

21. 46



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

ZARAGOZA

AGENTES ETIOLÓGICOS PRODUCTORES DE INFECCIONES  
GINECO-OBSTÉTRICAS Y NEONATALES EN PACIENTES  
CON EMBARAZOS MAYORES DE 28 SEMANAS Y SU  
RELACION CON Ureaplasma urealyticum  
Y Mycoplasma hominis

TESIS PROFESIONAL

PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

ALBERTO TELLEZ GIRON BRAVO

MEXICO, D. F.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

1988



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## C O N T E N I D O

	Página
I.- INTRODUCCION	1
- Fundamentación del tema	6
- Planteamiento del problema	8
II.- OBJETIVOS	11
III.- HIPOTESIS	12
IV.- MATERIAL Y METODOS	13
- Pacientes	13
- Muestras	13
- Material	14
- Métodos	17
V.- RESULTADOS	31
VI.- DISCUSION DE RESULTADOS	58
VII.- CONCLUSIONES	69
VIII.- ANEXOS	70
A. Composición y preparación de medios de cultivo utilizados	70
B. Preparación, fundamento e interpretación de las pruebas bioquímicas	87
C. Técnicas de coloración, preparación de reactivos y colorantes	101
D. Sistemas de anaerobiosis	106
E. Tablas de identificación bioquímica	108
IX.- BIBLIOGRAFIA	120

- ABREVIATURAS -

APGAR.-Valoración inmediata del recién nacido. Se valora Apariencia (color), Pulso (frecuencia cardiaca), Gesticulación (irritabilidad refleja a la estimulación plantar), Actividad (tono muscular) y Respiración (esfuerzo respiratorio). Los parámetros mencionados se valoran al minuto y a los cinco minutos después del nacimiento del neonato. Los índices se califican como 0, 1 o 2 y la suma total constituye el índice de APGAR. Un APGAR de 7-9 indica que el neonato es normal o con pocas deficiencias. El APGAR de 10 es perfecto y es raro encontrarlo.

CO<sub>2</sub>.- Bióxido de Carbono en concentración de 5 al 10 %.

EMB.- Agar Eosina y Azul de Metileno.

g.- Gramo(s).

Gpo..- Grupo.

H<sub>2</sub>S.- Ácido sulfhídrico.

I.M.S.S.- Instituto Mexicano del Seguro Social.

lb.- Libras.

LIA.- Agar de Hierro y Lisina.

min..- Minuto(s).

MIO.- Movilidad, Indol y descarboxilación de la Ornitina.

ml.- Mililitros.

Neonato.- Recién nacido.

NYC.- Medio de New York City o Thayer Martin Modificado.

Obito.- Muerte fetal que ocurre en el periodo comprendido entre la semana 20 del embarazo y la terminación de éste, incluyendo - el parto.

PSS.- Polianetol Sulfonato de Sodio.

Puerperal.- Después del parto.

RPM.- Ruptura Prematura de Membranas.

SIM.- Movilidad, Indol y producción de ácido Sulfhídrico.

ssp.- Varias especies o diferentes especies.

Staph 110.- Agar de Staphylococcus 110.

TSI.- Agar de Triple Azúcar y Hierro.

µg.- Microgramos.

## I.-INTRODUCCION.

La ginecología es la rama de la medicina que estudia la fisiología y patología de los órganos femeninos en la mujer no embarazada. La obstetricia es la rama de la ciencia médica que trata del parto, sus antecedentes y sus secuelas.

La obstetricia se relaciona tan íntimamente con la ginecología que de ordinario se considera que ambas constituyen una sola especialidad (21).

La obstetricia, además, se halla relacionada con otras materias como son la endocrinología, pediatría, inmunología, bioquímica, fisiología, patología, farmacología, genética y microbiología, entre otras.

En este trabajo se relaciona con la microbiología ya que se estudiarán las infecciones gineco-obstétricas y neonatales en pacientes con embarazos mayores de 28 semanas.

La histología de la vagina varía con la edad, por lo que no es raro que algunas infecciones sean características de determinadas épocas de la vida, por ejemplo, las niñas están más expuestas a la infección vulvovaginal, ya que la vagina no está protegida por los labios mayores y menores como en el caso de la mujer adulta; además, el epitelio delgado e inmaduro y la ausencia del bacilo de Döderlein contribuyen a que la vagina sea más susceptible a la infección. En la postmenopausia, el hipostrogenismo y la atrofia de la pared vaginal permiten que microorganismos diversos ataquen la mucosa vaginal.

Durante la vida reproductiva aumenta la frecuencia de vulvovaginitis por Trichomonas vaginalis, Candida albicans, Haemophilus vaginalis y otras bacterias, dependiendo si la paciente está

embarazada o no.

Diversos autores han tratado de establecer la flora normal vaginal en la mujer no embarazada:

-El bacilo de Döderlein (Lactobacillus) es la bacteria que predomina y que limita el desarrollo de otras bacterias en la vagina.

-Se han aislado Staphylococcus epidermidis y Difteroides de vagina y cuello uterino con una frecuencia tan alta que hacen pensar que probablemente sean especies autóctonas (2).

-Los Streptococcus  $\alpha$  y  $\beta$  hemolíticos y los del grupo D.

-Algunos bacilos Gram negativos: E. coli, Klebsiella ssp, Enterobacter ssp y Proteus ssp.

-Respecto a anaerobios, los considerados flora normal por algunos autores son: Bacteroides, Peptostreptococcus y Veillonella.

-Otros autores consideran también a los géneros Glostridium ssp, Bifidobacterium ssp, Acinetobacter ssp, Fusobacterium ssp (24,--27) y Moraxella osloensis (27).

-Otros más mencionan también a Ureaplasma urealyticum y Mycoplasma hominis como anaerobios presentes y habitantes comunes del tracto genital, adquiridos primariamente por contacto sexual y que normalmente se encuentran como comensales (9).

Se puede decir que el bacilo de Döderlein es el regulador de la flora en la vagina, el mecanismo es el siguiente:

En condiciones normales la secreción vaginal tiene un pH ácido que oscila entre 3.8 y 4.4 debido a que contiene de 0.3 a 0.5 % de ácido láctico en disolución. Normalmente el epitelio de la vagina sufre descamación periódicamente y las células descamadas quedan suspendidas en el líquido de transudación. Estas células van cargadas con glucógeno y al autolisarse lo liberan junto

con dos enzimas; una diastasa, que transforma al glucógeno en ---  
 maltosa y una maltasa, que transforma a ésta en glucosa, en este  
 momento el lactobacilo utiliza a la glucosa y la degrada hasta --  
 ácido láctico manteniendo el pH ácido y regulando la flora al no  
 dejar que otros microorganismos se desarrollen.

Si por alguna causa se altera la presencia del lactobacilo -  
 el pH aumenta y el medio se hace más alcalino, lo que permite el  
 desarrollo de flora que puede producir infección. Howard y colabo-  
 radores (13) observaron la flora vaginal en el embarazo y encon-  
 traron: Staphylococcus epidermidis, Corynebacterium, Streptoco---  
ccus del grupo B, Streptococcus no hemolíticos, Streptococcus vi-  
ridans, Staphylococcus aureus, Enterobacterias, Gardnella vagi--  
nalis, Lactobacillus, U.ureolyticum, Mycoplasma hominis, Bacte---  
roides ssp, Chlamydia trachomatis, Propionibacterium ssp, levedu-  
 ras y Trichomonas vaginalis. Como se puede observar la flora es -  
 más variada que cuando no hay embarazo y por lo tanto se presen-  
 tan más infecciones vaginales.

En el embarazo existen cambios de todo tipo en el organismo,  
 cambios fisiológicos, anatómicos, metabólicos, endocrinológicos,  
 etcétera. La vagina sufre cambios como la hiperemia, aumento del  
 grosor de la mucosa, hipertrofia de las fibras musculares. Hay --  
 una secreción vaginal blanca y espesa cuyo pH varía desde 3.5 has-  
 ta 6, este es un rango muy grande, lo que permite la implantación  
 de nueva flora. Algunas causas por las cuales hay nueva flora va-  
 ginal son:

- Coito.
- Tactos vaginales.
- Uso de cateter transcervical.

-Traumatismos directos con instrumentos.

Las infecciones que pueden presentarse en el tracto genital durante el embarazo son:

- Infecciones en el perineo.
- Infecciones en glándulas de Bartholin.
- Vaginitis.
- Cervicitis.
- Corioamnionitis.
- Infección intraemniótica, en la RPM.

Dependiendo de su origen existen dos tipos de microorganismos que pueden producir infección en vías genitales, en el embarazo:

1.-Microorganismos externos.-llamados así porque son llevados -- desde el exterior al interior de la vagina por diferentes vías -- como el coito, tactos, etc. Ejemplos de organismos de este tipo son Neisseria gonorrhoeae, S.aureus, T.vaginalis.

2.-Microorganismos oportunistas.-son aquellos que se encuentren como flora normal pero en cantidades tan pequeñas que no producen molestias o infección, pero al haber algún cambio en el medio, estos organismos se desarrollan y producen infección; como ejemplo están las Candidas; el Dr. Rosas Arceo en su capítulo publicado en el libro Ginecología y Obstetricia (2) sostiene que -- ".....el hongo se obtiene entre el 25 y 50 % de todas las mujeres sanas".

Las infecciones producidas durante el embarazo por microorganismos pueden llegar a ser peligrosas y/o fatales ya que pueden producir colonización tanto en la madre como en el producto y afectar lo físico, mentalmente o matarlo, incluso antes del nacimiento. Otro tipo de pacientes las cuales tienen el riesgo de

sufrir colonización e infección fetal y materna son los que presentan Ruptura Prematura de Membranas (RPM), ya que la frecuencia de ésta es de 21 % de las pacientes (13).

Ureaplasma urealyticum y Mycoplasma hominis fueron encontrados como agentes causales de algunas patologías del embarazo como son el bajo peso al nacer, muerte neonatal, Ruptura Prematura de Membranas, endometritis, muerte fetal, fiebre postparto y corioamnionitis (3, 12, 13, 22, 26).

Algunas características morfológicas y bioquímicas de estos microorganismos son que no tienen pared celular, por lo tanto son bacterias intracelulares obligadas. Morfológicamente se puede ver -- que son pleomorficos, se tiñen de Gram negativo. Sólo tienen membrana celular y citoplasma con ribosomas y nucleótidos procarióticos. Se dividen por fisión binaria y tienen genoma circular de doble cadena de DNA. Tienen tiempo de generación medio de 1 a 3 horas. Su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C. La mayor -- parte de Mycoplasmas son anaerobios facultativos.

En este estudio la placenta, vagina y cavidad uterina materna; cordón umbilical, aspirado gástrico, conjuntiva, oído externo y hemocultivo del neonato fueron muestreados y estudiados para conocer a los agentes etiológicos que los colonizaron y que fueron los causantes de infecciones maternas y neonatales y se trató de asociar a estos microorganismos con Ureaplasma urealyticum y con Mycoplasma hominis.

-Fundamentación del tema.

El Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 3 del Centro Médico La Raza del I.M.S.S. es un hospital que tiene dos características importantes, primero, es un hospital de concentración o centralización de pacientes con problemas ginecológicos y obstétricos que no pueden ser atendidos en las clínicas familiares del I.M.S.S. y la segunda característica, que este hospital es de tercer nivel, al cual son remitidos casos de alto riesgo e inclusive casos poco comunes.

Las pacientes con Ruptura Prematura de Membranas y con infecciones gineco-obstétricas durante el embarazo son casos, que llegan al hospital, con mucha frecuencia.

Las infecciones durante el embarazo tienen una frecuencia alta en el hospital y pocos son los trabajos publicados que hablan de los agentes etiológicos más importantes y frecuentes de estas patologías; se puede ver, entonces, la importancia de conocer a los agentes patógenos más frecuentes; siendo de gran ayuda para la profilaxis, que redunde en beneficio de la madre y el producto, evitando infecciones que pueden provocar incluso la muerte a cualquiera de los dos.

La infección de la cavidad amniótica después de la RPM se debe a la flora que existe en ese momento en la vagina materna.

El riesgo de infección del producto y de la madre aumenta a medida que el tiempo entre la RPM y el nacimiento sea mayor (6); existen trabajos donde reportan que en un tiempo de latencia menor a 24 horas no hay colonización bacteriana por microorganismos aerobios (6) pero no se reportan anaerobios, ni Candida y es importante el tomar en cuenta a esos microorganismos porque pueden

ser los agentes etiológicos de infecciones neonatales y materna, en la RPM.

Existen estudios donde se relacionan algunos parámetros como son el bajo peso y nacimientos prematuros, entre otros, con la presencia de Ureaplasma urealyticum y Mycoplasma hominis pero no hay un estudio donde se relacionen estas bacterias con la infección neonatal o materna en donde los agentes etiológicos no sean estos microorganismos sino otro, ya sean bacterias aerobias, anaerobias u hongos, es por esto que el presente estudio tiene como uno de sus objetivos relacionar a esos microorganismos.

Por lo anteriormente descrito, por el beneficio de las pacientes que llegan al hospital, así como complementación de los trabajos ya existentes es que se propone llevar a cabo el estudio.

-Planteamiento del problema.

En el Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 3 del Centro Médico La Raza se reciben y atienden pacientes que presentan infecciones gineco-obstétricas durante el embarazo, esto en caso de que no halla RPM.

Desde el momento en que hay ruptura de membranas hasta que el neonato es aseado ocurre el riesgo de infección neonatal, debido a la infección vaginal de la madre. Hay que tener presente que al momento de la ruptura de las membranas hay salida de líquido amniótico y debe de haber un reflujo para compensar la salida del líquido, la flora vaginal, incluyendo el microorganismo causal (que muchas veces es de la misma flora normal (15)) sube hasta cavidad uterina y se pone en contacto con el producto; y es desde este momento cuando se puede infectar o puede darse el caso de que la paciente tenga algún defecto en el tapón mucoso que se forma en el cuello uterino y debido a esto exista algún microorganismo que produzca corioamnionitis.

Se han dado casos en el que el neonato enferma desde sus primeros días de nacido llegando a veces a la septicemia en un lapso corto, esto se puede deber a que en el momento del nacimiento se infectó con el agente etiológico que es un microorganismo de la vagina materna preperto.

Otro tipo de pacientes que se atienden en el hospital son aquellos que presentan RPM, definiéndose ésta como la salida de líquido amniótico, espontánea o artificialmente en embarazos mayores a 20 semanas y antes de iniciarse las contracciones uterinas regulares que pueden condicionar la dilatación del cervix (1).

El problema principal de la RPM es la colonización bacteriana-

na del útero y del producto por microorganismos de la flora vaginal, ésto debido al reflujo entre microorganismos de la flora y el líquido amniótico que hay al momento de la ruptura de membranas.

El riesgo de infección aumenta progresivamente a medida de que el tiempo entre la RPM y el alumbramiento se presenta. El grado de infección del producto depende de algunos factores como la invasión masiva del microorganismo, virulencia, edad del embarazo, estado nutricional de la paciente, actividad antimicrobiana del líquido amniótico (6). Las consecuencias de la colonización bacteriana pueden producir secuelas muy graves, incluso hasta la muerte.

Un tiempo de colonización mayor a 24 horas aumenta la probabilidad que el producto presente infección, así como la madre.

Se ha observado que si pasan más de 12 horas de RPM la infección por anaerobios se incrementa y la de los aerobios disminuye (10).

Existen algunos microorganismos anaerobios como Ureaplasma urealyticum y Mycoplasma hominis a los cuales se les asocian algunos padecimientos como el bajo peso al nacer, nacimientos prematuros, nacimientos muertos, endometritis postparto. Así mismo estos anaerobios, de no ser los agentes etiológicos de una infección, tienen un papel importante para el desarrollo de ésta, ya que puede existir una relación entre ellos y algunos microorganismos aerobios o anaerobios para que se produzca alguna infección; un ejemplo de lo anteriormente mencionado es el siguiente:

Algunos microorganismos como Ureaplasma urealyticum producen la enzima llamada fosfolipasa A<sub>2</sub> que actúa de la siguiente manera:

Ácido araquidónico  $\xrightarrow{\text{fosfolipasa A}_2}$  Prostaglandinas E<sub>2</sub> y F<sub>2</sub>

Así mismo las membranas fetales, corión y amnios, contienen gran cantidad de ácido araquidónico, entonces es posible que el Ureaplasma urealyticum al utilizar al ácido araquidónico de las membranas fetales las debilite (12) y produzca prostaglandinas F<sub>2</sub> y E<sub>2</sub> que inicien las contracciones del miometrio, aumentando así el riesgo para que se presente una RPM y por lo tanto se desarrolle la colonización bacteriana tanto de útero como del producto.

## II.-OBJETIVOS.

1.- Conocer a los agentes etiológicos, bacterias aerobias, anaerobias y hongos que causan las infecciones gineco-obstétricas -- durante el embarazo y que pueden ser los productores de infecciones neonatales.

2.- Identificar a las bacterias aerobias, anaerobias y hongos -- causantes de infecciones maternas y neonatales en la Ruptura Pre-matura de Membranas (RPM).

3.- Observar la relación que existe entre la presencia de Ureaplasma urealyticum y Mycoplasma hominis con los microorganismos aislados (bacterias aerobias, anaerobias y hongos) que son los agentes causales de las infecciones gineco-obstétricas y neonatales.

## III.-HIPOTESIS.

## Hipotesis contrastada:

Ureaplasma urealyticum y Mycoplasma hominis son microorganismos capaces de intervenir en las infecciones del binomio --- madre-hijo, en embarazos mayores de 28 semanas.

## Hipotesis alternativa:

Ureaplasma urealyticum y Mycoplasma hominis no intervienen en las infecciones del binomio madre-hijo, en embarazos mayores de 28 semanas.

#### IV.-MATERIAL Y METODOS.

##### -PACIENTES:

Se estudió una población abierta de pacientes que llegaron al Hospital de Ginecología y Obstetricia del Centro Médico La Raza que se presentaron con problemas relacionados con infecciones cervicovaginales, corioamnionitis, RPM, etc. y/o con diagnóstico de embarazo de alto riesgo con antecedentes de abortos, ---obitos, eritroblastosis fetal, prematuridad, etcétera.

Se trabajó con 38 pacientes que fueron distribuidas en tres grupos, dependiendo de las semanas de gestación que presentaba cada una. En el grupo número uno, se colocaron a las pacientes que tuvieron de 28 a 32 semanas, el grupo dos incluía de 33 a 37 semanas y el grupo tres estuvo comprendido por pacientes que presentaron 38 semanas de embarazo o más.

No hubo grupo control ya que no se iba a comparar con él, sino que sólo se trató de ver la prevalencia de las bacterias aerobias, anaerobias y hongos en las muestras; y de relacionarlas con Ureaplasma urealyticum y/o Mycoplasma hominis.

##### -MUESTRAS:

Se tomaron muestras de exudado cervicovaginal, antes del nacimiento y de la cavidad uterina, después del nacimiento; además se muestreó la placenta. Respecto al neonato las muestras tomadas fueron del oído externo, conjuntiva, cordón umbilical, aspirado gástrico; se colocaron en medio de transporte Stuart o en caldo tioglicolato. Se tomó hemocultivo del neonato, al momento del nacimiento en caldo de soya Trypticase (BBL) para hemocultivo.

**-MATERIAL:**

- Cajas con agar urea con sulfato de manganeso.
- Cajas con agar arginina.
- Cajas con agar sangre con hemina y menadiona (ASHM).
- Cajas con agar sangre con hemina, menadiona, kanamicina y gentamicina (ASHMKG).
- Cajas con agar sangre de carnero con azida de sodio.
- Cajas con agar sangre con alcohol fenil etílico (ASAFE).
- Cajas con agar Lombard Dowell.
- Cajas con agar Lombard Dowell con esculina.
- Cajas con agar Lombard Dowell con bilis.
- Cajas con agar Lombard Dowell con yema de huevo.
- Cajas con agar sal y manitol o de Staphylococcus 110.
- Cajas con agar MacConkey o Eosina y Azul de Metileno (EMB).
- Cajas con agar Thayer Martin.
- Cajas con agar chocolate.
- Cajas con medio Müller Hinton.
- Cajas con medio New York City o Thayer Martin Modificado.
- Cajas con agar Salmonella Shigella.
- Tubos de ensayo con medio Biggy o Nickerson.
- Tubos de ensayo con agar Sabouraud.
- Tubos de ensayo con medio de transporte Stuart.
- Tubos de ensayo con medio de Infusión Cerebro Corazón (BHI).
- Tubos con caldo tioglicolato con indicador.
- Tubos con caldo tioglicolato sin indicador.
- Tubos con caldo tioglicolato con indicador y con carbohidratos.
- Medio Ruiz Castañeda para hemocultivo.

- Tubos con medio de transporte micoplasmal o medio de soya y ---  
tripticase con albúmina sérica de bovino.
- Tubos de ensayo con caldo urea.
- Tubos de ensayo con caldo manitol y rojo de fenol.
- Tubos de ensayo con medio de arginina.
- Tubos de ensayo con medio Hugh-Leifson.
- Tubos de ensayo con agar fenilalanina.
- Tubos de ensayo con agar citrato de Simmons.
- Tubos de ensayo con agar triple azúcar y con hierro (TSI) o tu-  
bos con agar hierro de Kligler.
- Tubos de ensayo con medio LIA.
- Tubos de ensayo con medio MIO.
- Tubos de ensayo con medio SIM.
- Tubos de tapón de rosca con caldo tioglicolato con hemina y me-  
nadiona.
- Caldo soya Tripticase (BBL) para hemocultivo.
- Equipo para tinción de Gram: cristal violeta, lugol, safranina,  
alcohol-acetone.
- Equipo para oxidasa: solución salina, papel filtro, N,N-dimetil-  
p-fenilendiamina.
- Equipo para catalasa: peróxido de hidrógeno al 3 %, portaobjetos
- Equipo para tinción de esporas: verde de malaquita al 5 %, safra-  
nina.
- Sistema anaerocult A.
- Acido pirogálico.
- Carbonato de sodio.
- Reactivo de Kovac.
- Cloruro férrico.

- Azul de metileno.
- Discos Taxo 0.04 U de bacitracina.
- Discos Pn (cloruro de etil hidrocupreina).
- Discos con SPS (Polisnetol Sulfonato de Sodio).
- Discos con penicilina 2 U.
- Discos con rifampicina 15  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .
- Discos con kanamicina 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .
- Discos impregnados de suero hiperinmune contra Mycoplasma hominis.
- Plasma humano fresco.
- Kanamicina.
- Gentamicina.
- Hemina (hemoglobina).
- Menadiona (vitamina K).
- Aceite de nujol.
- Jarras de anaerobiosis Gas-Pak.
- Fenol.
- Pipetas de 1 ml.
- Pipetas de 0.1 ml.
- Guantes, algodón, gomas.
- Portaobjetos, hisopos estériles.
- Gradillas, mechero, aceite de inmersión.
- Asas, tripié, lámina de asbesto.
- Autoclave.
- Estufa.
- Microscopio.

-METODOS:

## A. MUESTRAS DE EXUDADO VAGINAL.

Se tomó una muestra de exudado cérvicovaginal, antes del parto con un hisopo estéril y se metió rápidamente en un tubo que contenía caldo tioglicolato con indicador o en medio de transporte Stuart, se taparon inmediatamente los tubos y transportaron al laboratorio sin refrigerar, ya que los microorganismos anaerobios son lábiles a bajas temperaturas.

Ya que se tenían las muestras en el laboratorio se llevó a cabo el siguiente procedimiento general \* :

- 1.-Se hizo una tinción de Gram de la muestra que se trabajó.
- 2.-En condiciones de esterilidad se sembró, con hisopo estéril, - un tubo con medio Biggy o Nickerson, para el aislamiento de Candida y otro tubo con agar Sabouraud, para el aislamiento de hongos.
- 3.-Con asa estéril y condiciones de esterilidad, se sembró por estría cruzada en cuatro cuadrantes una caja de agar sangre de carnero con azida de sodio, una de sal y manitol o Staph 110 y una de MacConkey o EMB, y se incubó a 37°C por 24 horas en condiciones de aerobiosis. Se observó la morfología colonial y microscópica y se realizaron pruebas bioquímicas para identificar el microorganismo. Las pruebas bioquímicas que se realizaron fueron:

\* llamado así porque es éste el procedimiento que se siguió para las muestras de ex. cérvicovaginal, cordón umbilical, aspirado gástrico, placenta, oído externo, cavidad uterina y conjuntiva. Ver los diagramas números 1, 2, 3, 4 y 5.

- Catalasa.
- Oxidasa.
- Coagulasa.
- Hidrólisis de la urea.
- Fenilalanina.
- Agar citrato de Simmons.
- Ácido de manitol.
- Medio Hugh Leifson.
- TSI (Agar de Hierro y Triple azúcar) o agar de Kligler.
- MIO (Movilidad, Indol y descarboxilación de la Ornitina).
- SIM (Movilidad, Indol y producción de ácido Sulfhídrico).
- LIA (Descarboxilación de la Lisina y producción de ácido Sulfhídrico).

4.-Se sembró por estría cruzada, en cuatro cuadrantes, una caja con agar sangre de carnero con azida de sodio, una de sal y manitol o Staph 110, una con MacConkey o EMB y una caja de agar Thayer Martin o New York City, esto en condiciones de esterilidad. - Se incubó en condiciones parciales de bióxido de carbono (5-10 %) colocando una vela prendida en la jarra de anaerobiosis. Se incubaron a 37°C durante 48 horas, se observó la morfología colonial y microscópica para posteriormente realizar las pruebas bioquímicas e identificar a los microorganismos microaerofílicos.

5.-También se sembraron los medios de cultivo para el aislamiento de anaerobios, a partir de los caldos de tioglicolato donde no se encontraron microorganismos aerobios o microaerofílicos, pero que presentaban desarrollo; es decir:

Se inoculó en condiciones de esterilidad, un tubo con caldo tioglicolato enriquecido con hemina y menadiona (esto fue con el fin de que si no crecía nada en las placas se podían resembrar -- nuevas placas de este tubo).

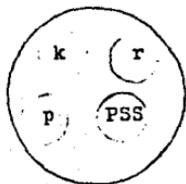
A la vez se sembraron en condiciones de esterilidad y por es tr ie cruzada en cuatro cuadrantes los siguientes medios de cultivo: -Agar sangre con Alcohol Fenil Etilico (ASAFE).

-Agar sangre con Hemina, Menadione, Kanamicina y Gentamicina (ASHMKG).

-Agar sangre de carnero con Menadiona (ASM).

Se incubaron durante 48 a 72 horas, a 37°C, en condiciones - de anaerobiosis, usando jarras anaeróbicas Gas-Pak, sobres reacti vos anaerocult o usando el método de Carquist (ácido pirogálico - con carbonato de sodio). Se vió la morfología colonial y microscó pica y cada colonia aislada se resembró en ASAFE e incubó en con diciones de anaerobiosis, aerobiosis y en presión parcial de bió xido de carbono durante 48 horas, ésto como prueba confirmativa - de presencia de organismos anaeróbicos.

Posteriormente, ya que se sabía que se estaba trabajando con microorganismos anaerobios se realizaron las pruebas rápidas pre-suntivas que consistieron en sembrar masivamente una caja con me-dio ASAFE y se colocaron discos de kanamicina (1000 µg/ml), rifam-picina (15 µg/ml), penicilina (2 U) y con Polianetol Sulfonato de Sodio (PSS):



k.-kanamicina 1000 µg/ml.  
r.-rifampicina 15 µg/ml.  
p.-penicilina 2 U.  
PSS.-Polianetol Sulfonato de sodio.

Medio de agar sangre Alcohol fenil etílico

Se incubaron, en anaerobiosis, 48 horas a 37°C y se vió la inhibición del crecimiento.

También se sembró en placas de agar Lombard Dowell con diferentes sustratos:

- Con bilis para observar el crecimiento en este sustrato.
- Con esculina para ver si los microorganismos la hidrolizan.
- Con yema de huevo para observar la presencia de lecitinasas.
- Sin sustratos, es decir, sólo para observar si había o no crecimiento en este medio.

Finalmente se realizaron pruebas bioquímicas (pruebas confirmatorias) para identificar la especie de la que se trata:

se utilizó caldo tioglicolato sin indicador y con diferentes carbohidratos (glucosa, maltosa, lactosa, arabinosa, sacarosa, ramnosa, xilosa, trehalosa, manitol, glicerol).

Se utilizaron, además, tubos para identificación de indol, nitratos, tiogel; utilizando caldo tioglicolato.

También se prepararon tubos con salicina, esculina, en caldo tioglicolato, así como tubos con leche hierro.

#### B. MUESTRAS DE PLACENTA Y CORDON UMBILICAL.

Se tomó una pequeña porción de placenta y cordón umbilical, a la hora del nacimiento y se colocó, lo más pronto posible, en tubos de ensayo con tapón de rosca que contenían caldo tioglicolato con indicador. No se refrigeró. Posteriormente se siguió el procedimiento general que ya fue descrito.

### C. MUESTRAS DE ASPIRADO GÁSTRICO.

Ya que nació el neonato y a la hora en que lo estaban limpiando se obtuvo una muestra de aspirado gástrico, con jeringa estéril, y se colocó en tubos con medio tioglicolato o en tubos con medio Stuart. Se mandó al laboratorio y sin refrigerar se sembró siguiendo el procedimiento general que ha sido descrito anteriormente.

### D. MUESTRAS DE CONJUNTIVA Y OÍDO EXTERNO.

Ya que nació el neonato y a la hora de limpiarlo se tomó una muestra de la conjuntiva y del oído externo, utilizando hisopos estériles.

Los hisopos con las muestras se metieron a tubos con medio de caldo tioglicolato o con medio Stuart y fueron llevados al laboratorio para que fueran procesadas según el método general.

### E. MUESTRAS DE CAVIDAD UTERINA.

Con un hisopo estéril se tomó una muestra de cavidad uterina, después de la salida de la placenta, y fué colocada en un tubo con caldo tioglicolato, se llevó al laboratorio y sin refrigerar se sembró según el procedimiento general.

### F. HEMOCULTIVO.

Se tomó una muestra de sangre del neonato (se tomó del cordón umbilical a la hora del nacimiento o por punción en vena femoral) en condiciones asépticas, en caldo soya Trypticase (BBL) para hemocultivo, o en medio Ruiz Castañeda.

Ya que se obtuvo la muestra en el medio de cultivo, se agitó lentamente el fresco o tubo por unos segundos e incubó a 37°C por

media hora en posición horizontal, para que la sangre hiciera --- contacto con la fase sólida.

Se enderezó el frasco e incubó a 37°C y se observó a las 24 horas para ver si había crecimiento en la fase sólida y/o turbidez de la fase líquida. Se continuó la observación y resiembra los días 2, 7 y 14 después de la toma de la muestra. Cuando se -- vió cambio en los medios o en los días señalados, se realizó frotis y tinción de Gram y se hicieron resiembra para el aislamiento de microorganismos en los medios de agar sangre con azida de sodio, MacConkey o EMB, sal y manitol o Staph 110, para aislar aerobios; agar sangre con azida de sodio, MacConkey o EMB, sal y manitol o Staph 110 y Thayer Martin o New York City, para aislar microaerofílicos (en condiciones parciales de CO<sub>2</sub>) éstos son Neisseria ssp, Haemophilus vaginalis y Pasteurella ssp. Respecto a los anaerobios que se esperan aislar son Clostridium ssp y Bacteroides ssp.

Un hemocultivo se dió como negativo a los 15 días de incubación y sin presentar desarrollo de microorganismos.

#### G. AISLAMIENTO DE M. hominis Y U. urealyticum. (diagramas No. 6 y 7)

Las muestras recién tomadas se metieron inmediatamente en tubos que contienen un mililitro de medio micoplasmal frío. La muestra se metió en hielo por no más de cuatro horas y se congeló a -70°C. Luego se descongelaron 0.2 ml de medio de transporte y se inocularon en un mililitro de medio de arginina (para aislar M. hominis) y en un mililitro de medio con urea (para aislar U. urealyticum); se incubaron a 37°C, examinándose dos veces en los primeros dos días y luego una vez el día durante los seis días siguientes o hasta el cambio de pH.

Si el pH era alcalino, 0.1 ml de medio de cultivo se inoculó en el agar correspondiente (agar urea con sulfato de manganeso para U.urealyticum y agar arginina para M.hominis). Estas cajas se incubaron en jarras anaeróbicas con sistema para anaerobiosis por 48 horas a 37°C.

El cultivo fué considerado positivo dependiendo de la morfología colonial típica observada en las cajas y se confirmó el aislamiento del microorganismo.

Mycoplasma hominis :

Morfología colonial.- colonias con características de huevo frito de centro denso y periferia clara.

Confirmación del aislamiento.- presencia de un halo de inhibición a un disco impregnado de suero hiperinmune para la bacteria.

Ureaplasma urealyticum :

Morfología colonial.- colonias doradas a café castaño. Tamaño entre 10 y 50 µm de diámetro, redondas y borde rugoso.

Confirmación del aislamiento.- la presencia de pigmento café, indica la actividad y confirmación del aislamiento de Ureaplasma urealyticum.

Diagrama No. 1. Procedimiento general para el aislamiento de microorganismos aerobios.

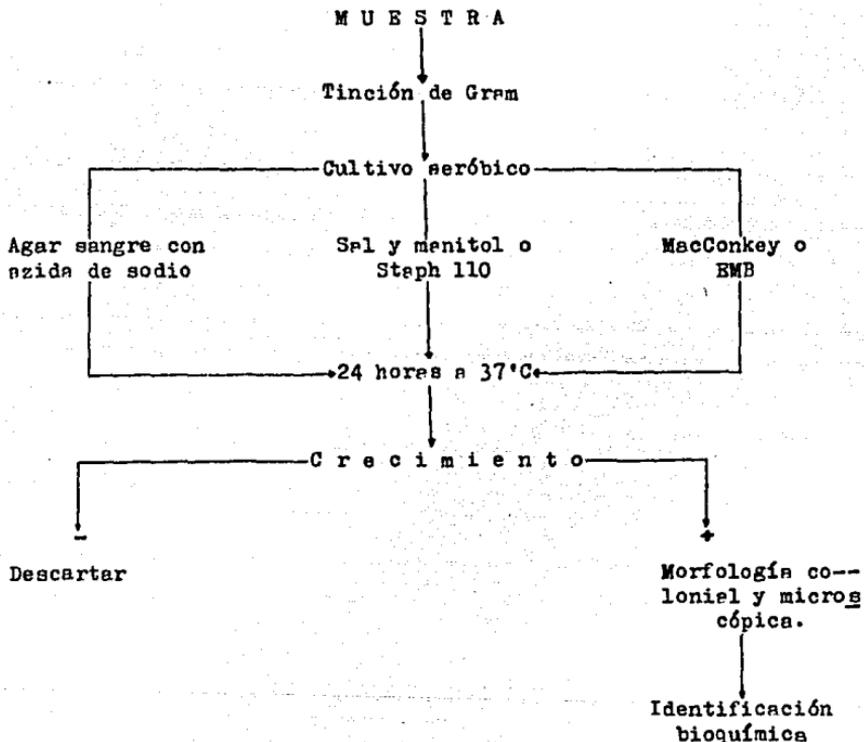
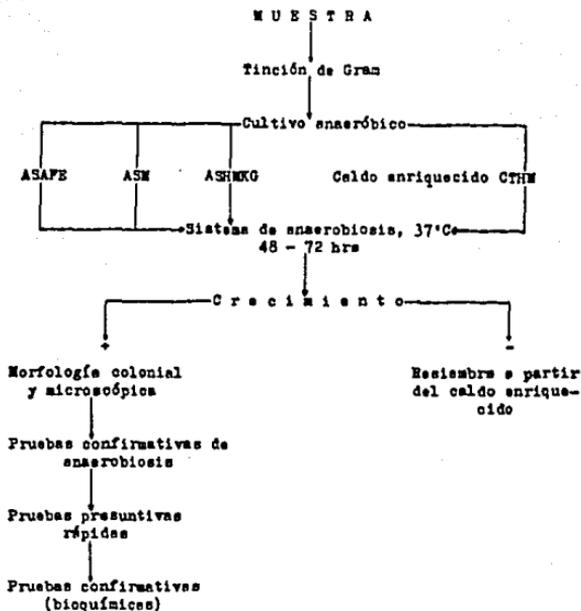


Diagrama No. 2. Procedimiento general para el aislamiento de microorganismos anaerobios.



ASAFE.- Agar Sangre de Carnero con Alcohol Fenil Etílico.

ASM.- Agar Sangre de Carnero con Menadiona.

ASHMG.- Agar Sangre de Carnero con Hemina, Menadiona, Kanamicina y Gentamicina.

CTHM.- Caldo Tioglicolato con Hemina y Menadiona.

Diagrama No. 3. Procedimiento general para el aislamiento de microorganismos microaerofílicos.

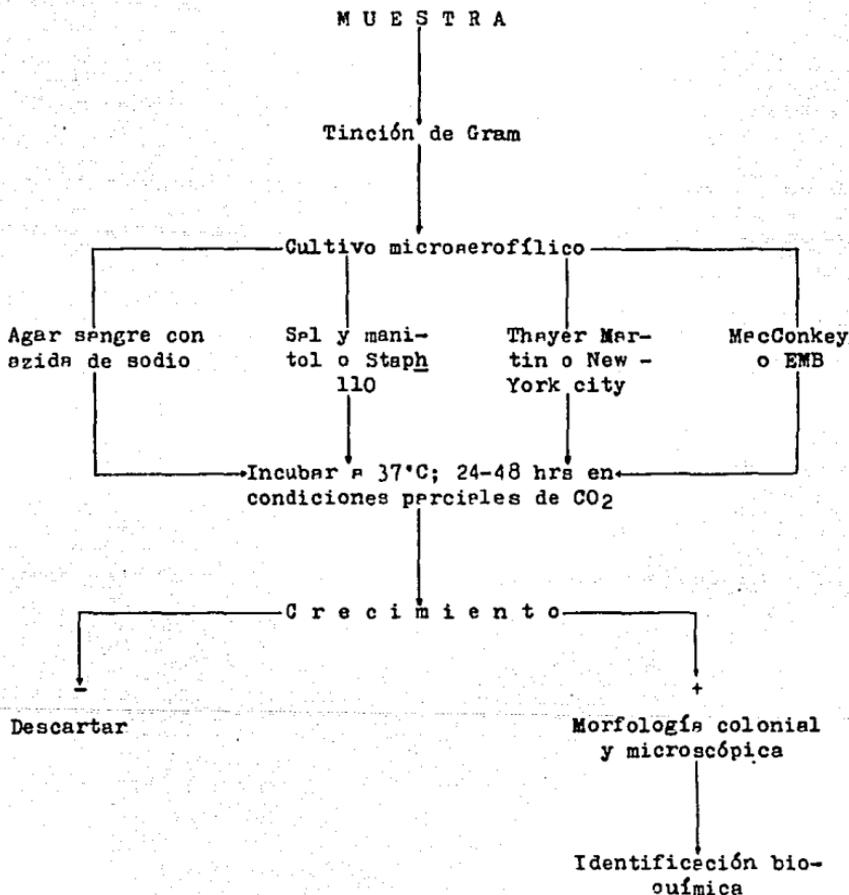


Diagrama No. 4. Procedimiento general para el aislamiento de levaduras.

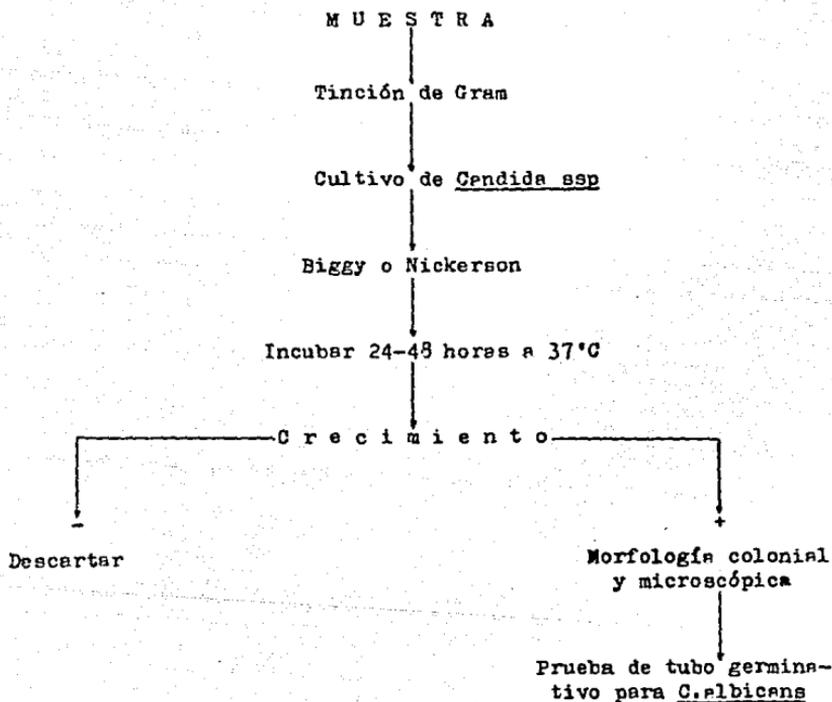


Diagrama No. 5. Procedimiento general para el aislamiento de hongos.

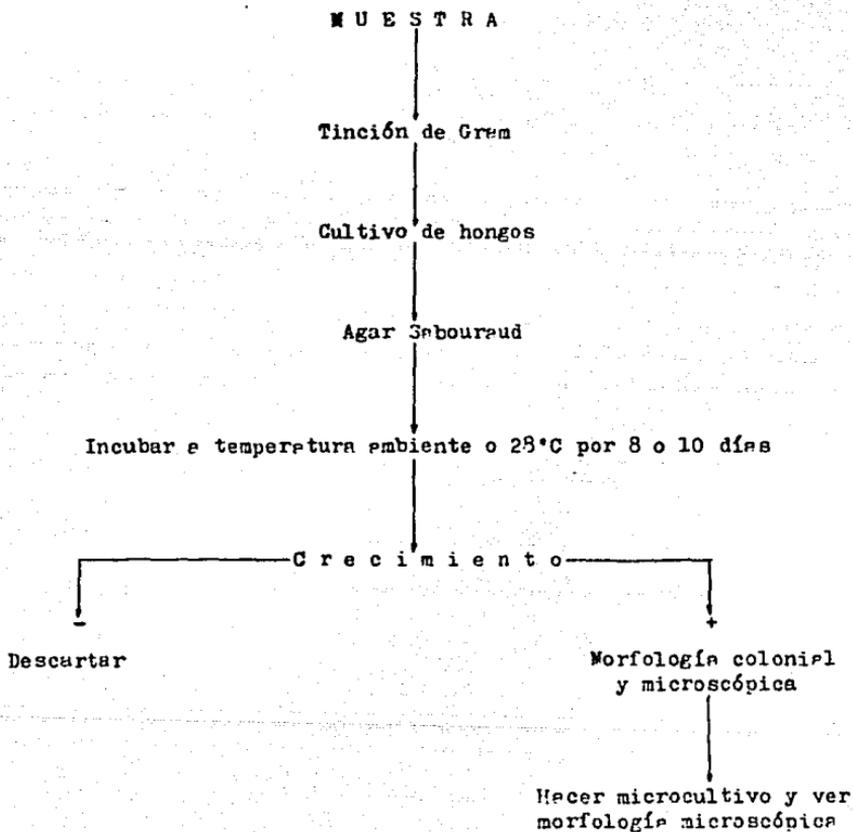


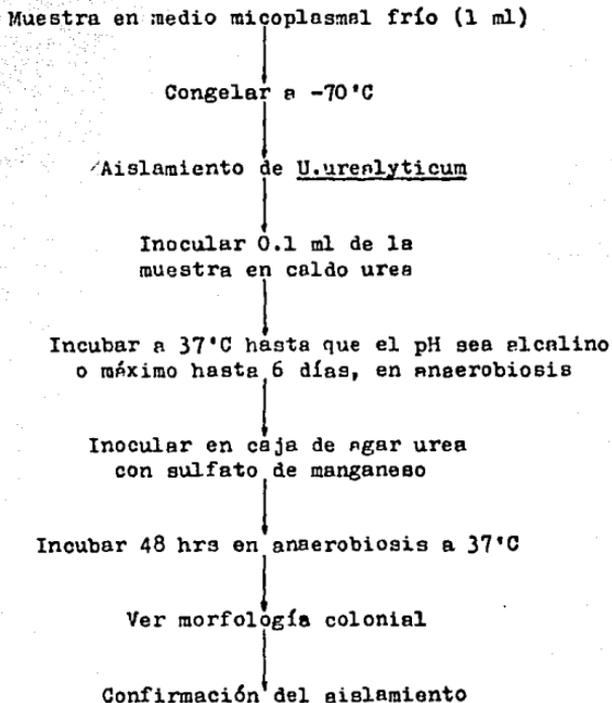
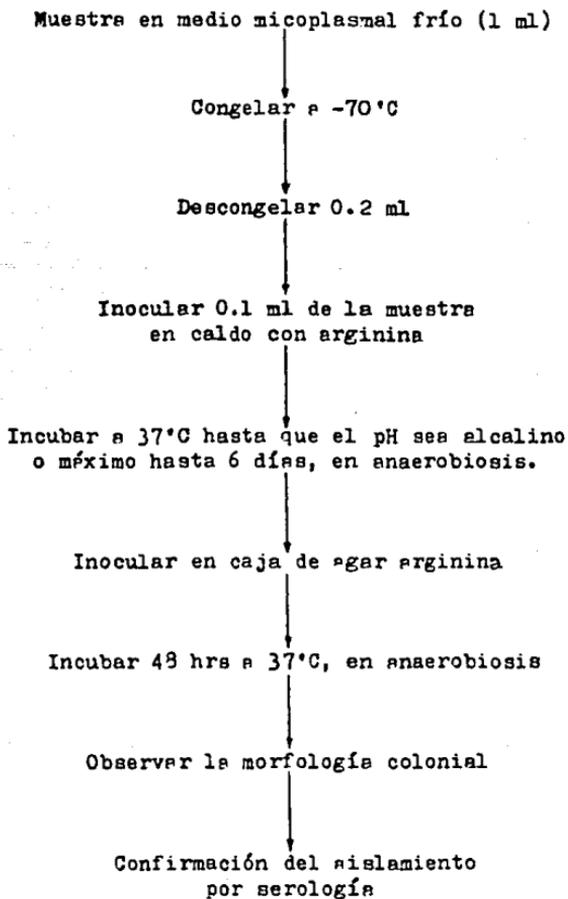
Diagrama No. 6. Aislamiento de Ureaplasma urealyticum.

Diagrama No. 7. Aislamiento de Mycoplasma hominis.

## V.-RESULTADOS.

Se estudió una población abierta de 38 pacientes que fueron distribuidos en tres grupos, dependiendo de las semanas de gestación de las pacientes. En el primer grupo se incluyeron las pacientes que presentaron de 28 a 32 semanas de gestación, el segundo de 33 a 37 semanas, el tercer grupo estuvo comprendido por pacientes que presentaron 38 semanas de embarazo o más.

No hubo grupo control debido a que sólo se trató de ver la prevalencia de microorganismos aerobios, anaerobios y hongos cuando estaban presentes Mycoplasma hominis y/o Ureaplasma urealyticum en una población abierta.

Tabla No. 1. La distribución de los grupos fué la siguiente:

GRUPO	SEMANAS DE GESTACION	No. DE PACIENTES
I	28 a 32	8
II	33 a 37	21
III	38 o más	9

Tabla No. 2. Resultados generales, maternos y neonatales del grupo I. (n = 8).

DATOS MATERNOS	
Edad (años)	26.0 ± 2.9
Gestaciones	2.1 ± 1.6
Partos	0.5 ± 0.83
Abortos	0.5 ± 0.92
Edad gestacional (semanas)	28 a 32
Periodo de latencia RPM-Nacimiento (hrs)	25.6 ± 26.3
Nacimientos prematuros (menos de 37 semanas)	8
Nacimientos a término (37 o más semanas)	0
+ Cultivos positivos (%)	100 %
DATOS DEL NEONATO	
Peso (Kg)	1.75 ± 0.36
Talla (cm)	42.1 ± 2.56
APGAR	6 - 8
Hombres	4
Mujeres	4
Neonatos inmaduros (21 a 28 semanas)	0
Neonatos prematuros (menos de 37 semanas)	8
Neonatos maduros (37 semanas o más)	0
+ Cultivos positivos (%)	100 %

n.- Número de casos totales.

+.- Cultivos que se relacionaron con M.hominis y U.urealyticum.

Tabla No. 3. Resultados generales, maternos y neonatales del grupo II. (n = 21).

DATOS MATERNOS	
Edad (años)	26.2 $\pm$ 6.20
Gestaciones	2.66 $\pm$ 2.40
Partos	1.14 $\pm$ 1.95
Abortos	0.57 $\pm$ 0.87
Edad gestacional (semanas)	33 a 37
Periodo de latencia RPM-Nacimiento (hrs)	13.8 $\pm$ 18.7
Nacimientos prematuros (menos de 37 semanas)	12
Nacimientos a término (37 semanas o más)	9
+ Cultivos positivos	85.7 %
DATOS DEL NEONATO	
Peso (Kg)	2.55 $\pm$ 0.45
Talla (cm)	47.4 $\pm$ 2.09
APGAR	8 - 9
Hombres	15
Mujeres	6
Neonatos inmaduros (21 a 28 semanas)	0
Neonatos prematuros (menos de 37 semanas)	12
Neonatos maduros (37 semanas o más)	9
+ Cultivos positivos (%)	85.7 %

n.- Número de casos totales.

+.- Cultivos que se relacionaron con M.hominis y U.urealyticum.

Tabla No. 4. Resultados generales, maternos y neonatales del grupo III. (n = 9).

DATOS MATERNOS	
Edad (años)	26.6 $\pm$ 3.70
Gestaciones	1.9 $\pm$ 0.92
Partos	0.66 $\pm$ 0.92
Abortos	0.22 $\pm$ 0.66
Edad gestacional (semanas)	38 ó más
Periodo de latencia RPM-Nacimiento (hrs)	7.1 $\pm$ 8.3
Nacimientos prematuros (menos de 37 semanas)	0
Nacimientos a término (37 semanas o más)	9
+ Cultivos positivos (%)	77.7 %
DATOS DEL NEONATO	
Peso (Kg)	3.11 $\pm$ 0.22
Talla (cm)	49.7 $\pm$ 0.75
APGAR	8 - 9
Hombres	4
Mujeres	5
Neonatos inmaduros (21 a 28 semanas)	0
Neonatos prematuros (menos de 37 semanas)	0
Neonatos maduros (37 semanas o más)	9
+ Cultivos positivos (%)	77.7 %

n.- Número de casos totales.

+.- Cultivos que se relacionaron con M.hominis y U.urealyticum.

Tabla No. 5. Resultados comparativos de los tres grupos en estudio.

Grupo	I	II	III
Número de casos (n)	8	21	9
<b>DATOS MATERNOS</b>			
Edad (años)	26 ± 2.9	26.2 ± 6.2	26.6 ± 3.7
Gestaciones	2.1 ± 1.6	2.66 ± 2.4	1.9 ± 0.92
Partos	0.5 ± 0.83	1.14 ± 1.95	0.66 ± 0.86
Abortos	0.5 ± 0.92	0.57 ± 0.87	0.22 ± 0.66
Periodo de latencia RPM-Nacimiento (hrs)	25.6 ± 26.3	13.8 ± 18.7	7.1 ± 8.3
Edad gestacional (semanas)	28 a 32	33 a 37	38 ó más
Nacimientos prematuros (menos de 37 semanas)	8	12	0
Nacimientos a término (37 semanas o más)	0	9	9
+ Cultivos positivos (%)	100 %	85.7 %	77.7 %
<b>DATOS NEONATALES</b>			
Peso (Kg)	1.75 ± 0.36	2.55 ± 0.45	3.11 ± 0.22
Talla (cm)	42.1 ± 2.56	47.4 ± 2.09	49.7 ± 0.75
APGAR	6 - 8	8 - 9	8 - 9
Hombres	4	15	4
Mujeres	4	6	5
Neonatos inmaduros (21 a 28 semanas)	0	0	0
Neonatos prematuros (menos de 37 semanas)	8	12	0
Neonatos maduros (37 semanas o más)	0	9	9
+ Cultivos positivos (%)	100 %	85.7 %	77.7 %

+.- Cultivos que se relacionaron con M.hominis y U.urealyticum.

Tabla No. 6. Microorganismos aislados con mayor frecuencia, en general. (n = 108/38).

MICROORGANISMO	FRECUENCIA	PORCENTAJE +
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	28	25.9 %
<u>Escherichia coli</u>	23	21.3 %
<u>Staphylococcus aureus</u>	18	16.7 %
<u>Candida ssp</u>	13	12.0 %
<u>Klebsiella oxytoca</u>	12	11.1 %
<u>Proteus vulgaris</u>	6	5.5 %
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	5	4.6 %
<u>Citrobacter freundii</u>	1	0.9 %
<u>Enterobacter agglomerans</u>	1	0.9 %
<u>Bacteroides fragilis</u>	1	0.9 %

n.- Número total de microorganismos aislados entre el número total de muestras.

+.- Respecto al número total de microorganismos aislados.

Tabla No. 7. Porcentaje de microorganismos aislados en muestras de exudado cérvicovaginal. (n = 42/38).

MICROORGANISMO	FRECUENCIA	PORCENTAJE +
<u>Escherichia coli</u>	11	26.2 %
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	10	23.8 %
<u>Staphylococcus aureus</u>	6	14.3 %
<u>Candida ssp</u>	6	14.3 %
<u>Klebsiella oxytoca</u>	5	11.9 %
<u>Proteus vulgaris</u>	2	4.7 %
<u>Citrobacter freundii</u>	1	2.4 %
<u>Enterobacter agglomerans</u>	1	2.4 %

n.- Número total de microorganismos aislados entre el número total de muestras.

+.- Respecto al número total de microorganismos aislados.

Tabla No. 8. Frecuencia y porcentaje de microorganismos aislados en muestras de cordón umbilical. (n = 24/38).

MICROORGANISMO	FRECUENCIA	PORCENTAJE+
<u>Escherichia coli</u>	7	29.2 %
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	6	24.9 %
<u>Staphylococcus aureus</u>	3	12.5 %
<u>Candida ssp</u>	3	12.5 %
<u>Klebsiella oxytoca</u>	2	8.4 %
<u>Proteus vulgaris</u>	2	8.4 %
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	1	4.2 %

n.- Número total de microorganismos aislados entre el número total de muestras.

+.- Respecto al número total de microorganismos aislados.

Tabla No. 9. Frecuencia y porcentaje de microorganismos aislados en muestras de espirado gástrico. (n = 23/38).

MICROORGANISMO	FRECUENCIA	PORCENTAJE+
<u>Escherichia coli</u>	5	21.7 %
<u>Candida ssp</u>	4	17.4 %
<u>Staphylococcus aureus</u>	4	17.4 %
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	4	17.4 %
<u>Klebsiella oxytoca</u>	2	8.7 %
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	2	8.7 %
<u>Proteus vulgaris</u>	1	4.3 %
<u>Bacteroides fragilis</u>	1	4.3 %

n.- Número total de microorganismos aislados entre el número total de muestras.

+.- Respecto al número total de microorganismos aislados.

Tabla No. 10. Frecuencia y porcentaje de microorganismos aislados en hemocultivo de los neonatos. (n = 16/38).

MICROORGANISMO	FRECUENCIA	PORCENTAJE+
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	7	43.7 %
<u>Staphylococcus aureus</u>	4	25.0 %
<u>Escherichia coli</u>	2	12.5 %
<u>Proteus vulgaris</u>	1	6.3 %
<u>Klebsiella oxytoca</u>	1	6.3 %
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	1	6.3 %

n.- Número total de microorganismos aislados entre el número total de muestras.

+.- Respecto al número total de microorganismos aislados.

Tabla No. 11. Frecuencia y porcentaje de microorganismos aislados en muestras de placenta. (n = 3/38).

MICROORGANISMO	FRECUENCIA	PORCENTAJE+
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	2	66.7 %
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	1	33.3 %

n.- Número total de microorganismos aislados entre el número total de muestras.

+.- Respecto al número total de microorganismos aislados.

Tabla No. 12. Microorganismos aislados en las muestras del grupo I.  
(n = 8).

MUESTRA	MICROORGANISMO	FRECUENCIA
Exudado cérvicovaginal	<u>Candida ssp</u>	3
	<u>Escherichia coli</u>	2
	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	2
	<u>Klebsiella oxytoca</u>	1
	<u>Klebsiella pneumoniae</u>	1
	<u>Staphylococcus aureus</u>	1
Cordón umbilical	<u>Klebsiella oxytoca</u>	2
	<u>Escherichia coli</u>	1
	<u>Klebsiella pneumoniae</u>	1
	<u>Staphylococcus aureus</u>	1
	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	1
	<u>Candida ssp</u>	1
Aspirado gástrico	<u>Candida ssp</u>	1
	<u>Klebsiella pneumoniae</u>	1
	<u>Staphylococcus aureus</u>	1
	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	1
Homocultivo (neonato)	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	2
	<u>Staphylococcus aureus</u>	1
	<u>Klebsiella oxytoca</u>	1
	<u>Klebsiella pneumoniae</u>	1
Placenta	<u>Klebsiella oxytoca</u>	1

n.- Número total de pacientes del grupo I.

Tabla No. 13. Microorganismos aislados en las muestras del grupo II. (n = 21).

MUESTRA	MICROORGANISMO	FRECUENCIA
Exudado cérvicovaginal	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	7
	<u>Escherichia coli</u>	4
	<u>Staphylococcus aureus</u>	3
	<u>Klebsiella oxytoca</u>	3
	<u>Candida ssp</u>	3
	<u>Proteus vulgaris</u>	2
	<u>Enterobacter agglomerans</u>	1
Cordón umbilical	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	5
	<u>Candida ssp</u>	2
	<u>Proteus vulgaris</u>	2
	<u>Staphylococcus aureus</u>	1
Aspirado gástrico	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	3
	<u>Candida ssp</u>	3
	<u>Escherichia coli</u>	3
	<u>Klebsiella oxytoca</u>	2
	<u>Staphylococcus aureus</u>	2
	<u>Klebsiella pneumoniae</u>	1
	<u>Proteus vulgaris</u>	1
Hemocultivo neonatal	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	5
	<u>Staphylococcus aureus</u>	2
	<u>Escherichia coli</u>	1
	<u>Proteus vulgaris</u>	1
Placenta	<u>Klebsiella oxytoca</u>	1
	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	1

n.- Número total de pacientes del grupo II.

Tabla No. 14. Microorganismos aislados en las muestras del grupo III. (n = 9).

MUESTRA	MICROORGANISMO	FRECUENCIA
Exudado cérvicovaginal	<u>Escherichia coli</u>	4
	<u>Staphylococcus aureus</u>	3
	<u>Citrobacter freundii</u>	1
	<u>Klebsiella oxytoca</u>	1
	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	1
Cordón umbilical	<u>Escherichia coli</u>	6
	<u>Staphylococcus aureus</u>	1
Aspirado gástrico	<u>Escherichia coli</u>	2
	<u>Staphylococcus aureus</u>	1
	<u>Bacteroides fragilis</u>	1
Hemocultivo neonatal	<u>Staphylococcus aureus</u>	1

n.- Número total de pacientes del grupo III.

Table No. 15. Microorganismos aislados de muestras donde se encontró Mycoplasma hominis, en el grupo I. (n = 8).

MUESTRA		FREC.+	MICROORGANISMO	#
MADRE	HIJO			
Ex.CV.	A.G.	5	<u>Klebsiella oxytoca</u>	2
			<u>Staphylococcus epidermidis</u>	2
			<u>Staphylococcus aureus</u>	1
			<u>Candida ssp</u>	1
			<u>Escherichia coli</u>	1
Ex.CV.	---	1	<u>Candida ssp</u>	1
			<u>Staphylococcus epidermidis</u>	1
---	---	2	<u>Candida ssp</u>	1
			<u>Klebsiella pneumoniae</u>	1

n.- Número total de pacientes del grupo I.

FREC.+.- Frecuencia de casos donde se encontró relación.

#.- Número de veces que se aisló el microorganismo.

Ex.CV.- Exudado cérvicovaginal.

A.G.- Aspirado gástrico.

Tabla No. 16. Microorganismos aislados de muestras donde se encontró Mycoplasma hominis, en el grupo II. (n = 21).

MUESTRA		FREC. +	MICROORGANISMO	#
MADRE	HIJO			
Ex.CV.	A.G.	12	<u>Staphylococcus aureus</u>	4
			<u>Staphylococcus epidermidis</u>	4
			<u>Escherichia coli</u>	3
			<u>Proteus vulgaris</u>	2
			<u>Candida ssp</u>	2
			<u>Klebsiella oxytoca</u>	1
			<u>Enterobacter agglomerans</u>	1
Ex.CV.	----	2	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	2
----	A.G.	4	<u>Candida ssp</u>	2
			<u>Klebsiella oxytoca</u>	2
			<u>Staphylococcus epidermidis</u>	1
----	----	3	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	2
			<u>Escherichia coli</u>	1
			<u>Klebsiella pneumoniae</u>	1

n.- Número total de pacientes del grupo II.

FREC.+.- Frecuencia de casos donde se encontró relación.

#.- Número de veces que se aisló al microorganismo.

Ex.CV.- Exudado cérvicovaginal.

A.G.- Aspirado gástrico.

Tabla No. 17. Microorganismos aislados de muestras donde se encontró Mycoplasma hominis, en el grupo III. (n = 9).

MUESTRA		PREC.+	MICROORGANISMO	#
MADRE	HIJO			
Ex.CV.	A.G.	4	<u>Escherichia coli</u>	3
			<u>Klebsiella oxytoca</u>	1
			<u>Staphylococcus aureus</u>	1
Ex.CV.	----	2	<u>Escherichia coli</u>	1
			<u>Staphylococcus aureus</u>	1
----	A.G.	1	<u>Escherichia coli</u>	1
----	----	2	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	1
			<u>Staphylococcus aureus</u>	1
			<u>Escherichia coli</u>	1
			<u>Citrobacter freundii</u>	1
			<u>Bacteroides fragilis</u>	1

n.- Número total de pacientes del grupo III.

PREC.+.- Frecuencia de casos donde se encontró relación.

#.- Número de veces que se aisló al microorganismo.

Ex.CV.- Exudado cérvicovaginal.

A.G.- Aspirado gástrico.

Tabla No. 18. Microorganismos aislados con mayor frecuencia en muestras donde se encontró Mycoplasma hominis.  
(n = 41/31).

MICROORGANISMOS	FRECUENCIA	PORCENTAJE +
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	10	24.4 %
<u>Escherichia coli</u>	9	21.9 %
<u>Staphylococcus aureus</u>	7	17.0 %
<u>Candida ssp</u>	6	14.6 %
<u>Klebsiella oxytoca</u>	6	14.6 %
<u>Proteus vulgaris</u>	2	4.9 %
<u>Enterobacter agglomerans</u>	1	2.4 %

n.- Número total de microorganismos aislados entre el número total de muestras con Mycoplasma hominis.

+.- Respecto al número total de microorganismos aislados.

Tabla No. 19. Microorganismos aislados de muestras donde se encontró Ureaplasma urealyticum, en el grupo I. (n = 8).

MUESTRA		FREC.†	MICROORGANISMO	#
MADRE	HIJO			
Ex.CV.	A.G.	1	<u>Candida ssp</u>	1
Ex.CV.	----	4	<u>Candida ssp</u>	2
			<u>Staphylococcus epidermidis</u>	2
			<u>Escherichia coli</u>	1
			<u>Klebsiella oxytoca</u>	1
			<u>Klebsiella pneumoniae</u>	1
----	----	3	<u>Klebsiella oxytoca</u>	2
			<u>Escherichia coli</u>	1
			<u>Staphylococcus aureus</u>	1
			<u>Staphylococcus epidermidis</u>	1

n.- Número total de pacientes del grupo I.

FREC.†.- Frecuencia de casos donde se presentó relación.

#.- Número de veces que se aisló el microorganismo.

Ex.CV.- Exudado cérvicovaginal.

A.G.- Aspirado gástrico.

Tabla No. 20. Microorganismos aislados de muestras donde se encontró Ureaplasma urealyticum, en el grupo II. (n =21)

MUESTRA		FREC.+	MICROORGANISMO	#
MADRE	HIJO			
Ex.CV.	A.G.	1	<u>Candida</u> ssp	1
			<u>Klebsiella oxytoca</u>	1
Ex.CV.	----	14	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	6
			<u>Staphylococcus aureus</u>	4
			<u>Candida</u> ssp	3
			<u>Escherichia coli</u>	2
			<u>Proteus vulgaris</u>	2
			<u>Klebsiella oxytoca</u>	1
			<u>Enterobacter agglomerans</u>	1
----	----	6	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	4
			<u>Escherichia coli</u>	1
			<u>Klebsiella oxytoca</u>	1
			<u>Klebsiella pneumoniae</u>	1

n.- Número total de pacientes del grupo II.

FREC.+.- Frecuencia de casos donde se encontró relación.

#.- Número de veces que se aisló al microorganismo.

Ex.CV.- Exudado cérvicovaginal.

A.G.- Aspirado gástrico.

Tabla No. 21. Microorganismos aislados de muestras donde se encontró Ureaplasma urealyticum, en el grupo III. (n = 9).

MUESTRA		FREC.+	MICROORGANISMO	#
MADRE	HIJO			
Ex.CV.	A.G.	1	<u>Escherichia coli</u>	1
Ex.CV.	----	4	<u>Escherichia coli</u>	3
			<u>Klebsiella oxytoca</u>	1
			<u>Staphylococcus aureus</u>	1
----	----	4	<u>Escherichia coli</u>	2
			<u>Citrobacter freundii</u>	1
			<u>Staphylococcus aureus</u>	1
			<u>Staphylococcus epidermidis</u>	1
			<u>Bacteroides fragilis</u>	1

n.- Número total de pacientes del grupo III.

FREC.+.- Frecuencia de casos donde se encontró relación.

#.- Número de veces que se aisló al microorganismo.

Ex.CV.- Exudado cérvicovaginal.

A.G.- Aspirado gástrico.

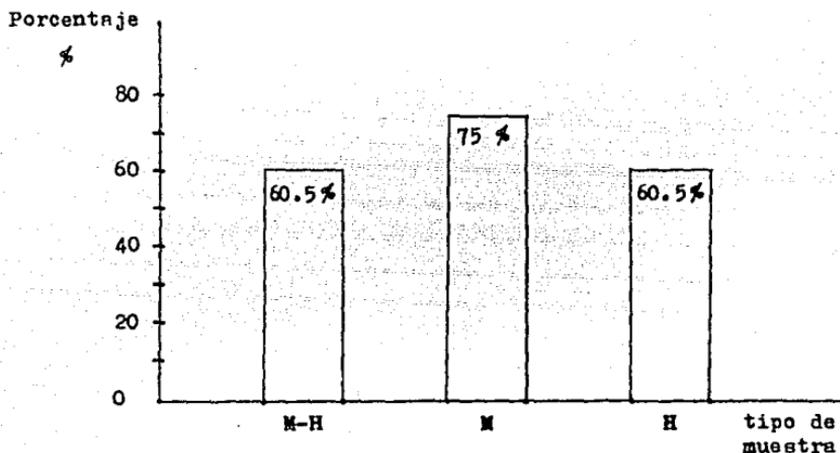
Tabla No. 22. Microorganismos aislados con mayor frecuencia en -  
muestras donde se encontró Ureaplasma urealyticum.  
(n = 34/25).

MICROORGANISMOS	FRECUENCIA	PORCENTAJE +
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	8	23.5 %
<u>Candida ssp</u>	7	20.5 %
<u>Escherichia coli</u>	7	20.5 %
<u>Staphylococcus aureus</u>	4	11.7 %
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	1	2.9 %
<u>Proteus vulgaris</u>	1	2.9 %
<u>Enterobacter agglomerans</u>	1	2.9 %

n.- Número total de microorganismos aislados entre el número total de muestras con Ureaplasma urealyticum.

+.- Respecto al número total de microorganismos aislados.

Figura No. 1. Aislamiento de Mycoplasma hominis, en muestras del binomio madre-hijo, donde se aislaron microorganismos, bacterias anaerobias, aerobias y hongos; en el grupo I. (n = 8).



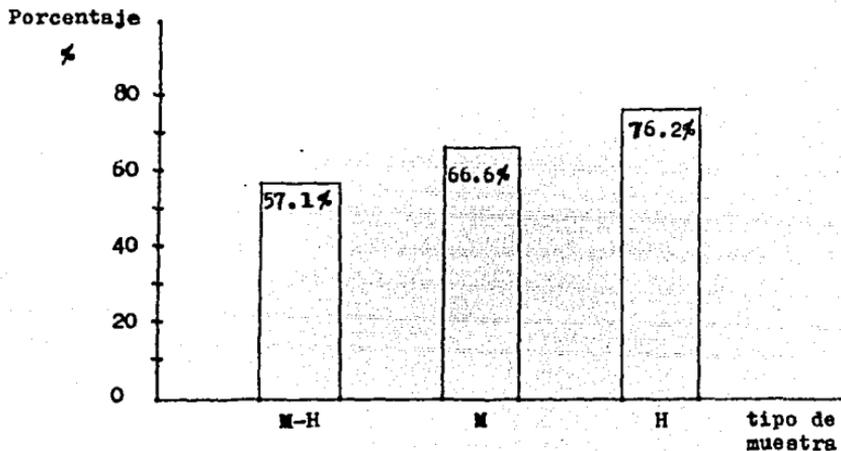
n.- Número total de casos.

M-H.- Muestras de madre e hijo.

M.- Muestras de la madre.

H.- Muestras del neonato.

Figura No. 2. Aislamiento de Mycoplasma hominis, en muestras del binomio madre-hijo, donde se aislaron bacterias aerobias, anaerobias y hongos; en el grupo II. (n =21)



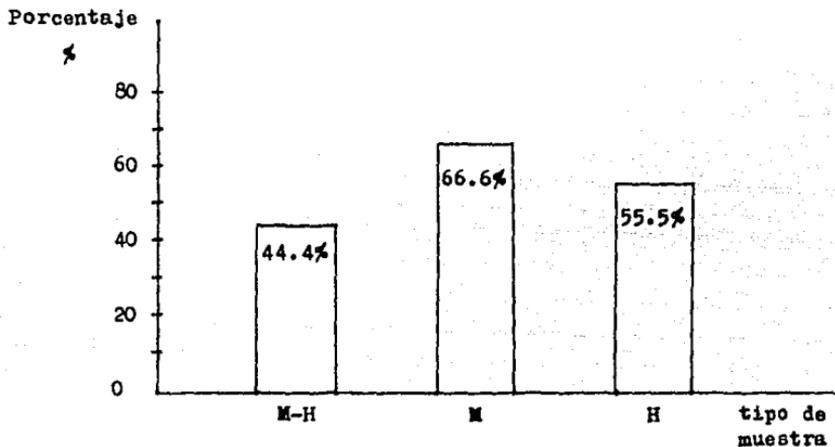
n.- Número total de casos.

M-H.- Muestras de madre e hijo.

M.- Muestras de la madre.

H.- Muestras del neonato.

Figura No. 3. Aislamiento de Mycoplasma hominis, en muestras del binomio madre-hijo, donde se aislaron bacterias aerobias, anaerobias y hongos; en el grupo III. (n=9).



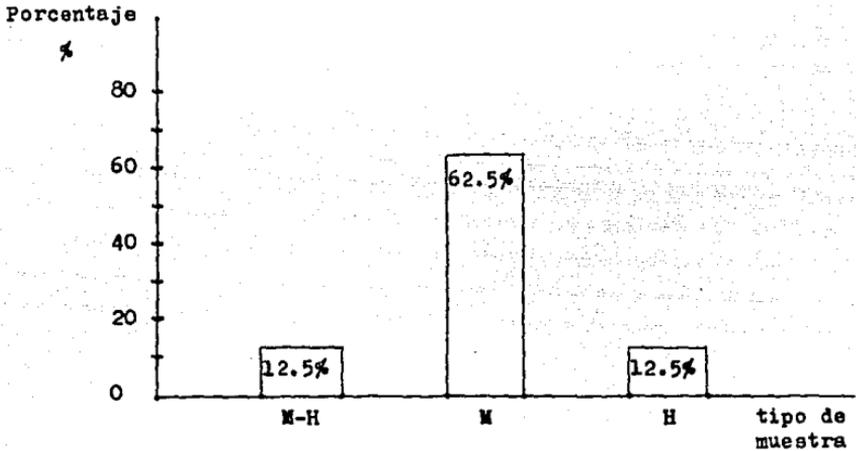
n.- Número total de casos.

M-H.- Muestras de madre e hijo.

M.- Muestras de la madre.

H.- Muestras del neonato.

Figura No. 4. Aislamiento de Ureaplasma urealyticum, en muestras del binomio madre-hijo, donde se aislaron bacterias aerobias, anaerobias y hongos; en el grupo -- I. (n = 8).



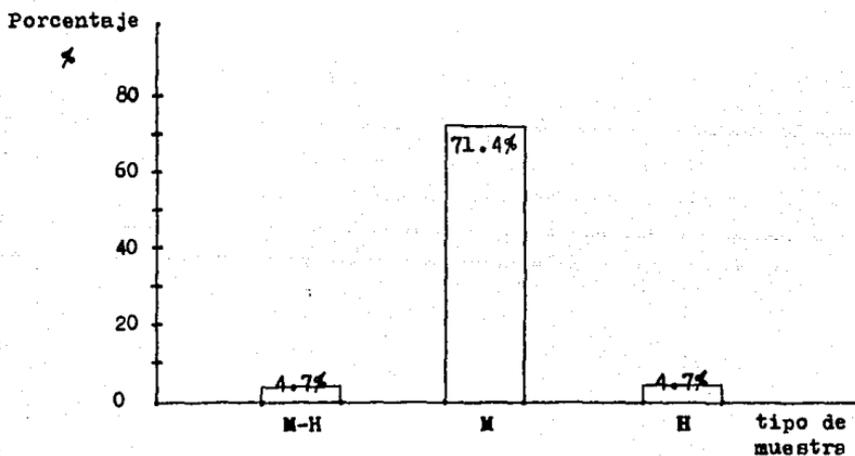
n.- Número total de casos.

M-H.- Muestras de madre e hijo.

M.- Muestras de la madre.

H.- Muestras del neonato.

Figura No. 5. Aislamiento de Ureaplasma urealyticum, en muestras del binomio madre-hijo, donde se aislaron bacterias aerobias, anaerobias y hongos; en el grupo II. (n = 21).



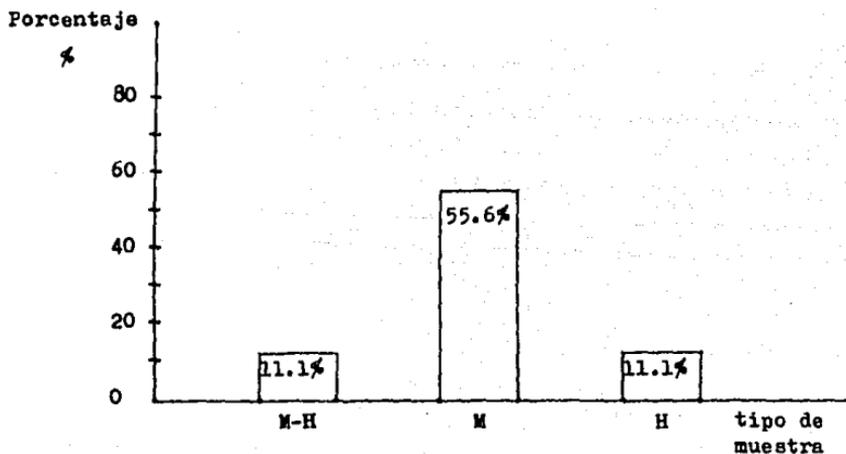
n.- Número total de casos.

M-H.- Muestras de madre e hijo.

M.- Muestras de la madre.

H.- Muestras del neonato.

Figura No. 6. Aislamiento de Ureaplasma urealyticum, en muestras del binomio madre-hijo, donde se aislaron bacterias aerobias, anaerobias y hongos; en el grupo III. (n = 9).



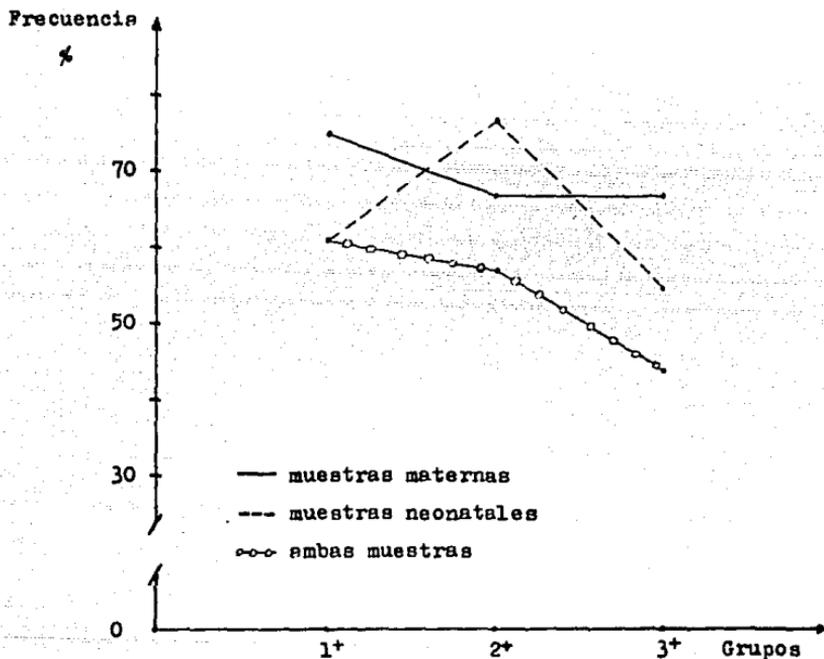
n.- Número total de casos.

M-H.- Muestras de madre e hijo.

M.- Muestras de la madre.

H.- Muestras del neonato.

Gráfica No. 1. Frecuencia del aislamiento de Mycoplasma hominis en el binomio madre-hijo contra los grupos formados, según la edad gestacional de las pacientes.

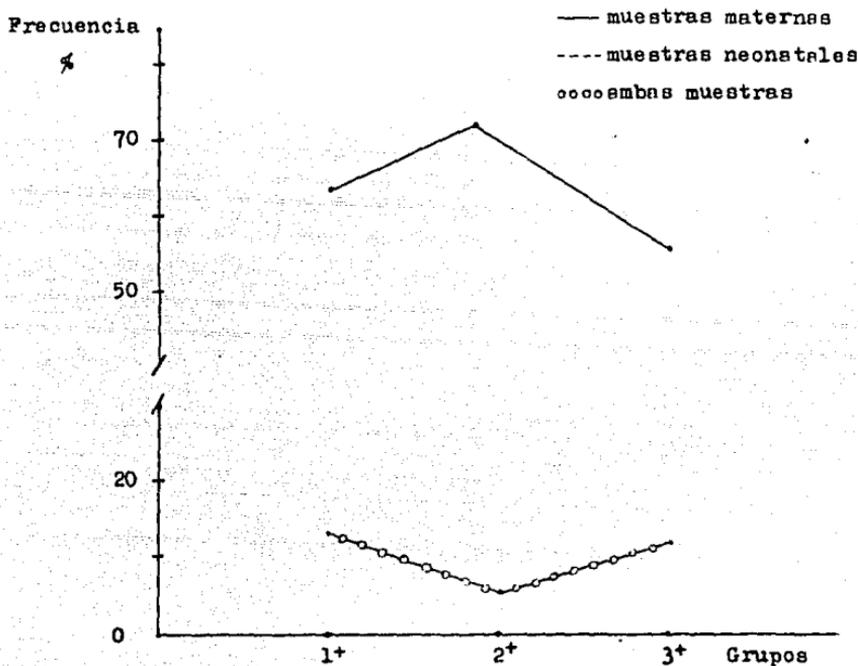


1+.- 28 a 32 semanas de gestación.

2+.- 33 a 37 semanas de gestación.

3+.- 38 o más semanas de gestación.

Gráfica No. 2. Frecuencia del aislamiento de Ureaplasma urealyticum en el binomio madre-hijo contra los grupos formados, según la edad gestacional de las pacientes.



1+.- 28 a 32 semanas de gestación.

2+.- 33 a 37 semanas de gestación.

3+.- 38 o más semanas de gestación.

## VI.-DISCUSION DE RESULTADOS.

En este trabajo se trató de relacionar a microorganismos aerobios, anaerobios y hongos aislados de diferentes muestras del binomio madre-hijo con la presencia de Ureaplasma urealyticum y Mycoplasma hominis con objeto de saber si hay o no, relación entre ellos, es decir, si la presencia de U.urealyticum o M.hominis predisponen condiciones apropiadas para el establecimiento de microorganismos que produzcan infecciones tanto en la madre como en el neonato.

En la tabla 1 se presentan los tres grupos formados con los 38 pacientes.

En las tablas 2, 3 y 4 se dan datos generales tanto de la madre como del neonato en sus grupos correspondientes.

En la tabla número 5 se pueden comparar los tres grupos en estudio.

La edad de las pacientes varió de 18 a 41 años, debido a que se trabajó con una población abierta. El valor medio de la edad fué de 26.7 años. La edad no varió mucho de un grupo a otro; hay que mencionar que pudieran ser consideradas como altas, aunque dentro de la edad recomendada para que la mujer pueda embarazarse sin tener problemas de edad avanzada.

El número medio de gestaciones, en las pacientes estudiadas, fué de 2.54, lo que significa un número aceptable y bajo, esto debido a la política de población que existe en el país.

El número de partos promedio fué de 2.08 que como puede verse es menor que el número de gestaciones de las pacientes, esto se debe principalmente a que las pacientes tratadas en este hospi

tal presentan embarazos de alto riesgo y problemas del embarazo - que muchas veces ocasionan la interrupción del mismo.

El número de abortos tuvo una variación de cero a dos abortos con una media de 0.47, que según Everaldo Valenzuela (11) es un número menor al de la población en general. De los tres grupos el tercero es el que tuvo una media, de abortos, menor que los otros dos grupos y posiblemente debido a esto es que estas pacientes tuvieron neonatos maduros, ya que a mayor número de abortos - aumenta el embarazo de alto riesgo.

Como se utilizó una población abierta para el presente estudio se trabajó con pacientes con y sin RPM, obteniéndose un mínimo de cero horas (sin RPM) y un máximo de 168 horas (7 días) y -- una media de 19.7 horas, motivo por el cual estas pacientes son - remitidas a este hospital. El grupo I fué el que tuvo un período de latencia mayor, más que el II y el III.

Los cultivos positivos de las muestras maternas, se obtuvieron en un 100 % para el grupo I, de 85.7 % para el grupo II y para el grupo III fué de 77.7 %. Como se encontraron más infectadas las muestras maternas del grupo I que de los otros dos grupos era de esperar que las muestras neonatales también estuvieran infectadas en esa proporción y así fué ya que los cultivos neonatales del grupo I fueron positivos en un 100 % y los de los grupos II y III fueron de 85.7 % y 77.7 % respectivamente. Más adelante se -- hablará de los microorganismos aislados.

Respecto al peso de los neonatos se puede apreciar que el -- grupo I tuvo un peso más bajo y a medida que aumentan los grupos, aumenta el peso de los neonatos, esto se explica de la manera siguiente: los grupos I y II incluyen neonatos que tuvieron de 28 a

37 semanas de gestación y en el grupo III es mayor el número de - semanas de gestación lo que indica que los neonatos de los grupos I y II son prematuros, en cambio los del grupo III son a término y por lo tanto con mayor peso que el de los prematuros.

La talla de los neonatos varió de 34 a 51 centímetros con -- una media de 45.6 centímetros.

El valor del APGAR mínimo fué de 4-7 y el máximo de 9-9 te-- niendo una moda de 8-9, que es un valor normal.

Se muestrearon, antes del parto, el exudado cérvicovaginal, y después del parto se muestreó la placenta, cordón umbilical, ca vidad uterina, conjuntiva, el oído externo, aspirado gástrico y - se realizó hemocultivo a los neonatos.

Fueron sembrados en medios de cultivo adecuados para aislar micro organismos aerobios, anaerobios y hongos.

De las muestras neonatales, en la conjuntiva y oído externo no se aislaron microorganismos, pero si se aislaron de aspirado - gástrico y hemocultivo, lo que indica, que posiblemente la conjun tiva y oído externo no sean adecuados para el establecimiento de microorganismos y que el aspirado gástrico y hemocultivo si lo -- sean.

La cavidad uterina se muestreó después de la salida de la -- placenta y no se aislaron microorganismos de esta muestra pero si se aislaron de muestras de placenta, lo que indicaría que los or ganismos si llegan a colonizar la placenta pero no llegan hasta - el endometrio y es por esto que no se aislaron microorganismos de la cavidad uterina.

En general, de todas las muestras, los microorganismos más -

aislados fueron Staphylococcus epidermidis con un 25.9 %; Escherichia coli con un 21.3 %; Staphylococcus aureus con un 16.7 %; el género Klebsiella con un 15.7 % y Candida ssp con 12 %. Estos organismos coinciden con lo encontrado por Howard y colaboradores (13) que reportaron a Staphylococcus epidermidis como una bacteria altamente aislada de cervix y placenta; así como lo reportado por Quinn y colaboradoras (22) que aseguran haber encontrado microorganismos de alta virulencia como Staphylococcus aureus, Citrobacter freundii y Bacteroides ssp en la placenta de pacientes con corioamnionitis.

También fueron aislados, aunque con menor frecuencia, Proteus vulgaris con un porcentaje de 5.5 %; Citrobacter freundii con 0.9 %; Enterobacter agglomerans con 0.9 % y Bacteroides fragilis con un 0.9 %.

Hay que mencionar que aparte de Ureaplasma urealyticum y Mycoplasma hominis, Bacteroides fragilis fué la única bacteria anaerobia aislada, esto se debió principalmente al criterio seguido: "sólo se buscaron anaerobios en aquellas muestras donde no hubo desarrollo de microorganismos aerobios, ni microaerófilos pero que presentaron un aumento en la turbidez del tubo con caldo tioglicolato", que fué donde se colectaron cada una de las muestras.

Según la tabla número 7, Candida ssp fué encontrada con un porcentaje de 14.3 %; se puede considerar elevada y aceptable ya que durante el embarazo cambia el pH vaginal haciendo más apropiado el medio para el desarrollo de esta levadura y otros microorganismos patógenos.

Los microorganismos con un porcentaje elevado, encontrados

en todas las muestras, fueron aislados primariamente en las muestras de exudado cérvicovaginal preparto, lo que indica que los microorganismos aislados en otras muestras fueron de origen endógeno, es decir que de la vagina ascendieron hasta contaminar el cérvix, membranas corioamnióticas y el producto (en caso de RPM).

Según las tablas 7, 8, 9, 10 y 11 podemos observar que las Enterobacterias tienen una frecuencia elevada, sobre todo Escherichia coli que tuvo un porcentaje de 26.2 %, 29.2 %, 21.7 % y 12.5 % en las muestras de exudado cérvicovaginal, cordón umbilical, aspirado gástrico y hemocultivo, respectivamente. Klebsiella sp tuvo un porcentaje de 17.4 %, 12.5 %, 12.5 % y 11.9 % en aspirado gástrico, hemocultivo, cordón umbilical y exudado cérvicovaginal, respectivamente.

E. vulgaris también se aisló de exudado cérvicovaginal con un 4.7 %, cordón umbilical con un 8.4 %, aspirado gástrico con 4.3 % y hemocultivo neonatal con 6.3 %.

Otras Enterobacterias aisladas con porcentaje bajo fueron Enterobacter agglomerans con 2.4 % en exudado cérvicovaginal y Citrobacter freundii en exudado cérvicovaginal con 2.4 %.

Bacteroides fragilis se aisló de aspirado gástrico con un porcentaje de 4.3 %; puede ser considerado como un valor ligeramente alto debido a que Howard y colaboradores (13), en su artículo lo reporta con un porcentaje de 1.7 %, aunque en exudado cérvicovaginal.

Respecto a los cocos Gram positivos; no se aisló al género Streptococcus y se esperaba aislarlo ya que autores como Williams y colaboradores (26) lo reportan como agentes causales de endome-

tritis; Morales y Lim, en su artículo titulado: "Reduction of --- group B Streptococcal maternal and neonatal infections in preterm pregnancies with premature rupture of membranes through a rapid - identification test". (Am.J.Gynecol 1987; 157:13-6) lo reportan co mo agente etiológico de infecciones neonatales, nacimientos prema turos y corioamnionitis; Quinn y colaboradores (22) lo reportan - como agente causal de corioamnionitis; y otros autores más lo re- portan, en sus respectivos trabajos, como agentes causales en in- fecciones materna y neonatal. En el laboratorio del Hospital de - Ginecología y Obstetricia No. 3 del Centro Médico La Raza de 1750 pacientes a quienes se les practicó cultivo de exudado cérvicova- ginal, en el período comprendido del mes de abril al mes de agos- to, solo hubo 28 casos donde se aislaron Streptococcus B-hemolí- ticos; lo cual significa que en la población que asiste a este -- hospital, este microorganismo no es flora habitual que provoque in- fección cérvicovaginal.

Del género Staphylococcus se aislaron S.epidermidis en una - proporción bastante elevada; en exudado cérvicovaginal se aisló - en un porcentaje de 23.8 %; en muestras de cordón umbilical fué - de 24.9 %; en muestras de aspirado gástrico con 17.4 %; en hemo- cultivo se aisló en un porcentaje de 43.7 % y en placenta en un - porcentaje de 33.3 %. Rosas Arceo (2) menciona, en el capítulo -- número 62 que la frecuencia con que se aisla S.epidermidis de va- gina y cuello uterino es tan alta que hace pensar que se trata de una especie autoctona.

También se aisló S.aureus con un porcentaje importante, ---- 25.0 %, 17.4 %, 14.3 % y 12.5 % en hemocultivo neonatal, muestras de aspirado gástrico, exudado cérvicovaginal y cordón umbilical

respectivamente. Este es uno de los microorganismos más frecuentemente aislados y más virulentos para el binomio madre-hijo.

Si se observan las tablas 12, 13 y 14 se puede ver que en -- los tres grupos en estudio hubo gran variedad de microorganismos aislados tanto los reportados como más patógenos, como los reportados como no patógenos. Los microorganismos se aislaron en todo tipo de muestras como se puede ver en las tablas y que no se reportó ningún caso de infección puerperal, esto debido posiblemente a que las pacientes, que llegan a este hospital, son tratadas profilacticamente con antibioticoterapia utilizando penicilina G cristalina y/o ampicilina y/o gentamicina.

De los neonatos que llegaron a presentar infección en el grupo I, fueron cinco los casos donde se aislaron bacterias y se reportaron sólo tres con cuadro de sepsis neonatal, éstos correspondieron a los infectados con S.aureus, Klebsiella pneumoniae y --- Klebsiella oxytoca. En los otros dos casos se aisló S.epidermidis pero los neonatos no presentaron síntomas, por lo que los S.epi--dermidis aislados posiblemente fueron contaminación a la hora de tomar la muestra.

En el grupo II se reportaron cuatro casos de sepsis neonatal que correspondieron a las muestras de neonatos donde se aislaron S.aureus (dos casos), E.coli y P.vulgaris, un caso cada uno. Las muestras donde se aisló S.epidermidis no fueron reportadas con -- cuadro de sepsis neonatal lo que hace pensar que S.epidermidis -- fué un contaminante a la hora de tomar la muestra.

En el grupo III se reportó solo un caso de sepsis neonatal y la bacteria causal de ésta fué Staphylococcus aureus.

En las tablas número 15, 16 y 17 se reportan los microorga--

nismos aislados de las muestras del binomio madre-hijo, donde se encontró Mycoplasma hominis.

La tabla número 15 corresponde al grupo I; donde se aisló -- M.hominis en exudado cérvicovaginal y aspirado gástrico se aislaron Klebsiella oxytoca (K.oxytoca), S.epidermidis, S.aureus, --- E.coli y Candida ssp; así mismo se encontró que en exudado cérvicovaginal se aislaron Candida ssp y S.epidermidis.

La tabla 16 corresponde al grupo II; se observa que donde se aisló M.hominis en exudado cérvicovaginal y aspirado gástrico se aislaron gran cantidad de Enterobacterias, como E.coli, P.vulgaris, etc.; cocos Gram positivos (S.aureus y S.epidermidis) y Candida ssp.

Donde se aisló M.hominis en exudado cérvicovaginal se aisló S.epidermidis y donde se aisló M.hominis sólo en aspirado gástrico se aislaron Candida ssp, K.oxytoca y S.epidermidis.

En la tabla número 17, que corresponde al grupo III, se observa que donde se encontró M.hominis en exudado cérvicovaginal y en aspirado gástrico se aislaron también E.coli, K.oxytoca y -- S.aureus. De las muestras donde se aisló M.hominis en exudado cérvicovaginal se aislaron E.coli y S.aureus; y donde se encontró -- M.hominis en aspirado gástrico se aisló Escherichia coli.

Según la tabla número 18 los microorganismos aislados con mayor frecuencia, en muestras donde se aisló M.hominis, son S.epidermidis con 24.4 %, E.coli con 21.9 %, S.aureus con 17 %, Candida ssp con 14.6 % y K.oxytoca con 14.6 %.

En las tablas 19, 20 y 21 se dan los datos de los microorganismos aislados de muestras del binomio madre-hijo, donde además

se aisló Ureaplasma urealyticum.

En la tabla 19 hubo un caso donde se aisló U.urealyticum y Candida ssp de muestras de exudado cérvicovaginal y de aspirado gástrico; hubo cuatro casos donde se observó la presencia de U.urealyticum, Candida ssp, S.epidermidis, E.coli, K.oxytoca y K.pneumoniae en muestras de exudado cérvicovaginal.

Se observaron seis casos donde no hubo aislamiento de U.urealyticum pero si hubo aislamiento de S.epidermidis, E.coli, K.oxytoca y K.pneumoniae.

En la tabla número 20 se observó un caso donde se aisló, de exudado cérvicovaginal y aspirado gástrico, U.urealyticum, Candida ssp y K.oxytoca; 14 casos donde se aisló U.urealyticum en exudado cérvicovaginal y también se aislaron S.epidermidis, S.aureus, Candida ssp, E.coli, K.oxytoca y Enterobacter agglomerans.

Hubo, además, seis casos donde no se aisló U.urealyticum y si se aisló S.epidermidis, K.oxytoca, K.pneumoniae y E.coli.

En la tabla número 21 hubo un caso donde se aisló U.urealyticum y E.coli, en exudado cérvicovaginal y aspirado gástrico. -- Hubo cuatro casos donde se aisló U.urealyticum y E.coli, K.oxytoca y S.aureus en exudado cérvicovaginal.

También hubo cuatro casos donde no se aisló U.urealyticum y se -- aisló E.coli, C.freundii, S.aureus, S.epidermidis y Bacteroides fragilis.

En la tabla 22 se dan los porcentajes de microorganismos aislados en muestras donde se aisló Ureaplasma urealyticum, los de mayor porcentaje fueron S.epidermidis con 23.5 %, Candida ssp y E.coli con 20.5 % y S.aureus con 11.7 %.

En las figuras 1 a 3 se esquematizan los porcentajes, por grupo, de casos donde se encontró M.hominis y otros microorganismos ya sean bacterias aerobias, anaerobias u hongos, en muestras del binomio madre-hijo. En la figura 1 se puede ver que hubo un porcentaje de 60.5 % de casos donde se aisló M.hominis y otros microorganismos, en muestras maternas y neonatales del grupo I; además hubo 60.5 % de casos positivos pero solo en muestras neonatales y hubo 75 % en muestras maternas.

En la figura 2 se esquematiza el grupo II y se observa un mayor porcentaje de casos positivos en las muestras del neonato (76.2 %); luego se observa un 66.6 % en muestras maternas y finalmente un 57.1 % de casos positivos, en ambas muestras.

La figura 3 esquematiza al grupo III y se observa un porcentaje menor (44.4 %) de casos positivos en ambas muestras del binomio; en las muestras maternas los casos positivos tuvieron un porcentaje de 66.6 % y en las neonatales de 55.5 %.

De lo anterior se pueden destacar dos cosas, que a la vez están relacionadas:

La primera es que a menor edad gestacional, aumentan las posibilidades de que en el binomio madre-hijo, M.hominis se relacione con otros microorganismos ya sean bacterias aerobias, anaerobias u hongos.

La segunda es que se puede ver que M.hominis tiene un porcentaje alto, tanto en las muestras maternas como en las neonatales y muy posiblemente a esto se deba la presencia de los otros microorganismos que pudieren ser agentes etiológicos de infecciones neonatales y/o puerperales.

En las figuras 4, 5 y 6 se puede apreciar que no hay una re

lación edad gestacional-Ureaplasma urealyticum-otro microorganismo en muestras del binomio ya que en el grupo I (figura 4), el -- de menor edad gestacional, se puede ver que hubo sólo un 12.5 % -- de casos donde se aisló U.urealyticum y otros microorganismos en muestras neonatales y maternas. A su vez se puede ver que en el -- grupo III (figura 6), que es el de mayor edad gestacional, el porcentaje fué menor (11.1 %) que el del grupo I. En el grupo II el porcentaje fué muy bajo (4.7 %), para el aislamiento de U.urealyticum y otros microorganismos en ambas muestras del binomio.

Hay que tener claro que U.urealyticum si se encontró en un -- porcentaje elevado en exudado cérvicovaginal y en porcentaje bajo en las muestras neonatales; entonces podemos decir que en este -- trabajo U.urealyticum fué sólo un microorganismo aislado más y no influye para nada en el establecimiento de alguna infección produce por otro microorganismo.

Las gráficas número 1 y 2 solo nos muestran el comportamiento de M.hominis y U.urealyticum a medida que aumenta la edad gestacional de la paciente.

En la número 1 se ve que a mayor edad gestacional, menor la presencia de Mycoplasma hominis y viceversa, a menor edad gestacional mayor la presencia de M.hominis en muestras maternas y en ambas muestras del binomio; y en la gráfica número 2 se puede observar que no hay relación de U.urealyticum con la edad gestacional de las pacientes.

## VII.-CONCLUSIONES.

- 1.- La colonización que se lleva a cabo en el binomio madre-hijo es endógena y ascendente porque todos los microorganismos aislados en muestras maternas y neonatales fueron aisladas del exudado cérvicovaginal preparto.
- 2.- De las pacientes que presentan neonatos prematuros, el 85 % presentan infección neonatal y/o puerperal, por bacterias aerobias, si no se da antibioticoterapia profiláctica.
- 3.- Los microorganismos más patógenos, aislados en este trabajo, fueron S.aureus, E.coli, Candida ssp, Klebsiella ssp y M.hominis.
- 4.- El género Streptococcus no es flora habitual que provoque infección cérvicovaginal en pacientes que llegan a este hospital.
- 5.- A menor edad gestacional, es mayor la presencia de M.hominis y otro microorganismo, capaz de desarrollar infección.
- 6.- M.hominis si establece condiciones para que otro microorganismo se desarrolle y produzca infección neonatal y/o materna.
- 7.- El único hongo que puede desarrollar infección en presencia de M.hominis es el género Candida ssp.
- 8.- U.urealyticum no se relaciona con la edad gestacional de las pacientes.
- 9.- U.urealyticum no establece condiciones para que otro microorganismo se desarrolle y produzca infección neonatal y/o materna.
- 10.- Los objetivos planteados en este trabajo si se cumplieron; así como la hipótesis contrastada.

## VIII.-ANEXOS.

## A.COMPOSICION Y PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS.

1.-Agar arginina:

Peptona	1 g
Cloruro de sodio	5 g
Fosfato dipotasico	0.3 g
Agar	3 g
Rojo de fenol	0.01 g
L + hidrocloreuro de arginina	10 g
Agua destilada	1000 ml

Ajustar a un pH de 7.2; distribuir en tubos de tapón de rosca - aproximadamente 16 ml o en cajas de Petri; antes esterilizar a 121°C, 15 lb de presión y durante 15 minutos.

2.-Agar Biggy o Nickerson:

Util para el aislamiento e identificación de Candida por medio de la reacción de sulfuro.

Citrato de amonio y bismuto	5 g
Sulfito de sodio	3 g
Dextrosa	10 g
Glicina	10 g
Extracto de levadura	1 g
Agar	16 g
pH final 6.8 ± 0.2	

Suspender 45 g del medio en un litro de agua. Calentar y hervir por no más de un minuto. No esterilizar. Vaciar en tubos.

3.-Agar chocolate:

Infusión de musculo cardiaco	375 g
Peptona de carne	10 g
Agar	15 g
Cloruro de sodio	5 g
Sangre de carnero	50 ml
Agua destilada	1000 ml

Suspender 40 g del medio en un litro de agua. Remojar 10 minutos - hervir durante un min. Esterilizar a 15 libras de presión, 121°C y 15 minutos. Enfriar a 50°C y agregar 5 % (50 ml) de sangre de carnero desfibrinada estéril, mezclar y calentar en baño maría a 80°C hasta que el medio adquiere un color chocolate. Vaciar en placas.

4.-Agar con Eosina y Azul de Metileno (EMB):

Sirve para la diferenciación de bacilos entericos y coliformes, -- así como para aislar e identificar C.albicans.

Peptona de gelatina	10.000 g
Lactosa	10.000 g
Fosfato dipotásico	2.000 g
Agar	15.000 g
Eosina	0.400 g
Azul de metileno	0.065 g
Agua destilada	1000 ml
pH final	7.1 ± 0.2

Suspender 37.4 g de medio en un litro de agua destilada. Remojar 15 min. y calentar agitando. Hervir por un minuto. Esterilizar a 15 - lb, 121°C y por 15 min. Vaciar en cajas de Petri.

5.-Agar de MacConkey:

Se usa para enterobacterias. La inhibición de los Gram positivos se debe a la mezcla de sales biliares.

Peptona de gelatina	17.000 g
Mezcla de peptonas	3.000 g
Lactosa	10.000 g
Mezcla de sales biliares	1.500 g
Cloruro de sódio	5.000 g
Agar	13.500 g
Rojo neutro	0.030 g
Cristal violeta	0.001 g
Agua destilada	1000 ml

Suspender 50 g del medio en agua destilada, remojar 15 min., calentarlo y hervir por un minuto. Esterilizar a 121 °C, 15 min. a 15 libras de presión y vaciar en cajas de Petri.

6.-Agar de Staphylococcus 110 o Staph 110:

Extracto de levadura	2.5 g
Peptona de caseína	10.0 g
Gelatina	30.0 g
Lactosa	2.0 g
D - manitol	10.0 g
Cloruro de sodio	75.0 g
Fosfato dipotásico	5.0 g
Agar	15.0 g
Agua destilada	1000 ml
pH final 7.0 ± 0.2	

Remojar en agua destilada 149 g del medio. Hervir durante un minuto. Esterilizar a 121 °C (15 lb de presión) durante 15 minutos.

7.-Agar Lombard Dowell:

Tripticase (BBL 11920)	5.00 g
Extracto de levadura (Difco B127)	5.00 g
Cloruro de sodio	2.50 g
Sulfito de sodio	0.10 g
L - triptofano	0.20 g
Vitamina K (3 fitil menadiona)	0.01 g
Agar	20.00 g
Agua destilada	1000 ml
L - cistina*	0.40 g
Hemina *	0.01 g

\* Disolver la cistina y la hemina en 5 ml de hidróxido de sodio 1 N antes de agregar al medio. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos (15 lb de presión).

8.-Agar Lombard Dowell con bilis:

Para prepararlo se utiliza la base de agar Lombard Dowell y se suplementa con 20 g de oxgall (Difco) y un gramo de glucosa en 1000 ml de agua destilada.

9.-Agar Lombard Dowell con esculina:

Para prepararlo se utiliza la base de agar Lombard Dowell adicionado con esculina (1 g), citrato férrico(0.5 g) y se ajusta a un pH de 7.4

10.-Agar Lombard Dowell con yema de huevo:

Para la preparación de este medio se utiliza la base del agar Lombard Dowell suplementado con 2 g de glucosa, 5 g de fosfato ácido de sodio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), 2 ml de sulfato de magnesio al 5 % en 900 ml de agua destilada. Esterilizar durante 15 minutos y enfriar a 55-60°C; agregar 100 ml de una suspensión estéril de yema de huevo, el medio se distribuye en uno de los cuadrantes de placa dividida.

11.-Agar Mueller Hinton:

Infusión de carne de res	300.0 g
Peptona de caseína ácida	17.5 g
Almidón	1.5 g
Agar	17.0 g
Agua destilada	1000 ml
pH final	7.4 ± 0.2

Suspender 38 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Remojar 15 min. Hervir durante un min. y esterilizar a 121°C durante 15 min y a 15 libras de presión. Vaciar en cajas de Petri estériles.

12.-Agar New York City o Thayer Martin Modificado:

Se utiliza la misma base que el agar Thayer Martin solo que además del polienriquecimiento (Bioxon 304) y de los antibióticos agregados se adiciona también lactato de trimetropín (0.005 g/litro de medio). Tiene una concentración de agar de 1-2 % y 0.25 % de glucosa.

**13.-Agar Sabouraud:**

Se emplea para el aislamiento, identificación y conservación de hongos tanto patógenos como saprofitos. Se emplean tanto en tubos como en placas.

Mezcla de peptonas	10 g
Dextrosa	40 g
Agar	15 g
Agua destilada	1000 ml
pH final $5.6 \pm 0.2$	

Suspender 65 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Remojar por 15 minutos y se calienta agitando frecuentemente y se hierve durante un minuto. Esterilizar a  $118-121^{\circ}\text{C}$  por 15 minutos y no más de 15 libras de presión.

**14.-Agar sal y manitol:**

Se utiliza para aislar Staphylococcus patógenos.

Extracto de carne	1.000 g
Mezcla de peptonas	10.000 g
Cloruro de sodio	75.000 g
D - manitol	10.000 g
Agar	15.000 g
Rojo de fenol	0.025 g
Agua destilada	1000 ml
pH final $7.4 \pm 0.2$	

Suspender 111 g del medio deshidratado en un litro de agua y remojar por 15 minutos. Calentar y hervir durante un minuto, esterilizar en autoclave a  $121^{\circ}\text{C}$  durante 15 minutos a 15 libras de presión

**15.-Agar para Salmonella y Shigella:**

Utilizado para aislar bacilos entéricos patógenos, especialmente del género Salmonella y Shigella. La mezcla de sales biliares -- sirve para inhibir a los cocos Gram positivos y coliformes.

Extracto de carne de res	5.000 g
Peptona Polypeptone	5.000 g
Lactosa	10.000 g
Mezcla de sales biliares	8.500 g
Citrato de sodio	8.500 g
Tiosulfato de sodio	8.500 g
Citrato férrico	1.000 g
Agar	13.500 g
Rojo neutro	0.025 g
Verde brillante	0.330 g
pH final 7.0 ± 0.2	

Suspender 60 g de polvo en un litro de agua. Mezclar, calentar y hervir durante un minuto. No esterilizar y distribuir en cajas de Petri a 45° - 50°C.

**16.-Agar sangre de carnero con alcohol fenil etílico:**

Es utilizado para aislar bacterias Gram positivas como Estreptococos y Micrococos. El alcohol fenil etílico inhibe el crecimiento de bacterias Gram negativas.

Para la preparación de este medio se utiliza la base de agar sangre edicionada de alcohol fenil etílico al 0.25 % en agua destilada y desionizada.

17.-Agar sangre de carnero al 5 %:

Infusión de musculo cardiaco	375 g
Peptona de carne	10 g
Agar	15 g
Cloruro de sodio	5 g
Agua destilada	1000 ml
pH final $7.3 \pm 0.2$	

Suspender 40 g del medio en un litro de agua destilada y dejar reposar por 10 minutos. Hervir durante un minuto y esterilizar a --- 121°C durante 15 min. a 15 lb de presión. Después enfriar a 45-50° centígrados y añadir 5 % (50 ml) de sangre de carnero desfibrinada homogenizar y vaciar en cajas de Petri; no se aconseja usar sangre humana, solo sangre de carnero ó de conejo.

18.-Agar sangre de carnero con azida de sodio:

Mezcla de peptonas	10.0 g
Extracto de carne	3.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Azida sódica	0.2 g
Agar	15.0 g
Agua destilada	1000 ml
pH final $7.2 \pm 0.2$	

Suspender 33 g del medio en un litro de agua destilada. Remojar - 10 minutos y calentar agitando frecuentemente y hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C, durante 15 minutos y a 15 libras de presión. Después enfriar a 45-50°C y añadir 50 ml de sangre de carnero desfibrinada y estéril.

19.-Agar sangre de carnero con hemina y menadione:

Preparar la base para hacer agar sangre pero adicionar 5 g de --- extracto de levadura. Ajustar el pH a 7.3 - 7.5 y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min. Enfriar a 45 - 50°C y agregar - sangre desfibrinada de carnero para que quede una concentración - del 5 %.

Añadir diez mililitros de solución de trabajo de hemina-menadiona.

Mezclar y vaciar en placas.

Solución de trabajo de hemina-menadiona:

Añadir un mililitro de solución estéril de menadione a 100 ml de solución estéril de hemina. Guardar en frasco obscuro, durante -- seis meses como máximo. Se emplea un mililitro por cada 100 mililitros de medio.

Solución madre de hemina:

Disolver 50 mg de hemina en un mililitro de hidróxido de sodio -- 1 N. Añadir 100 ml de agua destilada. Esterilizar a 121°C duran-- te 15 minutos.

Solución madre de menadiona ó vitamina K:

Menadiona 100 mg

Alcohol etílico al 95 % 20 ml

Esterilizar por filtración.

20.-Agar sangre de carnero con hemina, menadiona, kanamicina y -- gentamicina:

Para la preparación de este medio se utiliza la misma base de --- agar sangre hemina menadiona adicionada de kanamicina:

10 mg de kanamicina en 100 ml de medio base.

21.-Agar soya tripticaseína con albúmina de bovino:

Peptona de caseína	15 g
Peptona de soya	5 g
Cloruro de sodio	5 g
Agar	15 g
Agua destilada	1000 ml

pH final  $7.3 \pm 0.2$

Remojar 15 minutos 40 g del medio en un litro de agua destilada - y calentar agitando durante un minuto para que se disuelva. Esterilizar a  $121^{\circ}\text{C}$  durante 15 minutos a 15 lb de presión. Enfriar a  $45^{\circ}\text{C}$  y adicionar suero bovino o de caballo (20 ml). El caldo se -- prepara de la misma manera solo que sin agregarle agar.

22.-Agar Thayer Martin:

Se utiliza la base de agar GC:

Mezcla de peptonas	15 g
Almidón de maíz	1 g
Fosfato dipotásico	4 g
Fosfato monopotásico	1 g
Cloruro de sodio	5 g
Agar	10 g
Agua destilada	1000 ml

pH final  $7.2 \pm 0.2$

Suspender 36 g de la base deshidratada en un litro de agua destilada. Mezclar y remojar 10 a 15 minutos y esterilizar en autoclave a  $121^{\circ}\text{C}$ , 15 min. y 15 libras de presión. Enfriar a  $45^{\circ}\text{--}50^{\circ}\text{C}$  y adicionar 50 ml de sangre desfibrinada y estéril, de carnero. Mezclar bien y meter a baño maría a  $80^{\circ}\text{C}$  durante 10 minutos. La san-

gre adquiere un color achocolatado y se destruyen las sustancias inhibitoras propias de la misma. Agregar 10 ml de inhibidor VCN (Vencomicina 0.0033 g/l de medio, Colistín 0.0074 g/l de medio y Nistatina 12,500 U/L de medio).

También se agregan 10 ml de polienriquecimiento (Bioxon 304).

Mezclar y vaciar en cajas para medios de cultivo.

**23.-Agar urea con sulfato de manganeso:**

Peptona de gelatina	1.000 g
Dextrosa	1.000 g
Cloruro de sodio	5.000 g
Fosfato monopotásico	2.000 g
Sulfato de manganeso	0.030 g
Urea	20.000 g
Rojo de fenol	0.012 g
Agua destilada	1000 ml
pH final $6.8 \pm 0.2$	

Disolver 29 g del medio deshidratado en 100 ml de agua. Esterilizar por filtración.

Por separado preparar 15 g de agar en 900 ml de agua durante 15-- minutos se remoja y se calienta hasta ebullición. Esterilizar en autoclave a 121°C, 15 min. y 15 lb de presión. Enfriar a 50°C y vaciarlo al matraz que contiene la urea estéril. Mezclar y vaciar en cajas de Petri estériles.

**24.-Caldo arginina:**

Peptona (Triptona)	5.0 g
Extracto de levadura	5.0 g
Fosfato dipotásico	2.0 g
Glucosa	0.5 g
Monohidrocloruro de arginina	3.0 g
Agua destilada	1000 ml

Disolver por calentamiento, ajustar a pH de 7.0, hervir, fil-----  
trar y esterilizar a 121°C, por 15 minutos y a 15 libras de pre--  
sión. Vaciar en tubos de ensayo 13 x 100.

**25.-Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI):**

Infusión de cerebro de ternera	200.0 g
Infusión de res (de corazón)	250.0 g
Peptona de gelatina	10.0 g
Dextrosa	2.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Fosfato disódico	2.5 g
Agua destilada	1000 ml

pH final 7.4  $\pm$  0.2

Suspender 37 gramos del medio deshidratado en un litro de agua---  
destilada y calentar ligeramente, si es necesario. Se esteriliza  
a 121°C, por 15 minutos y a 15 libras de presión. Vaciar en tubos  
de ensayo 13 x 100.

**26.-Caldo soya tripticase (BBL) para hemocultivo:**

Peptona tripticase	17.0 g
Peptona phytone	3.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Fosfato dipotásico	2.5 g
Dextrosa	2.5 g
Agua destilada	1000 ml

pH final  $7.3 \pm 0.2$

Suspender 30 g en un litro de agua, caliente para disolver y esterilice a  $121^{\circ}\text{C}$ , 15 min. y 15 lb de presión.

**27.-Caldo tioglicolato con hemina y menadiona:**

Peptona de caseína	15.000 g
L - cistina	0.500 g
Dextrosa anhidra	5.000 g
Extracto de levadura	5.000 g
Cloruro de sodio	2.500 g
Tioglicolato de sodio	0.500 g
Rezasurina	0.001 g
Agar	0.750 g
Agua destilada	1000 ml

pH final  $7.1 \pm 0.2$

Suspender 29.5 g del medio en un litro de agua. Calentar hasta disolver. Distribuir en tubos con tapón de rosca y esterilizar a  $121^{\circ}\text{C}$ , 15 min. y 15 lb de presión.

Agregar 50 mg/ml de medio de hemina estéril y 1 mg/ml de medio de vitamina K o menadiona, estéril.

El medio se debe hervir antes de usarlo y almacenarlo a  $4^{\circ}\text{C}$  ó a temperatura ambiente y en la oscuridad.

28.-Caldo tioglicolato con indicador:

Se prepara la misma base que el caldo tioglicolato con hemina y -  
menadiona sólo que no se le agrega ni la hemina ni la menadiona.

Se distribuyen en tubos de tapón de rosca y se esteriliza a 121°C  
15 lb de presión y 15 minutos.

Se almacena a temperatura ambiente.

29.-Caldo tioglicolato sin indicador:

De acuerdo a la fórmula del "National Institute of Health" y de -  
la USP:

Peptona de caseína	15.0 g
Extracto de levadura	5.0 g
Dextrosa	5.0 g
Cloruro de sodio	2.5 g
Tioglicolato de sodio	0.5 g
L - cistina	0.5 g
Agua destilada	1000 ml

pH final  $7.1 \pm 0.2$

Suspender 28.5 gramos del medio deshidratado en un litro de agua  
destilada. Mezclar bien, calentar y hervir hasta disolución.

Distribuir en tubos de tapón de rosca adicionandoles 16 ml a cada  
tubo y esterilizar a 121°C durante 15 minutos y a 15 lb de pre-  
sión. Prepararse solo unos días antes de usarlo y almacenar a tem-  
peratura ambiente.

30.-Caldo tioglicolato sin indicador y con carbohidratos:

Se emplea como base el caldo tioglicolato sin dextrosa y sin indicador adicionado con:

Extracto de levadura                    2 g/litro de base.

Azul de bromotimol, solución acuosa al                    1 %/litro de base.

Para la glucosa.-Agregar 6 g de glucosa a 1000 ml de base antes de distribuirlo en tubos de ensayo y de tapón de roca y esterilizarlo por filtración o la base por autoclave y la glucosa por filtración y finalmente se mezclan.

Para arabinosa, glicerol, lactosa, manitol, ramnosa, sacarosa, --trehalosa y xilosa se prepara una solución acuosa al 10 % de cada carbohidrato. Esterilizar por filtración. Agregar 0.5 ml de carbohidrato a cada tubo que contenga 8 ml de base de tioglicolato estéril.

El caldo tioglicolato base se esteriliza en autoclave.

31.-Medio de agar Columbia (BBL) para hemocultivo:

Peptona Polypeptone                    10.0 g

Peptona Biosate                         10.0 g

Peptona Myosate                         3.0 g

Almidón de maíz                         1.0 g

Cloruro de sodio                         5.0 g

pH final 7.3 ± 0.2

Disolver 42.5 g del medio en un litro de agua destilada. Calentar y agitar, hervir por un min. Distribuir y esterilizar en autoclave a 121°C, 15 lb y 15 minutos.

**32.-Medio de transporte micoplasmal:**

Base de medio micoplasmal (BBL 11455)	70 %
Extracto de levadura	10 %
Rojo de fenol	0.002 %
Bencilpenicilina	500 U/ml
Polimixina B	50 µg/ml
Anfotericina B	5 µg/ml
Ajustar a pH de 6	

Se prepara la base deshidratada, 34 g, en un litro de agua destilada. Hervir durante un minuto y se esteriliza a 121°C, 15 lb y - 15 min.; se agregan 20 ml de suero de caballo o bovino, se mezcla y se distribuye. Almacenar a 4°C.

**33.-Medio de transporte Stuart:**

Agar	3.000 g
Tioglicolato de sodio	1.000 g
Glicerolfosfato de sodio	10.000 g
Cloruro de calcio	0.100 g
Azul de metileno	0.002 g
Agua destilada	1000 ml
pH final 7.3 ± 0.2	

Suspender 14.1 gramos de polvo en un litro de agua destilada ó -- desionizada. Remojar durante 10 a 15 minutos. Calentar a ebullición agitando frecuentemente. Hervir durante un minuto. Distribuir en tubos de tapón de rosca y esterilizar en autoclave a 121°C, por 15 minutos y a 15 libras de presión.

**34.-Medio de Ruiz Castañeda (modificado de Scott) :**

Agar inclinado en la botella:

Agar soya tripticasa	40 g
Agar granulado	15 g
Agua destilada	1000 ml

Calentar en autoclave a 121°C, por 15 minutos hasta disolución.

Caldo:

Caldo soya tripticasa	30 g
Polianetol sulfonato de sodio al 5 %	5 ml
Agua destilada	1000 ml

Añadir 20 ml del medio con agar y esterilizar en autoclave a --- 121°C, durante 15 minutos y a 15 libras de presión; ésto en las botellas limpias.

Las botellas se colocan horizontalmente hasta que el agar solidi-  
fique.

El caldo se esteriliza en matraz a 121°C, a 15 libras de presión y durante 15 minutos.

Ya que las botellas tienen el agar solidificado, se agregan 30 -  
mililitros del caldo a cada botella y se tapan con tapones pre-  
viamente esterilizados.

## B. PREPARACION, FUNDAMENTO E INTERPRETACION DE LAS PRUEBAS BIO--- QUIMICAS.

### 1.-Ácido de carbohidratos para anaerobios:

Se utilizan tubos de tapón de rosca que contengan caldo tioglicolato sin indicador y con diferentes carbohidratos (Medio de cultivo No. 30).

La glucosa se debe de preparar al 0.6 % y los demás carbohidratos al 10 %; se deben de esterilizar por filtración ya que si es en autoclave a 121°C los carbohidratos se caramelizan.

Se recomienda agregarle el azul de bromotimol, a los tubos, a la hora que se va a leer el resultado de si hubo o no metabolismo -- del carbohidrato, porque si se agrega desde antes puede ser metabolizado, el colorante, por algunos anaerobios y puede dar falsos positivos o negativos.

FUNDAMENTO.—Los microorganismos utilizan a los carbohidratos para llevar a cabo su metabolismo produciendo ácidos como productos finales de la fermentación de los azúcares, entonces al agregarle -- algún indicador ácido base se observa el vire del color del indicador dependiendo del pH que prevalezca en el medio.

### INTERPRETACION.—

La prueba es considerada positiva cuando al agregar el azul de -- bromotimol cambia el color de azul a amarillo.

La prueba es considerada negativa cuando al agregarle el azul de bromotimol no hay cambio de color.

2.-Agar citrato de Simmons:

Fosfato diácido de amonio	1.00 g
Fosfato dipotásico	1.00 g
Cloruro de sodio	5.00 g
Citrato de sodio	2.00 g
Sulfato de magnesio	0.20 g
Agar	15.00 g
Azul de bromotimol	0.08 g
Agua destilada	1000 ml
pH final	6.9

Disolver los sólidos en agua y calentar para disolver. Vaciarse en tubos y esterilizar a 121°C, 15 minutos y 15 lb de presión. Inclinar los tubos para su enfriamiento.

FUNDAMENTO.-Sirve para ver si el microorganismo puede utilizar -- el citrato como fuente de carbono y al amonio como fuente de nitrógeno. Las bacterias que utilizan al citrato también extraen al nitrógeno de la sal de amonio, con producción de amoníaco y luego formación de hidróxido de amonio, que es alcalino. El azul de bromotimol es amarillo a pH menor de 6 y azul a pH mayor de 7.6 .

INTERPRETACION.-

Prueba positiva si el medio es de color azul.

Prueba negativa si el medio es de color verde y no hay crecimiento en la estría.

**3.-Agar hierro de Kligler:**

Extracto de carne	3.000 g
Extracto de levadura	3.000 g
Peptona	15.000 g
Proteosa peptona	5.000 g
Lactosa	10.000 g
Glucosa	1.000 g
Sulfato ferroso	0.200 g
Cloruro de sodio	5.000 g
Tiosulfato de sodio	0.300 g
Agar	12.000 g
Rojo de fenol	0.024 g
Agua destilada	1000 ml
pH final 7.4	

Mezclar 52 g de medio en un litro de agua destilada, dejar remojar 10 minutos, hervir por un minuto, vaciar a tubos 13 x 100, -esterilizar en autoclave y enfriar con los tubos inclinados.

FUNDAMENTO.-El medio de cultivo contiene lactosa y glucosa. Las bacterias inculadas pueden fermentar a la lactosa, a la glucosa, a ambas ó a ninguno de los dos carbohidratos. El carbohidrato que se fermenta producirá ácidos mixtos que son capaces de hacer virar el color del medio (por el indicador presente).

El medio de cultivo contiene, además sulfato ferroso que al contacto con el ácido sulfhídrico que algunas bacterias producen se oxida poniendose de color negro el medio.

INTERPRETACION.-Medio color negro.....H<sub>2</sub>S positivo.

Pico rojo (alcalino)/fondo alcalino (rojo)...no hay fermentación de azúcares.

Pico alcalino/fondo ácido (amarillo)...Glucosa fermentada y lac-

tosa no fermentada.

Pico ácido/fondo ácido...Glucosa y lactosa fermentadas.

#### 4.-Agar de hierro y triple azúcar (TSI):

Contiene lo mismo que el agar Kligler solo que contiene 10 g de - sacarosa por litro de medio (triple azúcar; lactosa, sacarosa y - glucosa).

#### 5.-Caldo rojo de fenol con manitol:

Peptona de caseína	10.000 g
Cloruro de sodio	5.000 g
Manitol	5.000 g
Rojo de fenol	0.018 g
Agua destilada	1000 ml

Disolver 20 gramos del medio deshidratado en un litro de agua --- destilada. Mezclar y esterilizar a 116-118°C (no más de 12 li---- bras de presión) durante 15 minutos. No sobrecalentar.

FUNDAMENTO.-Existen microorganismos que utilizan al manitol y lo metabolizan produciendo ácidos orgánicos de la fermentación del - azúcar. Como el medio de cultivo tiene un indicador ácido-base - entonces al producirse ácidos orgánicos como producto de la fer-- mentación del manitol el color del indicador virará (a la forme ácida) y se observará el resultado luego de incubación a 37°C.

#### INTERPRETACION.-

Tubo no inoculado.....color rojo

Tubo inoculado.....color amarillo...positivo

color rojo.....negativo

color naranja...positivo retardado

### 6.-Crecimiento en bilis, para anaerobios:

Se utiliza el medio de cultivo de Lombard Dowell y se adiciona -- con sales biliares (oxgall difco). Medio de cultivo No.8.

FUNDAMENTO.-Se utiliza, la prueba, sólo para ver si la bacteria -- es capaz de desarrollarse en un medio de cultivo que contiene sa-- les biliares.

INTERPRETACION.-Se toma como referencia el medio de cultivo Lom-- bard Dowell sin sales biliares y se observa si hay "menor" o "ma-- yor crecimiento" que en el medio testigo.

### 7.-Fenilalanina:

D,L-fenilalanina	2 g
Extracto de levadura	3 g
Cloruro de sodio	5 g
Fosfato de sodio	1 g
Agar	12 g

pH final 7.3

Mezclar 23 g del medio en un litro de agua destilada, mezclar y -- calentar hasta disolución. Vaciar en tubos 13 x 100 y esterilizar a 121°C, 15 min. y 15 lb de presión. Enfriar inclinándolos.

FUNDAMENTO.-La fenilalanina es un aminoácido que por desaminación forma un cetoácido, el ácido fenilpirúvico. La prueba se basa en la detección del ácido fenilpirúvico en el medio al aparecer una coloración verde al agregar unas gotas de cloruro férrico al 10 %

INTERPRETACION.-

Prueba positiva.....Coloración verde al agregar cloruro férrico.

Prueba negativa.....No hay coloración verde con el cloruro férrico.

co.

### 8.-Hidrólisis de la esculina, para anaerobios:

Se utiliza el medio de Lombard Dowell edicionado con esculina (Medio de cultivo No. 9 del anexo A).

FUNDAMENTO.-Algunas bacterias hidrolizan a la esculina, los productos de esta hidrólisis forman un complejo color café rojizo el reaccionar con el cloruro férrico que contiene el medio de cultivo.

INTERPRETACION.-La prueba se considera positiva por la presencia de color café rojizo obscuro alrededor de las colonias luego de exponer al aire durante cinco minutos.

Prueba negativa.-No hay cambio de color ni en el medio ni en las colonias.

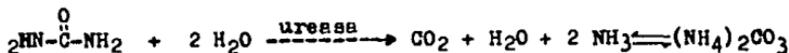
### 9.-Hidrólisis de la urea:

Extracto de levadura	0.10 g
Fosfato monopotásico	9.10 g
Fosfato disódico	9.50 g
Urea	20.00 g
Rojo de fenol	0.01 g
pH final 6.8	

Disolver 3.87 g de medio deshidratado en 100 ml de agua, sin calentarlo, cuando el medio se haya disuelto, pasar por un filtro bacteriológico estéril.

Distribuir en tubos, aproximadamente de 0.5 a 2 ml. Se puede esterilizar a 8 lb de presión durante 20 minutos.

FUNDAMENTO.-La ureasa es una enzima que poseen muchos microorganismos y lleva a cabo la siguiente reacción:



El amoniacaco reacciona en solución para formar carbonato de amonio, produciéndose una alcalinización y un aumento del pH del medio y por lo tanto cambio de color del indicador.

INTERPRETACION.-Un color rojo a rosa en el medio indica alcalinidad e hidrólisis de la urea.

Si el medio no cambia de color no hay hidrólisis de urea.

10.-Hugh-Leifson:

Tripticasa o triptone	2.00 g
Cloruro de sodio	5.00 g
Fosfato dipotásico	0.30 g
Agar	2.50 g
Azul de bromotimol (3 ml de una solución acuosa al 1 %)	0.03 g
Agua destilada	1000 ml
pH final 7.1	

Suspender 9.8 g del medio en un litro de agua, calentar y disolver. Esterilizar a 121°C por 15 min. Enfriar el medio estéril a 40-45°C y agregar por cada 100 ml de medio 10 ml de solución acuosa al 10% estéril de carbohidratos; el medio deberá ser verde. Los tubos usados para ver el metabolismo fermentativo se les agrega nujol (1 ml)

FUNDAMENTO.-Este medio sirve para ver el metabolismo, ya sea oxidativo y/o fermentativo del carbohidrato que se este probando. Los tubos con nujol sirven para ver el metabolismo fermentativo de la bacteria ya que el nujol no permite el paso del oxígeno al medio. Los tubos sin nujol sirven para ver si la bacteria puede oxidar el carbohidrato. Si hay fermentación y/o oxidación del azúcar habrá metabolitos ácidos que cambiaran el pH del medio y por lo tanto su color, por el indicador presente.

INTERPRETACION.-Tubo sin inocular....color verde.

Tubo abierto inoculado...amarillo(positivo), oxida.

Tubo abierto inoculado...verde (negativo).

Tubo sellado inoculado...amarillo (positivo), fermenta.

Tubo sellado inoculado...verde (negativo).

Tubos abierto y sellado inoculados..amarillo (fermenta y oxida).

#### 11.-Indol para anaerobios:

Se utiliza el medio de cultivo indol nitritos (BBL 11299). El medio sirve para detectar Indol y reducción de nitratos.

Peptona trypticase	20 g
Fosfato disodico	2 g
Dextrasa	1 g
Agar	1 g
Nitrato de potasio	1 g

pH final 7.2

Disolver 25 g del polvo en un litro de agua destilada. Mezclar y -- hervir durante un minuto. Distribuir en tubos de ensayo con tapón - de rosca (8 ml a cada tubo). Esterilizar a 121°C por 15 minutos. El fundamento e interpretación para indol ya fué descrito en el medio M.I.O.(medio No.14 de este anexo).

#### 12.-Lecitinasa, para anaerobios:

Se utiliza el medio de Lombard Dowell adicionado con yema de huevo. Su preparación está indicada en el medio de cultivo No.10 del anexo A.

FUNDAMENTO.-La Lecito-vitelina es un componente lipoprotéico de lá yema de huevo. Algunos microorganismos producen lecitinasas que actúan sobre la lecito-vitelina produciendo opalescencia del medio de-

bido a la difusión de la lecitinasa al medio que contiene lecitovitelina.

INTERPRETACION.-Lecitinasa positiva....se observa apariencia blanquecina y opalescente en el medio, alrededor de las colonias.  
Lecitinasa negativa....no hay cambios en el medio de cultivo.

13.-L.I.A. (Agar de hierro y lisina):

Peptona de gelatina	5.00 g
Extracto de levadura	3.00 g
Dextrosa	1.00 g
L - lisina	10.00 g
Citrato de amonio férrico	0.50 g
Tiosulfato de sodio	0.04 g
Púrpura de bromocresol	0.02 g
Agar	13.50 g
Agua destilada	1000 ml
pH final	6.7

Suspender 33 g del medio en un litro de agua destilada. Calentar y hervir durante un minuto. Distribuir en tubos 13 x 100 y esterilizar a 121°C, 15 min. Enfriar en posición inclinada.

FUNDAMENTO.-El medio contiene tiosulfato de sodio e iones hierro. La bacteria utiliza el tiosulfato y produce ácido sulfhídrico que reacciona con el hierro y da coloración negra.

También contiene lisina y glucosa; entonces las bacterias primero acidifican el medio, al utilizar a la glucosa y posteriormente es alcalinizado nuevamente a su color púrpura original debido a que la lisina es descarboxilada con formación de cadaverina que es -- una amina alcalina.

INTERPRETACION.-Tubo sin inocular...color púrpura.

Tubo color amarillo...la bacteris es viable pero no hay descarboxilación de la lisina.

Tubo con color amarillo y púrpura indica que la bacteria es viable y que se está llevando a cabo la descarboxilación.

#### 14.-M.I.O.

Se utiliza para ver la movilidad, indol y la descarboxilación de la ornitina.

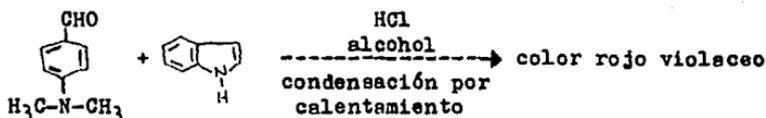
Extracto de levadura	3.00 g
Peptona de gelatina	10.00 g
Peptona de caseína	10.00 g
L - ornitina	5.00 g
Dextrosa	1.00 g
Agar	2.00 g
Púrpura de bromocresol	0.02 g
Agua destilada	1000 ml
pH final 6.5	

Disolver 31 gramos del medio en un litro de agua, remojar y calentar a ebullición. Distribuir y esterilizar a 121°C por 15 min.

#### FUNDAMENTO.-

Para la movilidad: el medio de cultivo contiene una concentración baja de agar, lo que hace que sea un medio semisólido y que va a permitir ver la difusión de las bacterias al medio partiendo de la punción. La movilidad de las bacterias se debe a sus flagelos. Para el indol: el medio contiene triptofano y si la bacteria tiene la enzima triptofanasa entonces va a metabolizar el triptofano, primero a indol y finalmente hasta ácido pirúvico y amoníaco. Al agregar reactivo de Kovac o de Ehrlich reaccionará de la si---

guiente forma:



Para la descarboxilación de la ornitina: el principio es el mismo que para la lisina, descrita anteriormente, solo que la ornitina es transformada a Putrescina.

INTERPRETACION.-Turbiedad del medio o crecimiento extendido a partir de la línea de inoculación...movilidad positiva.

Color púrpura del medio...ornitina descarboxilasa positiva.

Color amarillo en el medio...ornitina descarboxilasa negativa.

Aparición de color rojo al agregar el reactivo de Kovac...indol positivo.

Ningun cambio al agregar el reactivo de Kovac...indol negativo.

#### 15.-Reducción de nitratos, para anaerobios:

Se utiliza el medio de cultivo de Indol Nitrito (BBL 11299). Su composición y preparación estan en el medio número 11 de este anexo.

FUNDAMENTO.-Algunas bacterias, para llevar a cabo su metabolismo utilizan el oxígeno de los iones nitrato como aceptores de hidrógeno y al nitrógeno como aceptor de electrones.

Lo anterior ocaciona que haya reducción del ión nitrato al ión nitrito, que da una coloración roja al reaccionar con  $\alpha$ -naftilamina y ácido sulfanílico (ambos incoloros), formando el p-sulfobenceno-azo- $\alpha$ -naftilamina (compuesto rojo de diazonio).

INTERPRETACION.-Reducción de nitratos positiva al aparecer un color rojo al adicionar 5 gotas de ácido sulfanílico y otras tantas de  $\alpha$ -naftilamina.

**16.-S.I.M.**

Se utiliza para detectar ácido sulfhídrico, indol y movilidad.

Peptona de caseína	20.0 g
Peptona de carne	6.1 g
Sulfato de hierro y amonio	0.2 g
Tiosulfato de sodio	0.2 g
Agar	3.5 g
Agua destilada	1000 ml

pH final 7.3

30 gramos del medio se disuelven en un litro de agua, hervir por un minuto. Enfriar en posición vertical.

**FUNDAMENTO.**-El fundamento de la movilidad e indol fué descrito en el medio M.I.O.

El fundamento del ácido sulfhídrico se explicó en L.I.A.

**17.-Thiogel (licuefacción de la gelatina): (para anaerobios)**

Contiene lo mismo que el caldo tioglicolato sin indicador, con la adición de 50 g de gelatina por litro de agua destilada.

**FUNDAMENTO.**-Algunos microorganismos producen enzimas proteolíticas, llamadas gelatinasas que hidrolizan a las proteínas y péptidos para obtener aminoácidos individuales e ingerirlos.

El medio tiene gelatina que pueden ser hidrolizada por las bacterias y que aún refrigerando el tubo que contiene el medio, se ve licuado.

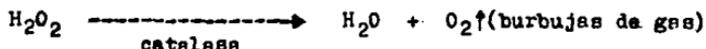
**INTERPRETACION.-**

Gelatinasa positiva...el medio permanece licuado después de refrigerar.

Gelatinasa negativa...el medio permanece sólido antes y después de refrigerar.

### 18.-Catalasa:

FUNDAMENTO.-El peróxido de hidrógeno se forma como uno de los productos finales del metabolismo oxidativo aeróbico de los carbohidratos. Si se deja acumular, el peróxido es letal para las bacterias. La catalasa es una enzima que poseen algunas bacterias y actúa de la siguiente forma:



INTERPRETACION.-Presencia de burbujas al agregar peróxido de hidrógeno a una colonia ó en un portaobjetos...catalasa positiva.

### 19.-Coagulasa:

FUNDAMENTO.-La coagulasa es una enzima proteica de composición química desconocida y que es capaz de transformar el fibrinógeno en fibrina, provocando la formación de un coagulo visible.

La coagulasa se halla presente en dos formas, una "libre" y otra "fija". La fija se encuentra unida a la pared celular de la bacteria. La coagulasa libre es una sustancia semejante a la trombina; cuando se mezcla suero con coagulasa libre se forma un coagulo visible similar a cuando se añade trombina.

La coagulasa fija forma hilos de fibrina unidos a las células bacterianas suspendidas en el plasma provocando aglutinación y presencia de agregados visibles en el portaobjetos o en el tubo.

## 20.-Oxidasa:

FUNDAMENTO.-Los citocromos son hemoproteínas que contienen hierro y actúan como el último eslabón de la cadena respiratoria aerobia transfiriendo electrones (hidrógeno) al oxígeno, con formación de agua.

En la prueba citocromo oxidasa se utilizan ciertos reactivos colorantes como aceptores artificiales de electrones, sustituyendo al oxígeno. Algunos reactivos son el diclorhidrato de p-fenilendiamina, N,N-dimetil-p-fenilendiamina.

El reactivo N,N-dimetil-p-fenilendiamina es incoloro en estado oxidado y color rojo en estado reducido.

INTERPRETACION.-Las colonias bacterianas con actividad de citocromo oxidasa desarrollan en segundos un intenso color rojo en el sitio de la inoculación. El color desarrollado depende del tipo de reactivo que se está empleando.

## 21.-Prueba de tubo germinativo para C.albicans:

Se toma una colonia aislada del medio Biggy y se suspende en un tubo que contenga 0.5 ml de suero humano o de borrego.

Se incuba a 37°C por no más de tres horas y se observa al microscopio a seco fuerte para identificar a las levaduras con un espedice largo del tamaño 2 a 3 veces la célula leveduriforme.

Candida albicans produce tubo germinativo luego de dos horas de incubación.

## G. TÉCNICAS DE COLORACION, PREPARACION DE REACTIVOS Y COLORANTES.

### A. TINCION DE CAPSULA.

1.-Técnica con tinta china.-En un portaobjetos colocar una esada del cultivo y agregar una gota pequeña de tinta china y un cubre objetos. Observar al microscópio con seco fuerte y a inmersión.

### 2.-Técnica con rojo congo.-

-Colocar una gota de rojo congo en un portaobjetos.

-Hacer una suspensión con la cepa problema.

-Fijar al calor

-Adicionar mordiente de cápsula por tres minutos.

-Lavar con agua.

-Secar y observar al microscópio con seco fuerte y a inmersión.

### B. TINCION DE ESPORA.

#### Método de Schaeffer y Fulton.-

-Cubrir un frotis con solución acuosa de verde de malaquita al 5 % y calentar hasta la formación de vapores durante un minuto.

No dejar secar el colorante.

-Lavar con agua de la llave y agregar solución acuosa de safranina al 0.5 % durante 15 segundos.

-Lavar con agua y dejar secar al aire.

-Observar en seco fuerte y a inmersión.

Las esporas aparecen de color verde y el citoplasma rojo. Este método puede emplearse como un colorante frío dejando actuar el verde de malaquita durante 10 minutos.

## C. TINCIÓN DE GRAM.

- Hacer un frotis de la cepa e probar y fijarlo al calor.
- Agregar a la superficie del portaobjetos solución de cristal -- violeta durante un minuto.
- Enjuagar con agua destilada o solución buffer.
- Agregar lugol y enjuagar después de un minuto.
- Agregar unas gotas de la mezcla alcohol-acetona, aproximadamente por no más de 30 segundos.
- Lavar con agua y agregar colorante de safranina por 30 segundos.
- Lavar con agua, dejar secar y observar al microscopio de inmersión.

## D. TINCIÓN DE ZIEHL NEELSEN.

- Fijar un frotis al calor y agregar carbol-fucsina de Ziehl Neelsen, calentar a emisión de vapores por 5 minutos.
- Lavar con agua y decolorar con alcohol-ácido hasta eliminar el colorante más o menos un minuto.
- Lavar con agua y agregar el colorante de contraste, azul de metileno por 30 segundos.
- Lavar, secar y observar al microscopio con objetivo de inmersión.

Resultado positivo: bacilos color rojo...ácido resistentes.

Resultado negativo: bacilos color azul...no ácido resistentes.

## E. PREPARACIÓN DE REACTIVOS Y COLORANTES.

1. Alcohol--ácido:

Acido clorhídrico concentrado	3 ml
Etanol (95 %)	97 ml

**2.-Oxalato de cristal violeta amonio:**

Solución A

Cristal violeta	10 g
Etanol (95 %)	100 ml

Mezclar y disolver.

Solución B

Oxalato de amonio acuoso al 1 %

Mezclar 20 ml de la solución A y 80 ml de la solución B.

**3.-Fucsina fenificada fuerte:**

Solución A

Fucsina básica	10 g
Etanol (95 %)	100 ml

Mezclar y disolver en frasco tapado y mantener a 37°C toda la noche

Solución B

Fenol	5 g
Agua destilada	100 ml

Mezclar y disolver.

Para su empleo mezclar 10 ml de solución A en 100 ml de la solución B.

**4.-Lugol:**

Yodo	5 g
Yoduro de potasio	10 g
Agua destilada	100 ml

Disolver el yoduro de potasio y el yodo en 10 ml de agua destilada y luego ajustar el volumen a 100 ml.

Para su empleo diluir 1/5 con agua destilada.

**5.-Mordente de Muir:**

Solución acuosa saturada de cloruro de mercurio (aprox. al 7 %)	20 ml
Alumbre de potasio, sol. acuosa saturada (aprox. al 12 %)	50 ml
Acido tánico, sol. acuosa al 20 %	20 ml

Mezclar.

**6.-Solución de safranina: (0.5 %)**

Safranina	0.5 g
Agua destilada	100 ml

**7.-Verde de malaquita: (5 %)**

Verde de malaquita	5 g
Agua destilada	100 ml

**8.-Cloruro férrico ácido:**

Cloruro férrico hexahidratado	12 g
Ácido clorhídrico concentrado	2.5 ml
Agua destilada para	100 ml

Diluir el ácido con 75 ml de agua, disolver el cloruro férrico - por calentamiento ligero y completar el volumen con agua.

**9.-Peróxido de hidrógeno: (3 %)**

Peróxido de hidrógeno	3 ml
Agua destilada	97 ml

Proteger de la luz y almacenar en un lugar frío. Mantener en un frasco con tapón de vidrio o tapón de rosca de plástico.

**10.-Reactivo de Kovac:**

p-dimetilaminobenzaldehído	5 g
Alcohol amílico	75 ml
Acido clorhídrico concentrado	25 ml

Disolver el aldehído en el alcohol por calentamiento ligero en baño marí (aprox. 50-55°C). Enfriar y agregar el ácido. Proteger de la luz y almacenar a 4°C.

**11.-Reactivos para pruebas de nitritos:****Solución A**

0.8 % de ácido sulfanílico en ác. acético 5 N. Disolver con ligero calentamiento.

**Solución B**

0.6 % de dimetilnaftilamina en ác. acético 5 N ó 0.5 % de naftilamina en ác. acético 5 N.

Disolver con ligero calentamiento.

Precaución.-La  $\alpha$ -naftilamina es carcinogénica.

Para su uso, agregar 1 ml de cada solución al tubo que contiene los nitratos y al microorganismo.

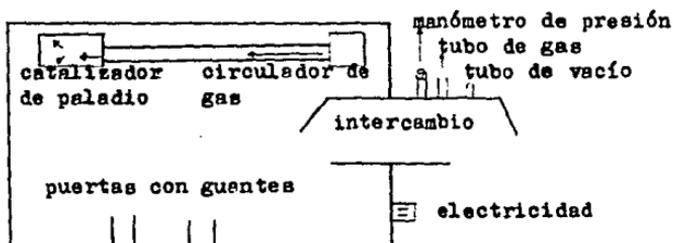
**12.-Reactivo para oxidasa:**

Se prepara una solución al 2 % de N,N-dimetil-p-fenilendiamina en agua destilada. El reactivo se descompone fácil y rápidamente con la luz. Se aconseja se prepare a la hora en que se va a utilizar.

## D. SISTEMAS DE ANAEROBIOSIS.

1.-Cámara anaeróbica (cámara con guantes):

Pueden utilizarse como cámaras anaeróbicas bolsas de plástico flexibles o gabinetes rígidos herméticos que pueden ser de acrílico o fibra de vidrio. La manipulación de los contenidos de la cámara se efectúa por medio de guantes sellados a ella. Se introduce y se retira material de la cámara mediante un dispositivo de intercambio que tiene puerta interior y exterior; puede evacuarse y volverse a llenar por una serie de flujos rápidos de gas libre de oxígeno. Se utiliza un catalizador de paladio y de 3 al 10 % de hidrógeno en la atmósfera. El esquema es el siguiente:

2.-Método de Carquist:

Sobre la tapa de una caja Petri se pone un disco de papel filtro. Se colocan unos cristales de ácido pirogálico y otros de carbonato de sodio anhídrido y se pone otro disco de papel filtro sobre los cristales. Se sella bien la caja con parafina, plastilina ó con cinta de aislar. La reacción de los cristales produce cantidades adecuadas de bióxido de carbono que permite el desarrollo de anaerobios.

### 3.-Sistema de jarres:

Existen muchas jarres diferentes de uso común en la actualidad. La introducción en una jarra de una mezcla gaseosa que contenga hidrógeno va seguida por la conversión catalítica del oxígeno que se encuentra en la jarra con el hidrógeno, formando agua y estableciendo así la anaerobiosis. Se prefiere un catalizador compuesto de bolutas de alúmina recubierta de paladio dentro de una red de alambre porque no existe riesgo de explosión con este catalizador frío y su uso resulta más apropiado; aunque después de usarse se debe activar nuevamente metiéndolo al horno a 160°C por dos horas, ya que se inactiva con la humedad y con el ácido sulfhídrico.

Existen comercialmente equipos de sobres desechables productos de anaerobiosis. El sobre reactivo Gas-Pak se activa al agregarle 10 ml de agua obteniéndose hidrógeno y bióxido de carbono como gases anaeróbicos. El sistema Gas-Gen también proporciona hidrógeno y bióxido de carbono procedente de la reacción entre el bicarbonato de sodio y el ácido tartárico en presencia de borohidruro de sodio.

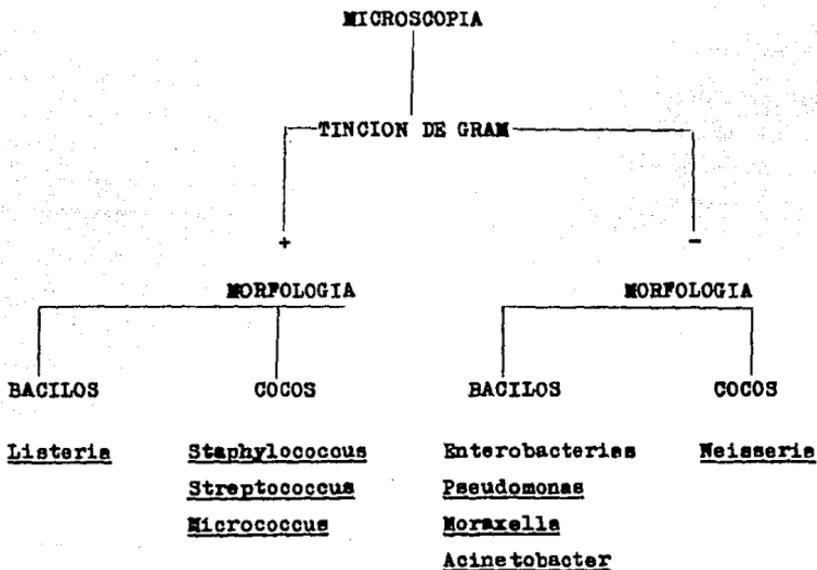
### 4.-Sistema del tubo rotatorio:

Consiste en usar medios de cultivo prerreducidos en tubos con tapón de rosca. A los medios se les agrega un agente reductor, como el clorhidrato de L-cisteína que se añade antes de autoclavear.

Luego de autoclaveados los tubos se enfrían en un aparato rotatorio para que toda la superficie del tubo quede recubierta con el medio. Para inocular se hace bajo corriente de bióxido de carbono y se hace con el sistema rotatorio para que quede la siembra en todo el tubo.

## E. TABLAS DE IDENTIFICACION BIOQUIMICA.

## DIFERENCIACION DE BACTERIAS AEROBIAS



1.-Diferenciación de especies de Staphylococcus y Micrococcus.

	<u>S.aureus</u>	<u>S.epidermidis</u>	<u>Micrococcus</u>
Agrupación en tetradas	-	-	+
Agrupación en racimos	+	+	-
Catalasa	+	+	+
Coagulasa	+	-	-
Hemólisis en ASC 5 %	beta	-	-
Pigmento en ASC 5 %	Dorado	Blanco	Blanco

ASC 5 %.-Agar Sangre de Certero al 5 %

2.-Diferenciación de especies de Streptococcus.

	<u>S.pyogenes</u>	<u>S.pneumoniae</u>	<u>S.faecalis</u>
División	Piociñico		Enterococo
Gpo.Lancefield	A		D
Hemólisis en ASB 5 %	beta	alfa	alfa
Morfología	cadena	diplococo	cadena
Capsula	-	+	-
Sensibilidad a optoquina	-	+	-
Sorbitol	-		+
Manitol	-		+
Solubilidad en bilis	insoluble	soluble	insoluble

ASC 5 %.-Agar Sangre de Certero al 5 %

3.-Diferenciación de especies de Neisseria y Veillonella ssp.

	<u>N.gonorrhoeae</u>	<u>N.meningitidis</u>	<u>Veillonella</u> ssp
Tinción de Gram	-	-	-
Morfología	diplococos	diplococos	cocos
Crec.aneróbico	-	-	+
Catalasa	+	+	V
Oxidasa	+	+	Nc
Crecimiento a 22°C	-	-	Td
Reducción de nitratos	-	-	+
Ácido de maltosa	-	+	%
Crec.en A.nutritivo	-	-	+

Nc.-No conocido; Td.-Tardía y débil; V.-Variable; %.-16-84 % son +

4.-Diferenciación de especies de Pseudomonas.

	<u>Ps.aeruginosa</u>	<u>Ps.fluorescens</u>
Movilidad	+	+
Oxidasa	+	+
Crecimiento a 5°C	-	+
Crecimiento a 42°C	+	-
Ácido sulfhídrico	débil positiva	-
Crecimiento en agar SS	+	+
Pigmento de fluoresceína	+	+
Pigmento de piocianina	+	-
Ácido de maltosa	-	+
No. de flagelos	1	más de dos

agar SS.- Agar Salmonella-Shigella.

5.-Diferenciación de los géneros Moraxella y Acinetobacter.

	1	2	3	4	5	
Hemólisis	-	-	+	P	P	Pd.-Positiva débil. V.-Variable.
Oxidasa	+	+	+	-	-	±.-Positivo en un 90 %.
Catalasa	Pd	Pd	-	+	+	∓.-Negativo en un 85 %.
Ácido sulfhídrico	V	V	Pd	-	-	P.-Parcial, solo el 12.5 % produce hemólisis total.
Citrato	-	-	-	±	V	
Ureasa	-	-	-	V	∓	
Glucosa	-	-	-	+	-	
Xilosa	-	-	-	+	-	
Lactosa	-	-	-	+	-	

- 1.-Moraxella osloensis.      4.-Acinetobacter var. nitratius (Herelle)
- 2.-Moraxella lacunata.      5.-Acinetobacter var. lwoff (mima).
- 3.-Moraxella bovis.

6.-Pruebas bioquímicas para Listeria monocytogenes:

Morfología	bacilos
Tinción de Gram	positivos
Hemólisis en agar sangre	beta
Movilidad	+
Crecimiento a 4 °C	+
Cápsula	-
Manitol	-
Arabinosa	-
Reducción de nitratos	-

## 7.-Diferenciación de especies de Enterobacterias.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Movilidad	D	+	D	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+
Citrato de Simmons	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+
Rojo de Metilo (RM)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer (VP)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Indol	+	+	-	-	%	-	-	%	%	-	D	-	+
Ureasa	-	-	D	-	+	-	-	-	-	-	D	-	Td
Fenilalanina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acido sulfhídrico	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	D	+	-
Descarboxilasa de lisina	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Descarboxilasa de ornitina	%	+	D	-	+	D	-	-	-	+	%	%	+
Crec. en selenito (4 %)	+	+	-	-	%	-	+	-	+	+	+	+	Nc
Lactosa	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	(d)	(d)	(d)
Maltosa	+	+	-	+	-	-	%	%	+	+	+	+	+
Manitol	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Salicina	%	-	+	-	-	-	-	-	-	-	%	+	+
Sorbitol	%	-	-	+	-	-	%	%	-	+	+	+	+
Sacarosa	%	-	-	+	-	-	-	-	(+)	-	%	%	%
Trehalosa	+	-	+	+	+	+	%	+	+	+	+	+	+
Hidrólisis de esculina	%	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

V.-Variable, %.-16 al 84 % son positivas, (+).-Positivo retardado, D.-Reacciones diferentes producidas por taxa inferiores (generos, especies, variedades); (d).-Reacciones diferentes por cepas diferentes; las positivas son tardías, Nc.-No conocida, Td.-Tardía y débil.

1.-Escherichia coli8.-S.flexneri2.-Edwardsiella tarda9.-S.boydii3.-Yersinia ssp10.-S.sonnei4.-Y.pestis11.-Citrobacter ssp5.-Y.enterocolitica12.-C.freundii6.-Shigella ssp13.-C.diversus7.-S.dysenteriae

## Diferenciación de especies de Enterobacterias.

	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
Movilidad	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pigmento	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Citrato de Simmons	+	- (+)	+	+	+	-	+	℥ (+)	+	+	+	+	+
Glicerol		Td	-	Nc	Nc	℥ (d)		(+)	+	(+)	(d)		
Lactosa	-	-	Z	-	℥	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltosa	+	+	+	+	+	-	V	+	-	-	-	-	-
Manitol	+	+	+	+	+	-	V	-	-	+	-	-	-
Salicina	-	-	-	-	-	℥	-	V ℥ (d)	℥	-	-	-	-
Sacarosa	-	-	-	-	-	+	-	V +	(+)	℥	(d)		
Trehalosa	V	+	-	+	+	+	℥	V (+)	+	℥	-	-	-
Voges-Proskauer (VP)	-	-	-	-	-	-	℥	-	V	a	-	-	+
Hidrólisis de esculina		Nc	-	Nc	Nc	℥	-	V	℥	-	℥	-	-
Indol	-	-	-	-	-	+	V	+	-	+	+	+	-
Gelatina	D	-	(+)	(+)	+	-	D	+	+	-	-	-	-
Ureasa	-	-	-	-	-	+	D	+	+	+	-	-	-
Acido sulfhídrico (H <sub>2</sub> S)	+	+	℥	+	+	Nc	-	D	+	-	-	-	-
Descarboxilación de lisina	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
Descarbox. de ornitina	D	-	+	+	+	-	+	D	-	+	-	-	+
Fenilalanina	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
Rojo de Metilo (RM)	+	+	+	+	+			+	+	+	+	+	-

℥.-16 el 84 ℥ son positivas, Nc.-No conocido, Td.-Reacción tardía y débil, (d).-Reacciones diferentes por cepas diferentes; las positivas son tardías, (+).-Positivo retardado, Z.-Reacción positiva ó tardía débil, V.-Variable, a.-Más cepas son positivas a 22°C que a 37°C, D.-Reacciones diferentes por taxones inferiores.

14.-Salmonella ssp21.-Proteus ssp15.-S.typhi22.-P.vulgaris16.-S.choleraesuis23.-P.mirabilis17.-S.arizonae24.-P.rettegeri18.-S.salamae25.-P.inconstans19.-Erwinia herbicola26.-Hafnia slvei20.-Morganella morganii

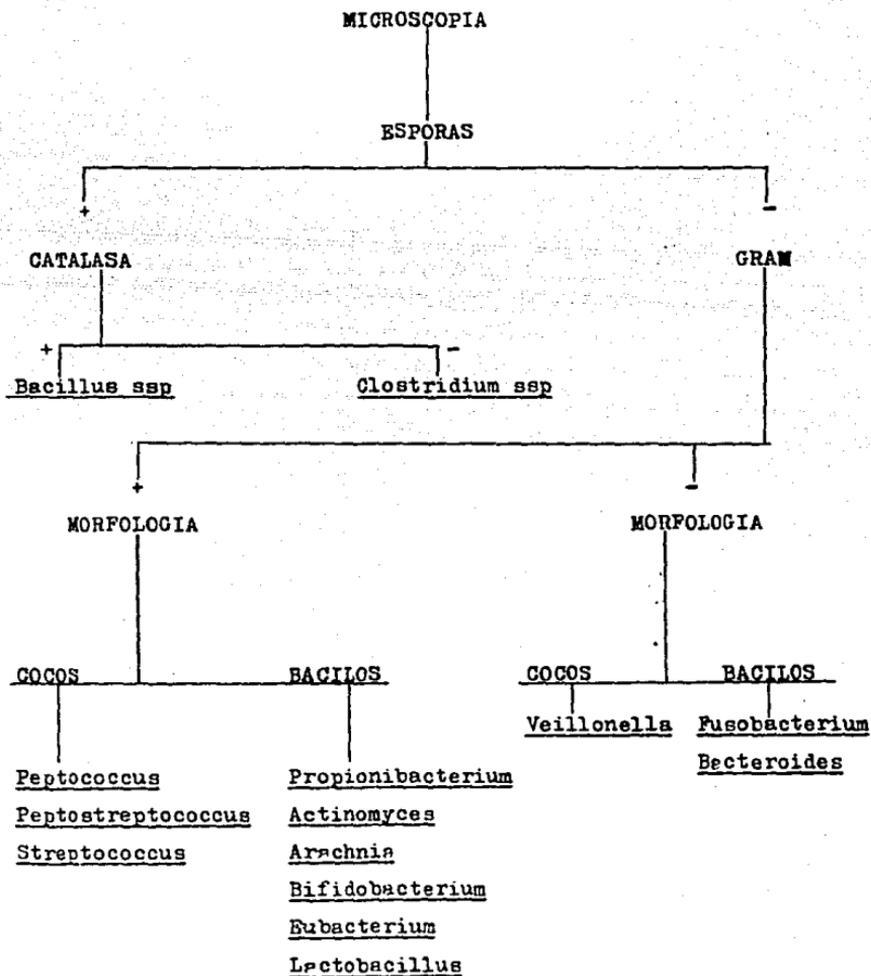
## Diferenciación de especies de Enterobacterias.

	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
Movilidad	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Pigmento		B	-		C	-	-	-	-	-	-	-
Citrato de Simmons	+	+	+	+	+	+	+	%	+	%	+	-
Glicerol	+	+	+		%	+	+	+	+	Nc	+	+
Lactosa	V	-	%	+	%	+	+	(+)	+	(+)	+	-
Maltosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Manitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Nc	+	+
Sacarosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Trehalosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer (VP)	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-
Hidrólisis de esculina		%	%	V	-	+	+	%	Nc	Nc	Nc	+
Indol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Gelatina	+	+	+	(d)	(+)	%	(d)	-	-	-	+	-
Ureasa	%	X	%	%	%	Y	+	%	+	+	+	-
Ácido sulfhídrico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Descarbox. de la lisina	%	+	%	D	-	+	+	%	+	+	+	-
Descarbox. de ornitina	D	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Fenilalanina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rojo de Metilo (RM)	%	%	%	-	-	-	-	+	+	%	-	+

B.-Pigmento rose ó rojo, C.-Pigmento amarillo, %, -16 al 84 % son positivos, Nc.-No conocidos, (+).-Positivo retardado, (d).-Reacciones diferentes por cepas diferentes; las positivas son tardías, X.-Reacciones diferentes por cepas diferentes; las positivas son débiles ó escaso crecimiento, D.-Reacciones diferentes por taxa inferiores(géneros, especies, variedades), Y.-Negativo ó --tardío.

27.-Serratia ssp32.-E.aerogenes28.-S.marcescens34.-Klebsiella ozaenae29.-S.liquefaciens35.-K.pneumoniae30.-Enterobacter ssp36.-K.edwardsii31.-E.cloacae37.-K.oxytoca33.-Klebsiella aerogenes38.-K.rhinoscleromatis

## DIFERENCIACION DE BACTERIAS ANAEROBIAS



1.-Diferenciación de especies de Bacteroides.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Crecimiento en bilis	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
Indol	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
Selicina	±	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Manitol	±	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalasa	±	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trehalosa	+	-	-	V	+										
Maltosa							+	-							
Esculina	+	±	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
Lactosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+
Ramnosa	+	+	-	+	+	+		-	-	-		-	-	-	-
Glucosa	+	+	+	+	+	+		+	+	+		-	-	+	+
Sacarosa												+			

V.-Variable, +.-En su mayoría positivo, ±.-En su mayoría negativo

1.-B. distasonis9.-B. bivius2.-B. vulgatus10.-B. disiens3.-B. fragilis11.-B. oralis4.-B. ovatus12.-B. urealyticus5.-B. thetaiotaomicron13.-B. esaccharolyticus6.-B. uniformis14.-B. melaninogenicus7.-B. eggerthii15.-B. splanchnicus8.-B. splanicus

2.-Diferenciación de especies de Fusobacterium, Veillonella, Propionibacterium y Eubacterium.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Indol	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Esculina	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ac. sulfhídrico	-	-	V	V	V	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalasa	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Crecimiento en bilis	-	+	-	-	-	+	-	+	+	V	-	-	V	-	-
Glucose	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	V
Manitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
Lactosa	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ramnosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

V.-Variable

‡.-En su mayoría negativo

1.-Fusobacterium gonidiaformans

9.-Propionibacterium granulosum

2.-F.mortiferum

10.-F.svidum

3.-F.naviforme

11.-P.acnes

4.-F.necrophorum

12.-Eubacterium moniliforme

5.-F.nucleatum

13.-E.limosum

6.-F.varium

14.-E.lentum

7.-Veillonella alcalosens

15.-E.alactolyticum

8.-V.parvula

3.-Identificación de especies de Peptococcus, Peptostreptococcus,  
Streptococcus, Bifidobacterium.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Indol	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Esculina	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+		±
Ac. sulfhídrico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalasa	-	-	V	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Crecimiento en bilis	-	-	V	V	-	-	-	-	-	-	-	-	V
Glucosa	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
Manitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Lactosa	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
Ramnosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sacarosa								-			-		

V.-Variable, +.-En su mayoría negativo, ±.-En su mayoría positivo.

- |  |  |
|--|--|
| 1.- <u>Peptococcus saccharolyticus</u>   | 8.- <u>Peptostreptococcus parvulus</u> |
| 2.- <u>Peptococcus magnus</u>            | 9.- <u>Streptococcus constellatus</u>  |
| 3.- <u>Peptococcus preyotii</u>          | 10.- <u>Streptococcus morbillarum</u>  |
| 4.- <u>Peptococcus saccharolyticus</u>   | 11.- <u>Peptococcus productus</u>      |
| 5.- <u>Peptostreptococcus anaerobius</u> | 12.- <u>Peptococcus indolicus</u>      |
| 6.- <u>Peptostreptococcus micros</u>     | 13.- <u>Bifidobacterium eriksonii</u>  |
| 7.- <u>Streptococcus intermedius</u>     |  |

4.-Identificación de especies de Actinomyces, Arachnia y Clostridium.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Indol	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	V
Esculina	+	+	V	-	V	V	+	-	+	-	-	V	V	+	-
Catalasa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucosa	-	-	V	-	A	A	A	A	A	-	-	A	A	A	-
Manitol	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Lactosa	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	A	A	A	-
Crecimiento aeróbico					-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Esporas					t	t	t	T	t	t	t	T	t	t	T
Crecimiento en bilis	-	-	-	-											

V.-variable, t.-Espora subterminal, T.-Espora terminal, A.-Acido

1.-Actinomyces bovis

7.-Clostridium butyricum

2.-A.israelii

8.-C.cadaveris

3.-A.odontolycae

9.-C.difficile

4.-Arachnia propionice

10.-C.histolyticum

5.-Clostridium bifermentans

11.-C.limosum

6.-C.botulinum A

12.-C.paraputrificum

13.-C.perfringes

14.-C.septicum

15.-C.tetani

## IX.-BIBLIOGRAFIA.

- 1.-Ahued J., et al. Ruptura prematura de membranas. Ginecología y - Obstetrícia de México. Julio. 1986. Vol. 54. pp. 159-63.
- 2.-Asociación de Médicos del Hospital de Ginecología y Obstetrícia No. 3 del I.M.S.S. A.C. Ginecología y Obstetrícia. Segunda Edición. Méndez Oteo Editor. México D.F. 1984.
- 3.-Berman S., et al. Low birth weight, prematurity and postpartum endometritis. JAMA. March 6, 1987. Vol. 275. No. 9. pp. 1189-95.
- 4.-Braude A. Microbiología clínica. Volumen II. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 1984.
- 5.-GDC Anaerobe unit. The Center for Disease Control Anaerobe -- Unit U.S. Department of Health, Education and Welfare.
- 6.-Collob J.F. Tiempo de colonización bacteriana por gérmenes aerobios e inflamación salpingiana en la Ruptura Prematura de -- Membranas. Tesis para obtener el grado de especialidad en ginecología y obstetrícia. Facultad de Medicina. U.N.A.M. México D.F. 1986.
- 7.-Cowan y Steel's. Manual para la identificación de bacterias de importancia médica. Segunda Edición. Editorial C.E.C.S.A. México D.F. 1985.

- 8.-Curso precongreso sobre bacteriología médica anaeróbica. Asociación Mexicana de Microbiología, Departamento de Microbiología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del I.P.N., Escuela de Química de la Universidad Autónoma de Chihuahua. XIV Congreso Nacional de Microbiología. Chihuahua, México. 1983.
- 9.-Davis D., Dulbecco R. Tratado de microbiología. Tercera Edición. Salvat Editores S.A. Barcelona, España. 1985.
- 10.-Evaldson G., et al. Premature Rupture of the Membranes. Acta Obstet Gynecol Scand. 1980. Vol. 59. pp. 385-393.
- 11.-Everaldo Valenzuela. Tiempo de colonización, cambios anatómopatológicos y correlación clínica salpingiana en la ruptura prematura de membranas. Tesis para obtener el grado de especialidad en ginecología y obstetricia. Facultad de Medicina. U.N.A.M. México D.F. 1986.
- 12.-Gravett M.G., et al. Independent associations of bacterial vaginosis and Chlamydia trachomatis infection with adverse pregnancy outcome. JAMA. October. 1986. Vol. 256. No. 14. pp. 1899-1903.
- 13.-Howard M.D., et al. Risk factors for prematurity and premature rupture of membranes: A prospective study of the vaginal flora in pregnancy. Am. J. Obstet Gynecol. 1984; Vol. 150. pp. 965-972.
- 14.-Koneman W., Allen D. Diagnostico microbiológico. Editorial Médica Panamericana. México D.F. 1985.

- 15.-Ledger William.Infecciones en obstetricia y ginecología.1a. Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, 1982.
- 16.-Mac Paddin, J.Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias. Segunda Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 1980.
- 17.-Manual Bioxon. Bioxon de México. S.A. de C.V. México, D.F. 1988.
- 18.-Manual de Biología Médica. Realizado por Q.B.P. Lucía N. Cantú, Q.B.P. Martha Pérez, Q.B.P. J. Luis Villarreal. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza. U.N.A.M. México, D.F.
- 19.-Manual de laboratorio de Bacteriología Médica. Cuarta Edición Editado por la Academia de Profesores del Laboratorio de Bacteriología Médica. Departamento de Microbiología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. I.P.N. México, D.F. 1983.
- 20.-Manual de Procedimientos de Laboratorio y de Productos BBL. Quinta Edición. Editada por Paul A. Rhode, B.A. Director de servicios técnicos. BBL Division de Becton, Dickinson and Company. Cockeysville Maryland 21030. U.S.A. 1974.
- 21.-Pritchard J., MacDonald. Williams Obstetricia. Segunda Edición. Editorial Salvat. Barcelona, España. 1980.
- 22.-Quinn, et al. Chorioamnionitis: Its association with pregnancy outcome and microbial infection. Am. J. of Obstetrics and Gynecology. February. 1987. Vol. 156. No. 2. pp. 379-387.

23.-Segatore L.,Poli Giangelo.Diccionario Médico.Segunda Edición Editorial Teidé.Barcelona,España.1983.

24.-Sutter;Vargo;Finegold.Manual de bacteriología anaeróbica.Editorial Médica Panamericana.Buenos Aires,Argentina.1978.

25.-The Virginia Polytechnic Institute & State University Anaerobe Laboratory.4Th.The UPI Anaerobe Lab.,Blacksburg Virginia, -- U.S.A.1977.

26.-Williams C.M.,et al.Clinical and microbiology risk evaluation for post-caesarean section endometritis by multivariate discriminant analysis: Role of intraoperative Mycoplasma, aerobes and anaerobes.Am.J.Obstet Gynecol.1987.Vol.156.pp.967-974.

27.-Youmans G.,Peterson P.,Sommers H.Infectología clínica.Segunda Edición.Editorial Interamericana.México D.F.1982.