

# La batalla decisiva contra la fiebre tifoidea en Santiago de Chile en el siglo XX

## The decisive battle against typhoid fever in Santiago de Chile in the twentieth century

Walter Ledermann Dehnhardt<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Estudios Humanistas Julio Prado.

Recibido: 26 de diciembre de 2022

### Resumen

Hasta 1983, cuando alcanzaba la increíble tasa de 118 casos por 100.000 habitantes, la fiebre tifoidea era la peor amenaza infecciosa en Santiago, Chile, ciudad que figuraba junto a Ciudad de México, El Cairo y Bombay, como una de las con mayor endemia en el mundo. El Ministerio de Salud respondió formando el Comité de Tifoidea de Chile, con participación de expertos nacionales y del grupo de Myron Levine, de la Universidad de Maryland, que llevó a cabo ingeniosas investigaciones, culpando al río Mapocho, cuyas aguas contaminadas con *Salmonella typhi* regaban los predios agrícolas vecinos, conformando así un ciclo largo de infección. Las vacunas antitíficas ensayadas (oral Ty21a atenuada y polisacárido capsular Vi inyectable) no mostraron eficacia, los portadores crónicos no se trataron, pero una campaña sanitaria a través de la televisión contribuyó decisivamente a mejorar los hábitos higiénicos de la población, fortalecida por el pánico que causó la llegada del cólera en 1991, y la fiebre tifoidea prácticamente desapareció del escenario.

**Palabras clave:** Fiebre tifoidea; Comité de Tifoidea de Chile; vacuna oral Ty 21a; vacuna polisacárido Vi; hisopo de Moore.

### Abstract

Until 1983, when reached the incredible frequency of 118 cases for 100.000 habitants, typhoid fever was the worst infectious threat in Santiago, Chile, city that appeared next to Mexico City, Cairo and Bombay, as one of the most endemic in the world. The Ministry of Health responded with the creation of The Chilean Typhoid Committee, with the participation of national experts and Myron Levine's group, which carried out ingenious investigations blaming the Mapocho River, whose waters contaminated with *Salmonella typhi* irrigated the neighboring farms, thus conforming a long cycle of infection. Typhoid vaccines tested (strain Ty 21a oral and Vi capsular polysaccharide) did not show efficacy, chronic carriers were not treated, but a health campaign on television made a decisive contribution to improving hygiene habits of the population, strengthened by the panic caused by the arrival of cholera in 1991, and typhoid fever practically disappeared from the stage.

**Key words:** Typhoid fever; The Chilean Typhoid Committee; oral vaccine Ty 21a; vaccine Vi capsular polysaccharide; Moore swabs.

### Una historia memorable

Si hay alguna historia memorable de investigación en la medicina chilena, ésta la constituye la lucha emprendida por el Ministerio de Salud en los años ochenta, con ayuda de un grupo de investigadores norteamericanos, para erradicar la fiebre tifoidea, que concedía a Santiago el dudoso honor de estar entre las cuatro más

sucias del mundo, suponiendo que luego el método podría aplicarse con éxito al resto del país.

Hasta 1983, en que alcanzaba la increíble tasa de 118 casos por 100.000 habitantes— y antes había llegado a 150 —la fiebre tifoidea, entendiéndose como tal el grupo de las fiebres entéricas causadas por las *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A* y *Salmonella paratyphi B*, era la mayor amenaza endémica para la salud chilena. Era tanta

*Nota del ed.* El autor adopta la nomenclatura clásica del género *Salmonella*, que era la utilizada en la época referida.

#### Correspondencia a:

Walter Ledermann Dehnhardt  
oncemayor@gmail.com

que, para estudiar el problema y buscar soluciones, el Ministerio de Salud formó un comité con expertos nacionales y la colaboración del grupo de Myron Levine, de la Universidad de Maryland, denominado *The Chilean Typhoid Committee* en sus publicaciones. Al alero de esta organización se efectuaron investigaciones que constituyeron verdaderos hitos en la victoria sobre las fiebres entéricas, que hemos comentado en la extinta revista *Calvomackenna*: considerando la corta existencia de dicha publicación y queriendo salvar del olvido esta verdadera epopeya médica, volvemos sobre ella con la perspectiva del tiempo transcurrido<sup>1</sup>.

### Origen de la fiebre tifoidea en Chile

¿Desde cuándo esta maldición afectaba a la salud de los chilenos? Si consideramos las descripciones que los conquistadores hacían del *chavalongo* a pocos años de arribar a esta tierra, es posible que este mal, al parecer endémico, hubiera sido fiebre tifoidea. Enrique Laval publicó en estas páginas en el 2017 una razonada exposición de los hechos que desde el siglo XVI al XIX llevaron a la confusión en esta salmonelosis y el tifus exantemático, concluyendo que si bien, gracias a los trabajos de Bretonneau y de Louis estableciendo la identidad de esta enfermedad como distinta del tifus, sólo en 1896, gracias a la reacción serológica de Widal, se contó con una herramienta diagnóstica útil para superar la confusión<sup>2</sup>. Sin embargo, como él mismo señala y como nosotros comprobamos entre nuestros pacientes, ésta persistió entre la población hasta bien entrado el siglo XX.

¿Cómo pudo persistir con tanta intensidad entre nosotros durante más de cuatro siglos? Por nuestro salvajismo, que negamos enfáticamente, pese a comprobarlo día a día con hechos de violencia y de sangre que nos parecen naturales e inevitables. El chileno es rebelde por naturaleza: la resistencia a la vacunación en medio de la terrible pandemia que nos afecta es de ello una prueba palpable. Pues bien, en 1983 las condiciones sanitarias eran pobres, como lo prueba que recién en el Hospital Luis Calvo Mackenna estábamos luchando por imponer el uso de toalla de papel desechable para el lavado de manos en las salas de aislamiento, donde al lado del lavatorio colgaba una toalla de género rebosante de bacterias... ¿o debiéramos decir de miasmas?

Santiago, que no es Chile, pero casi, era el bastión donde la tifoidea se hacía más inexpugnable; muchos infectólogos y epidemiólogos sospechábamos de las aguas del Mapocho como el principal agente de difusión; no obstante que esta sospecha, como ya veremos, se confirmara, había más, mucho más: había hábitos higiénicos pobrísimo, que atravesaban transversalmente la sociedad de la capital y *The Chilean Typhoid Committee* iba a descubrirlos e intentar su corrección.

### Myron Levine determina el número de portadores en Santiago

La ciudad de Santiago era citada por Hornick, toda una autoridad mundial en tifoidea, junto a Ciudad de México, Cairo y Bombay, como un ejemplo de las ciudades más endémicas del mundo, atribuyéndole este carácter a “una higiene y saneamiento pobres”, por lo cual la fiebre tifoidea era “particularmente prevalente en niños”<sup>3</sup>, lo cual parecía confirmarse con un estudio mediante hemocultivos de Ferreccio a 197 lactantes febriles en consultorios de la zona norte de la ciudad, encontrando en ellos un 3,5% *Salmonella* (2% *S. typhi*, 1% *S. paratyphi B* y 0,5% *S. paratyphi A*), resultados que, de paso, daban cuenta de la infección temprana en la vida de los santiaguinos<sup>4</sup>.

Para verificar la acusación de Hornick, se partió por determinar la cifra de portadores de *Salmonella typhi* en la población de Santiago, mediante un ingenioso estudio de Levine, que ha devenido clásico<sup>5</sup>. Partiendo de la base que entre el 2 y 5 % de quienes se infectan con *S. typhi* quedan portadores de la bacteria en la vesícula biliar, y conociendo la alta prevalencia de coleditiasis en el país, llegó a calcular el número total de portadores relacionando estos factores con el último censo poblacional. La prevalencia de personas con patología biliar se obtuvo de datos obtenidos de 1.967 autopsias realizadas en el Instituto Médico Legal durante un decenio<sup>6</sup>, en tanto que la frecuencia de portación se midió a través de mil colecistectomías sucesivas, todas con cultivo biliar, efectuadas en seis hospitales de Santiago<sup>7</sup>. El cálculo del número de portadores se muestra usando como ejemplo el grupo etario de mujeres de 30 a 39 años en Tabla 1.

Los valores obtenidos en este estudio eran alarmantes, mostrando que en 1982 habría en Santiago 25.019 mujeres y 4.475 hombres, todos mayores de diez años de edad, que serían portadores crónicos de *S. typhi*. Por esa misma época se estimaba que en todo el Estado de Nueva York había... ¡apenas 175!<sup>8</sup>. Un grupo de gastroenterólogos chi-

**Tabla 1. Ejemplo de cálculo de portadores por Myron Levine**

Grupo etario: 30 a 39 años.
Sexo: femenino
Colelitiasis en autopsias para este grupo: 43,1%.
Población para este grupo según Censo: 323.987.
43,1 % de 323.987 = 139.638 mujeres de 30 a 39 años con coleditiasis
Porcentaje de vesículas con <i>Salmonella typhi</i> en este grupo: 4%
4% de 139.368 mujeres de 30-39 años = 5.586 portadoras
Portadores así estimados por 100.000 habitantes = 1.724.

lenos cuestionó las extrapolaciones de Levine, aduciendo que ellas sobrestimaban el número real de portadores<sup>9</sup>, a lo que el investigador replicó, certeramente: *Desde la perspectiva de salud pública y de control epidemiológico de infecciones por Salmonella typhi, hay poca diferencia si el reservorio incluye 25.019 o 22.517 o “sólo” 12.500 portadores crónicos; éstos deben ser identificados, recibir educación sanitaria, ofreciéndoles terapia y seguimiento*<sup>10</sup>. Señalaba así, muy claramente, Levine el camino a seguir.

### Buscando portadores con el antígeno Vi

Un estudio complementario del mismo equipo investigador<sup>11</sup> quiso valorizar la serología anti-Vi, como un método más preciso de estimación, ya que desde antiguo se sabía que los portadores crónicos exhibían títulos altos de anticuerpos contra este antígeno de envoltura. ¿Qué es el antígeno Vi? “Vi” significa virulencia y designa a una envoltura mucosa que envuelve a las cepas agresivas de *S. typhi*, desmintiendo la famosa afirmación de nuestro Profesor Dussert, quien decía en su primera clase a los alumnos de tercero de Medicina: *Las bacterias no usan chaleco*. Pues bien, *Salmonella typhi* tiene un chaleco que favorece su virulencia y tanto el paciente como el portador crónico tienen anticuerpos contra él<sup>12</sup>. La investigación trabajó con 36 portadores conocidos, en su mayor parte mujeres (92%). Se determinó que un título de 1:160 tenía una sensibilidad de 75% y especificidad de 92% para detectar portadores crónicos, por comparación con los valores obtenidos en 29 pacientes con tifoidea activa, 38 no-portadores determinados uno a cuatro años antes y 59 individuos sanos (Tabla 2).

Este no pasó de ser un buen estudio complementario, pues practicar serología anti-Vi a grandes grupos poblacionales sería tan costoso como hacer coprocultivos masivos.

### Sears investiga el ciclo largo de infección.

Estimado ya el posible número de portadores, faltaba analizar el cómo y el cuándo de su participación en el

ciclo infeccioso de la tifoidea, si a través de un ciclo corto, contaminando los alimentos en casa, o a través de un ciclo largo, descargando bacterias intestinales al alcantarillado, infectando así las verduras en los cultivos de verduras en la periferia de la ciudad.

Hasta entonces era un dogma que *nunca se había encontrado bacilo de Eberth en el Mapocho*, aseveración que Sears se propuso desmentir utilizando el hisopo de Moore para tomar muestras del río, que puede describirse como un “traperero”, adminículo usado por las dueñas de casa, consistente en un palo de escoba con un extremo forrado en trapo<sup>13</sup>.

Los inocentes investigadores foráneos, ayudados por sus colegas nativos, iniciaron esta aventura arriesgando su integridad física en el río Mapocho y en su principal afluente urbano, el zanjón de la Aguada. Tenían que colgar los hisopos desde los puentes o algún otro punto en altura, utilizando una cuerda de nylon, de modo que el traperero quedara sumergido en las turbias aguas, y retirarlos horas después, cuando ya habían atrapado abundante líquido, y cultivarlos en busca de las esquivas *Salmonella*.

*But...* no contaron con la astucia nativa, la pillería consustancial al chileno, su infinita habilidad para hacer el mal por diversión. Una vez retirados los investigadores del sitio del suceso, los niños que vivían bajo los puentes del Mapocho o en las riberas del Zanjón, trepaban como arañas por las estructuras metálicas o por donde fuera, o quizás y milagrosamente, caminaban sobre las aguas, para cortar los cables suspensores y robar los hisopos. ¿Para qué, si no tenían nada aprovechable? Por demostrar una equivocada bravura, para tener un trofeo, o quizás por un secreto afán de coleccionista, tan respetable como el del magnate que junta autos antiguos.

El estudio se inició en enero de 1983, con fuerte pérdida de los hisopos por este método de acción directa, es decir, por pillaje; en febrero y marzo, merced a un hábil camuflaje con ramitas y una que otra porquería, las pérdidas se redujeron, rescatándose y cultivándose 76 de los 133 hisopos. ¡La tecnología de los blancos caucásicos venció a la pillería de los hispánicos!

Los resultados fueron impactantes, encontrándose una positividad global del 11%, siendo todas las *Salmonella* obtenidas en las áreas agrícolas del sistema fluvial. Cinco de las 8 cepas de *S. typhi* correspondían a los fagotipos E1 y 46, los dos más prevalentes en las tifoideas santiaguinas<sup>14</sup>. Quedaba probado así que el río llevaba una buena carga de bacterias, que volvía a la ciudad en las lechugas y otras hortalizas desde las parcelas de Pudahuel, regadas por sus contaminadas aguas.

De inmediato las autoridades de salud prohibieron las chacras de los alrededores de la ciudad regadas con las aguas del río y la televisión, buscando sensacionalismo, presentó en el noticiario de su hora estelar como un tractor destruía las siembras de una viejecilla que lloraba a moco

Tabla 2. Anticuerpos anti-Vi en portadores, enfermos y sanos

Grupo	Sexo y edad	% con título 1:160 o más
36 portadores crónicos	92% femenino, 17-59 años	75
29 enfermos con tifoidea	Ambos sexos, 18-30 años	38
38 no-portadores	100% femenino	8
59 sanos	Ambos sexos, 16,46 años	3

tendido al ver arruinada su cosecha. La medida fue muy resistida: los afectados volvieron a sembrar, la autoridad endureció su mano, y así habría seguido la historia, si no hubiera irrumpido en Chile una bacteria más terrible que la *Salmonella typhi* para amedrentar y derrotar a los rebeldes.

## El ciclo corto y el compadre verdulero

Paralelamente, se estudió el impacto que las dueñas de casa causaban al cocinar para su familia. Si recordamos que la portación era más alta en el grupo de 30-39 años, donde se concentran las *mater familias*, podemos imaginar las consecuencias para los niños. Esta vez Glenn Morris<sup>15</sup> encabezó el estudio de 161 contactos intrafamiliares de 24 niños con tifoidea y, aunque se encontró una exposición masiva a enteropatógenos de las familias encuestadas, la serotipificación demostró que el riesgo de contacto intrafamiliar era muy escaso. Sólo en una casa se encontró un portador crónico, con dos casos secundarios; en las otras 23 casas *no había culpables*. Luego, no era la *madre cocinera* quien infectaba a sus niños, sino el *compadre verdulero* que abastecía a la familia chilena.

## ¿Y ahora qué hacemos ?

Realizados estos estudios, que en síntesis demostraban una alta tasa de portadores generando un ciclo largo a través del Mapocho, se plantearon diversas líneas de acción:

1. El grupo de Levine sugería sanear las aguas del Mapocho con filtros a distintos niveles, tarea de ingeniería sanitaria de un costo sideral, ajeno a las posibilidades del país.
2. El grupo nacional propuso la inmunización con la nueva vacuna oral de la cepa viva “Ty21a” atenuada, cuya formulación líquida había mostrado un buen resultado en una prueba de campo en Alejandría, con una eficacia protectora del 96% a tres años de seguimiento<sup>14</sup>. Se hicieron estudios nacionales, utilizando tres dosis en cápsulas entéricas, comprendiendo 109.524 niños, con resultados que no mostraron más de un 67% de protección, lo cual era insuficiente<sup>15</sup>. El desafío resultó demasiado fuerte para la vacuna, ya que, por una parte, en Santiago la incidencia de fiebre tifoidea era diez veces más alta que en Alejandría<sup>16</sup> y, por otra, la formulación entérica, como lo probaría luego el mismo Levine, era inferior a la líquida<sup>17-19</sup>. Sin embargo, se autorizó la venta de vacuna en todo el país, cuya liberal aplicación nunca pudo evaluarse.

Tampoco logró entusiasmar su competidora, una inyectable preparada con el antígeno Vi purificado, pese

a los satisfactorios resultados en los primeros ensayos efectuados en Nepal<sup>20</sup> y Sudáfrica<sup>21</sup>, que arrojaron 72% de protección a los 17 meses y 64% de protección a los 21 meses de seguimiento.

## La televisión contra el monstruo FT

En forma paralela se intentó mejorar los hábitos higiénicos de la población y parece que fue la medida salvadora. Cuando se autorizó la vacunación, se hizo una campaña televisiva, aprovechando la gran popularidad alcanzada por el film “ET” en los cines chilenos, contra el *monstruo “FT”*, recomendando a la población una serie de medidas higiénicas elementales, como hervir el agua si ésta no era potable, lavar abundantemente las hortalizas, lavarse las manos tras defecar, etc. La cara de la campaña fue Don Francisco (Mario Kreutzberger), gran comunicador, muy conocido y muy querido por su masivo programa Sábados Gigantes. El pueblo, la masa anónima, que no le creía al Ministro de Salud, nunca dudó, en cambio, de Don Francisco, y siguió sus instrucciones para lavarse las manos antes de cocinar.

¡ La televisión erradicó la tifoidea ! Y si no, contribuyó bastante, junto al control de regadío de los predios vecinos a Santiago, aunque esta medida sólo se haría realmente efectiva al aparecer el cólera en el país (Figura 1).



Figura 1. El monstruo FT. Campaña MINSAL.

## El pánico del cólera despertó a la población

La llegada del cólera a Chile en 1991 vendría a darle a la tifoidea el golpe final, pues tanto era el temor que esa peste causaba entre la gente, que los últimos renuentes se convencieron de cocinar sanamente, cuidar la higiene de los alimentos y no comprar lechugas insanas a cualquier verdulero que pasaba por la calle en un viejo carretón con caballo, y de esta manera ya a mediados de los años noventa la tifoidea se había convertido en una curiosidad en nuestro hospital Calvo Mackenna: tres casos por año en 1995, cuando en 1985 teníamos un centenar.

Mejorar los hábitos era más barato, más simple y efectivo, que vacunar a medio mundo o filtrar el Mapocho. La caída de la incidencia fue brusca y no tomó más de un par de temporadas de verano.

En cuanto a los portadores, que constituyen el gran problema como fuente de infección, ya vimos que ellos pueden detectarse por coprocultivos seriados, lo cual es caro y engorroso, o por presentar serología positiva para el antígeno Vi. Así detectados, en los países civilizados se intenta la erradicación de la *Salmonella*, y se los trata con diversos y largos esquemas, que incluyen o no la colecistectomía, en tanto que en Chile se ensayó el uso de ciprofloxacina<sup>22</sup> con promisorios resultados, pero no tanto como para implementar un programa.

El problema era que en Chile, con 25.000 portadores en Santiago, todas estas medidas resultaban utópicas y volvíamos a lo mismo: lo más económico y efectivo era lavarse las manos luego de defecar. Además, al caer casi hasta su desaparición la tifoidea, naturalmente se irían extinguiendo los portadores de la bacteria.

El lector podrá estar en desacuerdo con nuestra peregrina teoría televisiva o educacional. Pero, entonces, responded... ¿qué pasó con la tifoidea?

## Referencias bibliográficas

- Ledermann W. ¿Qué pasó con la tifoidea? Calvomackenna 1995; 4(2): 60-3.
- Laval E. Algunas notas sobre el desarrollo histórico de la fiebre tifoidea en Chile. Rev Chilena Infectol 2017; 34 (5): 491-3.
- Hornick R B. Selective primary health care: Strategies for control of disease in the developing world. XX. Typhoid fever. Rev Infect Dis 1985; 7(4): 536-46.
- Ferreccio C, Levine M M, Manterola A, Rodriguez G, Rivara I, Prenzel I, et al. Benign bacteremia caused by *Salmonella typhi* and *paratyphi* in children younger than 2 years. J Pediatrics 1984; 106(6): 899-901.
- Levine M, Black E, Lanata C and The Chilean typhoid Committee. Precise estimation of the numbers of chronic carriers of *Salmonella typhi* in Santiago, Chile, an endemic area. J Infect Dis 1982; 146(6): 724-6.
- Marinovic I, Guerra C, Larach G. Incidencia de litiasis biliar en material de autopsias y análisis de composición de los cálculos. Rev Med Chile 1972; 100: 1320-7.
- Ristori C, Rodríguez H, Vicent P, Lobos H, D'Ottone K, García J, et al. Investigation of the *Salmonella typhi-paratyphi* carrier state in cases of surgical intervention for gallbladder disease. Bull Pan Am Health Organ 1982; 16: 161-71.
- Gubau J C, Friedman S. New York State and New York City Health Departments. Citados como "comunicación personal" por Hornick en la referencia 3: 539.
- Nervi F, Raddatz A, Zamorano N. Overstimulation of the numbers of chronic carriers of *Salmonella typhi* in Santiago. J Infect Dis 1984; 148: 124-5 (letter).
- Levine M, Ristori C, Ferreccio C. Replay. J Infect Dis 1984; 148: 125-6.
- Lanata C F, Levine M M, Ristori C, Black R E, Jimenez L, Salcedo M, et al. Vi serology un the detection of chronic *Salmonella typhi* carriers in an epidemic area. Lancet 1983; 2: 441-3.
- Felix A. Detection of chronic typhoid carriers by agglutination test. Lancet 1938; ii: 738-41.
- Sears S D, Ferreccio C, Levine M M, Cordano A M, Monreal J, Black R E, et al. The use of Moore swabs for isolation of *Salmonella typhi* from irrigation water in Santiago, Chile. J Infect Dis 1984; 149(4): 640-2.
- Bloomfield J, Ledermann W, D'Ottone K, Prat MS. Fagotipos de *Salmonella typhi* en fiebre tifoidea. Rev Chilena Infectol 1987; 4: 36-39.
- Morris J G Jr, Ferreccio C, García J, Lobos H, Black R E, Rodríguez H, et al. Typhoid fever in Santiago, Chile: a study of household contact of pediatric patients. Am Trop Med Hyg 1984; 33 (6): 1198-212.
- Wahdan M H, Sérié C, Cerisier Y, Sallam S, Germanier R. A controlled field trial of live *Salmonella typhi* strain Ty 21a oral vaccine against typhoid: a three years results. J Infect Dis 1982; 145: 292-5.
- Levine M, Ferreccio C, Black R, Germanier R and The Chilean Typhoid Committee. Large scale field trial of Ty 21a typhoid vaccine in enteric-coated capsule formulation. Lancet 1987; ii:1049-52.
- Edelman R, Levine M. Summary of an International Workshop on Typhoid fever. Rev Infect Dis 1986, 8(3): 329-49.
- Levine M. Modern vaccines. Enteric infections. Lancet 1990; 335: 958-61.
- Acharya I L, Lowe C U, Thapa R, Gurubacharya V L, Shrestha M B, Cadoz M, et al. Prevention of typhoid fever in Nepal with the Vi capsular polysaccharide vaccine against typhoid fever. N Engl J Med 1987; 317 (18): 1101-4.
- Klugman KP, Gilbertson IT, Koornhof HJ, Robbins JB, Schneerson R, Schulz D, et al. Protective activity of Vi capsular polysaccharide vaccine against typhoid fever. Lancet 1987; ii:1165-9.
- Ferreccio C, Morris JG Jr, Valdivieso C, Prenzel I, Sotomayor V, Drusano GL, et al. Efficacy of ciprofloxacin in the treatment of chronic typhoid carriers. J Infect Dis 1988; 157: 1235-9.

### Addendum para perfeccionistas y obsesivos

#### *Preparación del hisopo de Moore*

Se corta un trozo de gasa de 90 cm. de ancho x 180 cm. de largo. La gasa se dobla 5 veces en sentido longitudinal obteniéndose las siguientes dimensiones: 30 cm. de ancho por 36 cm. de largo. A partir de la base de inferior de 30 cm. se cortan 6 tiras de 5 cm. de ancho y 26 cm. de largo dejándose 10 cm. en la parte superior sin cortar. En este sitio se amarra con una cinta de nylon o de otro material fuerte. Se coloca en papel kraft y se autoclava a 121 C durante 15 minutos. 2- En el lugar de recolección de la muestra, abrir el paquete que contiene el hisopo y atar una cinta de nylon (o de otro material fuerte) a la zona ligada del hisopo. Luego sumergir completamente el hisopo en el curso de agua que se va a muestrear y amarrar el extremo de la cinta en un lugar seguro. Controle que el hisopo quede bien sumergido. Procure colocar los hisopos en sitios seguros para evitar que personas ajenas lo retiren de su sitio. 3- Dejar el hisopo en el sitio a muestrear durante 24-48 h. 4- Retirar el hisopo y colocarlo con cuidado en un frasco que contenga 300 ml de agua peptonada alcalina (APA, con pH 8.4 a 8.6). Evite que el agua residual tome contacto con la parte exterior del frasco. De ser posible use guantes. En caso de que sus manos y el frasco se manche externamente desinfecte con agua e hipoclorito de calcio a 50 mg/l u otro desinfectante.