



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BARCELONA  
DEPARTAMENTO DE GENETICA Y MICROBIOLOGIA  
FACULTAD DE MEDICINA

Estudio microbiológico, clínico y epidemiológico de  
Yersinia enterocolitica

Tesis presentada para optar al grado de  
Doctor por Mercè Gurguí Ferrer

Barcelona, Octubre de 1986

2/137.027

Guillermo Prats Pastor, Catedrático de Microbiología y Parasitología, y Beatriz Mirelis Otero, Profesor Encargado de Microbiología y Parasitología del Departamento de Genética y Microbiología de la Universidad Autónoma de Barcelona,

CERTIFICAN:

Que la Tesis Doctoral titulada "Estudio microbiológico, clínico y epidemiológico de Yersinia enterocolitica", ha sido realizada bajo su dirección.

Y para que conste, firman este certificado en Barcelona, a 15 de Septiembre de 1986.

G. Prats

Guillermo Prats

B. Mirelis

Beatriz Mirelis

Al meu fill Miquel.

Als meus pares.

**Mi agradecimiento:**

Al Profesor Guillem Prats, por su paciente dedicación, sus consejos, su capacidad de trabajo y amistad, sin los cuales no habría podido realizar esta Tesis.

A la Dra. Beatriz Mirelis, compañera y amiga de tantos años, por su constante interés y ayuda a lo largo de este trabajo.

Al Profesor Guillem Verger, quien me inició en la Medicina Clínica y a quien debo mi afición por las Enfermedades Infecciosas, por sus enseñanzas, su amistad y su apoyo en todo momento.

Este trabajo ha comportado un amplio estudio microbiológico, clínico y epidemiológico desarrollado durante 3 años.

Es obvio, por ello, que no se habría podido realizar sin la colaboración decidida de un amplio grupo de compañeros y amigos con los que hemos trabajado durante muchas horas en las poyatas del Servicio de Microbiología, en la Unidad de Enfermedades Infecciosas, en los Dispensarios de Reumatología y Medicina, y en muy diversos lugares de la geografía de Cataluña para recoger muestras de animales y del medio ambiente.

Quiero agradecer:

A Arantxa Calvo, Clotilde Fernández y Marta Briz por su inestimable ayuda técnica.

Al Dr. Pere Coll y Rosa Rosell por su colaboración en el estudio serológico.

A mis compañeros de la Unidad de Enfermedades Infecciosas, M<sup>ª</sup> Luisa López-Valeiras, Antoni Añó y el Dr. Josep Barrio, por su apoyo, su colaboración y el agradable ambiente de trabajo que me ha facilitado la realización de esta Tesis.

A los Dres. Esperanza Llorens, César Díaz, Arturo Rodríguez y Carme Geli por la selección de los pacientes pediátricos y reumatológicos incluidos en el estudio.

A la Prof. Montserrat Portús por su colaboración con las muestras de origen animal para estudio epidemiológico.

A Josefa Nebot y a Teresa Mora por facilitarme muestras para estudio.

A todos los compañeros del Servicio de Microbiología por la ayuda y colaboración que siempre me han prestado durante la realización de este trabajo.

Muy especialmente quiero recordar a Pilar Teruel por su paciente y escrupulosa labor de mecanografía.

A la Fundación Knickerbocker por el soporte económico para el desarrollo de esta Tesis Doctoral.

A todos muchas gracias.

## INDICE

	pag.
I. <u>Introducción y objetivos</u>	1
II. <u>Aspectos teóricos</u>	5
1. Taxonomía	6
2. Estructura antigénica	23
3. Aislamiento. Técnicas y medios de cultivo	31
4. Diagnóstico serológico	35
5. Marcadores de patogenicidad	37
6. Sensibilidad de antibióticos	40
7. Manifestaciones clínicas	41
8. Tratamiento	51
III. <u>Trabajo experimental</u>	53
1. Material y métodos	54
Estudio epidemiológico	55
Técnicas de aislamiento	58
Identificación bacteriana	61
Estudio de patogenicidad	63
Técnicas serológicas	66
2. Resultados	75
a. Evaluación de las técnicas de cultivo	76
b. Epidemiología	78
i Muestras humanas	78
ii Muestras animales	88
iii Muestras telúricas	91
iv Muestras de alimentos	93
c. Clínica	96
i Gastroenteritis	96
ii Manifestaciones reumáticas	120
iii Enfermedad inflamatoria crónica	126
d. Patogenicidad	128
e. Carácter metabólicos	133
f. Sensibilidad a los antibióticos	143

IV. <u>Discusión</u>	150
Técnicas de aislamiento	151
Epidemiología	153
Clínica	158
Pruebas de patogenicidad	164
Carácteres metabólicos	166
Sensibilidad a los antimicrobianos	168
V. <u>Conclusiones</u>	170
VI. <u>Resumen</u>	176
VII. <u>Bibliografía</u>	184
VIII. <u>Indice de tablas</u>	213
IX. <u>Indice de figuras</u>	219

Estudio microbiológico, clínico y epidemiológico de  
Yersinia enterocolitica

## I. Introducción y objetivos

## I. Introducción y objetivos.

El género Yersinia fue propuesto por Van Loghen en 1944 (1) en honor a A.J.E. Yersin. que aisló por primera vez el bacilo de la peste en Hong Kong en 1894 (2), para reclasificar dicho bacilo y el de la pseudotuberculosis descrito por Malassez y Vignal en 1883 (3), pertenecientes hasta entonces al género Pasteurella, (P. pestis y P. pseudotuberculosis). Thal propuso en 1954 la inclusión de dicho género en la familia Enterobacteriaceae (4).

La descripción de la primera cepa de la actual especie Y. enterocolitica fue publicada por Schleifstein y Coleman en 1939 (5) denominándola Bacterium enterocoliticum. Hassing y cols fueron los primeros en aislarla del hombre en Europa en 1949, denominándola Pasteurella pseudotuberculosis rodentium (6). Daniels y Goudzwaard denominan a unas cepas homólogas a las de Hassing Pasteurella X (7).

Frederiksen en 1964 examina 55 de dichas cepas, incluyendo las aisladas por Schleifstein y Coleman, Hassing et al, Daniels y Goudzwaard, presentando similares características bioquímicas y patrón de sensibilidad a los antibióticos. No presentaban reacciones inmunológicas cruzadas con Y. pseudotuberculosis pero sí debían ser incluídas por su semejanza en el mismo género Yersinia como una especie separada: Y. enterocolitica (8).

El grupo del Instituto Pasteur en París y del CDC de Atlanta estudiando diversas cepas atípicas de Y. enterocolitica agrupadas bajo la denominación de Y. enterocolitica "like" por Knapp y Thal (9), en base a estudios de homología genética, proponen en 1980 la creación de tres nuevas especies, Y. intermedia, Y. frederiksenii, Y. kristensenii y dos grupos innominados  $X_1$  y  $X_2$  siendo éste último recogido en 1984 bajo la denominación de Y. aldovae (10).

El interés por estas especies depende de múltiples razones. En primer lugar la peste ha sido una enfermedad con un contenido dramático en función de su mortalidad en las grandes pandemias.

La primera pandemia descrita en el siglo VI antes de Cristo se supone que pudo causar la muerte de más de 100 millones de personas durante 50 años. En el siglo XIV, se produce la segunda pandemia de que se posee noticia, conocida como la peste negra que acabó con un cuarto de la población europea expandiéndose por el Oriente Medio. La última pandemia tuvo lugar a finales del siglo XIX en China.

Las particulares características de esas epidemias y la semejanza biológica entre Y. pestis y Y. pseudotuberculosis han permitido especular sobre determinados hechos en torno a las relaciones evolutivas entre esos patógenos que ha resumido de modo sugerente Mollaret (11).

La aparición de una epizootia por Y. enterocolitica en los criaderos de la chinchilla en Europa en 1955 y la detección de infecciones en el hombre, que se han incrementado en los últimos años, centró el interés por la capacidad patógena de esa especie.

Aunque antes de 1965 se han producido casos humanos de yersiniosis por esta especie, es a partir de esta fecha cuando estas infecciones caracterizadas por la producción de enteritis, cuadros de pseudotuberculosis mesentérica (linfadenitis mesentérica) y cuadros paradigestivos de patogenia inmune se detectan con mayor frecuencia.

En efecto, desde la descripción por Schleifstein y Coleman en 1939 del primer caso de infección humana (5) hasta 1966 se documentaron únicamente 23 casos de infecciones en el hombre (12). Desde esa fecha hasta la actualidad se han detectado numerosos casos de infección humana.

El incremento de la incidencia de este microorganismo en patología humana se debe probablemente a dos hechos, por un lado su mejor conocimiento por parte de los microbiólogos y como consecuencia su aislamiento e identificación más frecuente y por otro los cambios en los hábitos alimentarios de la población incluyendo la refrigeración de los alimentos a temperaturas que permiten la multiplicación de estas bacterias en sus fuentes habituales.

En los últimos años se han revisado y estudiado diversos aspectos de interés en relación a estos patógenos. Entre estos se incluyen las técnicas de aislamiento, el estudio de la epidemiología y patología en el hombre y los animales, el desarrollo de esquemas de bioserotipado y el estudio de su patogenicidad en relación a su estructura antigénica y a otros factores genotípicos y fenotípicos correlacionados con ella.

A pesar de ello, los conocimientos sobre la epidemiología de Y. enterocolitica, en nuestro país son fragmentarios y la significación clínica del aislamiento de determinados serotipos y especies no se ha podido precisar con exactitud.

En la presente Tesis se evalúan las técnicas de aislamiento de Y. enterocolitica y especies afines, su epidemiología y manifestaciones clínicas en nuestro país, diagnóstico serológico y factores de patogenicidad de las cepas aisladas en un estudio desarrollado durante dos años.

## II. Aspectos teóricos

## 1. Taxonomía.

Las características biológicas de Yersinia Van Loghem 1944 (1) permiten su inclusión en la familia Enterobacteriaceae (4). El género está formado por bacilos o cocobacilos gramnegativos de 0,5-0,8  $\mu$ m de diámetro por 1-3  $\mu$ m de longitud, móviles por flagelos peritricos excepto Y. pestis que es inmóvil. Crecen bien en medios usuales a una temperatura óptima de 28-29°C Anaerobios facultativos, oxidasa negativa y catalasa positiva poseen nitrato-reductasa de tipo B excepto algunas biovariedades (Y. enterocolitica biotipo 5). La glucosa es atacada por vía fermentativa sin producción de gas o producción de pequeñas cantidades, algunas características se expresan a la temperatura óptima de crecimiento (25-29°C) y no se expresan o lo hacen con menor intensidad a 37°C. Poseen antígeno común de enterobacterias según se ha observado en las especies estudiadas y posee un porcentaje molar de G+C en el ADN de 46-50. La especie tipo es Yersinia pestis (Sehmann y Neumann 1896) Van Loghem 1944 que está registrada en la ATCC con el número 19428.

La semejanza morfológica con las pasteurelas (su pequeño tamaño y coloración bipolar) fue uno de los factores principales que situaron estos microorganismos (al agente de la peste y la pseudotuberculosis) en el género Pasteurella.

Todas las yersinias excepto Y. pestis crecen a 25°C en un medio sintético con sales minerales utilizando varios hidratos de carbono como fuente de carbono y energía. Y. pestis requiere L-metionina y L-fenilalanina. Cuando se incuba a 37°C en dicho medio todas las especies son auxotróficas siendo imprescindible la adición de biotina y tiamina. Las exigencias de cultivo (nutritivas) en función de la patogenicidad serán señaladas más adelante.

Las especies de Yersinia pueden crecer a temperaturas entre 4 y 42°C.

Y. pestis y Y pseudotuberculosis toleran pH de 5-9,6 y el resto de especies de 4 a 10. El óptimo para el crecimiento se sitúa para todas las especies entre 7,2 y 7,4. Ya se ha señalado que la temperatura óptima de crecimiento es de 28°C. A esta temperatura pueden expresarse determinados caracteres que no se expresan a 37°C como la movilidad, la prueba de Voges-Proskauer, la prueba de la ONPG, la ODC, el crecimiento en citrato de Simmons, la producción de indol y la fermentación de la celobiosa y rafinosa.

Los caracteres bioquímicos propios del género, aparte los comunes, a la familia (Tablas 1, 2 y 3) son: la fermentación de la glucosa sin producción de gas, la reacción de ONPG positiva, presencia de pectinasa, amilasa y ureasa intensa (excepto Y. pestis). Las pruebas negativas incluyen la FDA, LDC, ADH, producción de acetoina (VP) a 37°C aunque a 28°C la producen Y. enterocolitica, Y. frederiksenii y Y. intermedia, la ausencia de crecimiento en citrato de Simmons a 37°C, aunque a 28°C crecen Y. intermedia, algunas cepas de Y. frederiksenii y las cepas del serogrupo IV de Y. pseudotuberculosis, ausencia de crecimiento en CNK, malonato y mucato excepto algunas cepas de Y. intermedia, y no producción de SH<sub>2</sub>. La producción de lipasa y DNasa es variable según especies o biotipos.

Los trabajos de Bercovier et al. (13), Brenner et al., Ewing et al. y Ursing et al. han permitido, utilizando técnicas de hibridación ADN-ADN, segregar de la especie Y. enterocolitica un conjunto de cepas atípicas denominadas Y. enterocolitica "like" y establecer tres nuevas especies. (Tabla 4).

La especie Y. enterocolitica "sensu stricto" incluye las cepas sacarosa positivas, Voges-Proskauer positivas, ramnosa y melibiosa negativas. Y. intermedia incluye las cepas sacarosa positivas, ramnosa, melibiosa y rafinosa positivas, Y. frederiksenii incluye las cepas sacarosa y ramnosa positiva, melibiosa negativas y Y. kristensenii las cepas sacarosa negativas. Según datos de homología

genética otros grupos sacarosa negativos como los  $X_1$  y  $X_2$  (Y. aldovae) (10) se han incluido en el género. Y. ruckeri y Y. philomiragia poseen caracteres fenotípicos alejados del género Yersinia y la última no corresponde tampoco genéticamente al género.

	<u>Enterobacteriaceae</u>	<u>Vibrionaceae</u>	<u>Pasteurellaceae</u>
Diámetro celular (mcm)	0.3-1.5	0.3-1.3	0.2-0.3
Bacilos rectos	+	D	+
Bacilos curvos	-	D	-
Movilidad	D	+	-
Flagelos polares	-	+	
Flagelos peritricos	+	-	
Prueba de la oxidasa	-	+	+
Necesidad de Na <sup>+</sup>	-	D	-
Antígeno común de enterobacterias	+	-	-
Presencia de menaquinonas	D	D	-
Requerimiento de heme o N.A.D	-	-	D
Necesidad de fuente orgánica de N	-	-	+

Tabla 1. Carácteres diferenciales de la familia Enterobacteriaceae respecto a otras bacterias gramnegativas anaerobias facultativas.

+: Positivo; -: Negativo; D: diferentes tipos.

Tomado con modificaciones de Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.

Características	Yersinia	Hafnia	Citrobacter	Escherichia	Enterobacter	Klebsiella	Salmonella	Proteus	Pasteurella
Prueba oxidasa	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Tamaño de las colonias superior a 1.0 mm a 37°C	-	+	+	+	+	+	+	+	-
Movilidad a 37°C	-	+	+	D	+	-	+	+	-
Movilidad a 25°C	D	+	+	+	+	-	+	+	-
Glucosa/Gas	- ó w	+	+	D	+	D	D	D	-
Citrato Simmons	-	-	+	-	+	D	D	D	-
Voges-Proskauer	D	+	-	-	+	D	-	D	-
Lisina decarboxilasa	-	+	-	D	D	D	+	-	-
Producción de SH <sub>2</sub>	-	-	D	-	-	-	+	D	-
Fenilalaninadesaminasa	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Contenido en G+C,									
Mol%	46-50	48-49	50-52	48-52	52-60	53-58	50-53	38-41	40-45

Tabla 2. Características diferenciales del género Yersinia y otros géneros bioquímicamente similares.

+: Positivo; -: Negativo; D: diferentes tipos; w: débil.

Tomado de Bergey's. Manual of Systematic Bacteriology Modificado.

---

Fermentación/Oxidación	+/+
Glucosa/Gas	+/- (1)
Movilidad	37°-/28° +
Nitratasa	+
Oxidasa	+
Voges Proskauer	-(2)
Pectinasa	+
Ureasa	+(3)
Amilasa	+
Prueba de la ONPG	+
Producción de SH <sub>2</sub>	-
Fenilalanina desaminasa	-
Lisina decarboxilasa	-
Arginina dehidrolasa	-
Citrato de Simmons	-(4)
Crecimiento en CNK	-
Malonato	-
Mucato	-(5)

---

Tabla 3. Carácteres generales de las especies del género Yersinia. Reacciones a 37°C.

1. Puede producirse una pequeña cantidad de gas. 2. Positivo a 28°C en Y. enterocolitica, Y. frederiksenii, Y. intermedia. 3. Negativa en Y. pestis. 4. A 28°C positivo en Y. intermedia y Y. frederiksenii. 5. Positivo en algunas cepas de Y. intermedia.

Denominación antigua		Sac.	Ram.	Mel.	Denominación actual
<u>Y. enterocolítica</u>					
cepas típicas	(Sac <sup>+</sup> Ram <sup>-</sup> )	+	-	-	<u>Y. enterocolítica</u> (1-4)
		V	-	-	<u>Y. enterocolítica</u> (5) (Tre <sup>-</sup> , NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )
cepas atípicas	(Sac <sup>-</sup> )	-	-	-	: <u>Y. kristensenii</u>
		-	-	-	: X <sub>1</sub> (ODC <sup>-</sup> )
		-	+	-	X <sub>2</sub> ( <u>Y. aldovae</u> )
cepas atípicas	(Ram <sup>+</sup> )	+	+	-	<u>Y. frederiksenii</u>
		+	+	+	<u>Y. intermedia</u>

Tabla 4. Carácteres bioquímicos por los que se definieron las cepas atípicas de Y. enterocolítica.

Sac: sacarosa, Ram: ramnosa, Mel: melibiosa, Tre: trealosa, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>: nitrato reductasa, ODC: ornitina decarboxilasa.

(1-4): biotipos 1 a 4, (5): biotipo 5.

## Yersinia enterocolitica

Las cepas típicas de esta especie son maltosa, celobiosa y sacarosa positivas, xilosa y trealosa variables. Existen diversos esquemas del biotipado. Uno de los más utilizados (Bercovier et al.) incluye el estudio de la lipasa, DNasa, indol, D-xilosa, D-trealosa y nitrataza, (Tabla 5) (13). Otros esquemas propuestos por Nilenn (1969), Wauters (1970), Knapp y Thal (1973) y Winblad (1978) no difieren significativamente del de Bercovier (14).

En base a estos caracteres se han diferenciado 5 biogrupos. Existe una buena correspondencia entre algunos biogrupos y determinados serotipos como por ejemplo el biogrupo 4 y el serotipo 03. El biogrupo 5 está formado por cepas aisladas de lepóridos y carecen de nitrato reductasa siendo además xilosa y trealosa negativas.

Y. enterocolitica se ha aislado de diferentes fuentes, aguas (15,16) alimentos (17,18) y múltiples animales (19-28) y se conoce su capacidad patógena para las chinchillas, particularmente las cepas del biotipo 3 serotipo 01, 2a, 3; liebres, biotipo 5 serotipo 02a, 2b, 3 y hombre biotipo 4 serotipo 03, serotipos 08, 09 y otros. (Tabla 6).

Aparte la correlación entre los serotipos y la capacidad patógena cabe señalar la particular distribución de los serotipos patógenos para el hombre 03 en Europa, Canadá y Sudáfrica, 09 en Europa y 08 en USA (29-35). Las cepas patógenas del biogrupo 1, esclulina negativas, se han aislado en USA.

En 1986 ha sido publicado un trabajo en el que se descubre el aislamiento en 15 pacientes con diversos cuadros clínicos de Y. enterocolitica del serogrupo 0:8 en Holanda. Esta constituye la primera referencia de aislamiento de este serogrupo en Europa (36).

Pruebas	Biotipos				
	1	2	3	4	5
Lipasa	+	-	-	-	-
DNasa	-	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	+	+
Indol	+	+	-	-	-
D-xilosa	+	+	+	-	- <sup>a</sup>
Sacarosa	+	+	+	+	V
D-trealosa	+	+	+	+	-
Nitratorreductasa	+	+	+	+	-

Tabla 5. Esquema de biotipado de Y. enterocolitica según Bercovier et al. (13).

+: Positivo; -: Negativo; V: Variable.

<sup>a</sup> En algunas cepas la reacción se positiviza tardíamente a las 72 h.

### Serogrupos

---

Biotipo 1	08; 013a,13b; 018; 020; 021; 04,32*
Biotipo 2	09; 05,27; 027
Biotipo 3	01,2a,3; 05,27
Biotipo 4	03

Tabla 6. Correlación entre biotipos y serogrupos de Y. enterocolitica en cepas de interés médico.

\* Estos serogrupos corresponden a cepas esculina negativa del biotipo 1.

### Yersinia intermedia

Un grupo de cepas del género Yersinia, maltosa, xilosa, trealosa, celobiosa, sacarosa, ramnosa, melibiosa, rafinosa y alfa-metil-glucósido positivas, alguna de las cuales crecen en citrato de Simmons, son ODC positivas e indolígenas conforman una especie Y. intermedia en base a los datos genéticos aportados por Brenner et al. (37).

En la tabla 7 se señalan los caracteres bioquímicos de esta especie.

Los caracteres de Y. intermedia son más dependientes de la temperatura que los de Y. enterocolitica, con mayor expresividad entre 22-28º que a 35-37º C.

Se ha propuesto un esquema de biotipado en base al estudio de D-melibiosa, L-ramnosa, alfa-metil-glucósido, D-rafinosa y citrato de Simmons. Hay que tener en cuenta, según lo dicho, que los caracteres de crecimiento en citrato de Simmons, ramnosa y rafinosa son muy dependientes de la temperatura expresándose a 28ºC. Ocasionalmente cepas de Y. frederiksenii pueden ser citrato positivo y rafinosa positiva así como Y. enterocolitica puede ser rafinosa, alfa-metil-glucósido, melibiosa o citrato de Simmons positivo. Por otra parte Y. intermedia puede ser ramnosa o melibiosa negativa.

Como los esquemas antigénicos como el desarrollado por Wauters, se basan en el estudio de cepas típicas no es de extrañar que muchas cepas de Y. intermedia sean no tipables en base a ese esquema. Los serogrupos 04 y 017 son los predominantes en esta especie aunque se han detectado 25 serogrupos más representados en ella.

Las cepas se han detectado en Europa, Canadá, USA, Japón y Australia. Se aíslan en aguas, peces e invertebrados, particularmente marinos, aunque también se han aislado de roedores y alimentos. También se han aislado del hombre (heces y otras fuentes) (26).

biotipado

VP	ODC	Mal	Cel	Sac	Ram*	Mel*	Raf	a-m-g*	Cit S	Biotipos	(%) <sup>(a)</sup>
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1	(69%)
+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	2	(20%)
+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	3	( 4%)
+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	4	( 3%)
+	+	+	+	+	-	+	+	-	V	5	( 2%)
+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	6	( 1%)
+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	7	( 1%)
+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	8	( 1%)

Tabla 7

Carácteres bioquímicos mínimos de Y. intermedia. En base a los cinco últimos caracteres expuestos en esta tabla (Ram, Mel, Raf, A-mg, Cit.S) se definen 8 biotipos\*. Todas las cepas de Y. intermedia poseen 2 de 3 caracteres definitorios positivos: ramnosa, melibiosa y alfa-metil-glucósido, lo que permite diferenciar los biotipos de Y. intermedia de Y. frederiksenii. (a) Tanto por ciento de incidencia de los biotipos.

+: Positivo; -: Negativo; V: Variable. VP: Voges-Proskauer. ODC: Ornitina decarboxilasa. Mal: maltosa. Cel: celobiosa. Sac: sacarosa. Ram: ramnosa. Mel: melibiosa. Raf: rafinosa. a-m-g: alfa-metil-glucósido. Cit.S.: Citrato de Simmons.

### Yersinia frederiksenii.

Esta especie se caracteriza por ser maltosa, xilosa, trealosa, celobiosa, sacarosa y ramnosa positivas. Presenta una reacción de Voges-Proskauer positiva, crecimiento en citrato de Simmons variable y ODC positiva (38).

En la tabla 8 se señalan los caracteres propios de esta especie. Se han establecido cuatro biotipos en base a las reacciones en citrato de Simmons y beta-xilosidasa.

La mayoría de las cepas aisladas pertenecen a los serogrupos 016, 01, 02 y 010 y el resto a 16 diferentes serogrupos. El dos por ciento de 201 cepas de la colección del Instituto Pasteur (París) no eran tipables según el esquema de Wauters.

Ampliamente distribuida en la naturaleza, se aísla del agua, peces y del hombre, aunque también se aísla de ganado vacuno, cerdos y roedores.

Esta especie con Y. intermedia se aísla en ambiente telúrico del agua pero no del suelo.

Las cepas bioquímicamente típicas de Y. frederiksenii forman tres grupos de hibridación, sin embargo Ursing et al. (38) incluyen los tres grupos en la especie Y. frederiksenii porque uno de los grupos está formado por una sola cepa y por la homogeneidad bioquímica de dichos grupos.

### Yersinia kristensenii.

Cepas de Y. enterocolitica "like", maltosa, xilosa, trealosa, celobiosa positivas y sacarosa negativa, se han aislado de numerosos medios incluyendo animales y el hombre y se han clasificado como Y. kristensenii. (39).

VP ODC Mal Cel Sac Ram Mel Raf a-m-g Cit.S.

---

+	+	+	+	+	+	-	-	-	V	<u>Y. frederiksenii</u>
+	+	+	+	+	+	+	-	-	V	<u>Y. intermedia</u>
+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	<u>Y. enterocolitica</u> 1-4
+	+	+	+	V	-	-	-	-	-	<u>Y. enterocolitica</u> 5 (Tre-)
+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	<u>Y. kristensenii</u>
+	-	+	+	-	-	-	-	-		X <sub>1</sub>
+	+	+	+	-	+	-	-	-	V	X <sub>2</sub> ( <u>Y. aldovae</u> )

---

Tabla 8

Carácteres bioquímicos mínimos de la especie Y. frederiksenii.

+: positivo; -: negativo; V: variable.

VP: Voges-Proskauer. ODC: Ornitina decarboxilasa. Mal: maltosa. Cel: celobiosa. Sac: sacarosa. Ram: ramnosa. Mel: melibiosa. Raf: rafinosa. a-m-g: alfa-metil-glucósido. Cit.S.: Citrato de Simmons.

Los denominados grupos  $X_1$  y  $X_2$ , así como algunas de las cepas del biotipo 5 de Y. enterocolitica también son sacarosa negativas.

Los caracteres bioquímicos de Y. kristensenii se señalan en la tabla 9.

El 66% de 115 cepas han sido aglutinables siendo los serogrupos 012, 028 y 011 los detectados con mayor frecuencia.

Estas cepas se aíslan en medio telúrico incluyendo el suelo y aguas, alimentos, animales y vegetales.

Las cepas de Y. kristensenii pertenecen a un sólo grupo de hibridación y las cepas de Y. enterocolitica biotipo 5 muestran el mismo grado de relación con ese grupo que con los biotipos 1-4 de Y. enterocolitica.

Las cepas de Y. kristensenii son VP negativo como  $X_1$ , sacarosa negativas como  $X_1$ ,  $X_2$  y Y. enterocolitica 5 de  $X_1$ , se diferencia por la ODC de  $X_2$  por el VP, ramnosa y citrato de Simmons, y de Y. enterocolitica 5 por el VP, y nitrataza siendo este el único grupo trealosa negativo.

#### Otras especies de Yersinia.

No es objeto de este trabajo el estudio de Y. pestis, Y. pseudotuberculosis, Y. philomiragia y Y. ruckerii.

Y. pestis y Y. pseudotuberculosis (40) han presentado por estudios de hibridación de ADN una homología muy elevada. En base a esos datos así como a la similitud bioquímica (caracteres diferenciales: movilidad, ureasa y ramnosa) y antigénica se ha propuesto que estos microorganismos sean tratados como subespecies de una misma especie con la nomenclatura de

VP	ODC	Mal	Cel	Sac	Ram	Mel	Raf	a-m-g	Cit.S.	
-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	<u>Y. kristensenii</u>
+	V	+	+	V	-	-	-	-	-	<u>Y. enterocolitica</u> 5
-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	X <sub>1</sub>
+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	X <sub>2</sub> ( <u>Y. aldovae</u> )

Tabla 9. Carácteres bioquímicos de Y. kristensenii.

+: positivo; -: negativo; V: variable.

VP: Voges-Proskauer. ODC: Ornitina decarboxilasa. Mal: maltosa.

Cel: celobiosa. Sac: sacarosa. Ram: ramnosa. Mel: melibiosa.

Raf: rafinosa. A-m-g: alfa-metil-glucósido. Cit.S.: Citrato de Simmons.

Y. pseudotuberculosis subsp. pseudotuberculosis y Y. pseudotuberculosis subsp. pestis (en 1985 han recuperado su terminología antigua Int. J. Syst. Bacteriol. 1985, 35:540).

Y. philomiragia es una especie descrita en 1959 por Jensen, Owen y Jellison (41) en base a una cepa aislada de una musaraña y otras cuatro aisladas del medio ambiente. Aunque estas cepas muestran un alto grado de relación fenotípica y genotípica no presentan relación genética con otras especies de Yersinia o incluso de la familia Enterobacteriaceae o Pasteurella multocida. Ursing et al. que han estudiado estas cepas proponen referirse a ellas hasta nuevos estudios como la bacteria "Philomiragia" (42). Su inicial ubicación en el grupo se debió a la semejanza morfológica (Gram) y cierto grado de homología del ADN con Y. pestis.

Y. ruckeri (43) causa la enfermedad denominada "red mouth" en las truchas. Se ha aislado de estos peces únicamente en América del Norte. Crece óptimamente a 22°C. Aunque posee caracteres bioquímicos bastante alejados del resto de especies de Yersinia y posee una capacidad patógena y distribución geográfica muy precisa, se incluye en el género por su semejanza en contenido de G+C y homología del ADN. El microorganismo es LDC y ODC positivas, carece de ureasa y la FDA y VP son negativos a 37°C y variable a 22°C, indol negativo, citrato de Simmons positivo y beta-galactosidasa variable.

## 2. Estructura antigénica

Tras los estudios iniciales de Knapp y Thal en 1963 y Winblad en 1968, Wauters y colaboradores propusieron en 1971 y 1972 un esquema antigénico para Yersinia incluyendo antígenos O y H. (44,45).

Como consecuencia de los trabajos publicados en 1971 estos autores proponen un esquema antigénico que incluye 17 serogrupos O con 17 factores (uno de ellos subdividido en dos, ver más abajo) y 16 serogrupos H con 16 factores antigénicos (Tabla 10). Asimismo demuestran la existencia de un antígeno termolábil de superficie (K) denominado 1 asociado al serogrupo O10, que lo hace inaglutinable (46).

Los factores O y K se expresan por números arábigos y los H por letras minúsculas. Los tres primeros serogrupos que Winblad (47) propuso como 1, 2, 3; 2, 3, y 3 fueron estudiados por estos autores observando que la expresión de los factores antigénicos dependía de la temperatura de incubación y que el segundo serogrupo presentaba otro factor antigénico al que denominaron 2b (siendo el antígeno 2 de Winblad 2a) por lo que la fórmula antigénica de esos grupos cuando las cepas respectivas se incuban a 22°C es: 1, 2a, (3); 2a, 2b, 3 y 3. El primer serogrupo a 22°C no producía aparentemente el factor 3 pero tras inoculación daba lugar a un antisuero anti 3 por lo que los autores lo señalan entre paréntesis. Cuando el estudio antigénico se efectuaba a 29°C las fórmulas de esos grupos eran 3; 2b, 3 y 3 respectivamente.

Las reacciones cruzadas entre Y. enterocolitica y otras especies bacterianas se señalan en la tabla 11.

La reacción cruzada se presenta entre Y. enterocolitica 0:9 y las diferentes especies de brucela B. melitensis, B. abortus, B. suis y B. neotomae, aunque existen diferencias cuantitativas entre ellas siendo la reacción más intensa con B. abortus (48-51).

Serogrupos O, K y H (1971)

---

0: 1, 2a, 3	H: abc
0: 2a, 2b, 3	H: ab
0: 3	H: bc
0: 9	H: (b),c
0: 15	H: b, e, f, i
0: 4	H: b, c, d, e, i
0: 5	H: a, b, d, g, i
0: 6	H: d, e, f, g, h
0: 7, 8	H: be, fi
0: 8	H: b, (f)k
0:10(K <sub>1</sub> )	H: l
0:11	H: o
0:12	H: n
0:13, 7	H: m
0:14	H: p
0:16	H: q
0:17	

---

Serogrupos O, K, H (1972)

---

0: 5, 27	H:r
0: 18	H:s
0: 20	H:t
0: 21	
0: 22	
0: 28	
0: 34	

---

Tabla 10. Serogrupos O, H y K de Y. enterocolitica. Tomado de Wauters, Le Minor y Chalon (1971 y 1972) modificado. Se señalan 17 serogrupos O formados por 17 factores, uno de ellos subdividido en dos subfactores (2a, 2b) y 16 serogrupos H formados por 16 factores. El antígeno K<sub>1</sub> detectado en el serogrupo 010 es termolábil (fimbria). El serogrupo 05 es desdoblado en 1972 en dos 05 y 05,27 (ver texto).

---

<u>Y. enterocolitica</u> 0:9	<u>Brucella</u>
<u>Y. enterocolitica</u> 0:9	<u>Salmonella urbana</u> 0:30
<u>Y. enterocolitica</u> 0:9	<u>Morganella morganii</u> 0:43
<u>Y. enterocolitica</u> 0:12,25	<u>Salmonella bergen</u> 0:47
<u>Y. enterocolitica</u> 0:17	<u>Morganella morganii</u> 0:44
<u>Y. enterocolitica</u> 0: 46	<u>Y. pseudotuberculosis</u> IV

---

Tabla 11. Reacciones cruzadas de los antígenos O de Yersinia con Brucella y otras Enterobacteriaceae.

También señalan la presencia de reacciones cruzadas menores entre antígenos somáticos de Yersinia y Salmonella 0:9, con 0:30; 0:12, 25 con 0:47 (H b,e,f,i con H k; H b,e,f,i con H z5; H b,c,d,e,i con H z44).

En 1972 el grupo de Lovaina y Paris modifican y amplían el esquema antigénico subdividiendo el grupo 05 en dos subgrupos 05 y 05,27 (en correlación con asociación a diferentes serogrupos H y biotipos: 1 y 2 respectivamente) incluyen los nuevos grupos 018, 020, 021, 022, 028 y 034 y los Hr, Hs y Ht (Tabla 10).

En 1981 Wauters publica un esquema antigénico ampliado (52). En ese momento ya son conocidos los diversos biotipos de Y. enterocolitica y se han propuesto tres nuevas especies para el grupo Y enterocolitica "like", por lo que se forman dos corrientes de opinión, aquellos que como el propio Wauters proponen mantener un esquema antigénico común, como se ha mantenido para el género Klebsiella o Salmonella y los que proponen segregar los esquemas para cada especie o incluso biotipos.

En los grupos 011 y 012 se detectan factores adicionales denominados 23, 24, 25 y 26 y en los grupos 016, 06 y 04, se detectan factores accesorios menores denominados 29, 30, 31, 32 y 33.

El factor 034 descrito en 1972 es idéntico al 010 por lo que se propone la supresión de aquel.

Asímismo se descubren nuevos factores O, detectados principalmente de cepas aisladas del ambiente, denominadas con los numerales 35 a 57.

Existen en las colecciones numerosas cepas con nuevos factores O, que no han sido investigados desde el punto de vista de su estructura antigénica flagelar.

En adición al factor  $K_1$ , se han descrito nuevos factores K, cuya naturaleza no es conocida, denominados  $K_2$  a  $K_6$ , que se detectan con más frecuencia entre las cepas telúricas de Y. intermedia. Existen en diversas colecciones, cepas con antígenos de tipo K que no han sido aún estudiados.

Aunque éstos (K) pueden presentarse asociados a diversos factores O las asociaciones en las cepas de referencia son 010: $K_1$ ; 08: $K_2$ ; 056: $K_3$ ; 057: $K_4$ ; 039: $K_5$ ; 052: $K_6$ .

La movilidad de Y. enterocolitica varía de acuerdo a sus biotipos, las cepas del biotipo 1, son usualmente muy móviles, mientras que las pertenecientes al biotipo 4 y aún más al 5, suelen ser poco móviles. La temperatura de incubación desempeña un papel importante en la expresión genotípica de la movilidad, siendo la mayoría de las cepas inmóviles a 37°C, por lo que la movilidad debe ser estudiada a 25°C y tras sucesivos pases en agar blando.

Aunque los grupos antigénicos H son complejos (Tabla 10) pueden establecerse algunas reglas. Así las cepas de los biotipos 2, 3, 4 y 5 sólo poseen factores a, b y c en diversas combinaciones. Las cepas del biotipo 1 poseen patrones complejos formados por los factores de a a k con las fórmulas H muy diversificadas incluso dentro de un unico grupo O. Las cepas de Y. intermedia, Y. kristensenii y Y. frederiksenii no comparten factores antigénicos con Y. enterocolitica.

En 1983 Thomas et al. (53) estudian las relaciones antigénicas entre Y. enterocolitica y E. coli, salmonela y shigela. Los serotipos estudiados por esos autores incluyen los 01 a 034 de Y. enterocolitica, los 01 a 0164 de E. coli, todos los serotipos establecidos y provisionales de Shigella y los antígenos de Salmonella 01 a 067, detectándose diversas reacciones antigénicas cruzadas. Los antígenos somáticos de Y. enterocolitica 05,27 y 011 fueron idénticos a los de E. coli 097 y 098 respectivamente.

Aunque confirman las reacciones cruzadas señaladas por Wauters et al. entre Y. enterocolitica 012 y Salmonella 047 esta reacción se daba a título bajo así como la detectada entre Y. enterocolitica 021 y Salmonella 04.

En 1984 Aleksic y Bockemühl proponen un esquema antigénico para Y. enterocolitica (54) tras el estudio de 585 cepas de Y. enterocolitica, 43 de Y. kristensenii, 40 de Y. frederiksenii y 25 de Y. intermedia. En ese trabajo muestran que los antígenos 0:11,23; 0:11,24; 0:12,25, 0:12,26; 0:12,28 se asocian exclusivamente a Y. kristensenii, el 0:16 a Y. kristensenii y Y. frederiksenii, los 0:4,33 y 0:17 a Y. intermedia, mientras los restantes serogrupos se asocian a Y. enterocolitica.

Asímismo los factores H l, r, s y t son característicos de Y. kristensenii, el p de Y. frederiksenii, el q de Y. intermedia y el o de Y. kristensenii, Y. frederiksenii y Y. intermedia. Los restantes de a a k, m y n se hallan en Y. enterocolitica en diversas combinaciones, con gran variabilidad (hasta 15 serogrupos H) para un mismo serogrupo O. Los autores proponen un nuevo factor H denominado u. En general sugieren la exclusión de los antígenos O y H no asociados a Y. enterocolitica, a diferencia de los propuestos por Wauters y proponen formalmente un esquema antigénico O simplificado para Y. enterocolitica (Tabla 12).

En la discusión particular de sus hallazgos señalan algunos aspectos de interés.

A pesar de estudiar las cepas de colección I. P. 135 y I.P. 178 que poseen los factores 1, 2a y 2b a 22°C, los autores encuentran estos antígenos de expresión débil e irregular y como señaló Wauters desaparecen tras incubación a 28°C, por ello los autores proponen combinar los 3 primeros serogrupos del esquema de Wauters en uno solo con fórmula 0:3. Las importantes diferencias epidemiológicas entre ellos podrían establecerse en base al biotipo (biotipos 3, 5 y 4 respectivamente). Confirman la identidad entre 0:10 y 0:34.

Antígeno O	Cepa de referencia
3	IP 134
4, (32)	IP 96
5	IP 123
5,27	IP 885
6, (30)	IP 102
6, (31)	IP 1477
7,8	IP 106
8	IP 161
9	IP 383
10	IP 500
13, (7)	IP 553
14	IP 480
15	IP 614
18	IP 846
19,8	IP 842
20	IP 841
21	IP 1110
22	IP 1367

Tabla 12

Esquema antigénico de Aleksic y Bockemüthl (54) para Y. enterocolitica.  
 Los factores entre paréntesis pueden estar ausentes.

Muestran la presencia de reacción cruzada entre los serogrupos 0:13 y 0:18 que ha sido posteriormente precisada. El antígeno 29 lo consideran con una alta reacción cruzada con el 16 (al que se asocia para formar el grupo 0:16,29) hasta el extremo de que proponen su supresión.

Por lo que respecta a los antígenos H señalan reacciones cruzadas entre los factores o, p, q y u así como entre el factor a de S. paratyphi A y el factor g de Y. enterocolitica.

Existe un tanto por ciento de cepas, particularmente telúricas que no pueden ser tipadas con los sueros disponibles, aunque hay que destacar que los autores no utilizan los antisueros frente a los serogrupos 0:35 a 0:57 de Wauters.

El estudio antigénico de Yersinia no se ha efectuado con el detalle que se ha realizado en otras enterobacterias y en especial en Salmonella o E. coli donde se conocen bien numerosos subfactores, su estructura química e incluso su codificación genética que depende en algunos de ellos de lisogenización.

No es de extrañar por ello que los actuales esquemas serológicos sufran modificaciones. Recientemente Toma et al. (55) han recharacterizado los serotipos 0:7,13; 0:18; 0:44 y 0:44,45 reconvirtiéndolos en 0:7,13a,13b; 0:18,13b; 0:44,13a y 0:44,13a,45.

### 3. Aislamiento. Técnicas y medios de cultivo

Las técnicas de aislamiento de Yersinia son las usuales para enterobacterias en lo que respecta a recogida y transporte de las muestras (56).

Para muestras clínicas existen datos objetivos de que el medio de Cary y Blair es adecuado para el transporte (57) aunque probablemente lo son otros medios que preserven de la desecación, modificaciones de pH y sobrecrecimiento bacteriano. En el caso específico de Yersinia, como sucede con otras enterobacterias un medio tamponado glicerinado resulta adecuado para el transporte y conservación de las heces.

Las heces y exudados de origen diverso se recogen en medio de transporte de modo habitual. El resto de muestras clínicas también debe recogerse según técnicas convencionales. Los tejidos de biopsia y material quirúrgico deben transportarse manteniendo la humedad, para lo que es suficiente incluirlos en un recipiente estéril que cierre herméticamente y al que se haya añadido unas gotas de suero salino estéril.

Las muestras de alimentos y tierras pueden recogerse en recipientes de plástico estériles, las aguas en botellas estériles.

Para procesar las muestras clínicas debe seguirse las técnicas usuales en bacteriología médica utilizando los medios selectivos y de enriquecimiento adecuados.

Los alimentos sólidos o semisólidos son triturados estérilmente con homogenizador, los líquidos pueden ser filtrados o centrifugados (líquidos más viscosos no filtrables) sembrando directamente en placas y enriqueciendo en frío incorporando el material al medio líquido en la proporción 1/9.

Las aguas deben ser filtradas a través de dos filtros de 0,45 m. (100 ml por membrana), uno para siembra directa y otro para enriquecimiento.

Las tierras deben ser suspendidas a razón de 20 g/100 ml de agua destilada con 0,5% Tween 80 agitando durante 1 hora en un agitador rotatorio, dejando sedimentar después las partículas (5-10m) y pasando 10 ml de sobrenadante a 90 ml de medio de enriquecimiento.

### Medios de cultivo

Existen diversos medios de cultivo adecuados para el aislamiento de Yersinia. Entre los convencionales para enterobacterias el medio de Mac Conkey (Mac.C.) y el de Salmonela-Shigela (SS) son particularmente adecuados. Wauters (58) recomienda la utilización de SS al que se ha incrementado la concentración de deoxicolato sódico en 2 g por 100 ml.

Se han diseñado diversos medios con mayor o menor caracter diferencial y selectivo, entre ellos medios con pectina como el propuesto por Bowen et al. (59) el medio de celobiosa, arginina, lisina propuesto por Dudley et al (60), el agar oxalato sódico de Soltész et al (61) y el agar cefsulodin, irlgasan, novobiocina diseñado por Schiemann (CIN) (62).

También se han recomendado diversos medios de enriquecimiento entre ellos el medio de selenito F (63), caldo gramnegativos, el medio de Rappaport modificado por la adición de carbenicilina (1 mg/l) y el enriquecimiento en frio a 4-6°C durante 3 semanas en tampón fosfato cuando se asume como en las heces que la muestra aporta suficientes nutrientes o alternativamente en caldo triptosa. Después de la incubación pueden utilizarse diversos medios poco selectivos como el MacC o muy selectivos como el CIN.

El caldo sorbitol-sales biliares propuesto por Mehlman consiste en una solución tamponada con sorbitol y sales biliares y la modificación propuesta por Aulisio incorpora peptona. Este medio ha sido utilizado para el enriquecimiento de alimentos y aguas (64).

El medio con pectina de Bowen et al. posee fundamentalmente capacidad diferencial siendo escasamente selectivo. El medio de celobiosa arginina-lisina, es un medio poco selectivo, acción que depende del deoxicolato sódico, el medio Y de Soltész incorpora sales biliares deoxicolato sódico y oxalato sódico como elementos selectivos y lactosa como sustrato diferencial. El medio de Schiemann utiliza cefsulodin e irgasan como elementos selectivos y manitol como sustrato diferencial.

Aunque existen numerosos datos acerca de la eficacia del enriquecimiento en frío para la recuperación de yersinias, el incremento en el número de cepas aisladas se hace a expensas de especies o serotipos de Y. enterocolitica considerados no patógenos para el hombre, no obteniéndose incrementos significativos de cepas con Y. enterocolitica 0:3 en casos de enteritis aguda, aunque sí se obtiene un incremento en sujetos convalescientes o sanos (65-68).

Aulisio et al. (69) han propuesto un método para el aislamiento de yersinias consistente en el tratamiento de la muestra, en su caso alimento, con una solución de KOH al 0,5% con cloruro sódico al 0,5%. Este método consigue la decontaminación de las muestras de otras bacterias permitiendo tras un tratamiento breve de 120 segundos, la recuperación de yersinia en cultivo puro, Weissfeld (70) y Sonnenwirth aplicaron con éxito este método a las muestras de heces. Otros autores como Ratnam et al. (71) aunque consideran el método útil no obtienen mejores resultados que con el enriquecimiento en frío, aunque los resultados son más precoces. Es evidente, sin embargo, que la precocidad se ve contrapesada por la laboriosidad del método.

La utilización de sondas para técnicas de hibridación de ADN utilizando fragmentos de restricción plasmidicas es una técnica prometedora para la detección de yersinia que poseen esos fragmentos de ADN específicos de cepas patógenas (72).

#### 4. Diagnóstico serológico.

El interés en el diagnóstico serológico de las infecciones por Y. enterocolitica se inicia alrededor de 1970. Desde la década anterior hasta 1975 las técnicas más utilizadas son las de aglutinación en tubo (tipo Widal) (73), a partir de 1976 y particularmente al inicio de la década actual (1980) se introducen otras técnicas como el radioinmunoanálisis (74-76) y especialmente el enzimoimmunoanálisis (77-81).

Para el diagnóstico de la infección por yersinia hay que señalar que los antígenos seleccionados en cada laboratorio, deben serlo en función de la epidemiología local. En efecto es bien sabido que en Europa se aíslan los serogrupos 03 y 09 de Y. enterocolitica el primero de los cuales se detecta también en Canadá y Japón (así como en otros países) el serotipo 09 se detecta en los países septentrionales de Europa (Finlandia, Escandinavia, Países Bajos) pero no parece detectarse en la Europa Meridional. En U.S.A., por el contrario, se aísla el serogrupo 08 de Y. enterocolitica.

Así pues, aparte la selección de un antígeno específico para un estudio particular, de modo regular deben seleccionarse para el diagnóstico serológico de la infección por Y. enterocolitica antígenos prevalentes en el área geográfica estudiada.

Uno de los primeros estudios serológicos efectuados para el diagnóstico de las infecciones por Y. enterocolitica fue realizado por Winblad, Niléhn y Sternby (82).

Estos autores estudian por técnica de aglutinación, utilizando la cepa "Winblad", aislada por Carlsson et al. en 1964, 431 sueros de donantes de sangre sanos, 1351 pacientes hospitalizados cuyos sueros fueron remitidos rutinariamente para el estudio de serología luética, así como 148 pacientes afectos de enteritis aguda o crónica (colitis ulcerosa), 22 pacientes con enfermedad de Crohn y 95

pacientes apendicectomizados de los que 45 fueron verdaderas apendicitis y el resto ileitis terminal aguda asociada a linfadenitis mesentérica, 8 con formas limitadas de linfadenitis y 17 sin lesiones patológicas.

Los resultados obtenidos pueden resumirse constatando que los autores encontraron títulos más altos en las segundas muestras, del grupo de pacientes con cuadros agudos, con los siguientes resultados: títulos superiores a 1/80 en el 70% de las linfadenitis, con o sin ileitis terminal, 18% en el grupo de apendicectomizados sin lesiones, 15% en los pacientes con verdaderas apendicitis, 5% en los pacientes con enteritis aguda o crónica (Crohn o colitis ulcerosa) y 3% en los pacientes de control (donantes de sangre, controles de lues).

Otro método serológico utilizado ha sido la hemaglutinación pasiva (83-86) y la técnica del inmunoblot (87). Maelland y Digranes (84) han mostrado estudiando 200 sueros de donantes de sangre y de 5 pacientes con infecciones probadas por Y. enterocolitica 0:3, que en la población normal noruega se detectan anticuerpos hemaglutinantes frente a los antígenos 0:3 y 0:9 hasta títulos de 1/512 (0:3: títulos de 1/4 ó 1/8, en 14 personas 1/16-1/32, en 103; 1/64-1/128 en 73; 1/256-1/512 en 10 personas 0:9: títulos de 1/4-1/8 en 37 personas; 1/16-1/32 en 123; 1/64-1/128 en 38; 1/256-1/512 en 2 personas). Los sueros de los pacientes frente a 0:9 varían de 1/32 a 1/256 y frente a 0:3 (serotipo infectante) de 1/512 a 1/2048.

Estos autores fueron capaces de demostrar, sin embargo, que los anticuerpos frente a 0:9 y 0:3 de los donantes podían ser adsorbidos en prácticamente la totalidad de los casos por el antígeno común de las enterobacterias, obteniéndose en todos una buena especificidad de la prueba.

## 5. Marcadores de patogenicidad

Los mecanismos de patogenicidad en Y. enterocolitica no son conocidos en profundidad. Sin embargo, una serie de caracteres fenotípicos codificados por un plásmido de 45 Md se asocian a la patogenicidad. La pérdida de dicho plásmido y por tanto de los caracteres que codifica da lugar a bacterias desprovistas de patogenicidad.

Esos caracteres fenotípicos son un antígeno proteico denominado Vw (88,89), que en la actualidad se considera formado por una única proteína, V de 40.000 d, ya que el supuesto antígeno W descrito como una lipoproteína de 140000 d correspondía en realidad a un lipopolisacárido (90), un conjunto de polipéptidos de la membrana externa denominados YOPs (Yersinia Outer Proteins) de los que se han descrito hasta veinte en la actualidad (91).

La demostración de la presencia de los factores de patogenicidad puede hacerse por diversos métodos, unos directos detectando la presencia del plásmido Vw por electroforesis, la producción de la proteína V por precipitación en gel o de las proteínas denominadas YOPs por diversas técnicas como la electroforesis o western blot. Sin embargo, estos métodos son poco útiles en el estudio rutinario de la patogenicidad debido a la complejidad de las técnicas involucradas.

Existen pruebas indirectas de la presencia del plásmido Vw y de los caracteres fenotípicos que codifica. Entre ellos los más utilizados son la calcio dependencia (92-95) y la autoaglutinación (96-102).

La calcio dependencia es un fenómeno de inhibición del crecimiento que se da en las cepas portadoras del plásmido de patogenicidad por el cual se inhibe su crecimiento en ausencia de calcio a 37°C en tanto que crecen bien a esa temperatura cuando existe

suficiente cantidad de calcio en el medio. Esta dependencia no se produce a 28°C, temperatura a la que se produce crecimiento de las células Vw<sup>+</sup>.

Otro fenómeno dependiente de dicho plásmido es el de la autoaglutinación de las células Vw<sup>+</sup> que se produce cuando son cultivadas a 37°C y no a 28°C en un medio líquido como el de Clark y Lubs.

Ambas pruebas han sido empleadas como criterio de patogenicidad de las cepas aisladas y se correlacionan con la capacidad patógena "in vivo".

Recientemente Kandolo y Wauters (103) han demostrado que la actividad pirazinamidasa a 28°C se asocia a las cepas no patógenas en tanto que las patógenas carecen de este fenotipo.

La producción de ácido pirazinoico por acción de la pirazina carboxilamidasa puede detectarse en un medio con pirazinamida en presencia de sales ferrosas.

Un hecho interesante de este fenómeno es que la presencia del fenotipo negativo en los grupos patógenos no se modifica por la pérdida del plásmido Vw. Por el contrario la inclusión de un plásmido de patogenicidad en una cepa apatógena tampoco modifica su carácter de positividad previa.

En base a los estudios clínicos y de patogenicidad experimental y su correlación con los factores señalados se han determinado como patógenos los siguientes bioserotipos: Y. enterocolitica, biotipo 1 (cepas esculina negativas), serogrupos: 08; 013a,13b; 018; 020; 021; 04,32; biotipo 2 serogrupos: 09 y 05,27; biotipo 3 serotipo 01,2,3 y 05,27 y biotipo 4 serogrupo: 03. (Tabla 13).

Y. enterocolitica

<u>Biotipo</u>	<u>Serogrupo</u>
1	4,32; 8; 13a,13b; 18; 20; 21*
2	5,27; 9
3	1,2,3; 5,27
4	3

Tabla 13

Serogrupos patógenos de Y. enterocolitica.

\* Cepas esclulina negativa

## 6. Sensibilidad a los antibióticos

La mayoría de las cepas de Y. enterocolitica son resistentes a las penicilinas y cefalosporinas por producción de beta-lactamasas. También son resistentes a eritromicina, bacitracina y novobiocina, antibiótico que se ha incorporado con el cefsulodin a algunos medios selectivos (CIN) (104-107).

Esta especie es sensible a ceftazidima, moxalactam y N-formimidoil-tienamicina (108-117).

Por el contrario la mayoría de las cepas son sensibles a cloramfenicol, y tetraciclinas, que constituye uno de los medicamentos de elección en las infecciones de localización entérica, aminoglicósidos que constituyen con el cloramfenicol los medicamentos de elección de las formas septicémicas y al co-trimoxazol que también se utiliza en las infecciones entéricas (118).

Se ha señalado la mayor sensibilidad de Y. kristensenii a ampicilina y carbenicilina, como carácter diferencial respecto a otras especies de Yersinia (119,120).

## 7. Manifestaciones clínicas

Yersinia enterocolitica puede causar cuadros de enterocolitis, adenitis mesentérica, ileitis terminal, artritis reactiva, eritema nodoso y septicemias con abscesos hepatoesplénicos (121-132). Las formas clínicas de las infecciones por Y. enterocolitica varían según la edad, sexo y estado inmunitario del huésped (Tablas 14 a 16).

Se han descrito casos de portadores asintomáticos y se han publicado brotes epidémicos (133-136), intrafamiliares (137-139) o nosocomiales (140,141).

Gastroenteritis.- Es la manifestación clínica más frecuente (121-128,142) de la infección digestiva por Y. enterocolitica, que aparece en el 50-60% de los casos. Suele afectar con mayor frecuencia a lactantes y niños de menos de 5 años (edad media 24 m) sin que haya diferencias significativas en cuanto al sexo.

Este cuadro a menudo indistinguible del causado por otros enteropatógenos enteroinvasivos como Shigella o Salmonella se caracteriza por fiebre (40%), diarrea (80-90%) y dolor abdominal (25-70%). Ocasionalmente aparecen náuseas y/o vómitos).

El período de incubación, tras la contaminación oral, oscila entre 3 y 10 días. En general el inicio de la diarrea es muy agudo, con 6-8 deposiciones al día, casi siempre líquidas y que a veces se acompañan de moco o sangre (10-25%) y leucocitosis fecal (60-80%).

Durante los primeros días es frecuente la presencia de fiebre (38-38.5%) y de dolor abdominal difuso o localizado en epigastrio o fosa ilíaca derecha.

Una característica que la distingue de otras gastroenteritis (143) es la duración relativamente prolongada de la diarrea. Aunque la

Edad	Clínica
5 años	Gastroenteritis
5-15 años	Adenitis mesentérica
10-20 años	Ileitis terminal
Adultos	Gastroenteritis Eritema nodoso Artritis reactivas

Tabla 14

Presentaciones clínicas de la infección por Y. enterocolitica relacionadas con la edad.

	Mujeres	Hombres
Gastroenteritis	+	+
Ileitis terminal	+	+
Adenitis mesentérica	±	++
Artritis reactivas	++	+
Eritema nodoso	++	-

Tabla 15

Presentaciones clínicas de la infección por yersinia relacionadas con el sexo.

## HUESPED SANO

---

### Formas clínicas:

- . Gastroenteritis
- . Adenitis mesentérica
- . Artritis reactivas
- . Eritema nodoso

## HUESPED CON ENFERMEDAD DE BASE

---

(Diabetes, leucosis, hemocromatosis, insuficiencia renal, cirrosis, hemopatías: talasemia, aplasia, anemia).

### Formas clínicas:

- . Septicemias
  - . Abscesos hepatoesplénicos
- 

### Tabla 16

Formas clínicas de la infección por Y. enterocolitica según la ausencia o presencia de enfermedad de base.

intensidad y duración de los síntomas es variable (de una a tres semanas) casi siempre el cuadro se autolimita y resuelve espontáneamente en 6-10 días. Ocasionalmente y una vez resuelta la diarrea puede persistir el dolor abdominal durante 1 mes. Excepcionalmente se han descrito casos de diarreas crónicas (144) y de enteritis con úlceras intestinales múltiples (143), perforaciones y peritonitis.

En niños desnutridos, con talasemia o disfunción esplénica la gastroenteritis puede complicarse con sepsis y/o abscesos metastásicos.

El diagnóstico microbiológico se basa en el aislamiento de Y. enterocolitica a partir del coprocultivo. En las enteritis causadas por el serotipo 0:3 puede ser útil el estudio serológico. Las seroaglutinaciones se positivizan al cabo de 6-10 días después del inicio de la infección, alcanzan su título máximo a las 2-3 semanas y posteriormente disminuyen progresivamente durante los meses siguientes incluso si el paciente continua eliminando Y. enterocolitica en las heces.

La excreción fecal de Y. enterocolitica puede durar semanas después de la remisión de los síntomas. Sin embargo, no se han descrito portadores asintomáticos prolongados o crónicos.

Ileitis terminal.- Esta forma clínica que simula una enfermedad intestinal inflamatoria crónica (145) suele presentarse en adolescentes o adultos jóvenes. Se caracteriza por diarrea aguda o crónica acompañada de dolor abdominal, que persiste o remite con exacerbaciones durante semanas o meses. En estos casos el colon y el ileon terminal pueden estar afectados por lesiones (146) que tanto radiológicamente como endoscópicamente pueden confundirse con la enfermedad de Crohn (146-149). Los estudios radiológicos con bario (150,151), de las ileitis por Yersinia demuestran un

engrosamiento difuso de los pliegues de la mucosa con defectos nodulares de llenado y úlceras que se extienden en los 10-20 cm de ileón terminal. En contraste con la enfermedad de Crohn no hay estenosis fibróticas ni formación de fístulas.

El diagnóstico de la ileitis por Yersinia se basa en el aislamiento del microorganismo de las heces o de la biopsia intestinal o en la detección de anticuerpos específicos en el suero.

El seguimiento a largo plazo de los pacientes con ileitis por Yersinia enterocolitica diagnosticada microbiológica o serológicamente no ha demostrado que evolucione hacia una enfermedad de Crohn; y al contrario, los pacientes con enfermedad de Crohn no tienen evidencia microbiológica ni serológica de infección por Yersinia (149). Sin embargo, las dos enfermedades pueden darse simultáneamente y las infecciones intercurrentes por Yersinia enterocolitica, al igual que las producidas por otros enteropatógenos, pueden desencadenar nuevos brotes en los pacientes con enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa (145).

Adenitis mesentérica.- Este cuadro, a menudo indistinguible de una apendicitis aguda (152-154) es más frecuente en niños mayores o adolescentes del sexo masculino. En general se caracteriza por dolor abdominal en fosa ilíaca derecha (155), con fiebre alta y leucocitosis con desviación a la izquierda. La enfermedad puede iniciarse con síntomas inespecíficos; cefalea, fiebre, artralgias o diarrea seguido de dolor abdominal difuso que al cabo de horas o pocos días se localiza en fosa ilíaca derecha. A la exploración física, la palpación del punto de McBurney es dolorosa con hipersensibilidad de rebote. En algunos casos puede palparse una masa dolorosa en esa zona que puede orientar el diagnóstico (forma pseudotumoral). Sin embargo, la mayoría de las veces se diagnostica de apendicitis y se efectúa una laparotomía (156). En estos casos el apéndice casi siempre es normal o un poco enrojecido

con el ciego e ileón terminal inflamados, edematosos e hiperémicos. Los ganglios mesentéricos ileocecales suelen estar muy aumentados de tamaño e inflamados así como el mesenterio que les rodea. También puede encontrarse líquido libre en poca cantidad en la cavidad peritoneal.

El estudio histopatológico de los ganglios muestra una inflamación aguda con hiperplasia folicular y a veces con microabscesos.

El diagnóstico específico puede hacerse por aislamiento del microorganismo directamente de la biopsia del ganglio y/o de las heces. También es útil el diagnóstico serológico.

Artritis.- En los últimos años se han descrito múltiples casos de artritis no purulentas en individuos jóvenes asociadas a la infección por Yersinia enterocolitica (34, 157-159). De hecho en algunos países, parece ser una de las causas principales de artritis reactivas. Sin embargo, su frecuencia es muy variable en distintas áreas, así es frecuente en los países escandinavos y es raro en G. Bretaña o en los Estados Unidos. La artritis reactiva por Yersinia al igual que las producidas por Salmonella o Shigella y que todas las artritis seronegativas (espondilitis anquilopoyética, artritis psoriásica, síndrome de Reiter, etc. ) se asocia con mayor frecuencia al antígeno de histocompatibilidad HLA-B27.

En Finlandia se ha visto que el 80% de los pacientes con artritis por Yersinia son HLA B-27 positivos, lo que significa que los individuos con dicho antígeno tienen un riesgo de desarrollar artritis 25 veces superior que los individuos HLA-B27 negativos (159).

También se ha visto que los pacientes HLA B27 negativos con artritis, tienen los síntomas más leves, durante menos tiempo, se afectan menos articulaciones y raramente presentan manifestaciones

extraarticulares (conjuntivitis, uretritis y carditis). Al contrario los pacientes con artritis por Y. enterocolitica asociada al eritema nodoso casi nunca tienen el HLA-B27 positivo.

La mayoría de los casos con artritis por Yersinia refieren haber presentado previamente (de 1 a 6 semanas) un cuadro diarreico acompañado de otros síntomas generales como astenia, fiebre o febrícula, cefalea, artromialgias, dolores abdominales y que muchas veces se confunden con un cuadro gripal.

El inicio de la clínica articular suele ser agudo y se acompaña de fiebre y una poliartritis asimétrica que puede afectar caderas, rodillas, tobillos, dedos y muñecas. Puede ser monoarticular (160) pero lo más frecuente es que se afecten dos o más articulaciones simultánea o sucesivamente en un período que va de los 2 a los 20 días (161-163).

Clínicamente se manifiesta con dolor e impotencia funcional de las articulaciones afectadas, que pueden estar tumefactas y con calor local. Es frecuente la aparición de un derrame articular que muestra una pleocitosis discreta ( $< 25.000 \text{ cels/mm}^3$ ) con un 60-90% de polimorfonucleares. Además de los síntomas inflamatorios de las articulaciones con artritis, no es raro que los pacientes refieran artralgias en varias articulaciones y que pueden ser migratorias.

Los pacientes con artritis por Y. enterocolitica pueden presentar concomitantemente otras manifestaciones extraarticulares en general de buen pronóstico. Así, un 5-10% pueden presentar carditis benignas (164), iritis y/o conjuntivitis en el 10-15% (165) y anomalías nefrourológicas en el 5-20%. Aproximadamente un 5% de los pacientes desarrollan un síndrome de Reiter (artritis, conjuntivitis y uretritis) durante la fase aguda de la artritis (166-168). El eritema nodoso se asocia en un 4-10% de los casos (159).

Los síntomas de la artritis persisten unas 4 semanas (60%) y en algunos casos (20-30%) pueden durar hasta 4 meses o más. Las artralgiyas prolongadas son frecuentes y algunos pacientes pueden presentar nuevos brotes de artritis reactivas en los meses o años sucesivos.

El diagnóstico definitivo se basa en el aislamiento del microorganismo o la aparición de anticuerpos específicos (169-170). El coprocultivo puede ser positivo incluso en ausencia de diarrea durante las 2 primeras semanas del inicio de los síntomas. El cultivo del líquido sinovial nunca es positivo.

Los anticuerpos específicos aparecen a los pocos días del inicio del cuadro y generalmente desaparecen entre los 2 y 6 meses (80).

Eritema nodoso y otras manifestaciones cutáneas.- Las lesiones características del eritema nodoso pueden aparecer concomitantemente o al cabo de unos días de un síndrome febril acompañado o no de gastroenteritis o dolor abdominal (34). Las lesiones eritematosas nodulares y dolorosas (171) suelen localizarse en las piernas y brazos pero también pueden afectarse las manos, pies y cuello. Es frecuente que se acompañe de artralgiyas y puede asociarse a artritis reactiva (4%) (153,159).

El eritema nodoso es más frecuente en el sexo femenino y el 50% de los casos aparece en edades superiores a los 40 años (171). En general, se resuelve antes de un mes aunque en algunos casos puede recidivar.

El diagnóstico es básicamente serológico o más raramente por aislamiento de Y. enterocolitica a partir del coprocultivo.

También se han descrito otras manifestaciones cutáneas como rash maculo-papular, eritema multiforme en el curso de una infección por Y. enterocolitica (172,173).

Septicemia.- Las sepsis por Y. enterocolitica son raras y se han descrito casi exclusivamente en pacientes inmunodeprimidos (diabetes, cirrosis hepática, hemopatías, neoplasias, leucosis, hemocromatosis, ancianos) (174-179).

Esta forma clínica, que es la más grave con una mortalidad del 50% puede manifestarse como una sepsis aguda con fiebre alta (180), dolor abdominal y diarrea, a veces muy parecida a una fiebre tifoidea. Es más frecuente la aparición de metástasis sépticas hepáticas, esplénicas (181,182), urinarias, pleurales (183), osteoarticulares (184) o meningocerebrales. El diagnóstico etiológico en estos casos se basa en el aislamiento de Y. enterocolitica del hemocultivo y del pus de los abscesos metastásicos.

Manifestaciones poco frecuentes.- Se han descrito epidemias de faringoamigdalitis purulentas (185) en las que se ha aislado Y. enterocolitica del frotis faríngeo o de la biopsia amigdalina (186).

Otras afectaciones más raras son miocarditis (121,187), endocarditis (188,189), uretritis (121), glomerulonefritis (121,190), mielitis y polineuritis (191), linfadenitis supurada (192,193), neumonía y absceso pulmonar (194), peritonitis (195), hepatitis (196,197), vulvovaginitis (198).

La manifestación más frecuente de la infección por Y. pseudotuberculosis en el hombre es la adenitis mesentérica (199-201) con clínica de pseudoapendicitis (202,203). También puede causar eritema nodoso, poliartritis y más raramente gastroenteritis. Las formas septicémicas (204-206) al igual que las producidas por Y. enterocolitica son muy graves con una mortalidad del 75% y aparecen casi exclusivamente en los pacientes con una enfermedad de base inmunosupresora.

## 8. Tratamiento

Y. enterocolitica suele ser sensible in vitro a los aminoglucosidos, cloramfenicol, tetraciclinas, cotrimoxazol y cefalosporinas de tercera generación. Casi siempre es resistente a penicilina, ampicilina, carbenicilina y cefalosporinas de primera generación.

El tratamiento antibiótico en las infecciones por Y. enterocolitica está muy controvertido ya que en general suelen ser autolimitadas y evolucionan independientemente del tratamiento. De hecho aunque se han descrito éxitos terapéuticos con diversos regímenes, la droga de elección no se ha establecido y no existen estudios controlados que demuestren una mayor eficacia con uno u otro antibiótico o sin ellos (126).

Las formas más frecuentes de yersiniosis, la gastroenteritis aguda (207,208) y la adenitis mesentérica a menudo son leves y autolimitadas y no requieren tratamiento. En los casos crónicos o más severos se han utilizado tetraciclinas o cotrimoxazol con buenos resultados (209-213).

El tratamiento de las artritis reactivas o el eritema nodoso es básicamente sintomático ya que parece ser que el tratamiento antibiótico no varia su evolución. Los síntomas articulares se alivian con antiinflamatorios no esteroideos y con el reposo (211,213).

Los pacientes con una sepsis por Y. enterocolitica deben tratarse con antibióticos ya que a menudo están inmunodeprimidos y la mortalidad en esta forma de la infección es alta (50%). Aunque no hay un tratamiento de elección se recomienda utilizar gentamicina (5 mg/Kg/día), cloramfenicol (50 mg/kg/día) o una cefalosporina de tercera generación (214). Los casos complicados con abscesos sépticos deben drenarse quirúrgicamente (211-213).

Y. pseudotuberculosis es sensible in vitro a ampicilina, tetraciclinas, cloramfenicol, cefalosporinas y los aminoglucosidos. Aunque probablemente no es necesario tratar los pacientes con adenitis mesentérica se recomienda tratar los pacientes con septicemia con ampicilina 200 mg/kg/día o estreptomina 20-30 mg/kg/día o tetraciclinas 20-30 mg/kg/día (211,212).

### III. Trabajo experimental.

## 1. Material y métodos

## 1. Material y métodos.

### Estudio epidemiológico.

Para conocer la epidemiología de Yersinia se han practicado aislamientos a partir de muestras fecales de controles sanos, de pacientes afectos de enteritis y de diversos animales, así como de alimentos y del medio ambiente particularmente hábitats acuáticos.

#### Epidemiología humana.

Controles sanos. En 208 personas asintomáticas se estudió la incidencia de Yersinia en muestras fecales por técnicas directas.

Pacientes con enteritis. Desde abril de 1983 hasta diciembre de 1984 se ha estudiado la incidencia de Yersinia en 5199 pacientes afectos de enteritis aguda por coprocultivo, según las técnicas descritas más abajo.

#### Epidemiología animal.

En 554 animales se estudiaron muestras fecales para la detección de Yersinia. Dado el interés epidemiológico del estudio se utilizó únicamente técnica de enriquecimiento.

Los animales estudiados fueron, aves: 50 gallinas, 120 palomas; mamíferos: 74 vacas, 110 cerdos, 100 conejos, 110 perros y 220 micromamíferos ( Arvicola terrestris 85; Apodemus sylvaticus 57; Rattus norvegicus 52; Mus musculus 10; Arvicola sapidus 8; Mus spetrus 6; Crocidura russulae 2).

## Epidemiología en alimentos.

Se estudiaron 66 muestras de alimentos vegetales aportados por voluntarios de frigoríficos domésticos incluyendo: tomates, lechugas, rábanos, judías verdes, coles, zanahorias, apíos, puerros y pimientos.

Ante la gran diversidad de material estudiado, se efectuaron mezclas de los productos provenientes de cada frigorífico y se guardaron congeladas muestras originales con el objeto de repetir individualizadamente la prueba caso de aislar cepas de las que interesara conocer su procedencia exacta.

Se estudiaron también diversas muestras de carnes incluyendo 24 de pollo, 19 de vacuno, 6 de ovino y 34 de porcino, así como 125 muestras de lengua de cerdo las cuales no eran de origen doméstico como las anteriores sino de mataderos.

También se han estudiado 25 muestras de pescados y crustáceos: merluza 7, calamar 7, rape 6, salmonetes 1, gambas 1, y cigalas 3.

## Epidemiología del medio ambiente.

En este trabajo se hace referencia a los resultados obtenidos en 106 muestras de aguas provenientes de un estudio de contaminación ambiental realizado en la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Biología de la Universidad de Barcelona (16).

Todos estos datos se recogen en la tabla 17.

Tipos de muestra	Número estudiado
<u>Humanos (heces)</u>	
Pacientes	5199
Controles sanos	208
<u>Animales (heces)</u>	
Aves	
Gallinas	50
Palomas	120
Mamíferos	
Vacas	74
Cerdos	110
Conejos	100
Perros	110
Micromamíferos	220
<u>Alimentos</u>	
Vegetales	66
Carnes	208
Pescados	25
<u>Telúricas</u>	106
TOTALES	6596

Tabla 17. Tipo y número de muestras estudiadas.

### Técnicas de aislamiento.

Antes de iniciar el trabajo de campo se realizó una evaluación de la eficacia de los medios de MacConkey (MacC), agar salmonela-shigela (SS) medio de cefsulodin-irgasan-novobiocina (CIN) así como de técnica de tratamiento con álcali (KOH) para el aislamiento de Yersinia en coprocultivos inoculados experimentalmente.

### Evaluación de los medios de cultivo de la técnica de tratamiento con alcali.

Cepas utilizadas. Se han utilizado diez cepas de origen humano. Nueve pertenecen a la especie Y. enterocolitica serogrupo 3, cinco de las cuales corresponden al biotipo 4, lisotipo VIII, no habiéndose determinado el biotipo en las cuatro restantes. La cepa de Y. pseudotuberculosis corresponde al serogrupo I.

Muestras experimentales. Se han separado heces formes recibidas en el laboratorio cuyo coprocultivo convencional para salmonela, shigela, yersinia, vibrio y campilobacter fue negativo y daban lugar a un crecimiento abundante y variado en medio de MacC.

Se han mezclado tres o más de éstas para preparar una muestra experimental de consistencia líquida añadiendo 100 g de la mezcla de heces a 600ml de solución salina fisiológica (SSF). La suspensión se ha repartido en tubos de 22 x 220 mm a razón de 9 ml. por tubo.

A lo largo de la experiencia se han preparado por el método señalado tres lotes de heces. No existían diferencias obvias entre los lotes aunque no fueron objeto de estudio cualitativo ni cuantitativo respecto a la flora existente.

Cada una de las diez cepas a estudiar se ha incubado 18 horas a 37°C en caldo triptona, diluyéndose posteriormente en 9 ml de SSF

a  $10^{-1}$  y efectuando pases sucesivos de 1 ml a partir de esa dilución a cuatro tubos conteniendo 9 ml de SSF obteniéndose diluciones de  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ . De cada uno de estos tubos se ha pasado 1 ml a los tubos conteniendo 9 ml de muestra de heces, obteniéndose en los mismos concentraciones de  $10^{-2}$  a  $10^{-6}$  del cultivo original de cada cepa.

Preparación del KOH. Se ha utilizado una solución de KOH (Probus) al 0'5% en SSF. La solución se ha preparado el mismo día de su utilización.

Preparación de los medios de cultivo. Los medios utilizados Mac Conkey (Difco Ref: 0075-01-9), Salmonella-Shigella Agar (Difco Ref. 0074-01-0), Cefsulodin-irgasan-novobiocina preparado a partir de Yersinia Selective Agar Base (Oxoid CM 653) y Yersinia Selective Supplement (Oxoid SR 109) y Tryptone Soya Broth (Oxoid CM129), se han preparado siguiendo las instrucciones del fabricante.

Técnica de trabajo. De cada uno de los cincuenta tubos inoculados artificialmente (10 cepas x 5 diluciones) se han tomado dos muestras de 1 ml que se han introducido en sendos tubos de 12 x 120 mm. A uno de los tubos se le ha añadido 2 ml de SSF sembrándose, tras agitación, con asa calibrada en los medios de McC, SS y CIN. Al otro tubo se ha añadido 2 ml de la solución de KOH. Se ha agitado durante 90 segundos y se han sembrado con pipeta un volumen de 0,01 ml los mismos medios de cultivo.

Las placas se han incubado 24 horas a 37°C y 24 horas adicionales a 22°C, practicándose la lectura de las mismas a las 48 horas de su siembra.

Se han estudiado tres colonias por cada placa.

Los resultados se han comparado y evaluado estadísticamente por el método de la ji-cuadrado.

### Aislamientos de origen humano (heces).

Se efectuaron siguiendo el método convencional de nuestro laboratorio sembrando las heces en MacConkey (Mac C), agar xilosa-lisina-deoxicolato (XLD), agar salmonela-shigela (SS) medio de cefsulodin-irgasan-novobiocina (CIN) y por enriquecimiento en caldo triptosa incubado durante 3 semanas en la nevera a 4-6°C, seguido de centrifugación a 3000 rpm durante 15 minutos y tratamiento con álcali (ver más arriba).

La muestra tratada con KOH se sembró en medio de MacConkey.

En técnica directa (MacC, XLD, SS y CIN) se estudió una colonia de cada tipo morfológico, compatible con Yersinia. A partir del enriquecimiento (CT 4°C. MacC) se estudiaron todas las colonias morfológicamente diferentes.

En los controles sanos solo se estudiaron las muestras de heces por siembra directa.

### Aislamientos de muestras animales, alimentos y medio ambiente.

Las heces de origen animal se procesaron por la misma técnica de enriquecimiento utilizada para las heces humanas.

Los alimentos se homogenizaron por trituración y se sembraron en proporción de 1/10 (v/v) en caldo triptona enriqueciéndose por cultivo en frío y tratándose según el método señalado (KOH).

Las muestras de agua se procesaron en volúmenes de 100 ml que se centrifugaron a 3000 rpm durante 30 m. El sedimento se resuspendió en 200 ml de caldo triptosa tamponado incubándose a 4-6°C durante 3 semanas. De este cultivo se toman 15 ml que se centrifugan a 3000 rpm durante 20 minutos y el sedimento se trata con álcali según la técnica señalada.

### Identificación bacteriana.

Las cepas aisladas fueron identificadas en base al estudio de sus caracteres bioquímicos que incluyen: 1) oxidasa, 2) nitrataza, 3) fermentación de la glucosa, 4) producción de gas a partir de la glucosa 5) movilidad a 37°C, 6) movilidad a 28°C, 7) Voges-Proskauer a 37°C, 8) Voges-Proskauer a 28°C, 9) ureasa, 10) fenilalanina-desaminasa, 11) producción de SH<sub>2</sub>, 12) gelatinasa, 13) lisina decarboxilasa, 14) ornitina decarboxilasa, 15) arginina dehidrolasa, 16) citrato de Simmons, 17) producción de indol, 18) DNAsa, 19) pectinasa, 20) utilización de malonato, y 21) mucato, 22) prueba de ONPG, producción de ácido a partir de la 23) lactosa, 24) maltosa, 25) celobiosa, 26) trealosa, 27) sorbitol, 28) sacarosa, 29) ramnosa, 30) rafinosa, 31) alfa metil glucósido, 32) melibiosa, 33) xilosa y 34) producción de pigmento en TSA (Tabla 18). Todas estas pruebas se han realizado según técnicas estandarizadas (215-217) previamente descritas.

Estos caracteres permiten identificar las especies de Yersinia y sus biotipos.

Las cepas de serotipo 0:3 fueron tipadas en nuestro laboratorio con un antisuero preparado por nosotros con la cepa de referencia Y. enterocolitica 0:3 (134 I. Pasteur). El serotipo y lisotipo de las demás cepas aisladas fue determinado por FF. Mollaret en el Centro Internacional de Referencia de Yersinia (I.P. París).

Pruebas realizadas:

Oxidasa  
Nitrataasa  
Fermentación de la glucosa  
Producción de gas en glucosa  
Movilidad a 37°C y 28°C  
Voges-Proskauer a 37°C y 28°C  
Ureasa  
Fenilalanina-deaminasa  
Producción de SH<sub>2</sub>  
Lisina-decarboxilasa  
Ornitina-decarboxilasa  
Arginina-dehidrolasa  
Gelatinasa  
DNA asa  
Lipasa  
Pectinasa  
Producción de indol  
Crecimiento en citrato de Simmons  
Utilización de malonato  
Utilización de mucato  
Prueba de la ONPG  
Acido a partir de:  
Lactosa  
Maltosa  
Celobiosa  
Trealosa  
Sorbitol  
Sacarosa  
Ramnosa  
Rafinosa  
Alfa-metilglucósido  
Melibiosa  
Xilosa  
Producción de pigmento

Tabla 18. Identificación metabólica de las cepas de Yersinia.  
Pruebas utilizadas.

### Estudio de los caracteres asociados a patogenicidad.

Las cepas aisladas se sometieron a estudio de algunos caracteres correlacionados con la capacidad patógena: 1) crecimiento en medio con oxalato, 2) autoaglutinación y 3) presencia de pirazinamidasas.

El trabajo se ha efectuado de modo secuencial estudiando la calcio dependencia y evaluando la autoaglutinación y presencia de pirazinamidasas a partir de dos colonias grandes y dos pequeñas cuando aparecía disociación y dos colonias cuando no existía disociación.

Prueba de crecimiento del medio con oxalato (92).- Se siembra por duplicado con asa calibrada alrededor de 100 células bacterianas en dos placas de MOX (Magnesium Oxalate Medium) modificado (Blood agar base (Oxoid, Ref. CM55) 40 g, agua destilada 830 ml. Esterilizar a 121°C 15 minutos, añadir estérilmente 80 ml de solución de cloruro magnésico (Magnesium chlorid Merck 5833) a 2,38 g/100 ml, 10 ml de solución de glucosa (D-glucose monohydrat. Merck 8342) 18 g/100 ml y 80 ml de solución de oxalato sódico (Merck 6555) a 4,4 g/100 ml. Repartir en placas a razón de 25 ml por placa).

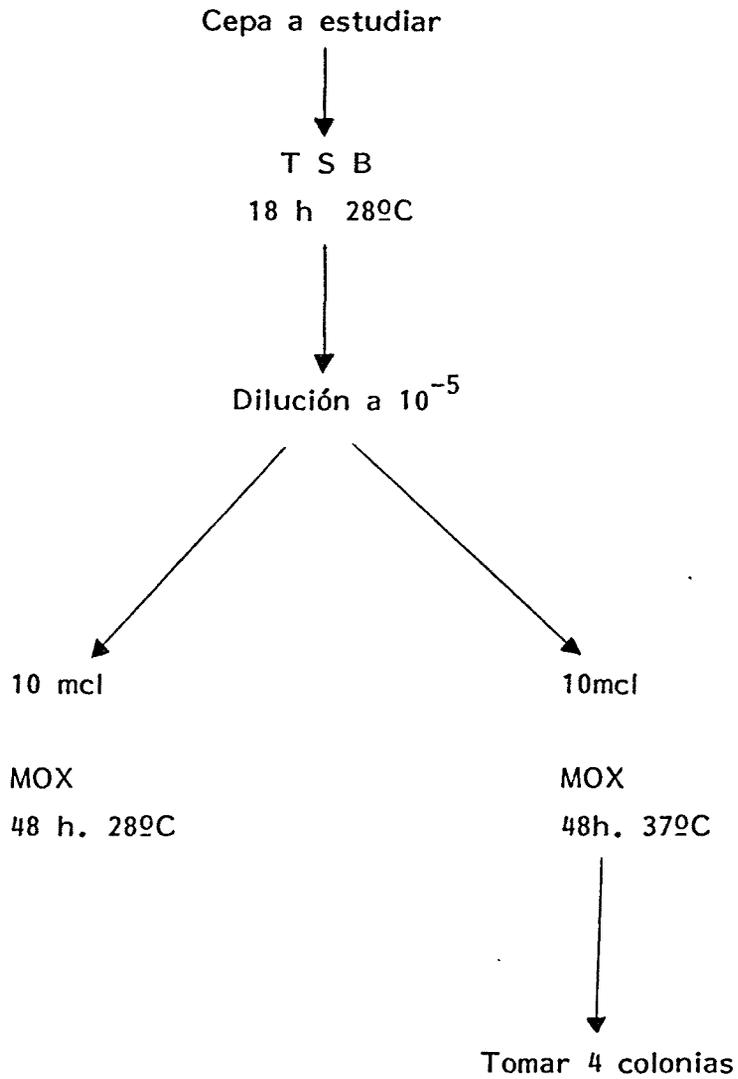
Se incuban a 37°C y 28°C durante 48 horas. La aparición de un número significativamente menor de colonias o la marcada disminución del tamaño a 37°C en relación a 28°C se considera como calcio dependencia.

Autoaglutinación (98). Se suspende cada colonia a estudiar en 4 ml de solución salina (CINa al 0,9% p/v) y se inoculan 0,2 ml de esta suspensión en dos tubos con 10 ml de medio de Clark y Lubs. (MR-VP medium, Difco 0016-02-0)

Se incuban a 37°C y 28°C durante 18 horas y se observa el patrón de crecimiento para detectar autoaglutinación. La prueba es positiva cuando la autoaglutinación aparece a 37°C y no a 28°C.

Estudio de la pirazinamidasasa (103). Se siembra la pendiente del medio para estudio de la pirazinamidasasa (Trypticase Soy Agar BBL 11043 30 g., Yeast Extract Oxoid L21 3g., pyrazine carboxamide Merck PY021 1g., Trizma Maleate Sigma T3128 0,2M pH 6, Agua destilada 1000ml. Se reparte en tubos a razón de 5 ml por tubo, se esteriliza a 115°C 20 minutos y se solidifica inclinado).

Se incuba 48 horas a 28°C. Se añade a cada tubo un ml de solución de sulfato ferroso amónico al 1/100 p/v. Al cabo de 15 minutos se lee la reacción. Se considera acción pirazinamidasasa positiva la aparición de un color rojo por presencia de ácido pirazinoico. Tabla 19.



- 1(G) Autoaglutinación, Pirazinamidasa
- 2(G) Autoaglutinación, Pirazinamidasa
- 3(p) Autoaglutinación, Pirazinamidasa
- 4(p) Autoaglutinación, Pirazinamidasa

Tabla 19. Protocolo de trabajo para el estudio de los caracteres asociados a patogenicidad.

TBS: Trypticase Soy Broth, MOX: Magnesium Oxalate Medium. (Ver texto).

## Técnicas serológicas

Obtención del antígeno (218): Para la obtención del antígeno de Y. enterocolítica 0:9 y de Y. enterocolítica 0:3 se han utilizado las cepas de referencia 336 y 134 I.P. del Instituto Pasteur (Paris). Los demás antígenos fueron preparados con cepas aisladas en nuestro laboratorio cuyo serotipo y biotipo fue determinado por H.H. Mollaret en el Centro Internacional de Referencia de Yersinia (I.P., Paris).

De una siembra por agotamiento en agar sangre de estas cepas, se seleccionaron colonias lisas comprobándose que no autoaglutinaban en porta al suspenderlas en una solución salina al 2%. Se sembró un caldo Trypticase de cada cepa que se incubó 48 horas a 28°C. Con el crecimiento obtenido se inocula un frasco Roux con 250 ml de agar de infusión de cerebro y corazón incubándose 48 h a 28°C. Se suspendió el cultivo del frasco de Roux en solución salina estéril hirviéndose al baño maría durante 2 horas y media. Posteriormente se realizaron tres lavados con solución salina estéril centrifugando a 3000 r.p.m. durante 30 minutos. Después del último lavado se desechó el sobrenadante y se resuspendió el sedimento a una turbidez de aproximadamente  $10^9$  células por ml de solución salina estéril formolizada al 0.3%. Se practicó un control de esterilidad. Se conservó en nevera a 4°C.

## Seroaglutinación

La seroaglutinación se ha realizado en placas de microtiter de 96 pocillos con fondo en V (Nunc Demarc). De cada suero se estudian 11 diluciones dobles progresivas en solución salina que abarcan desde la dilución 1/16 hasta la 1/16384 en volúmenes de 50 mcl por pocillo añadiéndose a continuación 50 mcl por pocillo de la suspensión antigénica. Cada placa incluye un control de antígeno en el que los 50 mcl de suero se sustituyen por 50 mcl de solución salina.

En cada análisis se incluyen un suero positivo de título conocido y un suero negativo como control.

Se agitan las placas durante un minuto, incubándose durante 24 horas a 37°C en una cámara húmeda practicándose posteriormente su lectura.

### Fijación de complemento

Marcha de la reacción:

Suero: Una vez absorbidos e inactivados a 56°C 30' se realizan diluciones dobles progresivas de los sueros en placas de microtiter de fondo en U (Nunc Demarc) siendo el volumen final de 25 mcl. Como diluyente de todos los reactivos se utiliza tampón veronal (T.V.).

Como control de suero se ha utilizado una dilución inicial que es de 1/4.

Antígeno: Se dispensa 25 mcl de la suspensión antigénica en todos los pocillos excepto en la columna de control de suero (C.S.) y en la columna de control de complemento (CC'). También se dispensan 25 mcl de la suspensión antigénica en la columna de control de complemento con antígeno (CC'A).

Complemento: Se diluyen el complemento (Behring Rf. RAY 15) en T.V. a la dilución óptima y se dispensan 25 mcl en todos los pocillos.

Control CC'. Se enfrentan 4, 2, 1, 0.5 y 0 DH50 a la mezcla hemolítica sustituyendo el antígeno y el suero por T.V.

Control CC'A. Igual que el control CC' pero dispensando antígeno en todos los pocillos.

Una vez dispensados el suero, el antígeno y el complemento se agita la placa durante 1 minuto en un microagitador y se incuba toda la noche a 4°C.

Mezcla hemolítica: Los hematíes de carnero se lavan tres veces con T.V. y se ajustan al 2% según hematocrito.

La hemolisina (Behring Ref. RAY 25) se diluye a la dilución óptima con T.V.

La sensibilización de los hematíes se realiza mezclando a partes iguales la hemolisina y los hematíes de carnero, se dejan 30 minutos a temperatura ambiente y se incuban toda la noche a 4°C.

Al día siguiente se lleva la mezcla hemolítica al baño de 37°C y la placa a la estufa de 37°C durante 30 minutos. Se dispensan 25 mcl de la mezcla hemolítica en todos los pocillos, se agita durante 1 minuto en el microagitador y se incuba a 37°C durante 30 minutos, agitando 1 minuto en la mitad de la incubación. Posteriormente se incuba la placa a 4°C hasta la lectura que se realiza transcurridas de 2 a 4 horas.

Titulación del complemento, hemolisina y antígenos: La titulación del complemento y hemolisina se efectúa utilizando, en las proporciones señaladas y al volumen total indicado para la reacción final, diluciones progresivas del complemento que varían de 1/30 a 1/280 según una técnica descrita previamente (219).

Las diluciones utilizadas corresponden a las mayores diluciones de hemolisina y complemento que presentan mayor actividad hemolítica.

Titulación del antígeno: Se efectúa frente a un suero positivo conocido utilizando las dosis de hemolisina y complemento previamente valoradas. Se efectúan series de reacción con dicho suero utilizando diluciones progresivas de antígeno puro ( $\approx 10^9$  células/ml) desde 1/4 a 1/128. Los antígenos de Yersinia se han utilizado a la dilución 1/16.

Tratamiento de los sueros: Absorción de los sueros: Los sueros se absorben con hematies de carnero para eliminar posibles aglutininas del suero, que interferirían en la lectura de la reacción.

La absorción de los sueros se realiza dispensando una gota de hematies de carnero (previamente lavados) por ml de suero, se dejan 30 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se centrifugan los sueros a 4000 rpm durante 10 minutos recuperándose el sobrenadante.

En algunos sueros en los que persiste una cierta hemaglutinación a pesar de la absorción descrita se ha realizado una absorción en frío en un intento de eliminar posibles crioaglutininas, ya que en el ensayo de fijación de complemento la incubación de la mezcla hemolítica se realiza a 40°C para ello se añade una gota de hematies de carnero por ml de suero y se deja toda la noche a 40°C, al día siguiente se centrifuga a 4000 rpm durante 10 minutos recuperándose el sobrenadante.

Tratamiento de los sueros anticomplementarios: Los sueros anticomplementarios se trataran por el método de Sachs modificado:

Se toma 0'5 ml de suero a inactivar y se le añade 4'1 ml de N/300 CIH, se agita y se deja 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se centrifuga a 4000-5000 r.p.m. durante 10 minutos y se toma el sobrenadante. Finalmente se añade 0'4 ml de NaCl 10% al líquido sobrenadante. No es necesaria la neutralización.

### Enzimoimmunoanálisis

La técnica empleada utiliza un antígeno particulado y un conjugado de peroxidasa a inmunoglobulinas anti-Ig totales humanas (Miles Yedra LTD. Rf. 61-230).

**Antígeno:** Después de una evaluación entre la técnica de adsorción simple y la fijación por glutaraldehído se ha seleccionado esta última con la que se han obtenido mejores resultados comparativos. Esquemáticamente se colocan 50 mcl de poli-L-lisina a 10 mcg/ml en PBS seguido de 100 mcl de antígeno que en la reacción final se utiliza a una concentración valorada previamente por microscopia óptica para obtener una capa homogénea. Se utilizó 5 mcg/ml (peso seco) en PBS. Posteriormente se añaden 100 mcl por pocillo de glutaraldehído (Sigma G-6257) al 0'5% en PBS que actúa durante 15 minutos lavando después 3 veces en PBS.

**Titulación del conjugado:** Se ha evaluado el título óptimo del conjugado incluyendo a diluciones de 1/3000, 1/6000, 1/12000 y 1/21000 en reacciones frente a un suero positivo y otro negativo incluidos a diluciones dobles progresivas de 1/100 a 1/12800. Se ha considerado óptima la dilución del conjugado que ha positivizado la máxima dilución del suero positivo con el menor fondo en el negativo. La dilución óptima ha sido 1/6000.

**Elaboración de un estándar:** Se ha considerado como estándar a la dilución de un pool de tres sueros positivos cuya D.O.600 a los 20 minutos de incubación sea aproximadamente de 1000. La dilución apropiada del pool de sueros fue de 1/1600. Así pues, este pool ha sido diluido a 1/1600, alicuotado y guardado a -20°C. El estándar se ha introducido en cada placa por duplicado a las concentraciones del 100%, 75%, 50% y 25%. A las D.O.600 obtenidas con estas diluciones se les atribuye arbitrariamente el valor de 100, 75, 50 y 25 unidades/ml respectivamente, obteniéndose una recta de correlación entre absorbancias y unidades por ml.

Mediante la ecuación de la recta se podrán transformar todos los valores de D.O.600 de los sueros problemas a valores de unidades por ml.

Marcha de la reacción:

Fijación del antígeno: El antígeno valorado se resuspende con PBS a la concentración de 5 mcg por ml y se procede a la sensibilización de la placa.

Sensibilización de la placa: se sensibilizan placas de poliestireno (Flat-bottom, Dynatech M-129-B, Switzerland) siguiendo el método de fijación con glutaraldehído.

Bloqueo: Se añaden 200 mcl por pocillo de PBS con 0.05% Tween 20 y 1% de seroalbúmina bovina (PBS-T-S). Se deja incubar 1 hora a temperatura ambiente en cámara húmeda.

Lavado: Se desecha el contenido de la placa y se lava tres veces con PBS-T. Después del último lavado puede congelarse la placa a -20°C hasta su uso.

Adición del suero: Los sueros a estudiar son diluidos con PBS-T-S a las diluciones adecuadas. En nuestro caso se efectúan diluciones dobles progresivas desde 1/200 hasta 1/12800.

Se colocan 100 mcl por pocillo y se deja incubar 2 horas a temperatura ambiente en cámara húmeda. Transcurridas las dos horas se procede al lavado 3 veces con PBS-T.

Adición controles:

En cada placa se ha introducido el estándar por duplicado a las concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%.

También se ha introducido en cada placa un control de conjugado en el cual se añade PBS-T-S en lugar de suero problema. A este control de conjugado se le considera como el blanco de la reacción.

Adición del conjugado: Se diluye el conjugado antiinmunoglobulinas humanas a 1/6000 en PBS-T-S. Se colocan 100 µl por pocillo y se deja incubar toda la noche a 4°C en cámara húmeda. Al día siguiente se procede al lavado, tres veces con PBS-T.

Adición del sustrato: El sustrato se prepara como una mezcla de 3 metil-2-benzotiazolinona hidrazona (Sigma No. M-8006) 0'3646 g/l en tampón fosfato pH 6'25 y ácido 3-dimetilamino-benzoico (Sigma No. D-1643), 13'3 g/l en tampón fosfato pH 7 a cantidades de 10 ml cada reactivo con 5 µl de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% repartiendo 200 µl por pocillo.

Parada de la reacción: La reacción se para añadiendo 50 µl por pocillo de SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> 2N.

La lectura se realiza en un espectofotómetro (Titertek Multiskan) a una longitud de onda de 600 nm.

Expresión de los resultados: La expresión de los resultados se ha efectuado en unidades por interpolación a la ecuación de la recta obtenida por medio de los estándares internos de cada placa.

## Sueros estudiados

### 1. Grupo control:

Para conocer los títulos de la población sana y poder evaluar los resultados serológicos de los pacientes infectados por Y. enterocolitica se estudiaron los títulos de 72 controles sanos frente a Y. enterocolitica 03 por seroaglutinación, fijación de complemento y enzimoimmunoanálisis. También se estudiaron por aglutinación directa los títulos de esta población sana frente al serogrupo 09 de Y. enterocolitica.

### 2. Gastroenteritis:

Con coprocultivo positivo para Yersinia enterocolitica 0:3

Se han estudiado 22 enfermos con un cuadro de gastroenteritis aguda en los que se les había aislado Yersinia enterocolitica 0:3 en el coprocultivo.

Con coprocultivo positivo para Yersinia enterocolitica de otros serogrupos

También se han estudiado 18 enfermos con un cuadro de gastroenteritis aguda en los que se les había aislado Yersinia enterocolitica de otros serogrupos.

En cada uno de estos pacientes la serología se orientó a la búsqueda de anticuerpos específicos para el serogrupo de Y. enterocolitica aislada del coprocultivo.

Estos sueros fueron estudiados por técnica de seroaglutinación, fijación de complemento y enzimoimmunoanálisis para el antígeno 03 y seroaglutinación y fijación de complemento para los demás antígenos.

El estudio serológico se efectuó conjuntamente con todos los sueros disponibles para facilitar la comparación de resultados.

3. Enfermedades reumáticas relacionadas con la infección por Y. enterocolitica:

En 97 pacientes afectados de diversas enfermedades que se han relacionado con la infección por Yersinia se estudió serológicamente una (o más) muestras de suero frente a los antígenos de Y. enterocolitica 0:3 y 0:9 para conocer la posible participación de estos patógenos en dichos cuadros clínicos. Las técnicas utilizadas fueron la seroaglutinación y el enzimoimmunoanálisis para el antígeno 0:3 y seroaglutinación para el antígeno 0:9.

4. Enfermedad inflamatoria crónica de intestino:

En 14 enfermos con enfermedad de Crohn en brote agudo y con coprocultivo negativo se estudió la presencia de anticuerpos específicos frente al serogrupo 03 de Y. enterocolitica por técnicas de aglutinación directa y enzimoimmunoanálisis y frente al serogrupo 09 por aglutinación directa.

## 2. Resultados

## 2. Resultados

### a Evaluación de las técnicas de cultivo.

En la tabla 20 se presentan los resultados obtenidos en los 3 medios de cultivo utilizados, MacC, SS y CIN tras siembra directa y después de tratamiento con KOH de las muestras fecales inoculadas con Yersinia.

Al comparar entre sí los medios utilizados en la siembra de las muestras de heces sin tratar con KOH (siembra directa) destaca la superioridad del medio de CIN, con el que se detectan 42 muestras como positivas de las 50 estudiadas respecto al de SS en el que se detectan 14 como positivas. La diferencia es estadísticamente significativa ( $p < 0'001$ ). En el medio de MacC por técnica de siembra directa únicamente se detectan 3 de las 50 muestras positivas.

En las muestras tratadas con KOH las diferencias entre los diversos medios carecen de significación y los resultados son equivalentes a los del mejor medio en siembra directa (CIN). Al comparar los resultados del medio con mejor rendimiento en técnica directa (CIN: 42) con el mejor tras tratamiento con álcali (MacC: 44) no se observan diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0'5$ ). Ello indica que el tratamiento de las heces con KOH eleva el rendimiento de los medios menos inhibidores, siendo en valores absolutos el de MacC el que permite mayor número de aislamientos tras tratamiento (MacC: 44 positivas; SS: 41 y CIN: 37 sobre las 50 estudiadas).

La cepa de Y. pseudotuberculosis estudiada se aisló tras tratamiento con KOH a todas las diluciones ( $10^{-2}$  a  $10^{-6}$ ) en los tres medios estudiados. Sin tratamiento se aisló a todas las diluciones en CIN y únicamente a  $10^{-2}$  en SS y  $10^{-3}$  en MacC.

De las 150 placas sembradas tras tratamiento (10 cepas x 5 diluciones x 3 medios) en 123 se obtuvieron cultivos puros de yersinia, 26 fueron negativos y en 2 se obtuvieron cultivos mixtos. De las placas sembradas

Muestras detectadas positivas

Cepas estudiadas	A la dilución de:	Inóculo	Muestras que resultan:	Muestras detectadas positivas					
				MacC		SS		CIN	
				NT	T	NT	T	NT	T
	$10^{-2}$	$10^6$	10	2	10	6	9	10	9
	$10^{-3}$	$10^5$	10	1	9	5	9	10	8
	$10^{-4}$	$10^4$	10	0	8	3	9	9	8
	$10^{-5}$	$10^3$	10	0	9	0	8	7	6
	$10^{-6}$	$10^2$	10	0	8	0	6	6	6
TOTAL	$10^{-2}-10^{-6}$		50	3*	44**	14*	41**	42*	37**

Tabla 20. Aislamiento de *Yersinia* en diferentes medios de cultivo a partir de muestras artificiales de heces mediante siembra directa y tras tratamiento con álcali.  
 MacC: MacConkey. SS: agar salmonela-shigela. CIN: agar cefsulodin-irgasan-novobiocina. NT: muestras no tratadas con KOH. T: muestras tratadas con KOH.  
 \* CIN, NT: Diferencia significativa,  $p < 0'001$ . \*\* CIN, T: Diferencias no significativas,  $p > 0'5$ .

sin tratamiento, las 100 correspondientes a MacC y SS mostraron cultivos mixtos. En 33 de las 50 de CIN se obtuvieron asimismo cultivos mixtos. Ello da idea del valor selectivo del tratamiento con álcali.

## b. Epidemiología

### i Epidemiología humana.

#### Controles sanos

En 208 personas asintomáticas estudiadas por técnica directa no se aisló ninguna cepa de Yersinia.

#### Pacientes con enteritis

Los resultados obtenidos en los 5199 coprocultivos realizados desde abril de 1983 hasta diciembre de 1984 se señalan en la Tabla 21.

El número de cepas de yersinia aisladas fue de 139, lo que representa el 2,6% de los coprocultivos realizados y el 12,1% de los enteropatógenos aislados.

Las especies detectadas se recogen en la tabla 22.

La mayoría de las cepas aisladas pertenecen a la especie Y. enterocolitica.

Los biotipos de Y. enterocolitica aislados han sido: biotipo 1, 77 cepas; biotipo 4, 42 cepas y biotipo 3, 5 cepas (tabla 23).

Los serotipos detectados se recogen en las tablas 24 y 25.

Algunas cepas se aislaron simultáneamente a otros enteropatógenos. En la tabla 26 se recogen las asociaciones detectadas.

Coprocultivos realizados	5199 (100)
Salmonelas gastroenteríticas	482 (9,2)
<u>S. typhi</u>	6 (0,1)
<u>Campylobacter jejuni</u>	424 (8,1)
<u>Shigella</u>	190 (3,6)
<u>S. sonnei</u>	171
<u>S. flexneri</u>	12
<u>S. boydii</u>	7
<u>E. coli</u> EP (1984)	42 (1,4)
<u>E. coli</u> EI (1984)	1 (0,03)
<u>E. coli</u> ET (1984)	0 (0)
<u>Yersinia</u>	139 (2,6)

Tabla 21. Resultados globales de los coprocultivos efectuados desde abril de 1983 a diciembre de 1984.

Total de cepas aisladas	139
<u>Y. enterocolitica</u>	124
<u>Y. frederiksenii</u>	11
<u>Y. kristensenii</u>	2
<u>Y. intermedia</u>	2

Tabla 22. Especies de Yersinia aisladas en personas sintomáticas.

<u>Y. enterocolitica</u>	biotipo 1	77
	biotipo 4	42
	biotipo 3	5

Tabla 23. Biotipos de Y. enterocolitica aislados en personas sintomáticas.

<u>Serotipo</u>	<u>Nº de cepas</u>
<b>Biotipo 1</b>	
3	1
5	16
6	11
*6, 30	1
7, 8	5
*7, 8, 13	1
*7, 8, 13, 19	3
*7, 13, 19	2
*10, 34	2
*10, 34, K <sub>1</sub>	1
*10, 37, K <sub>1</sub>	1
*13	3
14	2
25, 35	5
*25, 35, 28	3
*28	1
*30	9
*34	1
*36	2
39, 41	1
39, 41, 42 (41, 43)	2
No tipables	2
No tipadas	2
<b><u>Biotipo 3</u></b>	
7, 8	1
*16, 34	3
No tipables	1
<b><u>Biotipo 4</u></b>	
3	42

Tabla 24. Serotipos de Y enterocolítica aislados en personas sintomáticas. Se señala por \* los serotipos descritos por primera vez en nuestro país.

	Serotipo	Nº de cepas
<u>Y. frederiksenii</u>	*3	1
	*4, 10, 14, 16	1
	*35	1
	*44	1
	*52 (52, 53)	1
	No tipables	6
<u>Y. kristensenii</u>	*11	1
	*12	1
<u>Y. intermedia</u>	*3, 37	1
	*18	1

Tabla 25. Serotipos de Y. kristensenii, Y. frederiksenii, Y. intermedia aislados en personas sintomáticas.

Se señala por \* los serotipos descritos por primera vez en nuestro país.

<u>Yersinia</u>	<u>Asociaciones</u>	<u>Nº de cepas</u>
<u>Y. enterocolitica</u>		
0:3	<u>S. enteritidis</u>	2
0:3	<u>C. jejuni</u>	2
0:3	<u>S. sonnei</u>	1
0:3	<u>E. coli</u> EP (026 K60)	1
0:3	<u>Y. frederiksenii</u> NT	1
0:5	<u>C. jejuni</u> , <u>S. enteritidis</u>	1
0:5	<u>Y. intermedia</u> 0:18	1
0:6	<u>C. jejuni</u> , <u>S. sonnei</u>	1
0:7, 8, 13, 19	<u>C. jejuni</u>	1
0:7, 13,19	<u>S. enteritidis</u>	1
0:34	<u>Y. enterocolitica</u> 0:39,41,42	1
<u>Y. kristensenii</u>		
0:11	<u>C. jejuni</u>	1
<u>Y. frederiksenii</u>		
0:3	<u>C. jejuni</u>	1
0:52(52, 53)	<u>C. jejuni</u>	1
NT	<u>Y. enterocolitica</u> 0:5	1
<u>Y. intermedia</u>		
0:3, 37	<u>S. sonnei</u>	1

Tabla 26. Asociaciones de Yersinia con otros patógenos detectados en los coprocultivos de pacientes sintomáticos.

## Medios de cultivo.

Aunque la capacidad selectiva de los medios de cultivo se ha estudiado en muestras artificiales inoculadas con Yersinia según se ha señalado anteriormente, el rendimiento de dichos medios utilizados en siembra directa y su comparación con la técnica de enriquecimiento en frío seguida de tratamiento con álcali se evaluó a lo largo del estudio.

El resultado de los aislamientos en los distintos medios de cultivo se exponen en relación a los biotipos.

En la tabla 27 pueden observarse los resultados obtenidos. En ella puede verse que las cepas de Y. enterocolitica del biotipo 4 se aíslan con frecuencia variable (30,9-76,1%) de los diversos medios de cultivo por siembra directa, en tanto que el resto de biotipos y otras especies de Yersinia se aíslan casi exclusivamente por enriquecimiento en frío.

Dado el retardo que significa la incubación durante 3 semanas de la técnica de enriquecimiento comparamos dicha técnica con el enriquecimiento en el mismo medio a temperatura óptima de crecimiento 28°C, durante 48 horas, tratando el sedimento de ambos cultivos con KOH en 63 muestras de heces de cerdo y 61 muestras de lenguas de dichos animales.

Los resultados obtenidos se recogen en la tabla 28 donde puede observarse que la técnica clásica aporta mejores resultados detectando el 12% de las muestras como positivas en tanto que el enriquecimiento a 28°C sólo detecta como positivos el 2,4% de dichas muestras.

Cepas	Siembra directa			Enriquecimiento	
Especie Biotipo	(Nº)	MacC	SS	CIN	CT 4-6º KOH MacC
<u>Y. enterocolitica</u>					
Biotipo 4	(42)	13 (30,9)	27 (64,2)	32 (76,1)	39 (92,8)
Biotipo 3	(5)	0	0	0	5 (100)
Biotipo 1	(77)	2 (2,6)	0	1 (1,3)	77 (100)
<u>Y. frederiksenii</u>	(11)	0	0	1 (10)	11 (100)
<u>Y. kristensenii</u>	(2)	0	0	0	2 (100)
<u>Y. intermedia</u>	(2)	0	0	0	2 (100)
TOTAL	139	15	27	34	136

Tabla 27. Aislamiento de Yersinia en los diversos medios utilizados.

Muestras (Nº)	Especie/biotipo	CT28°C/KOH 2 días	CT40°C/KOH 3 semanas	Total
Heces de cerdo (63)				
	<u>Y. enterocolitica</u> b.4	1	3	4
	b.1	0	4	4
	<u>Y. pseudotuberculosis</u>	1	1	2
Lenguas de cerdo (61)				
	<u>Y. enterocolitica</u> b.1	1	6	7
	<u>Y. intermedia</u>	0	1	1
Total		3(2,4)	15(12)	18

Tabla 28. Comparación del tratamiento con KOH tras 3 semanas de enriquecimiento a 40°C y 2 días a 28°C.

## ii Epidemiología animal

### Aves

Gallinas: De las 50 gallinas estudiadas se aisló 1 cepa (2%) de Y. enterocolitica biotipo 1.

Palomas: De las 120 palomas se aislaron 2 cepas (1,6%) de Y. enterocolitica biotipo 1 (Tabla 29).

### Mamíferos

Bovidos: De las 74 vacas estudiadas se aislaron 34 cepas en 30 vacas (40.5%) correspondientes a 4 especies distintas según se recoge en la tabla 29. En 4 animales se detectó asociación de Y. enterocolitica biotipo 2 con Y. frederiksenii, Y. enterocolitica biotipo 3 con Y. frederiksenii, Y. intermedia biotipo 1 con 2 y Y. intermedia 4 con una cepa no tipada de la misma especie NT. (Tabla 29).

Cerdos: De las 110 muestras de heces procedentes de cerdos se aislaron 13 cepas de tres especies diferentes de 12 animales (10,9%). Entre ellas se aisló una cepa de Y. pseudotuberculosis asociada a Y. enterocolitica 1. Hay que destacar que se detectaron además 6 cepas del biotipo 4 serotipo 03. (Tabla 29).

Conejos: De los 100 animales estudiados se aisló 1 cepa (1%) de Y. enterocolitica biotipo 1. (Tabla 29).

Perros: De los 110 animales estudiados se aislaron 3 cepas en 3 animales (2,7%) pertenecientes a tres especies diferentes. (Tabla 29).

Micromamíferos: Los estudios efectuados en diversos micromamíferos permitieron demostrar la alta tasa de infestación de estos animales según se recoge en la tabla 30, aunque no se han detectado cepas correspondientes al serotipo 3.

## ANIMALES

## Cepas aisladas

Tubo digestivo	NºE	Positivos(TpC)	NºC: Especie, biotipo
AVES			
Gallinas	50	1 (2)	1: <u>Y. enterocolitica</u> b.1
Palomas	120	2 (1,6)	2: <u>Y. enterocolitica</u> b.1
MAMIFEROS			
Vacas	74	30 (40,5)	7: <u>Y. enterocolitica</u> (4: b.1, 3:b.3) 7: <u>Y. frederiksenii</u> 2: <u>Y. kristensenii</u> 18: <u>Y. intermedia</u> (3:b.1, 12:b.2, 1:b.4, 2NT)
Cerdos	110	12 (10,9)	1: <u>Y. pseudotuberculosis</u> 11: <u>Y. enterocolitica</u> (6:b.4, 5:b.1) 1: <u>Y. intermedia</u> b.1
Conejos	100	1 (1)	1: <u>Y. enterocolitica</u> b.1
Perros	110	3 (2,7)	1: <u>Y. enterocolitica</u> b.4 1: <u>Y. intermedia</u> b.1 1: <u>Y. frederiksenii</u>

Tabla 29. Epidemiología de Yersinia en animales de abasto y domésticos.

## ANIMALES

## Cepas aisladas

MICROMAMIFEROS	Nº.E.	Positivas(TpC)	NºC	Especie, biotipo
<u>Apodemus sylvaticus</u> (Ratón de campo)	57	19(33%)	23	15: <u>Y. enterocolitica</u> (15: b.1) 8: <u>Y. kristensenii</u>
<u>Rattus norvegicus</u> (Rata de alcantarilla)	52	34(65,3%)	54	14: <u>Y. frederiksenii</u> 34: <u>Y. enterocolitica</u> (6: b.1) 2: <u>Y. kristensenii</u> 4: <u>Y. intermedia</u> (4: b.1)
<u>Arvicola terrestris</u> (Rata topera)	85	2(2,3%)	2	1: <u>Y. enterocolitica</u> b.1 1: <u>Y. frederiksenii</u>
<u>Arvicola sapidus</u> (Rata de agua)	8	2(25%)	2	2: <u>Y. intermedia</u>
<u>Mus musculus</u> (Ratón doméstico)	10	3(30%)	3	2: <u>Y. enterocolitica</u> b.1 1: <u>Y. frederiksenii</u>
<u>Mus spretus</u> (Ratón de campo)	6	1(16,5%)	1	1: <u>Y. enterocolitica</u> b.1
<u>Crocidura russulae</u> (Musaraña común)	2	2(100%)	3	2: <u>Y. enterocolitica</u> b.1 1: <u>Y. kristensenii</u>

Tabla 30. Epidemiología de Yersinia en micromamíferos.

## ii Muestras telúricas

Las muestras de origen telúrico fueron fundamentalmente de aguas litorales, de cursos de río y colectores. En todas ellas, excepto colectores, pudo detectarse la presencia de Yersinia, particularmente abundante en aguas de litoral superficiales, según se recoge en la tabla 31.

## TELURICAS

## Cepas aisladas

	NºE	Positivas (TpC)	NºC: Especie, biotipo
<b>Rios</b>			
2	24	13 (54,2)	14: <u>Y. enterocolitica</u> b.1 : 6 <u>Y. frederiksenii</u> : 6 <u>Y. intermedia</u> : 2
<b>Lineas de playa</b>			
7	40	13 (32,5)	16: <u>Y. enterocolitica</u> b.1 : 11 <u>Y. frederiksenii</u> : 3 <u>Y. intermedia</u> : 2
<b>Litorales</b>			
Superficie	19	16 (84,2)	28: <u>Y. enterocolitica</u> b.1 : 12 <u>Y. intermedia</u> : 9 <u>Y. frederiksenii</u> : 5 <u>Yersinia spp.</u> : 2
Sedimentos	20	12 (60)	15: <u>Y. enterocolitica</u> b.1 : 8 <u>Y. intermedia</u> : 6 <u>Y. frederiksenii</u> : 1
Colectores	4	0 (0)	

Tabla 31. Epidemiología de Yersinia en muestras de aguas de cursos naturales, colectores y marinas.

#### iv Epidemiología en alimentos

Verduras. Se estudiaron 66 muestras diferentes de verduras de consumo. En 11 muestras (16,6%) se aislaron 11 cepas de tres especies diferentes.

Carnes. De las 24 muestras de carne de pollo, 4 (16,6%) fueron positivas para 2 especies diferentes.

De las 19 muestras de carne de vacuno 2 (10%) fueron positivas aislándose 2 especies diferentes.

De las 34 muestras de porcino estudiadas (no incluyen lenguas), 5 fueron positivas (14,7%) para Y. enterocolitica.

Se estudiaron asimismo 125 muestras de lengua de cerdo procedentes de matadero de las que 42 (33,6%) fueron positivas para 3 especies diferentes incluyendo una cepa de Y. pseudotuberculosis y 8 de Y. enterocolitica biotipo 4, serogrupo 03.

De las 6 muestras de carne de ovino 2 (33%) fueron positivas para 2 especies diferentes.

Pescados. Se estudiaron 25 muestras de diversos pescados resultando 9 (36%) positivos para 3 especies diferentes.

En la tabla 32 se recogen los aislamientos a partir de los diversos alimentos estudiados.

En la tabla 33 se recogen las cepas de Yersinia aisladas de todos los orígenes correspondientes a los apartados señalados anteriormente.

ALIMENTOS		Cepas aisladas	
Heces	NºE	Positivos(TpC)	NºC: Especie, biotipo
VERDURAS	66	11 (16,6)	3: <u>Y. enterocolitica</u> (1:b.1, 2:b.3) 7: <u>Y. intermedia</u> (6:b.6, 1:b.4) 1: <u>Y. kristensenii</u>
CARNES			
Pollos	24	4 (16,6)	3: <u>Y. intermedia</u> (1:b.1, 2:b.2) 1: <u>Y. kristensenii</u>
Vacuno	19	2 (10)	1: <u>Y. enterocolitica</u> 2: <u>Y. intermedia</u> (1:b.1, 1:b.2)
Porcino			
Lenguas	125	42 (33,6)	1: <u>Y. pseudotuberculosis</u> 31: <u>Y. enterocolitica</u> (8:b.4, 23: b.1) 13: <u>Y. intermedia</u> (6:b.1, 7:b.2)
Otros	34	5 (14,7)	5: <u>Y. enterocolitica</u> b.1
Ovino	6	2 (33,3)	1: <u>Y. enterocolitica</u> b.1 1: <u>Y. intermedia</u> b.1
PESCADO	25	9 (36)	8: <u>Y. intermedia</u> (3:b.1, 4:b.2, 1:b.4) 1: <u>Y. frederiksenii</u> 1: <u>Y. kristensenii</u>

Tabla 32. Epidemiología de Yersinia en alimentos.



### c. Clínica.

#### i Pacientes con gastroenteritis

En las tablas 34 a 42 se recogen los datos de la clínica, aislamiento, evolución, epidemiología y serología de los 41 pacientes de los que se dispusieron estos datos y en los que se había aislado Y. enterocolítica.

Dado que los aislamientos se han efectuado en todo caso de pacientes sintomáticos, los únicos criterios para involucrar las cepas de Yersinia aisladas en el proceso patológico eran la respuesta inmune (serología) del paciente y el estudio de los caracteres de patogenicidad de las cepas que se desarrolla más adelante.

Las pruebas serológicas por aglutinación, fijación de complemento y enzimoimmunoanálisis se realizaron en los pacientes con enteritis frente a las cepas homólogas excepto en el caso de Y. enterocolítica 0:3 que se utilizó la cepa I.P.134 como se ha señalado en el apartado de material y métodos.

Para conocer los valores serológicos normales de la población sana se estudiaron los títulos por esos métodos en 72 personas de diversas edades frente al antígeno 0:3.

En la tabla 43 se recogen los resultados de ese estudio que permiten constatar que el 97.2% de la población sana presenta títulos iguales o inferiores a 1/64 por aglutinación directa, el 98.6% presenta títulos iguales o inferiores a 1/8 por fijación de complemento y el 95.8% de dicha población sana presenta valores de 15.000 a 20.000 U por técnica de enzimoimmunoanálisis.

Los niveles considerados significativos en base a estos datos han sido para la aglutinación directa títulos  $\gg$  a 1/128, para la fijación de complemento títulos  $\gg$  a 1/16, y para enzimoimmunoanálisis valores  $\gg$  20.000 U.

Con respecto a los otros antígenos no se ha estudiado población sana evaluándose únicamente la aparición de una respuesta inmunológica.

Y. enterocolitica serogrupo 3 (Tabla 34 y 44).

De los 22 pacientes con coprocultivo positivo para Y. enterocolitica 0:3, 20 presentaron un cuadro de gastroenteritis aguda con deposiciones líquidas (sanguinolentas en 2 casos) y que causaron una deshidratación importante que requirió ingreso hospitalario en dos. Las náuseas y los vómitos no fueron síntomas importantes.

Diez pacientes presentaron fiebre alta al inicio del cuadro que se autolimitó al cabo de 24-48 horas.

Diez enfermos referían dolor abdominal que fue difuso en ocho y localizado en fosa ilíaca derecha en dos. En los dos casos con dolor pseudoapendicular se detectó una leucocitosis con neutrofilia y desviación a la izquierda.

Dos pacientes presentaron eritema nodoso en un caso asociado a la gastroenteritis y en otro precedido de una artritis metacarpofalángica.

En 20 pacientes se aisló el microorganismo por técnica directa y en 2 por técnica de enriquecimiento.

De los 22 pacientes infectados por Y. enterocolitica 0:3, 19 presentaron seroaglutinación positiva a títulos iguales o superiores a 1/128 (en un paciente no se estudió); la fijación de complemento fue positiva  $\geq$  1/16 en 12 (en uno no se estudió) y la prueba de EIA fue positiva  $\geq$  10000 U. en 18. En 2 casos la serología fue negativa por las tres técnicas. En las figuras 1, 2 y 3 se muestran los títulos de aglutinación directa, fijación de complemento y

enzimoinmunoanálisis de los pacientes con coprocultivo positivo por Y. enterocolitica 03 en relación con los títulos del grupo control. En la figura 4 se recogen los títulos por las tres técnicas en relación con el momento de la extracción respecto el cuadro clínico.

Se pudo constatar el estado de portador en 7 pacientes en períodos que oscilaban entre 9 y 35 días.

El período más corto en que se detectó la erradicación del microorganismo fue de 4 días aunque este paciente presentaba serología negativa y estaba infectado simultáneamente por G. lamblia.

En 15 de 22 pacientes infectados por el serotipo 0:3 se estudió la epidemiología de los contactos próximos y solo pudo detectarse en 2 pacientes, en un hermano que presentaba asimismo un cuadro de enteritis, y en la madre y hermano asintomáticos del otro paciente.

Las manifestaciones clínicas de estos pacientes se recogen en la tabla 44.

#### Otros serogrupos (Tablas 35-42)

De los 19 pacientes estudiados infectados por otros serogrupos 05; 06; 07,13,1; 013; 025,35; 025,35,28; 030 y 039,41 de Y. enterocolitica, 15 presentaron una gastroenteritis acompañada de dolor abdominal en 9 casos y que en 1 caso se presentó en una paciente afecta de una enfermedad de Crohn.

Cuatro paciente debutaron con una artritis reactiva, en ningún caso acompañada o precedida por diarrea y que en 1 caso fue seguida por la aparición de un eritema nodoso en extremidades inferiores. En 1 caso la artritis apareció en un paciente afecto de una espondilitis anquilopoyética y en otro caso apareció en un paciente HLA-B27 positivo.

Todas las cepas se aislaron tras enriquecimiento, excepto una cepa del serogrupo 025, 35, 28 que se aisló por técnica directa.

Todos los pacientes presentaron serología negativa frente al antígeno homólogo a la cepa aislada.

En todos los pacientes el coprocultivo efectuado de control fue negativo excepto en un caso en que se aisló C. jejuni y que se trataba de una paciente con una hipogammaglobulinemia con diarreas recurrentes por distintos enteropatógenos.

Todos los contactos familiares fueron negativos.

Y. enterocolitica 0:3

Nº	Diagnóstico	Fecha del aislamiento		Tto.	Control	Contactos familiares		Serología			
		D	E			NºE/Res.	Fecha	A.D.	F.C.	E.I.A.	
479/C 82 a. F.	Deposición diarréica	26.10.83		No	9.12.83: (43 d.)	Neg		7.12.84 (45 d.)	1/256	Neg	20.800
296/C 3 a. F.	Enteritis aguda	18.1.84		No	7.3.84: (49 d.)	Neg		16.2.84 (30 d.)	1/128	1/64	47.600
758/C 14 m. F.	Enteritis aguda <u>C. lambliá</u>	5.8.84		No	9.8.84: (4 d.)	Neg	2/Neg	15.11.84 (40 d.)	Neg	1/4	9.500
411/C 3 a. M.	Enteritis aguda	30.1.84			23.2.84: (23 d.)	Neg	2/Neg 2 <u>Y.e</u> 03	23.2.84 (25 d.)	1/256	1/64	51.066

Tabla 34. Clínica y serología de los pacientes con Y. enterocolitica 03.  
D: Aislamiento por técnica directa. E: Aislamiento tras enriquecimiento. Tto: tratamiento.  
NºE/Res.: Nº de contactos estudiados/Resultados. AD: Aglutinación directa. F.C.: Fijación de complemento.  
EIA: enzimoimmunoanálisis. Neg: Negativo. Pos: Positivo. R: Cepa rugosa.  
Cot.: co-trimoxazol; Tc: tetraciclina. C.j.: C. jejuni. Y.e.: Y. enterocolitica.

Y. enterocolitica 0:3

Nº	Diagnóstico	Fecha del aislamiento		Tto.	Control	Contactos familiares	Serología			
		D	E				NºE/Res.	A.D.	F.C.	E.I.A.
451/C 15 m. F.	Enteritis persistente <u>C. jejuni</u>	24.10.83		Cot 6.2.84:	25.11.83: C.j. (30 d.) Neg.	2/Neg	28.10.83 (4 d.) 6.4.84 (6 m.)	1/1024	1/16	25.400
		Pos	Neg					1/128	1/8	12.200
673/C 10 a. M.	Enteritis aguda	15.11.83		Tc	20.12.83: Neg (35 d.)	2/Neg 1AD/Neg	15.11.83 (0 d.)	-	-	54.400
		Pos	Pos							
790/C 25 a. F.	Enteritis aguda	26.11.83		No	5.12.83: Neg (9 d.)	2/Neg	1.12.83 (5 d.)	1/16384	Neg	128.000
		Pos	Pos							
890/C 2 a. F	Enteritis aguda <u>S. sonnei</u>	5.12.83		Cot	2.1.84: S.s. (27 d.)	2/Neg	6.2.84 (60 d.)	1/16	1/8	6.900
		Neg	Pos		6.2.84: Neg					

Tabla 34 (continuación)

Y. enterocolitica 0:3

Nº Edad Sexo	Diagnóstico	Fecha del aislamiento		Tto.	Control	Contactos familiares NºE/Res.	Serología			
		D	E				Fecha	A.D.	F.C.	E.I.A.
736/C 11 m. F.	Enteritis aguda	18.3.84	Pos	No	30.3.84: (12 d.)	3/Neg	30.3.84 (12 d.)	1/256	1/16	27.000
878/C 29 a. F.	Enteritis aguda	11.4.84	Pos	Tc	7.5.84: (26 d.)	3/Neg	25.4.84 (14 d.)	1/2048	1/16	69.200
91/C 29 a. M.	Enteritis aguda	16.5.84	Pos	No	21.6.84: (35 d.) 13.11.84: (180 d.)	Y.e.	21.6.84 (40 d.)	1/128	1/16	13.500
99/C 13 a. F.	Enteritis aguda	27.12.83	Pos	No	17.2.84: (50 d.)	Neg	3.2.84 (40 d.)	1/256	1/64	43.400

Tabla 34 (continuación)

Y. enterocolitica 0:3

Nº Edad Sexo	Diagnóstico	Fecha del aislamiento		Tto.	Control	Contactos familiares NºE/Res.	Serología			
		D	E				Fecha	A.D.	F.C.	E.I.A.
468/C 5 a. F.	Gastritis aguda	4.2.84		No	24.2.84: Y.e. (20 d.) 30.4.84: Neg (86 d.)	3/Neg	21.2.84 (15 d.)	1/1024	1/64	73.600
337/C 2 a. F.	Enteritis aguda	10.10.84		Cot	19.10.84: Y.e. (9 d.) 30.10.84: Neg (20 d.)	2/Neg 1/Pos	30.10.84 (20 d.)	1/512	1/32	32.400
456/C 4 a. F.	Enteritis aguda	19.10.84		Cot	30.10.84: Neg. (11 d.)	2/Neg 1/Pos	6.11.84 (20 d.)	1/512	1/512	120.800
415/C 11 m. M.	Enteritis aguda <u>C. jejuni</u>	26.6.84		No	12.7.84: Y.e. (16 d.) 27.9.84: Neg (90 d.)	2/Neg	26.9.84 (90 d.)	Neg	1/8	5.900

Tabla 34 (continuación)

Y. enterocolitica 0:3

Nº Edad Sexo	Diagnóstico	Fecha del aislamiento		T to.	Control	Contactos familiares NºE/Res.	Serología			
		D	E				Fecha	A.D.	F.C.	E.I.A.
263/C 37 a. M.	Enteritis aguda Artritis reactiva	16.1.84	Pos	Cot	9.3.84: (54 d.)	3/Neg	20.1.84 (4 d.)	1/8192	1/8	132.800
779/C 12 a. M.	Enteritis aguda Pseudoapen- dicitis	25.11.83	Pos	Tc	9.12.83: (14 d.) 29.12.83: (34 d.)	3/Neg	5.12.83 (10 d.)	1/2048	1/64	56.000
111/C 13 a. M.	Enteritis aguda Pseudoapen- dicitis	19.9.84	Pos	No	23.9.84: (4 d.)	Y.e.	2.10.84 (12 d.)	1/1024	1/128	74.800

Tabla 34 (continuación)

Y. enterocolitica 0:3

Nº	Diagnóstico	Fecha del aislamiento		Tto.	Control	Contactos familiares		Serología			
		D	E			NºE/Res.	Fecha	A.D.	F.C.	E.I.A.	
279/C	Eritema nodoso	8.10.84		Tc	31.10.84 (22 d.)	Neg		2.10.84 (6 d.)	1/4096	Neg	34.800
45 a. F.	Artritis reactiva	Pos	Neg					17.10.84	1/2048	-	99.200
508/C	Enteritis aguda	11.11.84		Tc	2.3.84: (150 d.)	Neg	4/Neg	15.11.84 (4 d.)	1/1024	1/4	117.600
54 a. F.	Eritema nodoso	Pos	Pos								
445/C	Sacroileitis	9.7.84		No	30.7.84 (21 d)	Neg	2/Neg	30.7.84 (21 d)	1/512		83.200
31 a F	HLA-B 27	Pos	Pos						1593/Ba		

Tabla 34 (continuación)

Y. enterocolitica 0:5

Nº	Diagnóstico	Fecha del aislamiento		Tto.	Control	Contactos familiares	Serología				
		D	E				NºE/Res.	Fecha	A.D.	F.C.	E.I.A.
661/C 40 a. M.	Artritis reactiva H.L.A.B27 +	6.3.84	Neg	No	15.5.84:	Neg	-	6.3.84 (0 d.)	Neg	Neg	-
852/C 63 a. M.	Enteritis aguda Diabetes	5.4.84	Neg	Pos	26.6.84:	Neg	-	26.6.84 (70 d.)	Neg	Neg	-
841/C 26 a. M.	Síndrome febril	4.4.84	Neg	Pos	7.5.84:	Neg	-	4.4.84 (0 d.)	Neg	Neg	-
332/C 17 a. F.	Artritis reactiva	18.6.84	Neg	Pos	28.8.84:	Neg	-	18.6.84	Neg	Neg	-

Tabla 35. Clínica y serología de los pacientes con Y. enterocolitica 0:5.  
(Para abreviaciones ver pie tabla 34).

Y. enterocolitica 0:6

Nº	Diagnóstico	Fecha del aislamiento		Tto. Control	Contactos familiares NºE/Res.	Serología			
		D	E			AD	F.C.	E.I.A.	
987/C	Dolor abdominal	16.9.83		7.12.83: Neg	3/Neg	7.11.83 (50 d.)	Neg	Neg	-
5 a.				No					
F.		Neg	Pos						
575/C	Talasemia	22.2.84				22.2.84 (0 d.)	Neg	Neg	-
27 a.	E. Nodoso			No	-				
F.	A. Reactiva	Neg	Pos						
583/C	Hipogamma-	23.2.84		27.4.84: <u>C. jejuni</u>					
60 a.	globulinemia			No					
F.	Diarreas	Neg	Pos						
	<u>S. sonnei</u>			5.7.84: Neg					
	<u>C. jejuni</u>								
566/C		21.2.84							
2 a.	Enteritis								
F.	aguda	Neg	Pos						

Tabla 36. Clínica y serología de los pacientes con Y. enterocolitica 0:6.  
(Para abreviaciones ver pie tabla 34).

Y. enterocolitica 0:7, 13, 19

Nº	Diagnóstico	Fecha del aislamiento		Tto.	Control	Contactos familiares		Serología			
		D	E			NºE/Res.	Fecha	AD	F.C.	E.I.A.	
961/C	Control	26.4.84			30.5.84:	Neg	5/Neg	30.5.84	R	Neg	-
30 a.	enteritis			No				(35 d.)			
M.	aguda	Neg	Pos								
	<u>Salmonella</u>										

Tabla 37. Clínica y serología de los pacientes con Y. enterocolitica 0:7,13,19.  
(Para abreviaciones ver pie tabla 34).

Y. enterocolitica 0:13

Nº	Diagnóstico	Fecha del		Tto.	Control	Contactos familiares	Serología				
		aislamiento	D				E	NºE/Res.	Fecha	AD	F.C.
965/C		14.9.83			30.9.83; Neg	-		26.10.83 (45 d.)	R	Neg	-
55 a.	Enteritis			No							
M.	aguda	Neg	Pos								

Tabla 38. Clínica y serología de los pacientes con Y. enterocolitica 0:13.

(Para abreviaciones ver pie tabla 34).

Y. enterocolitica 0:25, 35

Nº	Diagnóstico	Fecha del		Tto.	Control	Contactos		Serología			
		aislamiento	E			NºE/Res.	Fecha	AD	F.C.	E.I.A.	
584/C	Enteritis	23.2.84			11.5.84:	Neg		11.5.84	R	Neg	-
75 a.	aguda				Cot			(90d.)			
F.	C. hepática	Neg	Pos								

Tabla 39. Clínica y serología de los pacientes con Y. enterocolitica 0:25,35.  
(Para abreviaciones ver pie tabla 34).

Y. enterocolitica 0:25, 35, 28

Nº	Diagnóstico	Fecha del aislamiento		Tto. Control	Contactos familiares		Serología			
		D	E		NºE/Res.	Fecha	AD	F.C.	E.I.A.	
903/C		15.4.84		22.5.84:	Neg	-	22.5.84	Neg	Neg	-
26 a.	Enteritis			No			(37 d.)			
F.	aguda	Pos	Pos							

\*

Tabla 40. Clínica y serología de los pacientes con Y. enterocolitica 0:25,35,28.  
(Para abreviaciones ver pie tabla 34).

Nº	Diagnóstico	Fecha del aislamiento		Tto.	Control	Contactos familiares		Serología		
		D	E			NºE/Res.	Fecha	AD	F.C.	E.I.A.
559/C		20.2.83					10.4.83	Neg	Neg	-
2 a.	Enteritis			No	-		(45 d.)			
F.	aguda	Neg	Pos							
576/C		22.2.84		20.4.84:	Neg		28.2.84	Neg	Neg	-
29 a.	E. Crohn			Su			(6 d.)			
F.		Neg	Pos							
591/C	Diabetes	24.2.84		27.3.84:	Neg		7.3.84	Neg	Neg	-
76 a.	I. Renal			Clin			(11 d.)			
M.	Diarrea	Neg	Pos							
592/C		25.2.84		21.3.84:	Neg		13.4.84	Neg	Neg	-
68 a.	C. hepática			Tc			(50 d.)			
M.	Diarrea	Neg	Pos	18.4.84:	Neg					
605/C		25.2.84		16.4.84:	Neg		13.4.84	Neg	Neg	-
21 m.	Enteritis			No			(45 d.)			
M.	aguda	Neg	Pos							
150/C	Espondilitis	25.5.84		2.8.84	Neg		25.5.84	Neg	Neg	-
34 a	Anquilopoye-			No			(9 d.)			
M.	tica.	Neg	Pos							

Tabla 41. Clínica y serología de los pacientes con Y. enterocolitica 0:30.

Su: sulfamidas. Clin: clindamicina. Tc: tetraciclinas.

(Para otras abreviaciones ver pie tabla 34).

Y. enterocolitica 0:39, 41

Nº	Diagnóstico	Fecha del aislamiento		Tto.	Control	Contactos familiares NºE/Res.	Serología			
		D	E				Fecha	AD	F.C.	E.I.A.
479/C		6.2.84		3.4.84:	Neg		3.4.84	Neg	Neg	-
27 a.	Enteritis			Co		-	(60 d.)			
F.	aguda	Neg	Pos							

Tabla 42. Clínica y serología de los pacientes con Y. enterocolitica 0:39,41.  
(Para abreviaciones ver pie tabla 34).

Aglutinación			Fijación de complemento			Enzimoimmunoanálisis		
Título	NºS	% A	Título	NºS	% A	Título	NºS	% A
1/16	37	51.3	1/4	50	69.4	5000	24	33.4
1/16	13	69.4	1/4	14	88.8	5000-10000	34	80.5
1/32	17	93	1/8	7	98.6	10000-15000	7	90.2
1/64	2	97.2	1/16	0	100	15000-20000	4	95.8
1/128	2	100	1/32	1	100	20000-25000	0	95.8
1/128	0	100	1/32			25000-30000	2	98.6
						30000	1	100
n72 $\bar{x}$ = 75.8 $\pm$ 62								

Tabla 43. Títulos de aglutinación, fijación de complemento y enzimoimmunoanálisis en 72 controles sanos frente al antígeno de Y. enterocolitica 0:3.

Nº S: Número de sueros.

%A: Tantos por ciento acumulativos.

Y. enterocolitica 0:3 (22 pacientes)

Sexo: 7 varones

15 mujeres

Edad media: 18 años (11 m. a 81 a.)

<u>Manifestaciones clínicas</u>	<u>Nº</u> pacientes	<u>%</u>
Diarreas	20	91
Fiebre	10	45
Dolor abdominal difuso	8	36
Dolor abdominal pseudoapendicular	2	9
Vómitos	3	13
Deshidratación	2	9
Eritema nodoso	2	9
Artritis reactiva	2	9

Tabla 44. Manifestaciones clínicas de los pacientes con infección por Y. enterocolitica 0:3.

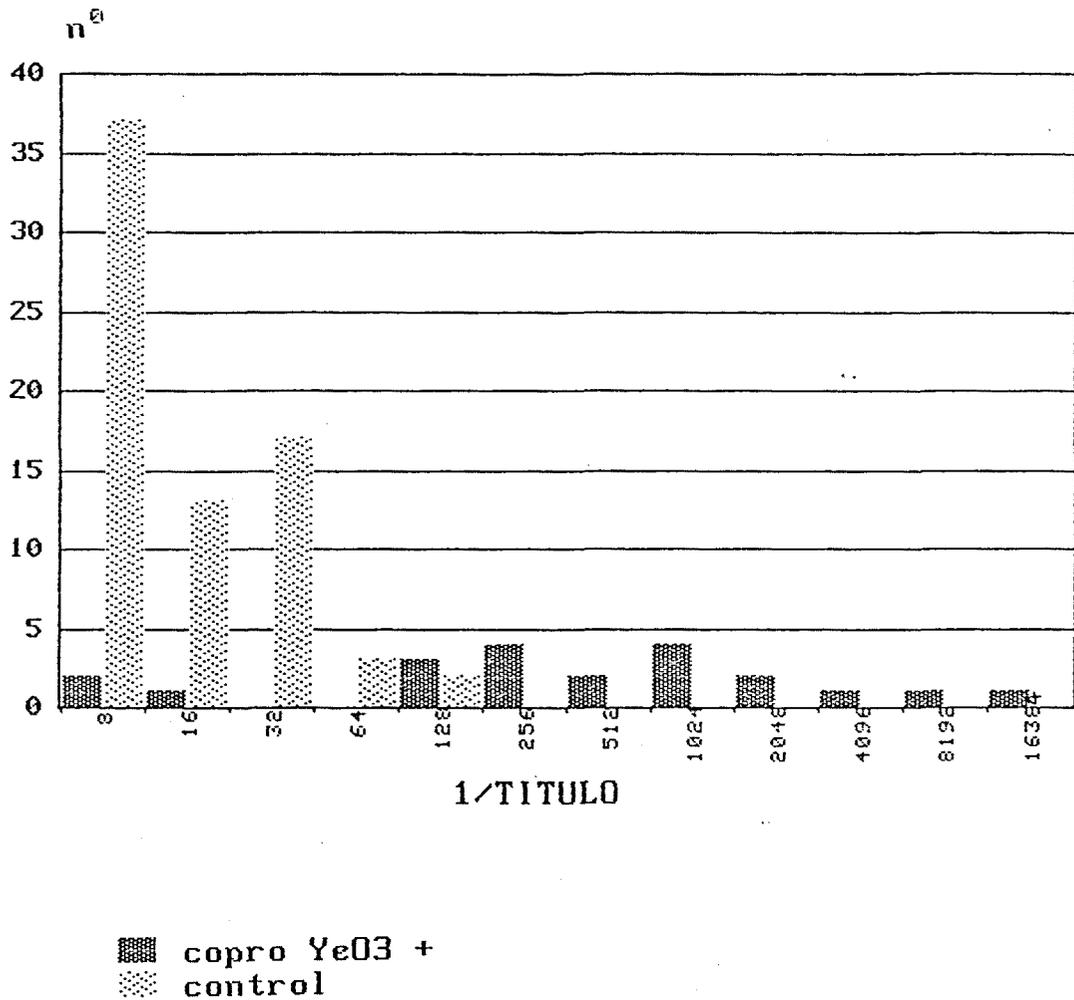


Figura 1. Resultados obtenidos con la prueba de aglutinación directa en la detección de anticuerpos específicos para Y. enterocolitica 03 en 22 enfermos de gastroenteritis con coprocultivo positivo y en 72 sueros control.

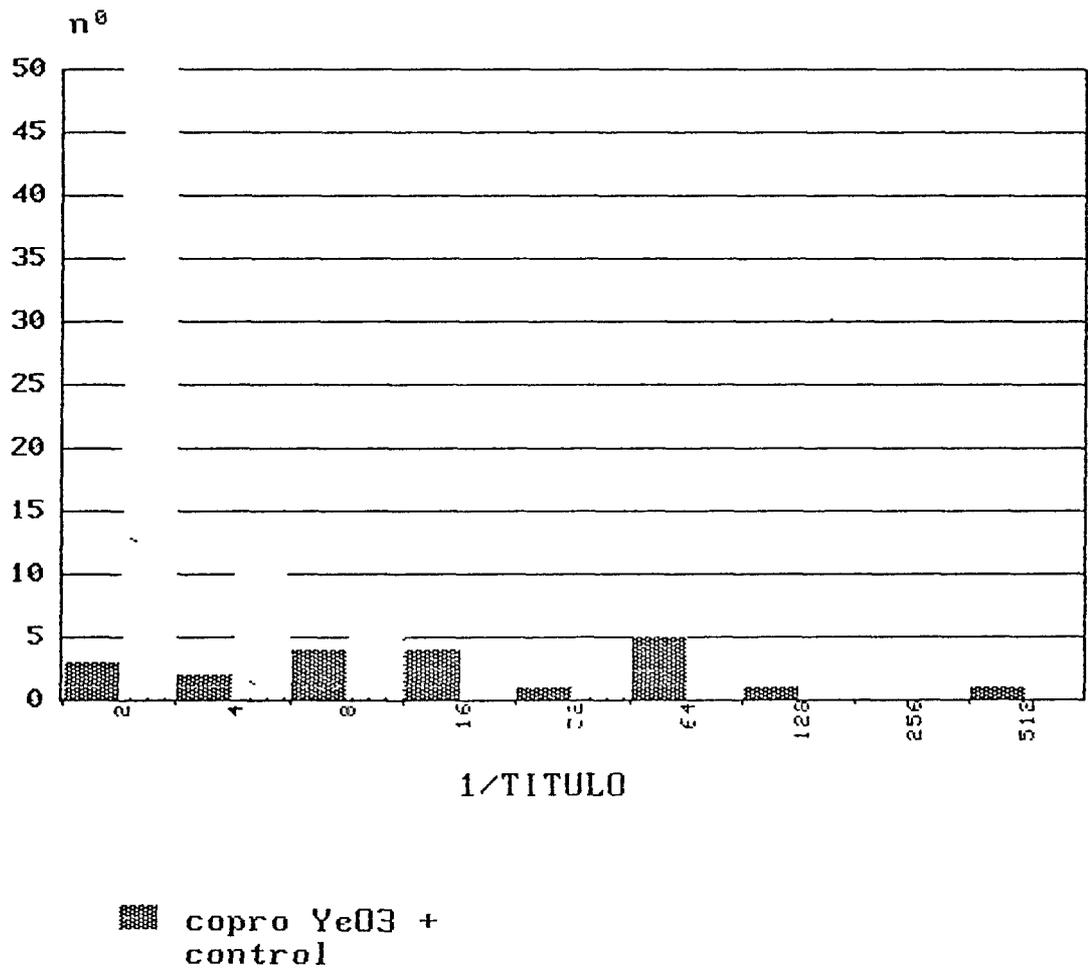


Figura 2. Resultados obtenidos con la prueba de fijación de complemento en la detección de anticuerpos específicos para Y. enterocolitica 03 en 22 enfermos de gastroenteritis con coprocultivo positivo y en 72 sueros control.

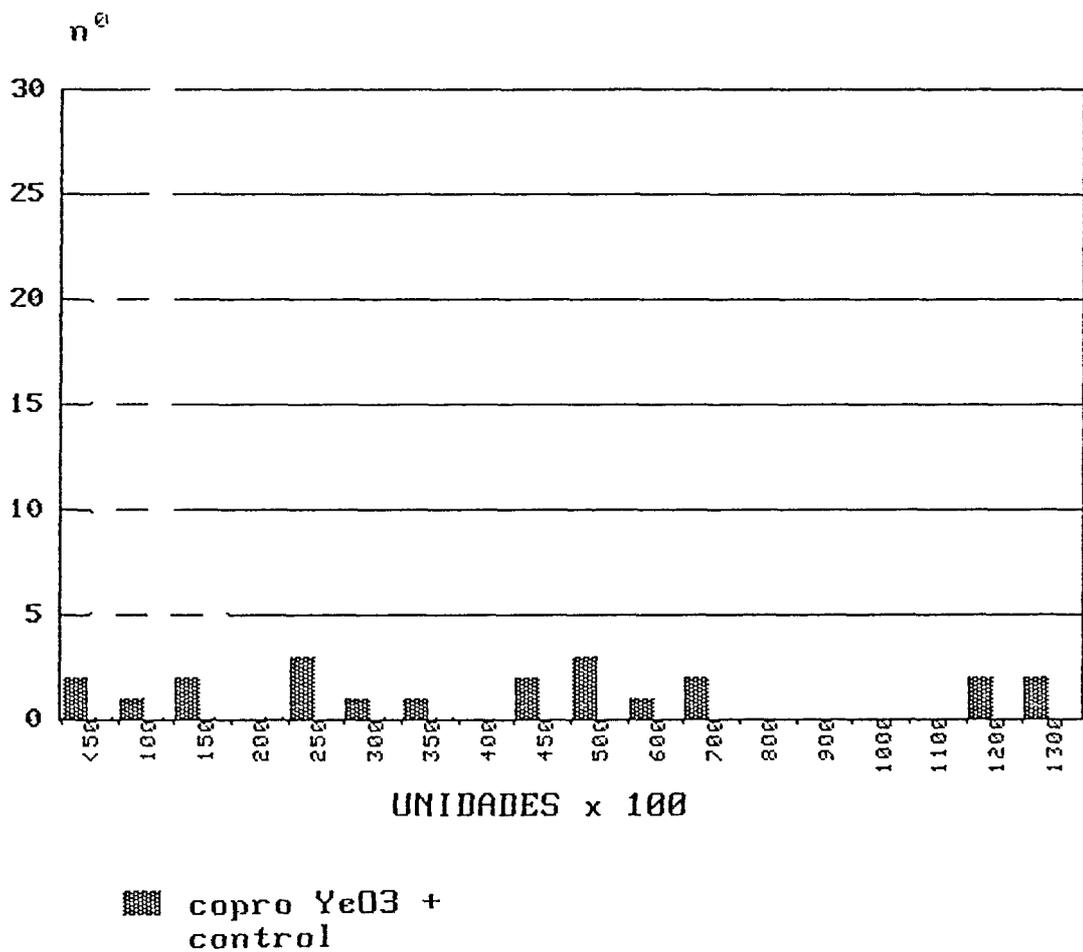


Figura 3. Resultados obtenidos con la prueba de E.L.I.S.A. en la detección de anticuerpos específicos para Y. enterocolitica 03 en 22 enfermos de gastroenteritis con coprocultivo positivo y en 72 sueros control.

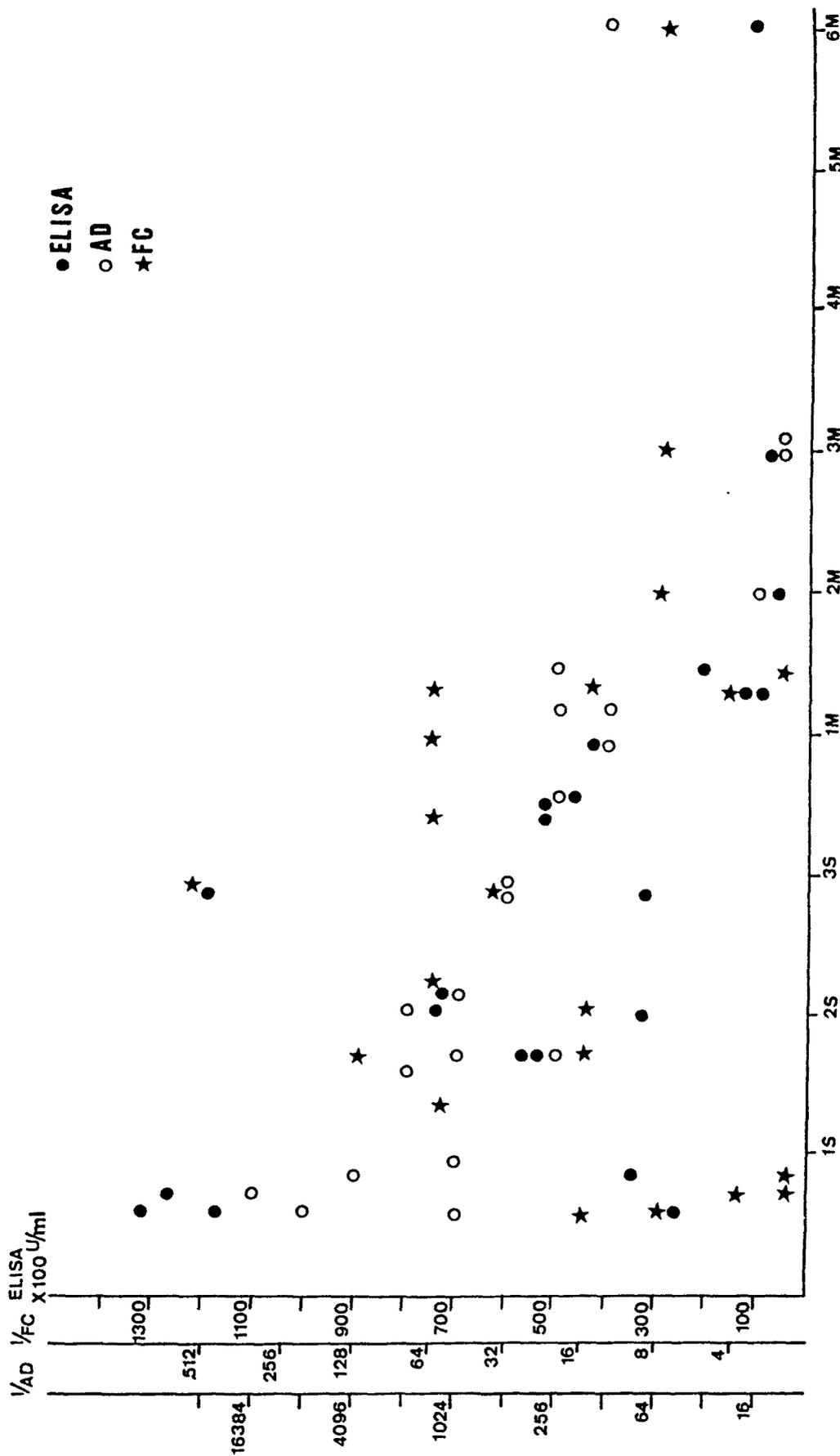


Figura 4. Títulos por aglutinación directa, fijación de complemento y enzimoimmunoanálisis de los pacientes con coprocultivo positivo a Y. enterocolitica 03 en relación con el momento de la extracción del suero respecto el inicio de la sintomatología.

## ii Pacientes con manifestaciones reumáticas

Se han estudiado 97 pacientes afectados de enfermedades reumáticas en relación a la infección por Y. enterocolitica y de los que en 92 casos se obtuvieron los datos clínicos (Tabla 45).

De estos 92 pacientes, 64 presentaban una artritis seronegativa mono o poliarticular sin otras manifestaciones clínicas. En 4 casos la artritis iba asociada a un eritema nodoso y en 1 caso se acompañaba de un cuadro diarreico. Seis enfermos estaban afectados de un síndrome de Reiter y 16 pacientes presentaban una sacroileitis, de los cuales el HLA-B27 se estudió en 8 casos siendo positivo en 6 y que en un caso se acompañó de una gastroenteritis. Una paciente afecta de una artritis y que posteriormente se diagnosticó de lupus eritematoso diseminado también se ha incluido en el estudio.

De estos 92 pacientes en 58 se efectuó un coprocultivo que en 3 casos fue positivo para Y. enterocolitica biotipo 4 y serogrupo 3. En todos los casos se efectuó estudio serológico frente Y. enterocolitica 0:3 por aglutinación directa y EIA y frente Y. enterocolitica 0:9 por aglutinación directa. Las manifestaciones clínicas y resultados de la serología en los casos que fue positiva frente al serotipo 3 se resumen en la Tabla 46. Ningún paciente presentó seroaglutinación positiva frente al serotipo 9.

En la tabla 47 se relacionan las manifestaciones clínicas y los resultados de las seropositividades según fueran por técnica de EIA sola o EIA y aglutinación directa.



<u>Manifestaciones clínicas</u>	<u>Nº pacientes</u>	<u>%</u>
Artritis reactiva seronegativa	64	69
Artritis y Eritema nodoso	4	4
Artritis y Diarrea	2	1
Síndrome de Reiter	6	6.5
Sacroileitis	15	16
Sacroileitis y Diarrea	1	1
Artritis - LED	1	1

92 pacientes: Sexo: 56 mujeres; 36 varones

Edad media: 36 años (12 a. a 74 a.)

Tabla 45. Manifestaciones clínicas en 92 pacientes afectados de enfermedad reumática.

Nº	Edad Sexo	Clínica Enfermedad de base	Coprocultivo	AD 0:3	Serología EIA 0:3 (Unidades)
1593	31 a F	Sacroileitis HLA-B27 + Gastroenteritis	<u>Y. enterocolitica</u> <u>b:4, 0:3</u>	1/512	83.200 Neg
363	28 a M	Sacroileitis HLA-B27 +	Neg	1/256	42.534 Neg
62	58 a M	Sacroileitis HLA-B 27 +	Neg	Neg	31.067 Neg
1946 ↑ 20 d ↓ 2132	40 a M	Poliartritis + S. febril prolongado HLA-B27 + LA cadera: Exudado cultivo: Neg	Neg 42.000 cels. 849 PM	1/2048	137.600 1/1024 61.600 Neg
347	47 a F	Poliartritis migratoria S. Raynaud HLA-B27 neg	NP	1/128	33.800 Neg

Tabla 46. Manifestaciones clínicas de los pacientes con enfermedades reumáticas y serología positiva frente a

Y. enterocolitica 0:3.

AD: aglutinación directa. EIA: enzoinmunoanálisis. LA: Líquido articular. NP: no practicado.

L.E.D.: Lupus eritematoso diseminado. Neg: negativo.



Nº	Edad Sexo	Clínica Enfermedad de base	Coprocultivo	Serología		
				AD 0:3	EIA 0:3 (Unidades)	AD 0:9
529	23 a M	Artritis rodilla L.A. Exudado cultivo: Neg.	Neg	1/8192	184.000	Neg
379	16 a F	Artritis rodilla S. Febril	NP	Neg	41.467	Neg
12	37 a M	Artritis tobillo Gastroenteritis	<u>Y. enterocolitica</u> <u>b:4, 0:3</u>	1/8192	132.800	Neg
349	36 a F	L.E.D. Nefropatía lúpica Artritis	NP	Neg	36.269	Neg
684	36 a F	Artritis rodilla	Neg	1/16	27.400	Neg

Tabla 46 (continuación).

MANIFESTACIONES CLINICAS		SEROLOGIA POSITIVA	
		EIA + AD	Solo EIA
Artritis seronegativa	64	4	5
Artritis y Gastroenteritis	1	1	0
Artritis y Eritema nodoso	4	1	0
Sacroileitis	15	2	1
L.E.D. Artritis	1	0	1
S. Reiter	6	0	0
Sin datos clínicos	5	0	0

Total pacientes: 97

Tanto por ciento de sueros positivos por EIA: 15.4%

Tanto por ciento de sueros positivos por AD: 8'2%

Tabla 47. Relación entre las manifestaciones clínicas y la serología positiva en los 97 pacientes afectados de enfermedades reumáticas.  
EIA: Enzimoimmunoanálisis. AD: Aglutinación directa.

### iii Pacientes con enfermedad inflamatoria crónica del intestino

También se han estudiado 14 enfermos afectados de enfermedad de Crohn en brote agudo, con coprocultivos negativos en todos los casos y a los que se efectuó estudio serológico frente a Y. enterocolítica serotipo 3 por aglutinación directa y por enzoinmunoanálisis y a Y. enterocolítica serotipo 9 por aglutinación directa. Los pacientes presentaron serología negativa frente a ambos serotipos. Estos resultados se presentan en la tabla 48.

## Enfermedad de Crohn

14 pacientes

Coprocultivos negativos en todos los casos.

Nº	AD 0:3	EIA 0:3	AD 0:9
643	Neg	2000	Neg
639	1/16	5200	Neg
375	Neg	9100	Neg
1079	Neg	200	Neg
1019	1/16	8700	Neg
2063	1/32	4200	Neg
1854	1/32	3400	Neg
1005	Neg	2400	Neg
1290	Neg	2200	Neg
1366	1/16	3600	Neg
3	Neg	14000	Neg
368	Neg	10400	Neg
29 bis	1/32	20967	Neg
642	Neg	11534	Neg

Tabla 48. Resultado del estudio serológico en los pacientes afectados de enfermedad de Crohn.

AD: Aglutinación directa.

EIA: Enzimoimmunoanálisis.

#### d Patogenicidad.

En todas las cepas aisladas de pacientes de los que se dispuso de datos clínicos y serológicos, se estudiaron 3 marcadores de patogenicidad "in vitro": la calcio dependencia a 37°C, la autoaglutinación a 37°C y la presencia de pirazinamidasas.

En las tablas 49 y 50 se recogen los resultados del estudio. De las 21 cepas del serogrupo 03, 19 mostraron disociación colonial a 37°C respecto al control a 28°C. Cuando se estudiaron las cepas dependientes de calcio presentaron autoaglutinación excepto una, y todas fueron pirazinamidasas negativas. Una cepa no mostró disociación ni autoaglutinación aunque fue pirazinamidasas negativa y otra presentó las tres pruebas de patogenicidad negativas.

Las cepas estudiadas de los demás serotipos fueron negativas excepto la 150-C del serogrupo 030 que presentó disociación y pirazinamidasas negativa aunque no aglutinaban y correspondía a una paciente de la que se aisló la cepa por enriquecimiento y presentaba serología negativa.

Cepas	Calcio dependencia		Autoaglutinación		Pirazinamidasas	
	Disociación 37°C/28°C	Tipo colonia 37°C	Colonias		Colonias	
			G.	p.	G.	p.
508-C	+	G/p	Neg	+	Neg	Neg
296-C	+	G/p	Neg	+	Neg	Neg
148-C	+	G/p	Neg	+	Neg	Neg
99-C	+	G/p	Neg	+	+	Neg
486-C	+	p		+		Neg
411-C	+	G/p	Neg	+	Neg	Neg
736-C	+	p		+		Neg
978-C	+	p		+		Neg
91-C	+	p		+		Neg
297-C	+	p		+		Neg
451-C	+	p		+		Neg
673-C	+	G/p	Neg	+	Neg	Neg
790-C	Neg	G	Neg		Neg	
779-C	+	p		+		Neg
263-C	+	p		+		Neg
758-C	+	p		+		Neg
337-C	+	G/p	Neg	+	Neg	Neg
111-C	+	G/p	Neg	Neg	Neg	Neg
479-C	Neg	G	Neg		+	
456-C	+	p		+		Neg
415-C	+	p		+		Neg

Tabla 49. Marcadores de patogenicidad en Y. enterocolitica biotipo 4 serogrupo 03. G.: colonias grandes; p.: colonias pequeñas.

Positivo: +. Negativo: Neg.

Cepas	Calcio dependencia		Autoaglutinación		Pirazinamidasas	
	Disociación 37°C/28°C	Tipo colonia 37°C	Colonias		Colonias	
			G.	p.	G.	p.
<u>Y. enterocolitica</u> 0:13						
965-C	Neg	G	Neg			+
968-C	Neg	G	Neg			+
<u>Y. enterocolitica</u> 0:25, 30						
571-C	Neg	G	Neg			+
573-C	Neg	G	Neg			+
<u>Y. enterocolitica</u> 0:25, 35						
584-C	Neg	G	Neg			+
<u>Y. enterocolitica</u> 0:25, 35, 28						
903-C	Neg	G	Neg			+

Tabla 50. Marcadores de patogenicidad en otros serogrupos de Y. enterocolitica. Positivo: +. Negativo: Neg.

Cepas	Calcio dependencia		Autoaglutinación		Pirazinamidasas	
	Disociación 37°C/28°C	Tipo colonia 37°C	Colonias		G.	p.
			G.	p.		
<u>Y. enterocolitica 0:30</u>						
576-C	Neg	G	Neg		+	
559-C	Neg	G	Neg		+	
605-C	Neg	G	Neg		+	
592-C	Neg	G	Neg		+	
150-C	+	G/p	Neg	Neg	+	Neg
<u>Y. enterocolitica 0:5</u>						
332-C	Neg	G	Neg		+	
852-C	Neg	G	Neg		+	
661-C	Neg	G	Neg		+	
841-C	Neg	G	Neg		+	
<u>Y. enterocolitica 0:6</u>						
987-C	Neg	G	Neg		+	
575-C	Neg	G	Neg		+	
576-C	Neg	G	Neg		+	
<u>Y. enterocolitica 0:28</u>						
76-C	Neg	G	Neg		+	

Tabla 50 (continuación).

Cepas	Calcio dependencia		Autoaglutinación		Pirazinamidasas	
	Disociación 37°C/28°C	Tipo colonia 37°C	Colonias		Colonias	
			G.	p.	G.	p.
<u>Y. enterocolitica</u> 0:7, 13, 19						
961-C	Neg	G	Neg		+	
<u>Y. enterocolitica</u> 0:39, 41						
479-C	Neg	G	Neg		+	
<u>Y. enterocolitica</u> 0:14						
954-C	Neg	G	Neg		+	
<u>Y. enterocolitica</u> 0:10, 34						
777-C	Neg	G	Neg		+	
<u>Y. enterocolitica</u> 0:7, 8						
921-C	Neg	G	Neg		+	

Tabla 50 (continuación).

e Caracteres metabólicos.

Todas las cepas aisladas fueron identificadas en base a los caracteres metabólicos según técnicas y criterios descritos por Brenner et al., Bercovier et al. y Ursing et al. (12-15).

Los resultados de las pruebas bioquímicas efectuadas en 138 cepas de origen humano se recogen en la tabla 51. Los resultados se han agrupado por especies y biotipos.

En la tabla 52 se señalan las atipias de las cepas aisladas en relación a la ureasa, lactosa y ONPG, caracteres que usualmente se utilizan como screening.

En las tablas 53, 54 y 55 se recogen los resultados del estudio bioquímico de 149 cepas aisladas del tracto digestivo (heces) de diversos animales, 36 aisladas de distintos alimentos y 51 procedentes de lengua de cerdo.

En la tabla 56 se señalan las atípicas de estas cepas en relación a la producción de gas en glucosa, ureasa, lactosa y ONPG.

Asimismo se destacan 14 cepas correspondientes a 4 especies que han presentado pigmento amarillo.

Dado que no hemos podido constatar en la bibliografía consultada la existencia de cepas con este caracter se describen con detalle (tabla 57) las características metabólicas y el serogrupo y lisotipo de estas cepas (tabla 58).



Atipia	Nº de cepas	Especie, biotipo.
Lactosa <sup>+</sup>	10	7: <u>Y. enterocolitica</u> b.1 1: <u>Y. enterocolitica</u> b.4 2: <u>Y. intermedia</u>
ONPG <sup>-</sup>	3	3: <u>Y. enterocolitica</u> b.4
Ureasa <sup>-</sup>	3	3: <u>Y. enterocolitica</u> b.1

Tabla 52. Atipias en los caracteres metabólicos de identificación presuntiva en 138 cepas de Yersinia de origen humano.



Y. enterocolitica

Biotipo 1	55 61	54 61	66 61	6 61	60 61	61 61	1 61	61 61	1 61	60 61	0 61	61 61	0 61	4 61	0 61	0 61	61 61	1 61
Biotipo 2	6 11	11 11	11 11	1 11	10 11	1 11	1 11	0 11	11 11	11 11	0 11	11 11	11 11	1 11	0 11	0 11	11 11	1 11
Biotipo 3	0 3	3 3	3 3	0 3	3 3	3 3	0 3	0 3	0 3	3 3	1 3							
Biotipo 4	4 7	7 7	7 7	0 7	7 7	0 7	7 7	1 7	7 7	7 7	0 7	7 7	7 7	0 7	0 7	0 7	7 7	1 7
<u>Y. frederiksenii</u>	16 26	11 26	26 26	11 23	26 26	0 26	4 26	0 26	26 26	26 26	0 26	26 26	26 26	0 26	0 26	0 26	0 26	0 26
<u>Y. kristensenii</u>	6 13	0 13	13 13	1 13	12 13	1 13	1 13	0 13	13 13	13 13	0 13	13 13	13 13	0 13	0 13	0 13	13 13	2 13
<u>Y. intermedia</u>	21 27	27 27	27 27	9 27	27 27	0 27	21 27	0 27	27 27	27 27	0 27	27 27	27 27	27 27	27 27	27 27	27 27	4 27
<u>Y. pseudotuberculosis</u>	0 1	0 1	0 1	0 1	0 1	0 1	0 1	1 1	0 1									

Tabla 53. Caracteres metabólicos a 28°C de 149 cepas de Yersinia de origen animal. Numerador: N° de cepas positivas. Denominador: N° de cepas estudiadas.

No se incluyen las pruebas de la oxidasa, fenilalanina deaminasa, producción de SH<sub>2</sub> y lisina decarboxilasa que fueron negativas en el 100% de las cepas, ni las pruebas de la nitrataza ni de la fermentación de la glucosa que fueron positivas en el 100% de las cepas. DNA: Deoxirribonucleasa. Pect: pectato. Gas: gas en glucosa. Mal: Malonato. Cel: Celobiosa. Sor: Sorbitol. Raf: Rafinosa. aM: alfa metil glucósido. Pig: Pigmento amarillo. Para el resto de las abreviaciones ver pie de la tabla 51.

	Mov	VP	RM	CS	Ind	Ur	Lac	ONPG	Lip	DNA	ODC	Gas	Pect	Mal	Cel	Tre	Sor	Sac	Ram	Raf	a-M	Mel	Xil	Pig
<u>Y. enterocolitica</u>																								
Biotipo 1	25 25	21 25	25 25	0 25	25 25	1 25	25 25	0 25	25 25	0 25	25 25	0 25	25 25	25 25	25 25	25 25	25 25	25 25	0 25	0 25	0 25	0 25	25 25	0 25
Biotipo 2	1 1	1 1	1 1	0 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	0 1	0 1	0 1	0 1	1 1	0 1								
Biotipo 4	1 10	10 10	0 10	0 10	10 10	0 10	10 10	0 10	10 10	0 10	8 10	0 10	10 10	10 10	7 10	10 10	10 10	10 10	0 10	0 10	0 10	0 10	0 10	0 10
<u>Y. kristensenii</u>	13 14	14 14	13 14	6 14	14 14	0 14	14 14	0 14	14 14	0 14	14 14	0 14	14 14	0 14										
<u>Y. pseudotuberculosis</u>	0 1	0 1	1 1	1 1	0 1	1 1	0 1	0 1	1 1	0 1	1 1	0 1	1 1	1 1	0 1	1 1	0 1	0 1	1 1	0 1	0 1	0 1	1 1	0 1

Tabla 54. Carácteres metabólicos a 28°C de 51 cepas de Yersinia aislada a partir de lenguas de cerdo . Numerador: Nº de cepas positivas  
Denominador: Nº de cepas estudiadas.

No se incluyen las pruebas de la oxidasa, fenilalanina deaminasa, producción de SH<sub>2</sub> y lisina decarboxilasa que fueron negativas en el 100% de las cepas, ni las pruebas de la nitrataasa ni de la fermentación de la glucosa que fueron positivas en el 100% de las cepas. Para las abreviaciones ver pies de las tablas 51 y 53.

	Mov	VP	RM	CS	Ind	Ur	Lac	ONPG	Lip	DNA	ODC	Gas	Pect	Mal	Cel	Tre	Sor	Sac	Ram	Raf	a-M	Mel	Xil	Pig				
<u>Y. enterocolitica</u>																												
Biotipo 1	7	8	8	0	8	8	8	0	8	8	8	0	7	8	8	8	8	8	0	8	8	0	0	8	8	1	8	
Biotipo 2	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
Biotipo 3	2	0	2	0	0	2	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	2	2	0	2	0
<u>Y. kristensenii</u>	3	0	4	0	3	4	0	0	4	4	4	0	4	4	4	4	4	0	0	0	0	0	0	4	4	1	4	4
<u>Y. frederiksenii</u>	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1
<u>Y. intermedia</u>	14	20	19	8	19	19	0	20	18	20	20	0	19	20	20	20	20	20	17	20	20	20	20	20	20	0	20	0

Tabla 55. Caracteres metabólicos a 28°C de 36 cepas de Yersinia aislada a partir de alimentos. Numerador: Nº de cepas positivas. Denominador: Nº de cepas estudiadas. Para las abreviaciones ver pies de las tablas 51 y 53.

Atipia	Nº de cepas	Especie, biotipo
Lactosa <sup>+</sup>	4	1: <u>Y. kristensenii</u> 1 3: <u>Y. enterocolitica</u> 2 b.1 1 b.2
ONPG <sup>-</sup>	3	2: <u>Y. enterocolitica</u> 1 b.1 1 b.2  1: <u>Y. kristensenii</u>
Ureasa <sup>-</sup>	1	1: <u>Y. intermedia</u> b.2
Gas glucosa <sup>+</sup>	1	1: <u>Y. enterocolitica</u> b.1
Pigmento amarillo	14	1: <u>Yersinia</u> sp 4: <u>Y. enterocolitica</u> 3 b.1 1 b.3  1: <u>Y. frederiksenii</u>  4: <u>Y. kristensenii</u>  4: <u>Y. intermedia</u> 2 b.1 2 b.4

Tabla 56. Atipias en los caracteres metabólicos de identificación presuntiva en 236 cepas de Yersinia de origen no humano.

C.S.

VP      ODC

37º 28º 37º 28º ADH 37º 28º Ind 37º 28º Lac ONPGMan Ur CNK Gel Lip DNACC Ace Mal Tar Muc Pect

<u>Y. enterocolitica</u>	0	4	0	3	0	1	4	3	0	0	4	2	0	4	3	0	4	4	3	4	4
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
<u>Y. frederiksenii</u>	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<u>Y. kristensenii</u>	0	2	0	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0	3	0	0	4	4	2	4	4
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
<u>Y. intermedia</u>	0	4	1	4	0	4	4	4	0	4	4	0	0	4	4	0	4	4	4	4	4
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
<u>Yersinia sp</u>	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Tabla 57. Carácteres metabólicos a 28°C de 14 cepas de Yersinia con pigmento amarillo. No se incluyen las pruebas de oxidasa, producción de gas en glucosa, fenilalanina deaminasa, producción de SH<sub>2</sub> y lisina decarboxilasa que fueron negativas en el 100% de las cepas, ni las pruebas de la nitratasa ni de la fermentación de la glucosa que fueron positivas en el 100% de las cepas.

ADH: Arginina dehidrolasa. Man: Manitol. Gel: Gelatinasa. CC: Citrato de Christensen. Ace: Acetato. Tar: Tartrato de Jordans. Muc: Mucato. Ara: Arabinosa. Arbt: Arabitol. Dul: Dulcitol. Ino: Inositol. Ado: Adonitol. Eri: Eritritol. Sal: Salicina. Gli: Glicerol. Para el resto de abreviaciones ver pies de las tablas 51 y 53.

	Mal	Xil	Tre	Raf	Ara	Ram	Esc	Mel	Arbt	Sac	Man	Dul	Ado	Ino	Mel	Eri	Sal	Sor	Cel	Gli
<u>Y. enterocolitica</u>	$\frac{4}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{3}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{3}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{3}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{3}{4}$	$\frac{3}{4}$	$\frac{3}{4}$	$\frac{3}{4}$
<u>Y. frederiksenii</u>	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{0}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{0}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{0}{1}$	$\frac{0}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{0}{1}$	$\frac{0}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$
<u>Y. kristensenii</u>	$\frac{4}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{4}{4}$
<u>Y. intermedia</u>	$\frac{4}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{2}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{3}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{2}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{0}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{4}{4}$	$\frac{4}{4}$
<u>Yersinia sp</u>	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{0}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{0}{1}$	$\frac{0}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{0}{1}$	$\frac{0}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{0}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$

Tabla 57 (continuación).

Espece	Biotipo	Serogrupo	Lisotipo	Procedencia
<u>Y. enterocolitica</u>	1	AA	Xo	Cerdo
	1	10,34	Xo	Salchicha
	1	6,47	Xz	<u>C. russulae</u>
	3	52	Xo	<u>A. sylvaticus</u>
<u>Y. kristensenii</u>		16,29	Xz	<u>A. sylvaticus</u>
		12,25	Xo	<u>C. russulae</u>
		AA	Xo	Lechuga
		AA	Xz	<u>C. russulae</u>
<u>Y. intermedia</u>	1	16,29	Xz	<u>A. sapidus</u>
	1	4	Xo	Vaca
	4	4	Xz	Vaca
	4	4	Xz	Vaca
<u>Y. frederiksenii</u>		16,29	Xz	Merluza
<u>Yersinia sp</u>		AA	Xo	<u>A. sylvaticus</u>

Tabla 58. Biotipo, serogrupo, lisotipo y procedencia de las 14 cepas de Yersinia con pigmento amarillo.

## f Sensibilidad a los antimicrobianos

El estudio de la sensibilidad a los antibióticos se ha efectuado dividiendo las cepas en 2 grupos según su procedencia. Por una parte se han evaluado las cepas de origen humano incluyendo 77 cepas de Y. enterocolitica del biotipo 1, 4 cepas de Y. enterocolitica del biotipo 3, 37 cepas de Y. enterocolitica del biotipo 4, 2 cepas de Y. intermedia, 2 cepas de Y. kristensenii y 9 cepas de Y. frederiksenii.

Por lo que respecta a las cepas de origen no humano se han estudiado 105 cepas de Y. enterocolitica del biotipo 1, 5 cepas de Y. enterocolitica del biotipo 3, 17 cepas de Y. enterocolitica del biotipo 4, 63 cepas de Y. intermedia, 16 cepas de Y. kristensenii, 29 cepas de Y. frederiksenii y 2 cepas de Y. pseudotuberculosis.

La técnica utilizada ha sido la difusión en agar con discos cargados con cantidades estándar de antibióticos (220).

Los antibióticos utilizados han sido ampicilina, carbenicilina, mezlocilina, azlocilina, piperacilina, cefalotina, cefoxitina, cefotaxima, cloramfenicol, tetraciclinas, colistina, gentamicina, tobramicina, amikacina, netilmicina, kanamicina, neomicina, estreptomina, espectinomina, sulfamidas, trimetoprim y cotrimoxazol.

En las tablas 59 y 60 se recogen los resultados de la sensibilidad frente a estos antibióticos de las cepas de origen humano y de las cepas de origen no humano respectivamente.

Todas las cepas de origen no humano (NH) fueron sensibles a los aminoglucósidos estudiados en este grupo (gentamicina, tobramicina y amikacina). Las cepas de origen humano (H) fueron sensibles a dichos antibióticos, así como a netilmicina y kanamicina. Solo se encontraron resistencia entre las cepas de Y. enterocolitica biotipo

4 (0:3) a estreptomina 60%, espectinomina 8% y neomicina 3% y en Y. enterocolitica del biotipo 1 a estreptomina 3%. El resto de cepas de origen humano fueron sensibles a estos antibióticos.

Todas las cepas de origen NH fueron sensibles al cloramfenicol, sin embargo entre las cepas de origen humano se encontraron 3 cepas de Y. enterocolitica biotipo 1 y 3 del biotipo 4 que fueron resistentes.

Se detectaron 2 cepas resistentes a tetraciclinas de Y. enterocolitica del biotipo 1 y 1 de Y. frederiksenii de origen NH, encontrándose 2 cepas de Y. enterocolitica biotipo 1 resistentes a tetraciclinas entre las de origen H, aunque todas las cepas de Y. enterocolitica del biotipo 4 fueron susceptibles.

Entre las cepas de origen NH se encontraron 2 cepas resistentes a sulfamidas en Y. enterocolitica biotipo 4 y 3 en el biotipo 1, 2 de las cuales fueron resistentes a cotrimoxazol. La incidencia de resistencia a sulfamidas solo se detectó en 17 cepas (46%) de Y. enterocolitica biotipo 4 de origen humano, 6 de las cuales fueron además resistentes a cotrimoxazol.

Por último todas las cepas fueron sensibles a colistina, excepto las dos cepas de Y. pseudotuberculosis aisladas. Estas dos cepas fueron sensibles a todos los antimicrobianos estudiados incluyendo los beta-lactámicos.

En la tabla 61 se presenta la sensibilidad de todas las cepas de Yersinia frente a los antibióticos beta-lactámicos. Con respecto a estos antibióticos hay que señalar los siguientes resultados:

Yersinia enterocolitica biotipo 4. Todas las cepas fueron resistentes a ampicilina, carbenicilina y cefalotina y sensibles a cefotaxima. Un número muy limitado fueron resistentes a cefoxitina (6% de NH y 3% de H).

Y. enterocolitica biotipo 1. Todas fueron resistentes a ampicilina y cefalotina. La mayoría de las cepas fueron resistentes a carbenicilina y cefoxitina y todas fueron sensibles a cefotaxima.

Y. enterocolitica biotipo 3. Presentaron un patrón semejante a las anteriores aunque fueron regularmente sensibles a carbenicilina.

Y. kristensenii. Algunas cepas fueron sensibles a ampicilina (56%) y todas fueron sensibles a carbenicilina. En cuanto a las cefalosporinas todas fueron resistentes a cefalotina y sensibles a cefoxitina y cefotaxima.

Y. frederiksenii y Y. intermedia. Presentaron un patrón semejante con algunas cepas sensibles a ampicilina, carbenicilina, cefalotina y cefoxitina y todas ellas sensibles a cefotaxima.

	Ap	Cb	Mz	Pp	Cf	Cfx	Ctx	Cm	Tc	Co	Gm	Tm	Ak	Nt	Km	Nm	Sm	Sp	Su	Tp	SXT
<u>Y. frederiksenii</u>	0	0	9	9	0	5	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	0	0	100	100	0	55	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<u>Y. kristensenii</u>	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	0	100	100	100	0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<u>Y. intermedia</u>	1	2	2	2	0	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	50	100	100	100	0	50	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<u>Y. enterocolitica b. 4</u>	0	0	37	37	0	36	37	34	37	37	37	37	37	37	37	36	15	34	15	20	31
	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37
	0	0	100	100	0	97	100	92	100	100	100	100	100	100	100	97	40	92	54	84	84
<u>Y. enterocolitica b. 3</u>	0	4	4	4	0	1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	0	100	100	100	0	25	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<u>Y. enterocolitica b. 1</u>	0	12	77	77	0	2	77	76	75	77	77	77	77	77	77	77	75	77	77	77	77
	77	77	77	77	77	77	77	77	77	77	77	77	77	77	77	77	77	77	77	77	77
	0	15	100	100	0	2.5	100	99	97	100	100	100	100	100	100	100	97	100	100	99	100

Tabla 59. Sensibilidad de las cepas de *Yersinia* de origen humano.

Numerador: cepas sensibles, denominador: cepas estudiadas. Tanto por ciento de sensibles.

Ap: ampicilina, Cb: carbenicilina, Mz: mezlocilina, Pp: piperacilina, Cf: cefalotina, Cfx: cefoxitina, Ctx: cefotaxima, Cm: cloramfenicol, Tc: tetraciclinas, Co: colimicina, Gm: gentamicina, Tm: tobramicina, Ak: amicacina, Nt: netilmicina, Km: kanamicina, Nm: neomicina, Sm: estreptomomicina, Sp: espectinomomicina, Su: sulfamidas, Tp: trimetoprim, SXT: co-trimoxazol.

	Ap	Cb	Ag	Tic	Az	Pp	Cf	Cfx	Ctx	Ctz	Cm	Tc	Dx	Gm	Tm	Ak	SXT	Fo	Co	Na	
<u>Y. frederiksenii</u>	3 29 10	4 9 44	16 29 55	6 29 21	21 29 72	27 29 93	1 29 3.5	14 29 48	29 29 100	29 29 100	29 29 100	28 29 96	27 29 93	29 29 100	29 29 100	29 29 100	29 29 100	29 29 100	28 29 96	29 29 100	
<u>Y. kristensenii</u>	9 16 56	7 7 100	12 16 75	16 16 100	16 16 100	16 16 100	0 16 0	16 16 100	16 16 100	16 16 100	16 16 100	16 16 100	16 16 100	16 16 100	16 16 100	16 16 100	16 16 100	16 16 100	15 16 94	16 16 100	
<u>Y. intermedia</u>	9 63 14	12 56 21	46 63 73	41 63 65	63 63 100	63 63 100	15 63 24	29 63 46	63 63 100	63 63 100	63 63 100	63 63 100	63 63 100	63 63 100	63 63 100	63 63 100	63 63 100	63 63 100	63 63 100	58 63 92	63 63 100
<u>Y. pseudotuberculosis</u>	2 2 100	2 2 100	2 2 100	2 2 100	2 2 100	2 2 100	2 2 100	2 2 100	2 2 100	2 2 100	2 2 100	2 2 100	2 2 100	2 2 100	2 2 100	2 2 100	2 2 100	2 2 100	2 2 100	0 2 0	2 2 100
<u>Y. enterocolitica</u>	0 17 0	0 17 0	15 17 88	0 17 0	17 17 100	17 17 100	0 17 0	16 17 94	17 17 100	17 17 100	17 17 100	17 17 100	17 17 100	17 17 100	17 17 100	17 17 100	17 17 100	15 17 88	17 17 100	17 17 100	15 17 100
<u>Y. enterocolitica</u>	1 5 20	5 5 100	3 5 60	5 5 100	5 5 100	5 5 100	1 5 20	2 5 40	5 5 100	5 5 100	5 5 100	5 5 100	5 5 100	5 5 100	5 5 100	5 5 100	5 5 100	5 5 100	4 5 80	5 5 100	
<u>Y. enterocolitica</u>	0 105 0	1 48 2	3 105 3	48 105 46	101 105 96	105 105 100	0 105 0	3 105 3	105 105 100	105 105 100	105 105 100	103 105 98	105 105 100	105 105 100	105 105 100	105 105 100	105 105 100	102 105 97	105 105 100	105 105 98	

Tabla 60. Sensibilidad de las cepas de *Yersinia* de origen no humano.

Numerador: Cepas sensibles, denominador: cepas estudiadas. Tanto por ciento de sensibles.

Ap: ampicilina, Cb: carbenicilina, Ag: augmentin, Tic: ticarcilina, Az: azlocilina, Pp: piperacilina, Cf: cefalotina, Cfx: cefoxitina, Ctx: cefotaxima, Ctz: ceftazidima, Cm: cloramfenicol, Tc: tetraciclina, Dx: doxiciclina, Gm: gentamicina, Tm: tobramicina, Ak: ampicilina, SXT: co-trimoxazol, Fo: fosfomicina, Co: colimicina, Na: ácido nalidixico.

	Ap	Cb	Pp	Cf	Cfx	Ctx
<u>Y. enterocolitica</u> biotipo 4	0 54	0 54	54 54	0 54	52 54	54 54
	0 R	0 R	100 S	0 R	96 s	100 S
<u>Y. enterocolitica</u> biotipo 3	1 9	9 9	9 9	1 9	3 9	9 9
	11 r	100 S	100 S	11 r	33 V	100 S
<u>Y. enterocolitica</u> biotipo 1	0 182	13 125	182 182	0 182	5 182	182 182
	0 R	10 r	100 S	0 R	2.7 r	100 S

Tabla 61. Sensibilidad de las cepas de Yersinia a los antibióticos betalactámicos. Numerador: cepas sensibles. Denominador: cepas estudiadas. Tanto por ciento sensibles. 0:R; 0-15:r; 15-85:V; 85-100:s; 100:S. Ap: Ampicilina; Cb: Carbenicilina; Pp: Piperacilina; Cf: Cefalotina; Cfx: Cefoxitina; Ctx: Cefotaxima.

	Ap	Cb	Pp	Ct	Cfx	Ctx
<u>Y. frederiksenii</u>	$\frac{3}{38}$	$\frac{4}{18}$	$\frac{36}{38}$	$\frac{1}{38}$	$\frac{19}{38}$	$\frac{38}{38}$
	7 r	22 V	94 s	2.6 r	50 V	100 S
<u>Y. kristensenii</u>	$\frac{9}{18}$	$\frac{9}{9}$	$\frac{18}{18}$	$\frac{0}{18}$	$\frac{18}{18}$	$\frac{18}{18}$
	50 V	100 S	100 S	0 R	100 S	100 S
<u>Y. intermedia</u>	$\frac{10}{65}$	$\frac{14}{58}$	$\frac{65}{65}$	$\frac{15}{65}$	$\frac{30}{65}$	$\frac{65}{65}$
	15 r	24 V	100 S	23 V	46 V	100 S
<u>Y. pseudotuberculosis</u>	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$
	100 S					

Tabla 61 (continuación).