

# CONSERVACION DE LA MUESTRA DE MATERIA FECAL EN PAPEL SECANTE

ESTUDIO COMPARATIVO CON LA SIEMBRA  
DE HECES DIARREICAS FRESCAS \*

Por

*Hernando Rocha Posada \*\**

y

*Yolanda Villani \*\*\**

## INTRODUCCION

Las enfermedades diarreicas han constituido y constituyen en la actualidad una de las principales causas de mortalidad en el mundo, y especialmente en los países latinoamericanos. En México, Guatemala, Colombia, Venezuela, Brasil, Uruguay y Nicaragua, representan la causa principal de defunción en la primera infancia. Aun en países como la Argentina, en donde la tasa es relativamente baja, la mortalidad es de 7 a 10 veces superior a la de los países como los Estados Unidos y Canadá. Por ello está plenamente justificada la prioridad para su estudio y tratamiento dentro de los programas de salud pública de una nación.

En los últimos años, con el extraordinario avance de las técnicas bacteriológicas, mucho se ha progresado en el conocimiento de los gérmenes enteropatógenos, y nadie discute el papel que ellos desempeñan, no sólo en las infecciones enterales propiamente dichas, sino en las infecciones del tracto urinario, septicemias, séptico-piohemias, etc. Paralelamente se han introducido métodos que simplifican y facilitan el transporte de las muestras de un lugar a otro, se han mejorado los procedimientos para su recolección, ideado medios de enriquecimiento, de conservación, etc.

El presente trabajo tiene por principal objeto poner en conocimiento, en nuestro medio, el método de conservación de la muestra de heces fecales en papel secante, con el cual el médico y muchos pacientes, residentes en zonas apartadas de los centros de investigación, tendrán la posibilidad de bene-

---

\* Trabajo llevado a cabo en la Unidad de Biopatología del Departamento de Medicina Interna. Universidad Nacional. Hospital San Juan de Dios. Bogotá.

\*\* Instructor de Medicina. Director de la Unidad de Biopatología.

\*\*\* Licenciada en Bacteriología.

ficiarse con un estudio bacteriológico, del cual, en la mayoría de los casos, depende el tratamiento de las enfermedades diarreicas, de tan elevada mortalidad entre nuestra población infantil.

#### CLASIFICACION DE LAS ENTEROBACTERIACEAS

La familia Enterobacteriácea ha sido definida por Breed Murray y Hit-chens (cit. 3) de la siguiente manera: "Son bastonetes gram negativos, móviles o no, con flagelos peritricos, que crecen bien en los medios artificiales. Todas las especies fermentan la glucosa formando ácido, o ácido y gas visible. Característicamente los nitratos son transformados en nitritos (con la excepción de *Erwinia*), y su composición es un mosaico, el cual resulta de la interrelación de muchos géneros, aun extendiéndose a otras familias. Frecuentemente actúan como saprófitos, causando la descomposición de las plantas y de materiales que contienen carbohidratos".

Edwards y Ewing (3) agregan a la anterior definición: los micro-organismos pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae no producen citocromooxidasa, lo cual elimina del grupo a un buen número de bacterias con flagelos polares, incluyendo *Aeromonas*, cultivos los cuales a menudo se confunden con entero-bacterias, particularmente del tipo *Aerobacter*. También quedan eliminados algunos grupos como *Pseudomonas*, *Alcaligenes* y *Vibrio*. Tampoco las enterobacterias licúan el medio de Pectinato de sodio, y con ello se elimina el grupo *Pectobacterium*, clasificado dentro del grupo *Erwinia*, el cual al menos incluye dos tipos de organismos: a) Bacterias patógenas para las plantas llamadas "verdaderos *Erwinia*", que no reducen los nitratos a nitritos y disminuyen por lo tanto un poco la semejanza con las

enterobacterias en sus caracteres culturales y en sus propiedades bioquímicas. b) Bacterias igualmente patógenas para las plantas que generalmente reducen los nitratos a nitritos y se parecen al género *Aerobacter*, pero que tienen la propiedad de licuar el Pectinato de sodio, y se ha dicho que no es propio de las enterobacterias. Por tal razón es aconsejable su exclusión hasta que el grupo *Erwinia* no sea satisfactoria y completamente estudiado.

Durante muchos años, variados tests bioquímicos se han utilizado para lograr una clasificación taxonómica. En la actualidad, de su simplificación han resultado métodos para la determinación de las propiedades fisiológicas de las bacterias. De particular interés han sido los métodos para la determinación de la decarboxilación y desaminación de ciertos aminoácidos, ayudando así a la distinción de grupos y sub-grupos de enterobacterias, clarificando con ello conceptos de taxonomía.

Numerosas clasificaciones de enterobacterias han aparecido, pero las más atractivas y que por lo tanto merecen atención son las de Breed, Murray y Smith (4) y la de Kauffmann (cit. 3). Breed y col. las clasifican con base a la fermentación de la lactosa; pero han colocado juntos a grupos que tienen distintas características y separado a grupos con interrelaciones bioquímicas y serológicas. El establecimiento de un género simple como el *Paracolobactum*, en base a la tardía fermentación de la lactosa, no se justifica, ya que un *Paracolobactum* puede cambiar a una típica *Escherichia coli*, simplemente por selección de componentes que la fermentan rápidamente.

La clasificación de Kauffmann, aunque difiere en nomenclatura, es taxonómicamente muy cercana a la propuesta por Edwing y Edwards en 1960. El investigador mencionado usa como test primario para su división el de la Decarboxilasa del ácido glutámico, por

cierto de aplicación difícil en el laboratorio. Establece 14 grupos (19): *Salmonella*, *Shigella*, *Arizona*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Hafnia*, *Erwinia*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella*, *Rettgerella* y *Providencia*.

Sin embargo, no hay acuerdo en cuanto a la conveniencia de mantener los grupos *Proteus*, *Morganella*, *Rettgerella* y *Providencia* tal como lo propuso Kauffmann. Muchos investigadores, siguiendo la clasificación propuesta por Rustigian y Stuart (20), incluyen como tipos de los del grupo *Proteus*, a *Morganella* y *Rettgerella*, con igual jerarquía que *Proteus mirabilis* y *vulgaris*, reconociendo por lo tanto dos grupos: *Proteus*, que incluye *Proteus vulgaris* y *Proteus mirabilis*, y *Morganella*, que incluye a *M. Morgagni*, *M. Rettgeri* y *M. Inconstans* (*Providencia*).

El grupo *Citrobacter*, más ligado bioquímicamente al complejo *Salmonella arizona*, comprende los gérmenes designados previamente como *Escherichia freundii* y *Bethesda*; esta unión es justificada, ya que desde el punto de vista serológico como bioquímico están estrechamente vinculados y sólo la fermentación de la lactosa positiva en los primeros y negativa o tardía en los segundos los distingue. En cuanto a los grupos *Klebsiella* y *Cloacae*, que han sido redefinidos en el último informe del Subcomité de las Enterobacteriaceae (22), Hormaeche y Munilla (23) han establecido claramente su diferenciación bioquímica.

El *Aerobacter aerogenes* ha desaparecido como especie, ya que las cepas inmóviles han pasado al grupo *Klebsiella* y las móviles al *Cloacae*, género introducido por Castellani y Chalmers (24). Edwards y Ewing (25), refiriéndose al grupo *Klebsiella-Aerobacter*, han encontrado que muchas cepas inmóviles, aisladas de heces y de la orina, no pueden diferenciarse por las distintas pruebas de que se dispone en

la actualidad, de las aisladas del tracto respiratorio, y que han sido clasificadas como *Klebsiella*. Ante tal hecho, proponen que mientras no se puedan demostrar como diferentes las cepas aisladas de las heces y orina, de las de origen respiratorio, sean agrupados conjuntamente. Por lo tanto, la *Klebsiella pneumoniae* y el *Aerobacter aerogenes* deben ser considerados como miembros de un solo grupo y designados como *Klebsiella-Aerobacter* (25-26).

Los grupos *Serratia* y *Hafnia* tienen poco significado médico, ya que son bacterias componentes de la flora normal del suelo y del agua y se consideran no patógenas para el hombre. Sin embargo, las primeras se aíslan con frecuencia de procesos patológicos y a veces como único germen presente, lo que induce a pensar que su virulencia para el hombre es mayor de la que se le asigna. De todos modos, el aislamiento de cualesquiera de los gérmenes mencionados crea problemas de diagnóstico.

El grupo *Erwinia* está constituido por bacterias patógenas para los vegetales y excepcionalmente se le halla en el hombre. El *Alkalecens-dispar* se ha eliminado como grupo independiente y unido a *Escherichia* por sus vinculaciones bioquímicas y serológicas.

La clasificación propuesta por Edwards y Ewing en 1961 es la que nos ha parecido más didáctica y más acorde con el estado actual de los conocimientos sobre enterobacterias. Nosotros la hemos seguido en nuestro estudio para la clasificación final de las cepas aisladas.

#### EL COPROCULTIVO

Aunque aparentemente parece no ser dificultosa su ejecución, un buen estudio requiere personal adiestrado y material especializado. La técnica a seguir desde la recolección de la muestra

hasta la identificación final de las bacterias entéricas, varía de acuerdo con los diferentes autores y escuelas. Sin embargo, existe un delineamiento para su correcto estudio que comprende las técnicas para la recolección de las muestras, la utilización de medios diferenciales e inhibidores y de medios selectivos, etc. Cada uno de estos procedimientos varía de acuerdo con tipo de bacterias a investigar y de las posibilidades técnicas y materiales de que se disponga en el laboratorio.

a) *Recolección de la muestra.*—Varias técnicas se han empleado para la recolección de los especímenes fecales, todas tendientes a lograr un mayor porcentaje de casos positivos. El cultivo puede hacerse a partir de la materia fecal recientemente emitida, por impregnación de un escobillón introducido directamente en el recto (3), o en el momento de la rectosigmoidoscopia (15). Debido al hecho de que ciertas enterobacterias, especialmente la *Shigella*, pueden decrecer en número rápidamente luego de que las heces fecales son evacuadas, se hace necesario colocar los especímenes en medios especiales tan pronto como son obtenidos. En la disentería crónica la impregnación de un escobillón, directamente de las lesiones intestinales, durante el acto de la proctoscopia, ha resultado ser uno de los mejores métodos para el aislamiento de la *Shigella*. Hardy, Mackel, Frazier y Hamerick (cit. 3) han hallado, en un mismo grupo de individuos, que el escobilleo rectal sembrado inmediatamente aumenta el número de aislamientos de patógenos, en comparación con la siembra de heces evacuadas recientemente. Aún mejor resultó la práctica del escobilleo directamente de las lesiones intestinales durante el acto de la proctoscopia. Stuart (10) ha demostrado experimentalmente que el escobilleo rectal no es inferior a la siembra de las mismas heces en el aislamiento de patógenos.

Sin embargo, Shaughessy, Friewer y Snyder (5) consideran su práctica poco adecuada, aunque de utilidad, especialmente cuando se hacen encuestas en grandes masas de población y prefieren la siembra de especímenes frescos cuando se trata de convalecientes y de portadores que eliminan escasa cantidad de bacterias. Thomas (6) es de la misma opinión, y sólo emplea el escobilleo como un paso preliminar a un examen con heces frescas.

Cuando se dispone de especímenes recientemente emitidos, es conveniente seleccionar en ellos trozos de epitelio o bien zonas que contengan moco, pus y sangre, lugares estos en donde los enteropatógenos son muy abundantes (15). Esta práctica se reflejará en un aumento en los aislamientos, especialmente si se asocia a medios de enriquecimiento y a soluciones preservativas.

b) *Soluciones preservativas.*—Se emplean cuando las heces fecales deben ser transportadas o mantenidas por algún tiempo antes de ser sembradas. Sachs (cit. 3), en 1939 (7), usaron exitosamente la solución salina glicerinada, adicionada de solución Buffer y de rojo fenol, este último con el objeto de apreciar las modificaciones del pH, ya que la acidificación es perjudicial a los bacilos entéricos. Bangxan y Eliot (8), en 1940, aconsejan una solución preservativa con citrato de sodio al 1%, Desoxicolato de sodio al 5%, en solución salina Buffer, con un pH de 8.5, en la cual se preserva muy bien la vida bacteriana. Gaub (9) usó una solución similar y le asignó efecto preservativo, así como de enriquecimiento. Stuart (10) describió un medio semisólido de Tioglicolato para el transporte y preservación de especímenes obtenidos con escobillones tratados con carbón.

En general, puede decirse que muchas soluciones preservativas han sido usadas, y todas ellas con buenos resultados, en manos de sus descubridores;

sin embargo, la solución glicerinaada adicionada de Buffer sigue siendo la más conocida y usada, aunque no ha resultado tan efectiva como la siembra directa.

c) *Medios de enriquecimiento*.—Es recomendable su uso, particularmente en el estudio de portadores en quienes el número de organismos es reducido. Su principal ventaja es la de disminuir la flora normal, dejando libre la patógena. Es satisfactorio el medio de Selenita de Leifson (11), cuyo poder inhibitorio es variable sobre las diferentes bacterias. Para algunos investigadores supera este medio a los demás en el aislamiento de los patógenos, especialmente los tíficos y para-tíficos, además de ser de composición simple y económico.

Otro medio de enriquecimiento muy usado es el caldo de tetratationate, de Muller (5) modificado por Kauffmann (tetratationate, verde brillante y bilis); su eficacia aumenta cuando se usa conjuntamente con el agar verde brillante. Con este medio, Kauffmann aumentó en un 100% el aislamiento del Paratífico B y en un 500% el de otras *Salmonellas*, en comparación con otros métodos en los cuales el medio de enriquecimiento no fue usado. Galton y Quan (1) confirmaron estos resultados. Por el contrario, Dixon (13) y Smith opinan que el medio de Selenita es superior al tetratationate.

Rappaport y col., y Collard y Unwin (cit. 3), comparando el uso de los medios de Selenita y de Tetratationate con un caldo de verde de malaquita y cloruro de magnesio, hallaron a este último superior a los dos primeros en el aislamiento de *Salmonellas*, diferentes de *S. typhi*. Hajna, en 1955, usó con éxito un caldo preservativo y de enriquecimiento que contiene Manitol, Glucosa, Desoxicolato de sodio, Citrato de sodio y fosfatos. Su uso aumentó el número de aislamientos de *Salmonellas* y *Shigellas*.

Otros medios de enriquecimiento se han usado (31) y algunos modificados por el agregado de antibióticos y quimioterápicos para evitar el crecimiento de ciertas bacterias, especialmente el *Proteus*.

d) *Medios diferenciales*.—(Inhibidores y selectivos). Estos medios, por lo general, inhiben el crecimiento de las bacterias Gram positivas y contienen indicadores que distinguen los gérmenes que fermentan la lactosa de los que no lo hacen. Existen medios diferenciales altamente selectivos, en los cuales la mayoría de los coliformes y algunas cepas de *Proteus* son inhibidos, lo cual es útil para el aislamiento de los patógenos.

Siempre es recomendable usar conjuntamente un medio altamente selectivo con un foco seleccionado, el cual permitirá estimar la totalidad de la flora entérica, hecho éste de particular interés cuando se estudian diarreas infantiles, en las cuales en muchas oportunidades el Coli patógeno es el germen causal. El uso del medio selectivo cubrirá las necesidades para el aislamiento de posibles *Salmonellas* o *Shigellas*. Los medios de Agar-MacConkey, Endo-Agar y Agar-eosina-azul de metileno llenan a satisfacción la primera necesidad y los medios de Agar S. S., Agar bi-sulfito-bismuto (medio de Wilson Blair), el Agar verde brillante-rojo-fenol de Kristensen y el Agar-citrato-desoxicolato, la segunda.

En general, cuando se trata de investigar *Salmonella*, y en particular *typhi*, es recomendable el uso de Agar-bisulfito de bismuto de Wilson Blair, en el cual la *Shigella* habitualmente no crece, y Agar desoxicolato o Agar-verde brillante, cuando se trate de las demás *Salmonellas*. El Agar-eosina-azul de metileno es satisfactorio para el aislamiento de las *Shigellas*, y el Agar S. S. lo es tanto para *Salmonellas* como para *Shigellas*.

Edwards y Ewing (3) recomiendan especialmente el Agar verde-brillante, asociado al medio de enriquecimiento de Kauffmann, cuando se desea aislar *Salmonellas* diferentes de la *typhi*. Si se busca *Salmonella typhi*, electivamente debe usarse el medio de Wilson-Blair y caldo de Selenita como medio de enriquecimiento, el cual también es de valor en la investigación de *Shigellas*. Vemos así que los medios utilizados varían en cada caso en particular y de las circunstancias del medio en que se trabaje, admitiendo que un solo medio no es aceptable para todos los propósitos.

e) *Aislamiento e identificación*.—Se inicia con la selección de las colonias, las cuales se pasan al medio de Kligler (lactosa y glucosa), o mejor el medio de triple azúcar adicionado de hierro (lactosa, glucosa y sacarosa) (18-34).

Recientemente, Taylor (32) ha descrito un nuevo medio sólido (D. L. F. M.) para el aislamiento primario de *Shigellas*, *Salmonellas* y *Arizona*, el cual permite estimar al mismo tiempo la fermentación del Dulcitol (D) y de la Lactosa (L), la producción de H<sub>2</sub>S en presencia de una solución de Hierro (F) y la movilidad (M). Con este nuevo medio se reducen notoriamente los aislamientos e identificaciones necesarias comúnmente.

#### MATERIALES Y METODOS

Fue estudiado un total de 116 niños en el Hospital de la Misericordia, de los cuales 104 estaban hospitalizados en la Sala de Contagiosos con sarampión y el resto fue de asistentes de la Consulta Externa. En todos los casos se procedió al coprocultivo por trastornos diarréicos. Conjuntamente se emplearon experimentalmente, y como control, cepas de *Salmonella*, *Shigella* y *Coli* patógenos, procedentes del Centro de Enterobacterias del Institu-

to Adolfo Lutz, de Sao Paulo, Brasil, y del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales de México. El total de muestras procesadas en el laboratorio ascendió a 942, y el número de cepas cultivadas a 39. Cada una de estas últimas se sembró en ocho oportunidades, totalizando 312 cultivos de control.

Se emplearon sobres de carta desprovistos de pegante en la tapa, dentro de los cuales se colocó un trozo de papel de filtro debidamente doblado. Luego se esterilizaron en el autoclave a 15 libras de presión durante 15 minutos. El medio de enriquecimiento utilizado en la siembra de las heces diarréicas fue el caldo de tetrationate de Leifson, modificado por Kauffmann, envasado en tubos estériles, el cual, antes de ser usado, se calentó levemente a la llama y se le adicionaron 2 o 3 gotas de solución de yodo.

El procedimiento para cada caso en estudio fue el siguiente: un aplicador o escobillón estéril fue introducido cuidadosamente en el recto e impregnado debidamente, mediante suaves movimientos de rotación; luego se procedió a impregnar el trozo de papel de filtro contenido en sobres, a sellarlos y a rotular su fecha de siembra. El mismo escobillón se colocó en el medio de enriquecimiento y sin incubar se procedió a su siembra en Agar-sangre, Agar-MacConkey y medio de Chapman (para aislamiento de *Estafilococo* patógeno). Al tubo que contenía el caldo de enriquecimiento y el escobillón se le agregó una cantidad igual de medio y se incubó por un período de 18-24 horas, al cabo de las cuales se sembró en Agar-sangre, Agar-MacConkey o Endo y Agar S. S., cultivos éstos que se incubaron a 37 grados por un período de tiempo semejante.

Los sobres fueron abiertos cuidadosamente cerca del mechero y los papeles impregnados extraídos con una pinza de disección flameada a la lla-

ma: con una tijera estéril se cortó la porción impregnada, la cual se introdujo en caldo nutritivo o en tetratiónate y se incubó por 18-24 horas, para luego pasarse a los medios sólidos antes mencionados. El número de sobres empleados varió, y así en 14 niños se impregnaron en cada uno 4 papeles que se sembraron a los 2-4-6-8 días; 23 tuvieron seis sobres para sembrarse a los 2-4-6-8-12-16 días; por último, a 79 niños se les impregnaron 9 papeles que se sembraron a los 2-4-6-8-12-16-24 y 30 días.

El aislamiento primario a partir de los medios sólidos se hizo en medio del Kligler, el cual se incubó por 18-24 horas a 37°C. Como nuestro interés principal fue conocer la sobrevivencia de las bacterias intestinales desecadas, no seguimos el esquema propuesto por Edwards y Ewing para el aislamiento de los enteropatógenos, sino que se procedió a practicar a todas las bacterias una prueba bioquímica en base a los medios de Sim, Urea, Citrato de Simons, Gelatina, Glucosa, Lactosa, Sacarosa y Manitol. Las cepas sospechosas de *Salmonella* o *Shigella* fueron sometidas a estudio serológico.

El medio de Chapman (28) lo utilizamos una vez tomada la muestra con el escobillón y luego de su incubación, con el objeto de buscar el Estafilococo, el cual vira el color del medio de cultivo del morado al amarillo cuando es patógeno (fermentación de la Manita). Las cepas de Estafilococos aisladas de las siembras de los sobres fueron igualmente sometidos a fermentación de la Manita por un período de 48 horas.

Las cepas de *Shigellas*, *Salmonellas* y *Coli* patógeno utilizadas como control se sembraron en caldo de tetratiónate y se incubaron a 37°C por 18-24 horas. Con escobillón se procedió a impregnar papeles de filtro contenidos en sobres estériles y a sembrarlos periódicamente en Tetratiónate, en for-

ma similar a como se procedió para las muestras de materia fecal. Luego de la incubación correspondiente se hizo la siembra en Agar S. S., y finalmente en medio de Kligler, para comprobar la pureza del cultivo.

#### RESULTADOS OBTENIDOS

Los resultados que a continuación se transcriben son el resumen del extenso material procesado; el estudio de cada caso en particular puede examinarse en los cuadros 1-2-3-4.

El cuadro número 1 comprende a 13 pacientes cuyas heces fueron conservadas hasta por un período de 8 días, al término de los cuales la mayoría de los gérmenes aislados en Agar-sangre, Agar-MacConkey o Agar S. S. (a partir de siembra directa), se recuperaron en uno o más de los medios mencionados luego de su desecación. Los gérmenes que mejor se conservaron fueron en orden decreciente: *Klebsiella aerobácter*, *Streptococcus fecalis*, *Proteus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

El cuadro N° 2 comprende el estudio de 23 casos en los cuales la muestra fue conservada desecada hasta 16 días. A este grupo se le adicionó el medio de Chapman, para buscar lo más rápidamente el Estafilococo patógeno, lo cual fue posible en 4 ocasiones. También se utilizó el medio de MacConkey, el cual es de utilidad semejante al medio de Endo, pero diferencia fácilmente las cepas de *Coli* y otros gérmenes fermentadores rápidos de la lactosa. Para este grupo valen las mismas consideraciones en cuanto a la supervivencia de *Escherichia coli*, *Klebsiella Aerobácter*, *S. fecalis*, *Proteus* y *Pseudomonas*. Las cepas de Estafilococo patógeno no fue posible recuperarlas en todos los casos por el excesivo crecimiento de las bacterias entéricas. En general, a los 16 días fue posible recuperar la mayoría de las bacterias ob-

tenidas por el método clásico de coprocultivo.

Por último, el cuadro número 3 totaliza 79 casos en los cuales las muestras fueron conservadas en su mayoría hasta los 30 días. En algunos casos las siembras se hicieron hasta pasados los 70 días. Los medios utilizados fueron los mismos, excepto en 25 casos, en los que se suprimieron los medios de Endo, Agar-sangre y Chapmann. Tal razón obedeció a que éstos fueron casos adicionales y los mencionados medios ya habían sido utilizados en una buena proporción de muestras como para ser conclusivos. En este grupo se aislaron 7 cepas de *Estafilococo* patógeno y la supervivencia de los gérmenes entéricos fue notoriamente satisfactoria a los 30 días de desecación.

Luego de este tiempo, el porcentaje de casos positivos decreció sin que se pueda anotar una relación entre el tiempo transcurrido y el número de casos negativos (cuadro número 4).

Los resultados obtenidos con las cepas procedentes de México y Brasil fueron satisfactorios. Se desecaron hasta por un período de 45 días, habiéndose recuperado al término de dicho tiempo la totalidad de las cepas ensayadas, lo cual es demostrativo de la resistencia a la desecación de los entero-patógenos, al menos cuando se encuentran completamente puros (cuadros números 5-6).

En general, se puede decir que el resultado del examen bacteriológico de las 115 muestras de materia fecal fresca fue sensiblemente igual al de las muestras desecadas.

Los resultados podemos calificarlos como satisfactorios si observamos el elevado porcentaje de muestras desecadas que permanecieron viables luego de los 30 días de su siembra. Aunque no aislamos ninguno de los llamados entero-patógenos, es posible que la diarrea en algunos de los casos fuese debida a cepas de *Coli* patógeno, *Proteus*,

*Estafilococo*, etc. Tanto los gérmenes Gram negativos como los Gram positivos sobrevivieron por largos períodos de tiempo soportando la desecación.

#### COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

Ha sido siempre de interés, en el diagnóstico de las enfermedades diarreicas, el buscar un cierto número de géneros probadamente patógenos de gran interés clínico y epidemiológico, pasando por alto a géneros como *Escherichia*. Sin embargo, en los últimos años ha crecido el número de afecciones, especialmente entre la población infantil (14 - 16 - 17 - 27 - 29 - 30 - 35 - 36 - 37 y 38), debido a ellos, razón por la cual su aislamiento y estudio serológico debe hacerse paralelamente al de los patógenos comprobados. Este grupo de los bacilos *Coli* sobrevive durante meses en el suelo y en el agua a temperatura ambiente y puede sobrevivir a procesos de pasteurización.

En el tubo intestinal se halla una enorme cantidad de micro-organismos, la mayoría de ellos residentes habituales saprofitos y un buen número de patógenos, además de los ingeridos con los alimentos que no han sido destruidos por los jugos digestivos y que se eliminan por la materia fecal. Estos micro-organismos poseen una cierta resistencia a los agentes físicos externos como frío, calor y desecación.

Según las observaciones Felsen (cit. 17), las *Shigellas* pueden permanecer con vida en agua corriente hasta seis meses, en agua de mar de 2 a 5 meses y en el hielo por 2 meses; por el contrario, mueren rápidamente a la temperatura de pasteurización y por la cloración. En las heces naturalmente infectadas, conservadas alcalinas viven y permanecen activas durante varios días. En la oscuridad y a la temperatura ambiente viven durante 10 a 12



días en la tierra, en la superficie de las frutas y verduras 2 a 7 días, en el pan 20 días y hasta 2 meses, y en la leche cruda de 6 a 12 días. También puede conservarse durante varios meses a bajas temperaturas, y en la ropa sucia de los enfermos por varios días.

Las *Salmonellas* tienen gran resistencia: en la manteca pueden vivir durante 80 a 108 días (cit. 17), conservándola a bajas temperaturas; en el sorbete de crema viven por más tiempo, y en las carnes, leches y sus derivados, en los huevos y ciertos vegetales pueden vivir hasta un mes. La *S. Pullorum* vive tres a cuatro semanas en cultivos aun por años, si ellos tienen cierta humedad. Se la ha hallado activa en las heces, luego de 1 a 2 meses, y en el hielo o nieve luego de 3 meses. Mueren por la exposición a 55°C durante una hora y a 60° durante 15 minutos.

Sin embargo, estos dos gérmenes son los más sensibles de todos los del grupo de enterobacterias, especialmente a la acidez, producto del metabolismo bacteriano (15).

En general, puede concluirse que todos estos gérmenes: *Salmonellas*, *Shigellas* y *Coli*, relacionados con los disturbios gastrointestinales, presentan una gran resistencia al medio ambiente, tanto en aguas cloacales como en agua corriente, así como en el suelo y en los alimentos.

A pesar de la resistencia referida para los enteropatógenos, la mayoría de los investigadores aconsejan y prefieren procesar la muestra inmediatamente a su recolección. De esta manera, afirman, el número de aislamientos de interés, especialmente en lo que se refiere a *Salmonellas* y *Shigellas*, aumenta considerablemente. Sin embargo, en el estudio de una diarrea, el proceso de la muestra no siempre puede hacerse inmediatamente, razón por la cual se recurre a los medios de preservación o a métodos que, preservando

la vida bacteriana, faciliten su envío a centros de investigación.

Este último aspecto del estudio de las enterobacterias fue lo que hizo idear el método del desecado de la muestra fecal en papel secante o de filtro.

Fueron precisamente Dold y Ketterer, en 1944, quienes demostraron que las heces fecales impregnadas en papel de filtro podían ser de utilidad, luego de su transporte de zonas remotas a centros de estudio, cuando el uso de las soluciones preservativas no era conveniente ni posible. En algunas circunstancias notaron que cuando los papeles eran guardados en la temperatura ambiente y en la oscuridad la supervivencia de los patógenos excedía a la de otros gérmenes existentes en la muestra.

En 1953, Kirsche y Prevot (2), del Instituto Pasteur de Ranoi, Indochina, usaron el método con buenos resultados, lo mismo que Lie-Kian Joe y col. (1) de la Universidad de Indonesia en Djarta (1954), quienes enviaron muestras de materia fecal por vía aérea a Holanda. Precisamente Lie-Kian Joe y col. han pensado que con la mencionada técnica puede lograrse cierto enriquecimiento de la muestra, ya que parece que la mortalidad de las bacterias no patógenas es mayor que la de las patógenas. Como se expuso, el principal obstáculo para la supervivencia de las bacterias es la acidificación del medio que las contiene (7) (15), aunque presumiblemente no es el único. Sin embargo, el mismo Lie-Kian Joe halló datos de interés que hacen pensar que la *Salmonella thyphosa* permanece viva por más tiempo en el papel que los no patógenos, lo mismo que su actividad diastásica se inhibe en el papel, permitiendo de esta manera la supervivencia de gérmenes más delicados como las *Shigellas* y *Salmonellas*.

Más recientemente Varela (1955), del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales de México (33), en un estudio comparativo entre la siembra de heces diarreicas frescas y la siembra de muestras impregnadas en papel, halló resultados significativamente iguales sobre 350 especímenes examinados. Los gérmenes aislados fueron: *Shigella dysenteriae*, *flexneri*, *boydii*, *Salmonella paratyphi* A, así como varias cepas de *Coli* patógeno (026-055-0111-0127), que totalizaron un número de 40 cepas cuando se hizo la siembra de heces frescas, y 38 luego de su impregnación en papel. Tales resultados confirman la utilidad del método en el envío de las muestras al laboratorio.

Nuestros resultados confirman lo hallado por otros investigadores, aun sin que hayamos aislado ningún enteropatógeno probado. Creemos de gran utilidad el método por su sencillez, bajo costo y comodidad para el transporte de la muestra, lo cual facilita

encuestas epidemiológicas sin necesidad de transporte de material delicado, medios de enriquecimiento, de conservación, etc. Además, se pueden remitir varias muestras y con ello mejorar la eficacia del examen.

Su aplicación, por lo tanto, es muy grande en el campo de la Salud Pública, en el diagnóstico, tratamiento y prevención correcta de las enfermedades diarreicas bacterianas en lugares distantes de los centros de investigación.

Por último, la perfecta conservación de los enteropatógenos usados experimentalmente demuestra el método como capaz de substituir eventualmente al medio de gelosa para la conservación de las bacterias de un cepario. Además, las cepas aisladas de un espécimen, y sobre las cuales existen dudas para su clasificación, pueden enviarse en esta forma a cualquier centro de estudio para una correcta identificación.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Lie-Kian, Soeprapiti K., Nani S. W.: "The drying method for sending typhoid and paratyphoid stool specimens to laboratory compared with fresh stool examination". Documenta de Medicina Geographica et Tropica, 6:331, 1954.
2. Kirsche Pierre y Prevot M.: "La méthode de Lie-Kian-Joe. Son intérêt". Bull. Soc. Path. Exot. 46 (4):491, 1953.
3. Edwards P. R., Ewing W. H.: "Identification of Enterobacteriaceae". Communicable Disease Center. U. S. Public Health Service. Atlanta, Georgia. 2nd., 1962.
4. Breed R. S., Murray E. G. D. and Smith N. F.: "Bergey's Manual of determinative Bacteriology". 7th. Ed. 1957.
5. Shaughnessy H. J., Friewer F. and Snider A.: "Comparative efficiency of rectal swabs and fecal specimens in detecting typhoid and salmonella cases and carriers". Am. J. Pub. Health 38:670, 1948.
6. Thomas M. E. M.: "Disadvantages of the rectal swab in diagnosis of diarrhoea". Brit. Med. J. 394, Aug. 14. Saturday, 1954.
7. Coleman M. B.: "Diagnostic Procedures and Reagents". Am. Pub. Health Assoc. 247, 1945.
8. Bangsan E. N., Eliot C. P.: "An investigation of preserving solutions for the recovery of dysentery bacilli from fecal specimens". Am. J. Hyg. 31, secc. B.: 16, 1940.
9. Gaub W. H.: "An epidemic of typhoid fever at Spenard, Alaska". J. Lab. and Clin. Med. 37:931, 1951.
10. Stuart R. D.: "Transport Medium for specimens in Public Health Bacteriology". Pub. Health Rep. 74:431, 1959.

11. Leifson E.: "New selenite enrichment media for the isolation of typhoid and paratyphoid (*Salmonella*) bacilli". The Am. J. of Hyg. 24 (2):423, Sep.
12. Galton M. M., Quan M. S.: "Salmonella isolated in Florida during 1943 with the combined enrichment method of Kauffmann". Am. J. Publ. Health 34:1071, oct. 1944.
13. Dixon M.: "Rapid isolation of *Salmonella* from faeces". J. of Clin. Path. 14 (4) 397, july, 1961.
14. Goodwing M. H., Mackel D. C., Ganelin R. E. and Payne F. J.: "Observation on etiology of diarrheal diseases in Arizona". The Am. J. of Trop. Med. and Hyg. 9 (3): 336, May, 1960.
15. Baquerizo A. L., Baquerizo R. O.: "Procedimiento para el diagnóstico de las enterobacteriáceas". Rev. Ecuat. Hig. Med. Trop. 16 (1): 25, 1959.
16. Baquerizo A. L.: "*Escherichia coli* (bacilo coli) como agente patógeno en gastroenteritis infantiles". Rev. Ecuat. Hig. Med. Trop. 12 (1): 32, 1955.
17. Páiz A. A., Paredes J., Martínez A. M.: "Diarreas infecciosas". Nicaragua Med. 16: 64, marzo-abril, 1960.
18. Hayna A. A.: "Triple sugar-iron-agar medium for the identification of the intestinal group of bacteria". J. Bact. 49: 516, 1945.
19. Kauffmann F.: "Zur biochemischen und serologischen Gruppen-und Typen Einteilung der Enterobacteriaceae". Zbl. Bakt. labt. Orig., 165: 344, 1956.
20. Rustigian R. y Stuart A.: "Taxonomy relationships in the genus *Proteus*". Soc. Exptl. Biol. Med., 53: 241, 1943.
21. Ewing W.: "The nomenclature and taxonomy of the *Proteus* and *Providencia*". Int. Bull. Bact. Nomen. and Taxon. 8: 17, 1958.
22. Enterobacteriaceae Sub-Committee. Report. Int. Bull. Bact. Nomen. and Taxon. 4: 75, 1954.
23. Hormaeche E. y Munilla M.: "Biochemical test for the differentiation of *Klebsiella* and *Cloaca*". Int. Bull. Bact. Nomenclature and Taxon. 7: 1, 1957.
24. Castellani A. et Chalmers: "Sur la classification de certains groupes de bacilles aérobios de l'intestin humain". Ann. Inst. Past. 34: 600, 1920.
25. Edwards P. R. and Ewing W. H.: "The taxonomy of enterobacteriaceae. Biology of pyelonephritis". Henry Ford Hosp. Inter. Symp. 373, 1959.
26. Thaler M.: "*Klebsiella Aerobacter pneumoniae* in infants. A review of the literature and report of a case". Pediatrics 30: 206, 1962.
27. Courteau A. L., Boulez N., Chassagnol Set, Botta J. M.: "Contrôle bacteriologique d'une épidémie de gastro-enteritis à *E. coli* spécifiques, dans une collectivité de nourrissons et d'enfants". Supplément au 4: 67, avril, 1961.
28. Trujillo C. R.: "Comportamiento del estafilococo en el medio de Chapman, por inoculación en el conejo y prueba de coagulasa". Tesis de grado. Fac. de Bact. Pon. Univ. Jav. Bogotá, 1957.
29. Joe L. K., Sabah K., Yauw G. S. and Makaliwy C.: "Diarrheae among infants and children in Djarta, Indonesia, with special reference to pathogenic *Escherichia coli*". Am. J. Trop. Med., Nov., 1962.
30. Olarte J., Ramos-Alvarez M., y Galindo: "Aislamiento de *Shigella*, *Salmonella* y *Colis* patógenos de los hisopos rectales de 802 casos esporádicos de diarrea". Bol. Med. Hosp. Infan. México. 14: 257, 1957.
31. Solari A. A., Actis-Dato A., Herrero M. M., Cremaschi M. S. D., de Reid M. I., Salgado L. P. and Princeira M. T.: "Use of a selective enrichment medium for the isolation of *Pseudomona Aeruginosa* from feces". J. Bact. 84 (1): 190, july, 1962.
32. Taylor W. I.: "Nouveau milieu pour l'identification rapide des *Salmonellas* et *Shigellas*". Ann. Inst. Past. 103: 112, july, 1962.
33. Varela G.: "Comparación de los resultados bacteriológicos obtenidos sembrando heces diarréicas frescas y heces diarréicas secadas en papel filtro". Rev. Inst. Sal. y Enf. Trop. México XV (4): 225, dic. 1955.
34. Varela G., Olarte Y.: "Métodos para aislamiento y clasificación de *Salmonella* y *Shigella* en materias fecales". Med. Rev. México, 31, 612: 2-4, 1950.
35. Smith Y.: "The association of serological types of *Bacterium coli* with infantile diarrhea". J. Path. and Bact.: 66: 503, 1953.

36. Neter E., Webb C. R., Shumway C. N. and Murdock M. R.: "Study on etiology, epidemiology and antibiotic therapy of infantile diarrhea with particular reference to certain serotypes of *Escherichia Coli*". U. S. Naval Med. Bull. 41, 1940-1951.
37. Feig M.: "Diarrhea, Dysentery, Food poisoning and gastroenteritis". Ann. J. Pub. Health 40: 1372. Nov. 1950.
38. Meyer K. F.: "Food poisoning". The New Eng. J. of Medicine, 249 (19): 765 *ibid.* 804-843. 1953.

CUADRO N° 1

## CONSERVACION DE LA MUESTRA DESECADA DURANTE 8 DIAS

Casos	Siembra de heces fecales frescas y enriquecidas en caldo de tetratio- nate.	2 días	4 días	6 días	8 días
0	E-Ec	E-Ec-Pa	E-Ec	E-Ec-Pa-Af	E-Ec-Ka
1	E-Ec-Ka-Pr-Pm- Cl	E-Ec-Pa-Ka	E-Ec-Ka-Pa	E-Ec-Ka	Ec
2	Ec-Ka	Ec-Ka-Pmo	Ec-Ka-EF	E-Ka-Pa-EF	Ec-Ka-Ei
3	Ec-Ka-Ef-Pa-Pmo	Ka-Af-Pr-Pmo	Ka-Ef-Pr-Af	Pa-EF	Ec-Ka-Pa-EF
4	Ka-Pm-Mt	Ka-Pr-Mt-Pmo	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka-Cl
5	E-Ka	Sobre perdido	E-Ef	E-Ef	E-Ef
6	Ec-Ka-Ef-Mo	Ec-Ef	Ef-Cl	Ef	Ef
7	E-Ec-Ka	Ec-Ka-Ef	E-Ec-Ef	E-Ec	E-Ec-Ka
8	Ec	Ec-EF	EF	EF	EF
9	E-Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Pa-Ef-Ei	E-Ec-Ka	Ec-Ka	E-Ka
10	E-Ec-Ka-Ef-Pa	E-Ec-Ef	E-Ec-Ka-Ef-Ac	Ef	Ef
11	E-Ec-Ka-EF-Pa	E-Ec-Pa-Ac	E-Ec-Pa-Ac	E-Ec-Ka-Pa	E-Ec-Ka
12	Ec-Ka-Pm-Pa	Ec-Ka-Pm	Ka	Ka	Ka
13	Ec-Pm-Pa	Ec-Pm-Pa	Ec-Pm-Pa	Ec	Ec-Ka-Pa

E: *Estafilococo*Ec: *Escherichia coli*Ei: *Escherichia intermedium*EF: *Escherichia freundi*Pr: *Proteus rettgeri*Pm: *Proteus mirabilis*Pmo: *Proteus morgagni*Pa: *Pseudomonas aeruginosa*Af: *Alcaligenes fecalis*Ka: *Klebsiella aerobacter*Cl: *Clostridium aerobio*Ef: *Streptococcus fecalis*Mt: *Micrococcus tetragena*Mo: *Monilias*

**CONSERVACION DE LA MUESTRA DESECADA DURANTE 16 DIAS**

Siembra de heces fecales frescas y enriquecidas en caldo de tetra- tone.		2 días	4 días	6 días	8 días	12 días	16 días
14	Ka-Pa	Ka-Pmo	Ka-Pmo	E-Ec-Ka-Pa	E-Ec-Ei	E-Ec-Ei	E-Ec-Ei
15	Ec-Pm	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
16	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
17	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
18	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
19	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
20	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
21	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
22	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
23	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
24	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
25	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
26	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
27	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
28	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
29	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
30	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
31	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
32	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
33	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
34	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
35	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka
36	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka	E-Ec-Ka

## CONSERVACION DE LA MUESTRA DESECADA DURANTE 30 DIAS

Siembra de heces fecales frescas y enriquecidas en caldo de tetra- tonate.		2 días	4 días	6 días	8 días	12 días	16 días	24 días	30 días
Casos									
37	Ec-Ef	Ef-Ec	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Pv-Ec-Ef	Pv-Ec-Ef	Pv-Ec-Ef	Ef-Pv-Ec
38	Ec	Ec-Ka-Pv	Ec	Ec-Ka	Ec-Ka	Pv-Ec-Ef	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka
39	E-Ec-Ka-Pv	Ka	Pv-Ka-Ec	Ec-Ka	Ec-Ka-Pv	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka
40	E-E-Ka	E-Ec	Ec-Ka	Ei-Ec-Ka	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	E
41	E-Ec-Ef	Ec-Ka	Ec-Ka-Ec	Ec-Ka	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E
42	Ec	Ka-Ef-E	Ec-Ac	Ec-Ac-E-Pa	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ef-E-Pa	Ec-Ef-E-Pa	Ka-Ef
43	Ec-Ka-Pv	Ec-Ka	Ef-Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef-E	Ec-Ka-Ef-E	Ec-Ka-Ef-E	Ec-Ka
44	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei-Pa	Ec-Ka-Ei-Pa	Ec-Ka-Ei-Pa	Ec-Ka
45	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei-Pa	Ec-Ka-Ei-Pa	Ec-Ka-Ei-Pa	Ec-Ka-Ei
46	Ka-Pv-Pa-E	Ka-Pv	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei
47	Ec	Ec-Ka	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei
48	Ec-Ka-Pv-Ei	Ka-Pv-Ec-Pm	Ec-Ka-Pm	Ec-Ka-Pm	Ec-Ka-Pm	Ec-Ka-Pm	Ec-Ka-Pm	Ec-Ka-Pm	Ec-Ka-Pm
49	Ec-Ka-Pv-Ei	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef
50	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef
51	Ec-Ka-Pv-S	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Ei
52	Ec-Ka-Ef-Ci	Ec-Ka	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef
53	Ec-Ka-Ef	Ec-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef
54	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef
55	Ec-Ka-Ef-S	Ec-Ka	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef
56	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef
57	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef
58	Ec-Ka-E	Ec-Ec	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E
59	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E
60	Ec-Ef	Ec-Ef	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E
61	Ec-E	Ec-Ei	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E
62	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef
63	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef
64	Ec-Ka	Ec-Ei	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E
65	Ec-Pm	Ec-Ka-Pv	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E
66	Ec-Ef-Pm	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E
67	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E
68	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E

(Continúa)

## CONSERVACION DE LA MUESTRA DESECADA DURANTE 30 DIAS

(Continuación)

Casos	Siembra de heces fecales frescas y enriquecidas en caldo de tetra- tionate.											
	2 dias	4 dias	6 dias	8 dias	12 dias	16 dias	24 dias	30 dias				
69	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	E	Ec-Ka				
70	Ec-Ei-Ef	Ec	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Ef	Ec	Eg	Eg				
71	Ec-Ka-Ef-E	Ec-Ka-E	Ka	Ka	Eg	Eg	Eg	Eg				
72	Ec-Ka-E-Pv	Ec-Ka	Ec-Ka-Ef-Pv	Pc-Ka	Ec-Pv-Ef	Ef-Pv	Pv	Pv				
73	Ec-Ka-Ei-Ef	Ec-Ka-Ei-Ef	Ec-Ka	Ec-Ka-Ef	Eg	Eg	Eg	Eg				
74	Eg	Eg	Eg	Eg	Eg	Eg	Eg	Eg				
75	Eg	Eg	Eg	Eg	Eg	Eg	Eg	Eg				
76	Eg-Ka-Ef	Eg-Ka-Ef	Eg-E-S	Eg-Ka	Eg-Ka-Ef	Eg-Ka-Ef	Eg-Ka-Ef	Eg-Ka-Ef				
77	Eg-Ka-S	Eg-E	Eg-Ka-E	Eg	Eg-Ef	S-Eg-Ka	Eg-Ef	Eg-Ef				
78	Eg-Ka-Ei-Ef	Eg-Ka-Ef	Eg-Ka-E	Eg-Ka	Eg-Ka	S-Eg-Ka	Eg-Ka-Ef	Eg-Ka				
79	Eg-Ka-Ef	Eg	Eg-Ka-E	Eg	Eg-Ef	Eg-Ka	Eg-Ka-Ef	Eg-Ka				
80	Eg-Ka-E	Eg-Ef-Ka	Eg-Ka-Ef	Eg-Ka	Eg-Ka	Eg-Ka	Eg-Ka	Eg-Ka				
81	Eg-Ef-E	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef				
82	Eg-Ef-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef				
83	Eg-Ef-Ef-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef				
84	Eg-Ef-Ef-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef				
85	Eg-Ef-Ef-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef				
86	Eg-Ef-Ef-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef				
87	Eg-Ef-Ef-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef				
88	Eg-Ef-Ef-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef				
89	Eg-Ef-Ef-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef				
90	Eg-Ef-Ef-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef				
91	Eg-Ef-Ef-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef				
92	Eg-Ef-Ef-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef				
93	Eg-Ef-Ef-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef				
94	Eg-Ef-Ef-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef				
95	Eg-Ef-Ef-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef				
96	Eg-Ef-Ef-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef				
97	Eg-Ef-Ef-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef				
98	Eg-Ef-Ef-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef	Eg-Ef				

(Continúa)

## CONSERVACION DE LA MUESTRA DESECADA DURANTE 30 DIAS

(Conclusión)

Casos	Siembra de heces fecales frescas y enriquecidas en caldo de tetra- tone.	2 días	4 días	6 días	8 días	12 días	16 días	24 días	30 días
99	A-Ec-Ka-Ei-Pr	Ka-Ei-EF	Ka-Ef-Pr-Ei	Ec-Ka-Pr-Ei	Ec-Ka-Pr	Ec-Ka-Ei-Pr	Ec-Ka-Ei-Pr	Ec-Ka-Ei-Pr	Pr-Ei
100	Ec-Ka-Pm-Ei	Ec-Pr-Pm-Pr	Ec-Ka-Pm-Ei	Ka-Pm-Ei-Gh	Ec-Pr-Pm-Ei	Ei-Pm	Pr-Pm	Pr-Pm	Ka-Gh
101	Ac-Ka-Pr-Ei	Ec-Ka-Gh-Ei	Ec-Ac-Pr-Ei	Ec-Pr-Pm-Ei	Ec-Ka-Pr-Pm	Ec-Pr-Ei	Ec-Ei-Gh	Ec-Ka-Ei-Gh	Ka-Gh-Pm
102	Ec-Ka-Pr-Pv	Ec-Pr-Pv	Ec-Ac-Pv-Pr	Ec-Pr-Pv-Pm	Pr-Pv-Pm	Ec-Pv-Pm	Ec-Pv-Pm	Ec-Pm-Pm	Ec-Pr-Pm
103	Ka-Pa	Ka-Pa	Ec-Ka	EF-Pa	Ka-Ei	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Pa
104	Ec-Ei	Ka-Pa	Ec-Ei	Pr-Ef	Ec-Pr	Ec-Pr	Ec-Pv	Ec-Ac	Ec-Pm
105	Ei-Gp-Ec-Ka-EF	Ec-Ka-EF-E	Ec-Ka-Gp-Ei	Ec-Ka-EF-Ei-Gp	Ec-Ka-Ei-EF-Gp	EF-Gp	EF-Ei-Gp	Ec-Ka-EF	Ec-Ka-EF-Gp
106	Ec-Ei-Pm-Pr-Gp	Ec-Pm-EF	EF-E	Ec-Pm-Gp-EF	Ec-EF-Pm	Ec-EF-Gp-Pm	Ec-Ka-EF	Ec-Gp-EF	Ec-EF-Pm
107	Ka-Ec-Ei-Pa	Ec-Ka-Pa-Pm	Ec-Ka-Pm	Ec-Ka-Pr-Pm	Ec-Ka-Pa-Pm	Ec-Ka-Pa-Gp	Ec-Ka-Pr-Pa	Ec-Pa	Ec
108	Ka-Ec-Pr-Ac	Ec-Ka-Pr	Ec-Ka-Pr	Ec-Ka-Pr-Pm	Ec-Ka-Pr-Pa	Ec-Ka-Pr	Ka-Pr	Pr	Pr
109	Ec	Ec-Pm	Ec-Pr	Ec-Ka-Pr-Pm	Ec-Ka-Pm-Pr	Ec-Ka-Pm	Ec-Pr-Pm	Ec-Ka-Pr-Pm	Ec-Ka
110	Ec-Pm-Gp	Ec-Ka-Pm-Gp	Ec-Gp	Ec-Ka-Pm-EF	Ec-Ka-Ac-Pm	Ec-EF-Pm	Ec-EF-Pm	Ec-Ac-EF-Gp	Ec-EF-Pm
111	Ec	Ec-Pa-Pm	Ec	Ec-Pa	Ec-Pm	Ec-Ka-Pa-Pm	Ec-Pa-Pm	Ec-Pa-Pm	Ec-Pa
112	Gs-EF-Ac	Gs-Ac-EF	Ka-EF-Ac-Ei	Ka-Ac-Ei-Pm	Ka-Ef-Gs	Ec-Ka-Gs	Ka-Gs	Ec-Gs	Gs
113	Ec-Ka	Ec-Pmo-Ei	Ec-Pmo-Ac-Ei	Ac-Ec-Ei-Pm	Ec-Ei-Ac-Pm	Ec-Ei-Ac	Ac-Ei	Ec-Ei	Ac-Ec
114	Ec-Gp-Pa-Pm	Ec-Pmo	Ec-Pa-Pmo	Ac-Ec-Ei-Pm	Ec-Pa-Pmo	Ec-Pm-Pmo	Ec-Pm-Pmo	Ec-Pm-Pa	Ec-Pm-Pa
115	Ec-Ka-Ei-Pm	Ec-Pmo	Ei-Pm-Pmo	Ei-Pmo	Ec-Ei-Pm-Pmo	Ei-Pm-Pmo	Ei-Pm-Pmo	Ka-Ei-Ei	Ka-Pm-Ei-Pmo

E:	Estafilococo	Ef:	Streptococcus fecalis	Gp:	Grupo Providencia
Ec:	Escherichia coli	Pa:	Pseudomonas aeruginosa	Af:	Alcaligenes fecalis
Pr:	Proteus rettgeri	E:	Estafilococo	Ac:	Aerobacter-cloacae
Pm:	Proteus mirabilis	Ei:	Escherichia intermedium	Gs:	Grupo serratia
Ka:	Klebsiella aerobácter	Pm:	Proteus mirabilis	Ch:	Grupo Hafnia
Mt:	Micrococcus tetragenus	S:	Sporulado contaminante	Pmo:	Proteus morgagni
EF:	Escherichia freundi	Cl:	Clostridium aerobio	Mo	Monilias
Pv:	Proteus vulgaris				



C U A D R O    N º   4

Número de días que se conservó la materia fecal desecada	Número de casos	(+)	%	(—)	%
45	5	2	40	3	60
50	6	3	50	3	50
55	7	5	71,45	2	28,55
60	10	4	40	6	60
65	8	5	62,50	3	37,50
70	2	2	—	0	—
75	3	1	33,33	2	66,66
Total .. . . .	41	22		19	

C U A D R O    N º   5

## CEPAS DE MEJICO

Nº cepa patógena	Nº cepario Unidad Biopatología	Nº de días que se conservaron las cepas							
		2d	4d	6d	8d	12d	16d	24d	45d
Coli 026 .. . . .	9	+	+	+	+	+	+	+	+
Coli 0112 .. . . .	10	+	+	+	+	+	+	+	+
Coli 0127 .. . . .	11	+	+	+	+	+	+	+	+
Coli 0111 .. . . .	12	+	+	+	+	+	+	+	+
Coli 055 .. . . .	13	+	+	+	+	+	+	+	+
Coli 044 .. . . .	14	+	+	+	+	+	+	+	+
Coli 0126 .. . . .	15	+	+	+	+	+	—	+	+
Coli 0111 .. . . .	16	+	+	+	+	+	+	+	+

## CEPAS DEL BRASIL

Nº cepa patógena	Nº cepario Unidad Biopatología	Nº de días que se conservaron las cepas							
		2d	4d	6d	8d	12d	16d	24d	45d
Coli 0125 .. . . .	19	+	+	+	+	+	+	+	+
Coli 086 .. . . .	20	+	+	+	+	+	+	+	+
Coli 0127 .. . . .	21	+	+	+	+	+	+	+	+
Coli 026 .. . . .	22	+	+	+	+	+	+	+	+
Coli 0119 .. . . .	23	+	+	+	+	+	+	+	+
Coli 0102 .. . . .	24	+	+	+	+	+	+	+	+
Coli 0126 .. . . .	25	+	+	+	+	+	+	+	+
Coli 0124 .. . . .	26	+	+	+	+	+	+	+	+
Coli 0255 .. . . .	27	+	+	+	+	+	+	+	+
Coli 0111 .. . . .	28	+	+	+	+	+	+	+	+

C U A D R O    N º   6

Cepas Instituto Adolfo Lutz Brasil	Nº cepario Unidad Biopatología	Nº de días que se conservó desecada							
		2d	4d	6d	8d	12d	16d	24d	45d
Salmonella tomphson ..	30	+	+	+	+	+	+	+	+
Salmonella anatum ..	31	+	+	+	+	+	+	+	+
Salmonella newport b ..	32	+	+	+	+	+	+	+	+
Salmonella paratiphi A ..	33	+	+	+	+	+	+	+	+
Salmonella newport a ..	34	+	+	+	+	+	+	+	+
Salmonella paratiphi B ..	35	+	+	+	+	+	+	+	+
Salmonella tiphimurium ..	36	+	+	+	+	+	+	+	+
Salmonella tipheri ..	37	+	+	+	+	+	+	+	+
Salmonella dispar 01 ..	38	+	+	+	+	+	+	+	+
Shigella C-1 .. . . .	39	+	+	+	+	+	+	+	+
Shigella C-2 .. . . .	40	+	—	+	+	+	+	+	+
Shigella D-1 .. . . .	41	+	+	+	+	+	—	+	+
Shigella A-1 .. . . .	42	+	—	+	+	+	+	+	+
Alkalescens dispar 02 ..	43	+	+	+	+	+	+	+	+
Shigella A-2 .. . . .	44	+	+	+	+	+	+	+	+
Shigella boydii .. . . .	45	+	+	+	+	+	+	+	—
Shigella flexneri B3c ..	46	+	+	+	+	+	+	+	+
Shigella flexneri B1a ..	47	+	+	+	+	+	+	+	+
Shigella flexneri B2a ..	48	+	+	+	+	+	+	+	+
Shigella flexneri B46 ..	49	+	+	+	+	+	+	+	+
Shigella flexneri B5 ..	50	+	+	+	+	—	+	+	+