceae (Arévalo 2002). Los miembros de esta familia se caracterizan por ser gram negativos, anaerobios, facultativos, no formadores de esporas, con forma de barra y con las puntas redondas. Las formas móviles tienen flagelos de implantación periférica, (Chacon 2009), no fermentan la lactosa (excepto *S. entérica* subep. *arizonae* y *S. entérica* subesp. *diarizonae*), fermentan glucosa con producción de gas (excepto *S. Typhi*); no producen indol; no degradan urea; decarboxilan lisina y ornitina. (Kaffer 2001)

El género *Salmonella* fue objeto de sucesivas modificaciones, a través de los años, en lo que respecta a su nomenclatura y taxonomía. En su clasificación se distinguían tres únicas especies patógenas primarias: *S. typhi*, *S. choleraesuis* y *S. enteritidis*. A su vez, según la serotipificación de Kauffman y White, eran clasificadas en más de 2000 serotipos con base en los antígenos flagelares H (proteicos) y antígenos somáticos O (fracción polisacárida del lipopolisacárido bacilar). *S. typhi* posee además un antígeno de virulencia (Vi). (Aguirre 2005)

La taxonomía actual de *Salmonella* ha simplificado el espectro, reagrupando todas las cepas (patógenas o no) en dos únicas especies: *S. entérica* y *S. bongori*, ésta última no es patógena para el ser humano. (Flores 2005)

La especie *S. entérica* tiene seis subespecies (a veces presentadas como subgrupos bajo numeración romana): I *entérica*, II *salamae*, IIIa *arizonae*, IIIb *diarizonae*, IV *houtenae*, V *S. bongori*, ya incluida en una especie distinta. (Ochoa 2009). A su vez, cada subespecie está conformada por diversos serotipos, habiéndose identificado hasta la fecha más de 2500.

Con importancia clínico epidemiológica, las más de 2000 serovariedades de *Salmonella* pueden agruparse en tres divisiones ecológicas (spp. son subespecies):

- *Salmonella spp.*, adaptadas a vivir en el ser humano, entre ellas, *S. typhi*, *S. paratyphi A*, *B* y *C*;

- *Salmonella spp.* adaptadas a hospederos no humanos, que circunstancialmente pueden producir infección en el hombre, entre ellas.
- *S. dublin* y *S. cholerae-suis*; *Salmonella spp.* sin adaptación específica de hospedero, que incluye a unas 1800 serovariedades de amplia distribución en la naturaleza, las cuales causan la mayoría de las salmonelosis en el mundo. (Flores 2005)

2.2 *Shigella*

Shigella es un género de bacterias con formas de bacilo gram negativas, no móviles, no formadoras de esporas e incapaces de fermentar lactosa, a excepción de algunas cepas de *S. sonnei* que pueden fermentar de manera lenta, no producen lisina descarboxilasa, utilizan acetato como fuente de carbono. (Arzate 2010)

Todas las especies presentan antígeno O, termoestable y pueden o no poseer antígeno K, termolábil. Este último no interviene en la serotipificación, pero puede interferir en la determinación antígeno O; lo cual se evita mediante la ebullición de la cepa. (Perales 2002)

En su clasificación hay varias especies diferentes de bacterias *Shigella*, clasificados en cuatro subgrupos:

- Serogrupo A: *S. dysenteriae* (12 serotipos), es un tipo que se encuentra en los países del mundo en desarrollo donde ocasiona epidemias mortíferas.
- Serogrupo B: *S. flexneri* (6 serotipos), causante de cerca de una tercera parte de los casos de shigelosis.
- Serogrupo C: *S. boydii* (23 serotipos).
- Serogrupo D: *S. sonnei* (1 serotipo), conocida también como *Shigella del grupo D*, que ocasiona más de dos terceras partes de todos los casos de shigelosis.

Los grupos A–C: son fisiológicamente similares, *S. sonnei* (grupo D) puede ser distinguida del resto en base de pruebas de metabolismo bioquímico. (Gutiérrez 2006)

3. Características de cultivo y detección

En el proceso de detección de *Salmonella* y *Shigella* en coprocultivos hay una serie de pasos a seguir. Incluyen un enriquecimiento en medio líquido, diferenciación selectiva en los agares, un aislamiento, identificación bioquímica y finalmente la tipificación serológica mediante antisueros. (Trepap 2002).

El proceso de enriquecimiento consiste en la inhibición del crecimiento de otros organismos diferentes a la *Salmonella* como los coliformes, potenciando así el crecimiento de la bacteria en estudio, esto se consigue mediante la inhibición química, a través de caldos nutritivos como el Selenito que está compuesto de peptona o triptona, lactosa y sales; este se incuba a 37° C o a 34° C y el pasaje a medios selectivos puede hacerse al cabo de 6 a 12 horas. (Caffer 2001).

El aislamiento e identificación de estas Enterobacterias se realiza a través de medios selectivos sólidos en placas Petri, los medios más comunes son:

- Agar MacConkey (MC) que contiene: peptona, sales biliares, rojo neutro, cristal violeta, y sales. Las bacterias no fermentadoras de lactosa (*S. Typhi*, *S. Paratyphi*, *Shigella dysenteriae*) no alteran el medio, dando colonias incoloras y transparentes. Para detectar *S. Typhi* hay que usar este medio junto con agar SS y agar bismuto sulfito.
- Agar Eosina Azul de Metileno (EMB) es un medio selectivo y diferencial para el aislamiento de bacterias patógenas intestinales Gram negativas compuesto por peptona, sales biliares, tiosulfato, carbonato de calcio.(Caffer 2001) El contenido de lactosa y sacarosa hace posible la diferenciación de *Salmonella* y *Shigella* y su combinación de colorantes es la que permite diferenciar entre los fermentadores y no fermentadores de lactosa.
- Agar Salmonella Shigella (SS) medio selectivo donde la presencia de verde brillante, bilis de buey, alta concentración de tiosulfato y el citrato inhiben la flora acompañante. El tiosulfato y la sal de hierro ponen en evidencia la formación de sulfuro de hierro. La degradación de la lactosa a ácido provoca el viraje del indicador rojo neutro a rojo.
- Agar sangre medio que permite diferenciar si las bacterias forman parte de bacterias gram positivas o gram negativas.

Luego del cultivo respectivo las placas se incuban a 37°C durante 18 a 24 horas. (Brock 2009) Las características de los medios de selectivos y diferencias se muestran en la siguiente Tabla 1. donde también constan medios de selectividad

alta como Agar XLD, Agar HE y Agar BG que actúan en el aislamiento sin embargo en nuestro estudio estos no son utilizados. (Caffer 2001)

TABLA 1. Características de las colonias en medios selectivos y diferenciales

Medio de cultivo	Selectividad	Aspecto de las colonias
Agar MacConkey	Baja	Incoloras
Agar EMB	Baja	Incoloras
Agar SS	Alta	Incoloras con centro negro
Agar Sangre	Baja	Incoloras
Agar XLD	Alta	Rojas con centro negro
Agar HE	Alta	Verdes-azuladas con centro negro
Agar BG	Alta	Rosadas pálidas

(Adaptado de Caffer 2001)

De este listado se considera que se deben utilizar un medio de baja selectividad (agar MacConkey) y uno de alta selectividad (agar SS), para el aislamiento apropiado, el reconocimiento y la diferenciación de las colonias típicas de *Salmonella*. (Caffer 2001)

La identificación se lleva a cabo mediante pruebas bioquímicas y serotipificación, estas tienen distinta complejidad dependiendo de la capacidad del laboratorio, siendo conveniente que los laboratorios con menores disponibilidades envíen las cepas aisladas a laboratorios de nivel intermedio (provinciales y/o regionales), para completar las pruebas bioquímicas y realizar pruebas de serotipificación. Los agares a utilizar son: TSI, LIA, SIM, UREA Y CITRATO y cada uno de ellos se analiza según el método descrito. (Caffer 2001)(Murray et al., 2008) .

Tabla 2. Resultados de las pruebas bioquímicas clave para identificación de microorganismos pertenecientes al género *Salmonella* sp. Fuente: Pachon 2009

Prueba Bioquímica	RESULTADO PARA <i>Salmonella</i> sp.
TSI	K/A H ₂ S ⁺⁺
LIA	K/K H ₂ S ⁺⁺
UREA	-
MOTILIDAD	+
INDOL	-
CITRATO	+

Tabla. 3 Resultados de las pruebas bioquímicas clave para identificación de microorganismos pertenecientes al género *Salmonella* sp. Fuente: Terragno 2007

Prueba Bioquímica	RESULTADO PARA <i>Shigella</i> sp.
TSI	K/A H ₂ S ⁻
LIA	K/A H ₂ S ⁻
UREA	-
MOTILIDAD	-
INDOL	-
CITRATO	+

Para que ocurran estas reacciones en los medios antes mencionados se requiere una incubación aproximada de 18 a 24 horas y una temperatura de 37°C (*Jordá et al., 2005*).

La serotipificación constituye un importante complemento de la identificación bioquímica y desde el punto de vista epidemiológico permite determinar la prevalencia de una serovariedad en distintas zonas geográficas, como así también es de utilidad para el estudio de brotes y para conocer la fuente de infección y las vías de transmisión. Para establecer las relaciones genéticas entre cepas y por ende definir con mayor precisión sus relaciones epidemiológicas, se utilizan técnicas como la fagotipificación y la electroforesis de campo pulsado (PFGE), entre otros métodos de subtipificación. (*Caffer 2001*)

La base de la serotipificación para todas las enterobacterias es similar: se pone en evidencia la presencia de antígenos somáticos, flagelares y capsulares.

En el caso de *Salmonella*, las serovariedades surgen como consecuencia de una asociación particular de factores antigénicos somáticos **O** y flagelares **H** y de la *Shigella* únicamente de los factores antigénicos somáticos O. (*Caffer et al., 2001*).

4. Características ecológicas y Epidemiológicas

4.1 *Salmonella*

Salmonella se encuentra distribuida en todo el mundo y es universalmente reconocida como agente zoonótico. (*Trepat 2002*), su distribución en la naturaleza

es amplia y se encuentra como comensal y patógeno en el tracto gastrointestinal de humanos, mamíferos domésticos y salvajes, reptiles, aves, insectos y roedores, causando un amplio espectro de enfermedades en el ser humano y los animales. (Flores 2005)

La contaminación del medio ambiente con *Salmonella* es debida exclusivamente a la transmisión de la bacteria a través de las heces contaminadas, ya sea a través de aguas residuales de animales infectados o bien por las heces infectadas que puedan contaminar las aguas ya que estas pueden contener un gran número de la bacteria. Cuando la bacteria se introduce en un hábitat puede permanecer viable en el material fecal durante años fuera del huésped y transmisible a los humanos a través del contacto de las manos con los animales o lo que esté contaminado por las heces. La comida los piensos y el agua son los vehículos primarios. (Trepatt 2002).

Salmonella es uno de los géneros bacterianos que se encuentran también asociados a brotes de enfermedades de origen hídrico, ya que son aislados de agua fresca, aguas servidas, agua dulce y agua salada, además de ciertos alimentos.

Estas bacterias pueden sobrevivir en gran variedad de condiciones de estrés por largos periodos de tiempo, pueden resistir la deshidratación, sobrevivir en el suelo y en el agua, así como en salmuera. (Flores 2005)

El género *Salmonella* es el agente causal de diferentes infecciones intestinales, conocidas como salmonelosis, que pueden dividirse en dos síndromes: “la fiebre entérica” causada por *S.typhi*, que tiene un periodo de incubación que puede variar desde 7 a 28 días, dependiendo de la dosis inicial de bacteria ingerida. Cursa con malestar general, dolor de cabeza, fiebre alta persistente, dolor abdominal, dolor general del cuerpo causada por *S. typhi*. La “fiebre paratifoidea” (causada por *S. Paratyphi B* o *S. Paratyphi C*) ; y la gastroenteritis o envenenamiento por alimentos que es una infección restringida a la mucosa intestinal, (Trepatt 2002), tiene un periodo de incubación que puede variar desde 5 horas a 5 días; los principales síntomas incluyen diarrea, náuseas, dolor abdominal, fiebres leves y escalofríos. Esta gastroenteritis es causada por muchos serotipos, siendo los más comunes Typhimurium y *S. Enteritidis*. (Flores 2005)

La infección por *Salmonella* es una infección por fases, la puerta de entrada es la vía digestiva, donde el bacilo debe sobrepasar la barrera defensiva representada por la acidez gástrica antes de adherirse e invadir las células del epitelio intestinal y

penetrar por medio de ciertos genes de virulencia en su interior, donde se multiplica y produce alteraciones histopatológicas.(Flores 2005) *Salmonella* el patógeno más encontrado como causante de toxiinfecciones alimentarias en países desarrollados, y uno de las frecuentes en países en desarrollo. Constituye la segunda causa de morbilidad en países en vía de desarrollo, después de los procesos respiratorios, en donde a mayor parte de envenenamientos o contaminación de alimentos son de origen bacteriano. (Arzate 2010)

Se ha descrito que los brotes epidémicos de salmonelosis en los países industrializados tienen una variación estacional a lo largo del año. Así el pico de los brotes se produce durante los meses de verano. El 40% de los casos de salmonelosis se dan en niños menos de 5 años y adultos mayores de 60 años que padecen alguna enfermedad crónica, así también estudios demográficos sobre el impactos socioeconómico de las enfermedades demuestran que hay altos índices de salmonelosis en clases sociales económicamente bajas y en áreas de elevada densidad de población.(Trepát 2002)

La información de la diversidad y ocurrencia de los serotipos de *Salmonella* en el ambiente, hasta la fecha es muy escasa, esto es parcialmente debido a los métodos requeridos para su identificación. La supervivencia puede depender del origen de la contaminación y especie. El serotipaje no es accesible a todos los laboratorios y esto explica en parte la poca información en relación a la diversidad de cepas en ecosistemas naturales. (Caffer 2001)

4.2 Shigella

El género *Shigella* está muy adaptado al huésped y es un patógeno natural exclusivo del ser humano y algunos primates; la transmisión de persona a persona se produce vía fecal – oral, generalmente por contacto directo, en ocasiones por vectores contaminados como los alimentos, el agua, las moscas; también se puede transmitir en piscinas y lagos contaminados.(Mena 2010)

Shigella sobrevive a un pH bajo por lo que tiene pocas dificultades para atravesar la barrera ácida gástrica, posteriormente invade las células epiteliales del colon, propagándose localmente. (Mondragón 2001)

El intestino de ser humano infectado es el único reservorio conocido. La transmisión de *Shigella* ocurre fundamentalmente de persona a persona como ya se mencionó, hecho facilitado por su bajo inóculo infectante, de hecho la dosis

infectante puede ser tan baja como 100 a 200 bacterias en la mayoría de las especies e incluso menos para el caso de *S. dysenteriae*. Es por lo tanto fácilmente transmisible a través de las manos, agua, alimentos contaminados con una fuente común y puede sobrevivir hasta 30 días en alimentos. (Rivera 2000). También se ha podido evidenciar que la mosca doméstica puede actuar como vector de este germen. (INPPAZ 2002)

Se consideran de alto riesgo las verduras que se cultivan en suelos contaminados, regadas con aguas residuales domésticas, fertilizadas con abonos orgánicos procedentes de heces humanas o manipuladas por un trabajador infectado. Las frutas y vegetales crudos mal lavados o mal manipulados constituyen, un peligro. (Trepas 2002)

Entre los alimentos que han sido la causa de incidentes en relación con *Shigella* se encuentran: leche no higienizada, agua, diversas ensaladas, queso blanco, arroz cocido, mariscos y frutas. (Arzate 2010)

Como ya se señaló, es una enfermedad que afecta mayormente a niños, en los cuales el contagio por vía fecal oral se ve facilitado, en especial en guarderías al igual que entre poblaciones de asilos para enfermos mentales. Otro mecanismo descrito es consecuencia de la transmisión sexual entre hombres homosexuales.

Respecto a la transmisión a través de alimentos, existen reportes que vinculan esta enfermedad a una gran diversidad de ellos (leche, frutas y verduras crudas alimentos preparados y luego manipulados por personas infectadas) así como al consumo de aguas contaminadas, y a la exposición a aguas recreativas, (piscinas, parques acuáticos fuentes, etc.) (INPPAZ 2002)

La posibilidad de infección existe mientras el microorganismo se excrete por las heces. Aún sin tratamiento la portación en el período de convalecencia no supera 4 semanas, la portación crónica más allá de un año es excepcional.

Respecto a las diferentes especies, en países en vías de desarrollo *S.flexneri* es la que más frecuente seguida de *S.dysenteriae*, que puede incluso causar brotes en regiones como África o la India. En países desarrollados predomina claramente *S.sonnei* seguida de *S.flexneri*. En tanto en Estados Unidos y otros países desarrollados *S.sonnei* es la especie más frecuente, excepto en diarrea del viajero. (Torres 2001)

La especie más frecuentemente aislada en Uruguay es *S.flexneri* seguida de *S.sonnei* como ocurre en otros países de América Latina. Más raramente se aísla *S.dysenteriae* y *S.boydi*. (Torres 2001).

5. Características de resistencia, control y prevención

5.1 *Salmonella*

5.1.1 Temperatura

La capacidad de crecimiento de *Salmonella* se reduce sustancialmente si la temperatura es inferior a los 15° C y se evita a temperatura inferior a los 7°C. (Boric 2008). La muerte de la bacteria se producirá si se excede la temperatura máxima de crecimiento 49,5° C. Valores situados por encima de esta serán adecuados para almacenar los alimentos en condiciones de temperaturas elevadas, evitándose el crecimiento de *Salmonella*. (Arzate 2010) Estos valores quedan reflejados en la Tabla 4.

Tabla 4. Límites de crecimiento de *Salmonella*

Condiciones	Mínimas	Óptimas	Máximas
Temperatura	5,2° C	35° C – 43° C	49,5° C
pH	3.8	7-7,5	9,5
Aw	0,94	0,99	>0,99

(Adaptado de Trepát 2002)

Salmonella es muy sensible al calor y la resistencia a este parámetro es muy rara, esta resistencia viene influenciada por la actividad del agua, por la naturaleza de los solutos y por el pH del medio. Esta resistencia se incrementa cuando la actividad del agua del sustrato se reduce. (Trepát 2002)

5.2.2 pH

El pH mínimo de crecimiento es 3.8 y el máximo 9.5. El tipo de ácido presente es muy importante. Los ácidos inorgánicos como el ClH y el ácido cítrico, permiten el crecimiento de *Salmonella* hasta valores de pH cercanos a 4, mientras que el ácido acético, el ácido propiónico y el ácido butírico, tiene un mayor poder bacteriostático impidiendo el crecimiento de *Salmonella* a pH inferior a 5. (Trepát 2002).

5.1.3 Actividad del agua (a_w)

La actividad del agua es uno de los factores que más afecta al crecimiento de *Salmonella* puede sobrevivir durante un año o más en alimentos que tengan actividades de agua inferiores, tales como el chocolate, la pimienta negra, las gelatinas o manteca de cacahuete. (Flores 2005)

Las sales presentes en los alimentos o añadidas para conservarlos tienen un efecto bacteriostático, ya que captan el agua presente en el alimento haciendo disminuir la actividad de agua e impidiendo el crecimiento de la bacteria. (Trepap 2002)

5.1.4 Altas Presiones

Presiones con valores de 500-700 MPa (macro pascales) y matan rápidamente las células vegetativas de bacterias, levaduras y hongos, aunque las esporas bacterianas son mucho más resistentes. Los tratamientos a altas presiones pueden inactivar los microorganismos a temperatura ambiente sin utilización de conservantes, permitiendo que se mantengan las características organolépticas. (Flores 2005)

5.2 *Shigella*

5.2.1 Temperatura

Son bacterias mesófilas cuya temperatura de crecimiento es de 10 a 45°C.

El crecimiento de *Shigella* se impide aplicando altas temperaturas para su destrucción o impidiendo el desarrollo microbiano. Las toxinas son termolábiles y son destruidas a temperaturas superiores a 44°C por 10 minutos. A diferencia del calor, el método de congelación y refrigeración no son útiles para *Shigella* ya que sobrevive a temperaturas menores de -20°C. (Arzate 2010)

5.2.2 pH

Shigella sobrevive a un pH bajo por lo que tiene pocas dificultades para atravesar la barrera ácida gástrica, posteriormente invade las células epiteliales del colon propagándose localmente. (Mondragón 2001)

El rango óptimo de crecimiento de *Shigella* está de 5 a 9 en el cual los alimentos que están dentro de este rango de pH son susceptibles a contaminación de la bacteria. (Arzate 2010).

5.2.3 Potencial redox

Al ser una bacteria anaerobia puede utilizar el oxígeno como aceptor final de electrones pero en ausencia también pueden utilizar una diversidad de aceptores de electrones (Eh negativos/ reducidos). Crecen en la superficie y en el interior de los alimentos, con frecuencia su producto de desecho son ácidos orgánicos. (Adams 2008)

5.2.4 Actividad del Agua (A_w)

El requerimiento de A_w que permite el crecimiento numeroso de *Shigella* es de 0.94 (0.95-0.91). (Arazate 2005)

Al disminuir la cantidad de agua en los alimentos se inhibe el desarrollo de *Shigella* ya que requiere 0.91 A_w como mínimo para poder sobrevivir. Por lo cual se usan los siguientes métodos:

- Deshidratación: Es la operación unitaria por medio de la cual, se elimina casi toda el agua presente en un alimento.
- Liofilización: método de desecación en el que se elimina el agua por congelación del producto húmedo y posterior sublimación del hielo en condiciones de vacío. Al suministrar calor el hielo sublima y se evita el paso por la fase líquida.
- Salado: Consiste en añadir sal en forma sólida al alimento. Al aumentar la concentración de sal, el alimento cede su agua, y se frena la actividad bacteriana y enzimática. A su vez, se producen cambios de aroma y sabor. (Adams 2008)

Tabla 5. Límites de crecimiento de *Shigella*

Condiciones	Mínimas	Óptimas	Máximas
Temperatura	10°C	35°-42°C	45°C
pH	5	7	9
aw	0.91	0.93	0.95

(Adaptado Arzate et al., 2010)

Materiales y Métodos

Figura 1.1 Esquema de procedimientos para el aislamiento e identificación de Salmonella y Shigella.

Materia Fecal (Hisopo)



1. Caldo de Enriquecimiento



(Caldo Selenito para salmonella incubar de 6 a 12 horas a 37C)



2. Aislamiento en medios selectivos y diferenciales



(agar macConkey, SS, EMB y Sangre)



3. Identificación Bioquímica



1.1 Recolección de Muestras:

Durante el periodo Diciembre 2010 – Febrero 2011 se recolectaron en los centros de salud #1, #2 y del Hospital Regional Isidro Ayora (HRIA) un total de 180 muestras de heces líquidas de pacientes de todas las edades y sin distinción de sexo, las muestras tomadas del HRIA fueron analizadas tanto de pacientes de consulta externa como de hospitalizados, para su debido análisis microbiológico.

1.2 Enriquecimiento de Muestras

De cada una de las muestras se tomó una cantidad pequeña de las heces líquidas y fueron colocadas en un caldo de enriquecimiento ya sea selenito o tioglicolato, para la inhibición parcial de coliformes, y facilitar el desarrollo de *Salmonella* esto durante un periodo de 18 horas de incubación a 37° grados.

1.3 Aislamiento en medios selectivos y diferenciales

La caracterización se llevó a cabo luego de las 6 horas de incubación de la cantidad de muestra colocada en el selenito, se procedió a la siembra para la respectiva caracterización en los 4 medios: Agar SS, Agar MacConkey, Agar Sangre y finalmente EMB. Las placas se incuban a 37°C durante 18 a 24 horas y se observan colonias, de 2 mm de diámetro, con las características indicadas en las tablas 1.

1.4 Identificación Bioquímicas:

De los medios de aislamiento se seleccionan 2 a 3 colonias con el aspecto descrito en Tabla 1 y se siembran con asa y punción en los agares: TSI, LIA, Urea, Citrato y SIM y se incuban a 37°C, durante 18 - 24 horas. La siembra se realiza de acuerdo al anexo 2.

1.5 Lectura de Resultados

Una vez incubadas los medios de aislamiento se procede a la lectura de los resultados identificando que especie es la prevalente en cada muestra.

Resultados

Población en estudio:

Durante el período de análisis comprendido entre el 1 de Diciembre de 2010 y el 28 de Febrero de 2011, en las Áreas de Salud #1 y #2, y el Hospital Regional “Isidro Ayora” de la ciudad de Loja, se obtuvieron los siguientes resultados:

Se recolectaron 180 muestras líquidas de los diferentes centros de salud y se analizaron 98(54%) muestras del HRIA, 63(29%) Centro de Salud #1, y Centro de Salud #2.

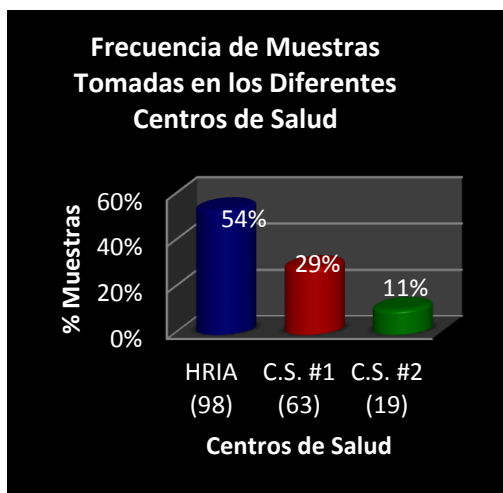


Tabla. 6 Número de muestras analizadas en los diferentes Centros de salud. Fuente: Autora

De las 180 muestras de los distintos centros de salud resultaron positivas, 6(3%) todas provenientes del Hospital Regional Isidro Ayora.

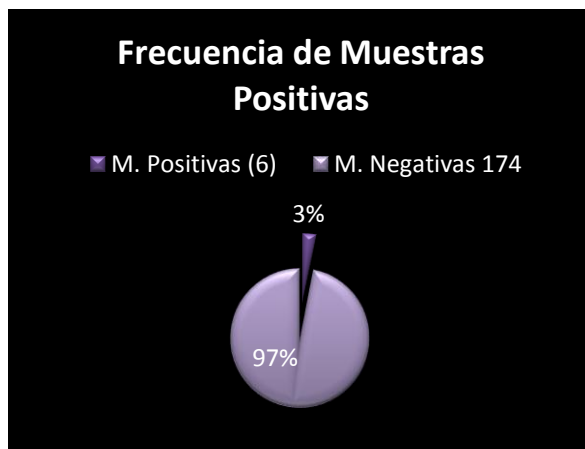


Tabla.7 Frecuencia de Muestras Positivas recolectadas en los Centros de Salud de la ciudad. Fuente Autora

Incidencia de enfermedad gastroentérica según el género en el Hospital Regional Isidro Ayora

De acuerdo al género de los pacientes y el número de muestras positivas analizadas se obtuvieron de las 6 muestras positivas 4(67%) del género femenino y 2(33%) del género masculino.

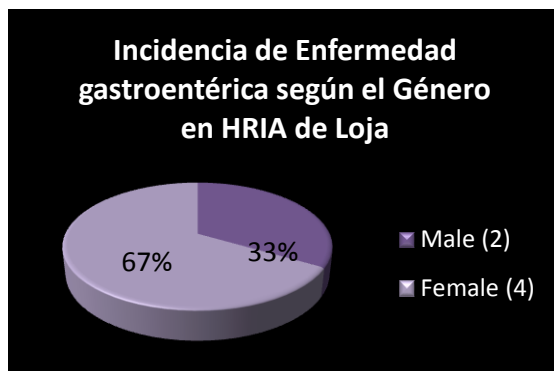


Tabla 8. Incidencia de Enfermedad gastroentérica según el género en el HRIA de Loja. Fuente: Autora

Incidencia de Salmonella y Shigella

De los 6 coprocultivos positivos se obtuvieron los siguientes resultados: 2 (1%) muestras fueron para el género *Shigella* y 4 (2%) del género *Salmonella*.

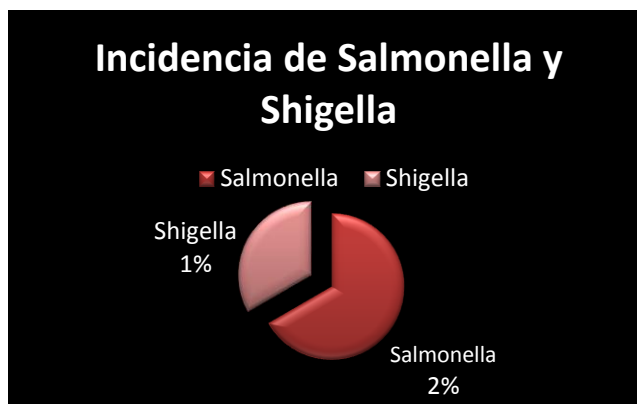


Tabla. 9 Incidencia de Especies de Salmonella y Shigella Fuente: Autora

Del género *Salmonella* se clasifican de la siguiente manera según su especie:

Salmonella	Edad	Sexo	Trabajo	Lugar de Residencia
<i>S. Choleraesuis</i>	5	Hombre	Estudiante	Sector Rural
<i>S. Enteritidis</i>	66	Mujer	Jubilada	Sector Rural
<i>S. Paratyphi</i>	40	Mujer	Mercado	Sector Rural
<i>S. Paratyphi</i>	6	Mujer	Escolar	Sector Urbano

Tabla 10. Incidencia de salmonella según la edad, sexo, trabajo y Lugar de residencia. Fuente: Autora.

Del género *Shigella* se obtuvo las siguientes especies:

Shigella	Edad	Sexo	Trabajo	Lugar de Residencia
<i>S. Sonnei</i>	29	Mujer	No conocido	Urbano
<i>S. Flexneri</i>	15	Hombre	Estudiante	Rural

Tabla 11. Incidencia de *Shigella* según edad, género, trabajo y lugar de residencia. Fuente Autora.

De las 6 muestras positivas obtenidas en el Hospital Regional Isidro Ayora, 5(83%) fueron de recolectadas de pacientes de consulta externa y 1(17%) de un paciente Hospitalizado.

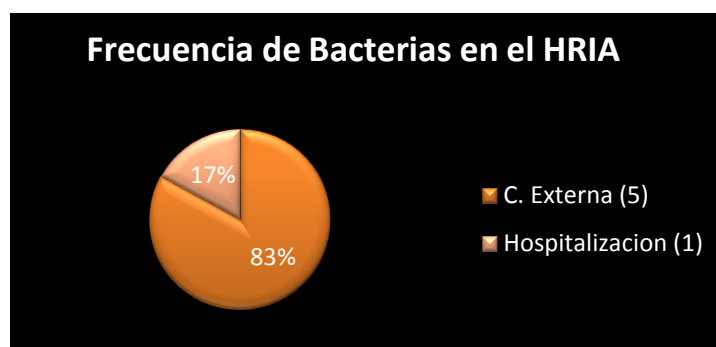


Tabla 12. Frecuencia de Bacterias obtenidas de Hospitalización y Consulta externa del HRIA Fuente: Autora

Las 6 (100%) **muestras positivas obtenidas en los resultados fueron únicamente del HRIA**, en los centros de salud #1 y #2 no hubo ningún resultado positivo en el estudio.

Análisis de Resultados

En el presente estudio realizado de las muestras recolectadas se obtuvo una frecuencia del 3% (tabla. 6) de muestras positivas para *Salmonella* y *Shigella*, del análisis respectivo en el Laboratorio del HRIA de Loja a partir del aislamiento e identificación bioquímica de las bacterias, mostrando que en el periodo de recolección Diciembre 2010 a Febrero 2011,, existe baja incidencia de las bacterias tomándose en cuenta que este periodo estacional en el hemisferio sur que es donde se encuentra nuestra ciudad, es verano, (Pérez 2006), sin embargo la incidencia es baja, lo que difiere con la bibliografía citada que muestra que los meses donde se presenta más incidencia son en los meses de temperaturas altas (verano) . (El Universo 2002).

Los datos obtenidos (tabla. 9) mostraron que el 1% fue positivo para *Shigella* demostrando que en la población de Loja, aunque en baja prevalencia, también existen casos de shigelosis, estos casos se presentan por contaminación de alimentos, poca cocción, y manipulación de los mismos sin el debido aseo antes de ingerirlos y al ser la infección adquirida por la ingestión de un número reducido de bacterias, por lo tanto la propensión de población a infectarse es alta. (Rivera 2000)(Mena 2010)

Igualmente según los datos obtenidos de muestras positivas se obtuvo que el 2% de incidencia fue del género *Salmonella*, coincidiendo este dato con el estudio realizado el año 2010 referente a la incidencia de Enterobacterias en el HRIA de la ciudad, donde del total de muestras recolectadas se obtuvo el mismo porcentaje (2%) de la bacteria. (Hurtado 2010)

De las muestras positivas se obtuvo que 4 (2%) de las 6 bacterias fueron del género *Salmonella* con sus especies mostradas en la tabla 8, y 2 muestras positivas para el género *Shigella* (1%), observándose que la bacteria mas prevalente en el estudio es la *Salmonella*, difiriendo con estudios realizados por Alvarado et al., donde el género *Shigella* (16%) tuvo más prevalencia que el de *Salmonella* (10%). No obstante, Toledo y Ávila, (2007) obtuvieron resultados similares a los señalados en la presente investigación donde la incidencia de *Salmonella* es mayor que la de *Shigella*.

De las 4 muestras positivas para *Salmonella* (Tabla.10), resultaron 2 positivas para la especie *Salmonella* Enteritidis la cual es más prevalente que las otras dos especies coincidiendo en el estudio realizado por Gutiérrez en el año 2006 y la información obtenida en el estudio de INFOSAN 2005. Las otras especies de *Salmonella* se presentan en bajos porcentajes independientemente de algún brote debido igualmente a la falta de higiene, sanidad y la ingestión de alimentos mal preparados o en mal estado. (Pachon 2009). También se obtuvo datos de la procedencia de las personas infectadas que muestra que 3 de las 4 especies de *Salmonella* fueron del sector rural de la ciudad, sector donde

existe mayor propensión a la insalubridad del medio ambiente contaminado por heces que contienen el patógeno en estudio como lo cita la bibliografía, (Trepát 2001)(Flores 2005).

Otro dato importante de la tabla nos muestra que las edades de las personas en estudio, dos son de niños de 5 y 6 años y las otras dos muestras son de personas de edad madura 40 y 60 años de edad, concordando con datos de bibliografía que cita que los más afectados con la enfermedad son niños y personas de edad avanzada.(Flores 2005)(Arzate 2010)(Trepát 2002).

De las especies de *Shigella* encontradas (Tabla 11), fueron prevalentes *S. sonnei* y *S. flexneri* datos que concuerdan con la bibliografía, citando que en varios de los estudios realizados por Torres et al. (2007), Vizcaya (2005), estas especies son las más prevalentes a nivel mundial y en el Ecuador la prevalencia de la *S. flexneri* igualmente es la más común de los casos, describiendo la literatura que la especie mayormente asociada a los casos de shigellosis en países sub-desarrollados es *S. flexneri*, mientras que, *S. sonnei* es aislada en su mayoría en países desarrollados. (Toledo et al. 2007), (Calero 2010)(Universo 2002).

De las 6 muestras identificadas con las bacterias *Salmonella* y *Shigella* se observó que existieron 1(17%) muestra positiva de *Shigella flexneri* de un paciente que ingresó a hospitalización presentando los síntomas de la enfermedad gastroentérica, lo que muestra que al haber esta prevalencia y al ser el medio de diseminación principal a través de las manos como muestra la bibliografía, en el área hospitalaria las medidas a tomar para evitar un brote toxi-infeccioso deben ser seriamente tomadas por el personal de salud.

En estudio de prevalencia según el sexo, para las enfermedades gastroentéricas no es de alta relevancia ya que en las toxi-infecciones pueden presentarse tanto en el género masculino como en el femenino de igual manera (Pachón 2010), a pesar de esto se presentó más incidencia en el género femenino, lo cual se debe probablemente a la manipulación más directa de alimentos y piensos animales que tiene el género femenino, a través de los cuales pudieron adquirir la infección y la falta de aseo de manos luego dicha manipulación es una razón principal para la presencia del los patógenos. (Pascual 2005)

Todas las muestras positivas obtenidas fueron aquellas recolectadas en el Hospital Regional Isidro Ayora (HRIA), notándose que la población que asiste a los centros de Salud #1 y 2 fueron en su mayoría del sector urbano donde las condiciones de vida son menos propensas a infecciones por estas bacterias.

Siendo el periodo en estudio realizado en los meses donde se presentaron temperaturas más cálidas que templadas (Diciembre – Febrero) se obtuvo el 3% de incidencia de las enterobacterias en estudio, evidenciándose que según los resultados obtenidos en el estudio realizado en el 2010 durante el periodo mostrado en la bibliografía no existe una diferencia significativa a pesar de este haberse realizado en meses de temperaturas variantes tanto frías como cálidas (Enero - Agosto) el porcentaje fue del 2% de muestras positivas obtenidas para *Salmonella*, (Hurtado 2010) mostrándose que en la ciudad pueden presentarse estas infecciones casi de igual manera en cualquier mes de año.

Conclusiones y Recomendaciones

La incidencia existente en el presente estudio de enterobacterias *Salmonella* y *Shigella* fue baja por lo que se recomendaría estudios posteriores con un mayor número de pacientes, durante al menos un año para medir la prevalencia y variación estacional de la enfermedad.

Otro dato de importancia es que a pesar de la poca incidencia de *Shigella* esta se debe tratar con mucho cuidado ya que es de fácil transmisión y se necesita de poco número de patógenos para presentar la enfermedad. También es indispensable por el personal hospitalario tener muy en cuenta el debido aseo o lavado de manos al tratar un paciente infectado ya que a través de las manos la contaminación es la más elevada a nivel Hospitalario.

Es importante mencionar que a pesar de no haber la elevada incidencia de estas enfermedades gastroentéricas, se debe tomar precauciones ya que el resultado existente se debe seguramente a factores económicos representados por escasos ingresos; factores culturales reflejados por bajos niveles educativos en la población, malos hábitos de higiene e inadecuada manipulación de alimentos; factores ambientales expresados por un precario saneamiento ambiental, insuficiente disponibilidad de agua potable y mala disposición de excretas; y los factores nutricionales caracterizados por la desnutrición y la falta de alimentos que aporten adecuadas fuentes de nutrientes al organismo. (Alvarado 2005)

Estandarización de protocolos de manejo de muestras, de análisis de las muestras y sobre todo de la conservación y transporte de cepas en los laboratorios que realizan los análisis microbiológicos, como también utilizar los medios de cultivo específicos para la detección para *Salmonella* y *Shigella*, como los mostrados en la tabla. 1., y así brindar una información más óptima de la bacteria analizada, así mismo al realizar un análisis y determinar la existencia de un patógeno, los métodos a desarrollar se recomienda realizar el control de calidad respectivo de los métodos de identificación (enriquecimiento, aislamiento e identificación) antes de realizar la identificación y así evitar errores posteriores al estudio.

Realizar análisis comparativos con laboratorios particulares para brindar información más global de las bacterias y así informar a las entidades de Salud acerca de los brotes epidemiológicos.

Se debe tener muy en cuenta que al no tener en la mayoría de laboratorios de hospitales generales las posibilidades de serotipificación, la identificación bioquímica debe ser muy

bien realizada según los métodos descritos en la bibliografía para el diagnóstico de la bacteria analizada, e incluso a pesar de esto sería muy factible enviar las cepas positivas a los laboratorios de referencia que cuenten con los implementos necesarios para la serotipificación y por lo tanto ofrecer al sector de la salud una información optima de la epidemiología existente en la población de género y especie y así poder controlar, prevenir y realizar tratamientos oportunos contra las infecciones.

Se espera que el presente estudio sirva como guía para futuros estudios bacteriológicos y tenga utilidad para la entidad de salud, Laboratorio Microbiológico y comunidad médica, para que contribuyan a mejorar las técnicas de análisis y así poder brindar buenos diagnósticos bacteriológicos, por ende controlar y prevenir la diseminación de enfermedades a largo plazo, como también concientizar a la población del riesgo de estas enfermedades bacterianas por lo cual deben tomar las medidas necesarias y modifiquen conductas de riesgo que faciliten la inducción de infecciones bacterianas.

A pesar de haber existido más incidencia de muestras positivas provenientes de pacientes del sector rural, donde las condiciones de vida de esta población como son: bajos ingresos económicos, condiciones de hacinamiento, malos hábitos de higiene, manipulación inadecuada de alimentos, escasez de agua potable, inadecuada instalación de drenaje, entre otras., estos microorganismos no constituyeron una alta incidencia de las bacterias causantes de infecciones gastrointestinales durante el periodo en estudio.

Bibliografía

1. Miguel Parra, Johny Durango, Salim Máttar. 2002, **Microbiología, Patogénesis, Epidemiología, Clínica y Diagnóstico de las Infecciones Producidas por Salmonella**. Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Montería (Córdoba) Colombia. 7:(2), 187-200.
2. Tirado B., Moreno R , Celades M^a ., 2006. **Evolución de los serotipos, fagotipos y resistencia a antimicrobianos de Salmonella sp en el departamento de salud 02 de la provincia de Castellón, España**. Hospital General de Castellón.
3. Gutiérrez A. Paasch L. Calderón N .2006. **Salmonelosis y Campilobacteriosis, las zoonosis emergentes de mayor expansión en el mundo**. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, pag. 3-11
4. Giugno S., Oderiz S., 2010. **Etiología bacteriana de la diarrea aguda en pacientes pediátricos**. Sala de Microbiología, Hospital Interzonal de Agudos Especializado en Pediatría "Superiora Sor Maria Ludovica". Calle 14 N° 1631 (1900) La Plata, Buenos Aires, Argentina.
5. Velilla A., Terzolo H., et al., 2006. **Avances en el Diagnóstico Molecular de Salmonella**. Mundo Lácteo y Cárnico.
6. Hale T, Keusch G., 1996. **Shigella: Structure, Classification, and Antigenic Types. in: Baron's Medical Microbiology**. 4th edición. Univ. of Texas Medical Branch. ISBN 0-9631172-1-1.
7. Farreras V., et al., , 2007. **Presentación de un caso atípico de fiebre tifoidea**, Medicina Interna, Harcourt, Rev Cub Med Mil. online. ene.-mar, vol.31, no.1 p.54-57.
8. Alamanos Y., et al., 2000: **A community waterborne outbreak of gastro-enteritis attributed to Shigella sonnei**. *Epidemiology and Infection*, 125:499–503.
9. Flores A., Escolástica L., 2005, **Caracterización Fenotípica y Genotípica de Estirpes de Salmonella Choleraesuis Aisladas de Ambientes marinos**. UNMSM.pag.1-7
10. Chacón C., 2009. **Enterobacteriaceae**. MB-5000 Bacteriología Médica. <http://www.netropica.org/PDFs%20b%20medica/Enterobacterias.pdf>. Revisado: 20 de mayo 2011.
11. Gutiérrez L., Vázquez E., - et al. 2000. **Serotipos de Salmonella identificados en los servicios de salud de México**. Salud pública Méx vol.42 no.6 Cuernavaca.
12. INFOSAN.2005. **Salmonella**. Red internacional de Autoridades de Inocuidad de los Alimentos.
13. Saravia J., 2007. **Salmonelosis**. *Manual de Urgencias en Medicina Interna. Asociación Colombiana de Medicina Interna. Ediciones Acta Médica Colombiana*.
14. Trepas Q. 2002. **Incidencia y comportamiento de Salmonella en Pechugas de Pavo Curadas**. Universidad Autónoma de Barcelona Facultad de Veterinaria. Pag. 2 – 115.
15. Saltos C, Ramírez J., 2001. **Análisis Estadístico Multivariante de las Principales Enfermedades Gastroentericas en el cantón Guayaquil**. Escuela Superior Politecnica Nacional. Pag.1-9.
16. Diario el Universo. 2002. **Salmonelosis, 50% de riesgo en áreas Marginales**. <http://www.eluniverso.com/2002/03/27/.html>. Revisado: 12 de mayo 2011.
17. Calero R.2007. **Shigelosis**. Ediciones de Salud. E.S S.A. <http://www.galeno21.com/PROTOCOLOS%20DE%20MANEJO%20DE%20EMERGENCIAS/POR%20DIAGNOSTICO/GASTROENTEROLOGIA/SHIGELLOSIS/ARTICULO.htm>, Revisado: 8 de Mayo del 2011
18. Ochoa T, Cleary T.2009. **Shigella**. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 18th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier:chap 196.

19. Perales M, Camina M, et al., 2002. **Infección por campylobacter y Shigella como causa de diarrea aguda en niños menores de dos años en el Distrito de la victoria, Lima – Peru.** Rev Peru Med Exp salud Publica.
20. **Harrison. 2003. Shigelosis. Principios de Medicina Interna, 17ª edición, Parte 7.** Enfermedades infecciosas > Sección 6. Enfermedades causadas por bacterias gramnegativas, Capitulo 147.
21. Caffer M., Terragno R., 2001, **MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA CARACTERIZACION DE SALMONELLA.** Servicio Enterobacterias, Departamento Bacteriología – INEI
22. Mondragón L. 2001. **Estudio de Resistencia IN Vitro de Cepas de Shigella Frente a 20 Antimicrobianos en el Hospital Carrion.** UNMSM .http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/salud/llance_ml/Introd.pdf. Revisado: 09 de Junio 2011.
23. Rivera I. Cleary T., 2000. **Foodborne and Waterborne Illness in Children.** Adv Pediatric Infect Dis vol 1
24. Torres M, Pérez M, et al., 2001. **Etiology of children's diarrhea in Montevideo, Uruguay: associated pathogens and unusual isolates.** J. Clin. Microbiol. 39:1. 2134-2139.
25. Mena A; Valdés R. 2010. **Conocimientos sobre shigelosis y su manejo epidemiológico en personal médico.** Rev Cubana Med. Gen Integr v.26 n.1.
26. Boric V.2008.**Aplicaciones de la Epidemiología Molecular en la detección de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos.** Avances en Latinoamérica. INNALSA.vol 6: Pag.92-97.
27. Arzate I., Lazcano M. 2010. **Shigelosis.** <http://expresionesveterinarias.blogspot.com..> Revisado: 10 de Junio 2011.
28. Pascual R., Calderon V. 2005. **Microbiología de Alimentos, Metodología Analítica para alimentos y bebidas.** 4ta Edicion.
29. Adams M., Moss R. 2008. **M.O.Food Microbiology .RSC .Cambridge United Kingdom.**
30. Brock T. 2009. Pruebas Bioquímicas. <http://pdf.rincondelvago.com/pruebas-bioquimicas.html>. Revisado: 17 de Junio 2011.
31. Pachon D. 2009. **Aislamiento, Identificación y Serotipificación de Enterobacterias del Género Salmonella en una Población de Crocodylus intermedius y testudinos Mantenidos en cautiverio en la Estación de Biología Tropical Roberto Franco de la Facultad de Ciencias – Universidad Nacional de Colombia en Villavicencio.** Pontifica Universidad Javeriana Facultad de Ciencias Básicas Agrícola y Veterinaria. Bogotá D.C. pag: 1 – 104.
32. Terragno R, Caffer M, Binsztein N, 2007. **Manual de Procedimientos Diagnóstico y caracterización de Shigella spp.** Departamento Bacteriología Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas A.N.L.I.S. “Dr. Carlos G. Malbrán” Centro Regional de Referencia del WHO Global Salm Surv para América del Sur.
33. Van A., et al., 2005. **Distribution of “classic” virulence factors among Salmonella spp.** FEMS Immunol. med. Microbiol, 44 (3):251-259
34. Schauer C, 2007. **Manual de Laboratorio de Microbiología de la Ciencias de la Salud,** Kalamazoo Valley Community College.
35. Pérez J, 2006. **Manual de Patología General.** 6ta. Edición. Editorial MASSON, España.
36. Organización Mundial de la Salud (OMS), 2005. **Agentes Etiológicos de Enfermedades Entéricas de Interés para la Salud Pública Salmonella serotipo Typhi, Shigella, Vibrio cholerae.**

37. Koneman E, Allen S, 2008. **Diagnóstico Microbiológico**. 6ta. Edición. Editorial Médica Panamericana.
38. Kroser J, 2008. **Shigelosis**. Clinical Associate Professor of Medicine, Gastroenterology, and Hepatology, Drexel University College of Medicine.
39. Lozano J, Carrasco J, 2008. **Panorama epidemiológico de la mortalidad de las neumonías en niños menores de cinco años en México en el período 2000-2007**. Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría.
40. Alvarado L., Guzman Y., Guzman M., Betancourt J., 2005 .**Salmonella spp. y Shigella spp. asociados con síndrome diarreico agudo en niños menores de seis años de edad**,http://findarticles.com/p/articles/mi_7432/is_2_33/ai_n32039742/pg_2/?tag=man_t_eskin;content. Revisado: 28 de Junio 2011
41. Toledo S., Avila L., et al., 2007. **Salmonella y Shigella a partir de muestras fecales en la población Santa Rosa, Maracaibo-Venezuela**. Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina, Universidad del Zulia.
42. Pérez E, López C., 2006. **Las Estaciones del año**. Sociedad Astronómica del Planetario Alfa, Monterrey N.L. México

Anexo 1

La siembra

La técnica para el aislamiento comienza preparando un inóculo de siembra, que es la colocación de una pequeña porción de la muestra en el medio o en los medios de cultivo adecuados, en función de las especies microbianas que se espera encontrar. Revisar esto porque normalmente se hace una suspensión con la muestra y de ahí se parte para la siembra de los medios de cultivo. En el caso de siembra de *Salmonella* y *Shigella* se debe realizar primero el enriquecimiento en el medio adecuado y luego se procederá a la siembra debida.

Técnica de estrías múltiples: Con un asa de siembra, previamente esterilizada, se toma una muestra del cultivo de microorganismos y se extiende sobre un área pequeña de la superficie de la placa con agar, en forma de estrías muy juntas, pero sin hacer presión para no dañar el agar. Se flamea el asa, se enfría y después de rozar la siembra realizada previamente, se extiende de nuevo por otra zona de la placa haciendo nuevas estrías. Este proceso se repite sucesivamente, flameando y enfriando el asa al comienzo de las sucesivas siembras en estría. Se lleva la placa a incubar, a la temperatura adecuada, siempre en posición invertida (Lozano *et al.*, 2008) (Figura 4).

Mediante esta técnica se obtienen colonias aisladas a partir de una muestra que contenga un elevado número de gérmenes.

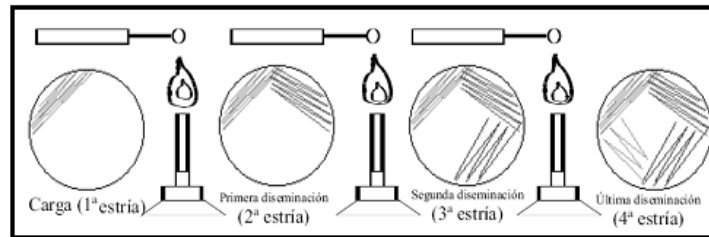


Figura 4. Técnica de estrías múltiples

Fuente: Lozano *et al.*, 2008

Anexo 2

Pruebas bioquímicas

AGAR TSI: siembre el agar TSI haciendo una punción central hasta el fondo del tubo y estría en superficie.

Fundamento: en este medio se leen las siguientes reacciones bioquímicas:

- Fermentación de la glucosa (K/A).
- Fermentación de glucosa, lactosa y/o sacarosa (A/A).
- No fermentación de los carbohidratos (K/K), la bacteria no utiliza los hidratos de carbono, produciendo aminos que alcalinizan el fondo y la superficie del medio.
- Producción de gas: ruptura del medio.
- Producción de H₂S: ennegrecimiento del medio



Figura 7. Lecturas AGAR TSI
Fuente: Koneman *et al.*, 2008

AGAR CITRATO DE SIMMONS: sembrar con asa recta, solamente en superficie.

Fundamento: Las sales de amonio se desdoblán en amoníaco (NH₃) con la consiguiente alcalinidad del medio.

El indicador de pH es el AZUL DE BROMOTIMOL el cual en presencia de alcalinidad vira al color azul indicando que la prueba es POSITIVA. Cuando no hay cambio de color ni crecimiento se dice que la prueba es NEGATIVA.

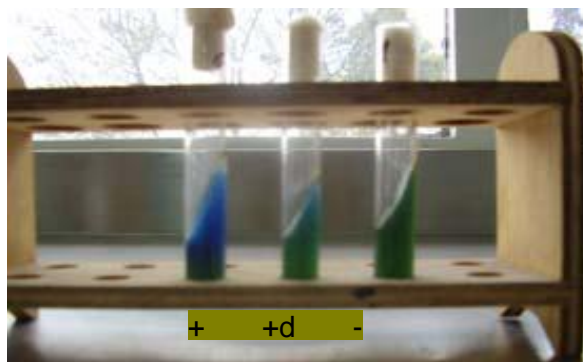


Figura 8. Lecturas AGAR CITRATO
Fuente: Koneman *et al.*, 2008

AGAR UREA: Sembrar con asa recta, solamente en superficie.

Fundamento: El indicador de pH es rojo de fenol, el cual en alcalinidad vira a un color violeta indicando una prueba POSITIVA. Si el color es amarillo indica una prueba NEGATIVA.

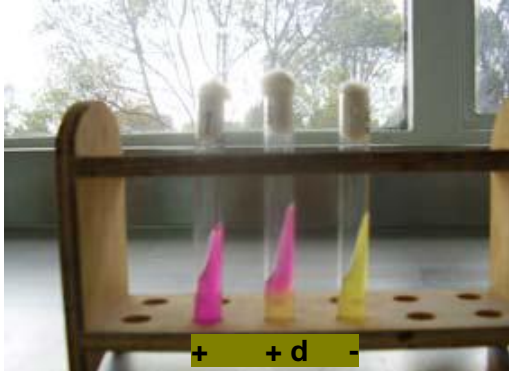


Figura 9. Lecturas AGAR ÚREA
Fuente: Koneman *et al.*, 2008

AGAR SIM: sembrar con asa recta, por picadura central hasta la mitad del tubo.

Fundamento: El indol se puede detectar en un medio adecuado observando el desarrollo de un color rojo después de agregar el reactivo de Erlich o de Kovacs indicando una prueba POSITIVA. Si el color es amarillo indica una prueba NEGATIVA. EL SIM es un medio semisólido sin hidratos de carbono que inhiban la producción de H₂S y tiene tiosulfato de sodio fuente de azufre y hierro peptonado como indicador de H₂S, lo que lo hace más sensible en la detección de H₂S por producción de un precipitado negro de sulfuro ferroso.

La movilidad bacteriana se interpreta realizando un cuidadoso examen macroscópico del medio para observar una zona de desarrollo difuso que parte de la línea de inoculación.

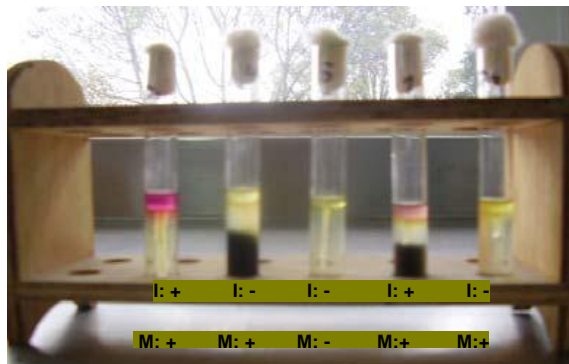


Figura 10. Lecturas AGAR SIM

Fuente: Koneman *et al.*, 2008

