



71
20j

Universidad Nacional Autónoma de México

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
"ZARAGOZA"

INFECCIONES MATERNO-FETALES EN
PACIENTES CON RUPTURA PREMATURA
DE MEMBRANA CON MAS DE 12
HORAS DE EVOLUCION

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A
Alfonso Rodríguez Dueñas

MEXICO, D. F.

FEBRERO, 1989

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

Indice

	página
Introducción	1
Fundamento de elección del tema	12
Planteamiento del problema	12
Objetivos	13
Hipótesis del trabajo	13
Metodología	14
- Pacientes estudiados	14
- Material	14
- Métodos	17
Resultados	31
Discusión de Resultados	49
Conclusiones	59c
Anexos	60
- Puntuación Apgar	60
- Medio de Cultivo	61
- Pruebas Bioquímicas, Preparación e Interpretación ..	79
- Técnicas de Tinción	94
- Colrantes para Tinción	95
- Reactivos para pruebas de identificación	97
- Sistemas de anaerobiosis	99
- Diferenciación Bioquímica de algunas bacterias - aerobias y anaerobias	102a
Bibliografía	117

Introducción:

La Obstetricia es la rama de la Medicina que trata del parto, le conciernen sobre todo los fenómenos y el tratamiento del embarazo, el parto y el puerperio, tanto en circunstancias normales como anormales.

La Obstetricia es una materia polifacética, con intimas y numerosas relaciones con otras ramas de la medicina. Se relaciona -- tan intimamente con la Ginecología, que de ordinario se considera que ambas constituyen una sola especificidad. La Ginecología estudia la Fisiología y Patología de los organos femeninos de la reproducción de la mujer no embarazada, mientras que la Obstetricia estudia el embarazo y sus secuelas.

La Obstetricia se relaciona con otras materias preclínicas: -- Microbiología, en el estudio de las infecciones maternas y fetales Bioquímica y Fisiología, en relación con la multitud de fenómenos que comprenden el parto, y Farmacología, en la acción y metabolismo de fármacos en la madre, feto y recién nacido.

La Obstetricia se vincula asimismo con ciertos campos de la -- ciencia que no son propiamente médicos, puesto que los requisitos alimenticios fueron por el embarazo, lo que obliga a una estrecha -- conexión de la obstetricia con la ciencia de la nutrición. En el -- estudio de las malformaciones fetales la Genética tiene una importancia fundamental. Como las relaciones entre la madre y el hijo -- representan la base de la unidad familiar, el tocólogo está en con -- tacto continuo con problemas tanto psicológicos como sociales. Por -- otro lado, la obstetricia tiene importantísimos aspectos jurídicos en especial en lo que se refiere a la modificación de las leyes so -- bre el aborto y en el número cada vez mayor de procesos por proce -- dimientos ilegales.

Se conoce como Mortalidad materna, al número de muertes por cada 100,000 nacimientos vivos: ha disminuido notablemente en el último cuarto de siglo. El índice de mortalidad varía con la edad de la madre. La edad avanzada y el mayor número de partos anteriores actúan de manera independiente en acrecentar los riesgos del parto, pero sus efectos suelen ser aditivos. Las causas más comunes de mortalidad materna son: hemorragia, hipertensión e infección. La sorprendente reducción del índice de mortalidad materna es sin duda debido a la mejoría de la práctica médica. El amplio uso de las transfusiones sanguíneas, de los antibióticos y el mantenimiento del equilibrio hidroelectrolítico y acidobásico en las graves complicaciones del embarazo y del parto han transformado por completo la práctica de la obstetricia.

La Mortalidad Perinatal es la suma de los fetos nacidos muertos (obitos) más las muertes neonatales. Por regla general, existen alrededor de 100 muertes perinatales por cada muerte materna. El total de muertes perinatales está en relación con la edad y número de partos anteriores de las madres. Las cifras tienden a ser más elevadas para el primer parto en mujeres muy jóvenes y en los nacimientos del orden de 6 ó más.

Casi la mitad de las muertes neonatales ocurren en el primer día de vida. El número de muertes que se producen durante las 24 primeras horas de vida sobrepasa las muertes que acecen desde el segundo mes de vida hasta el fin del primer año. Son muchas las causas de esta elevada mortalidad neonatal, pero la más importante es el bajo peso al nacer, por regla general como consecuencia de la prematuridad. El bajo peso al nacer ha contribuido, al igual que en el número de muertes, a una morbilidad infantil más elevada

y presentan con más frecuencia deficiencias neurológicas. Uno de los grandes problemas que aun están sin resolver en obstetricia es la razón por que tantas embarazadas llegan al parto antes de tiempo y dan a luz niños que a menudo son incapaces de sobrevivir. La segunda y tercera causa de muerte neonatal son el traumatismo del sistema nervioso central y aunque menos frecuente, la malformación congénita.

Una causa muy importante de morbilidad y mortalidad perinatal y de morbilidad materna e incluso mortalidad materna es la Ruptura Prematura de Membrana (RPM).

La Ruptura Prematura de las Membranas (RPM) o también conocida como hidrorrea Amniótica fué descrita por Stoeckel en 1905 -- como " aquella que ocurre previamente al inicio del trabajo de parto " definición que es vigente hasta nuestros días. (5, 24, 38)

La Ruptura Prematura de Membranas puede llevarse a cabo de -- forma espontanea o artificial, presentandose una frecuencia del -- 10% aproximadamente, con reportes mundiales variando entre 5 y 45% y la ruptura en embarazos prematuros alcanza cifras hasta del 21%. En el Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 3 del Centro Médico " La Raza " se tienen datos del 3.4 - 15.8% con un promedio del 9.3 siendo más frecuente en pacientes multiparas y en embarazos mayores de 36 semanas. (5, 7, 24)

Las causas que más favorecen la Ruptura Prematura de Membranas se pueden clasificar en dos grupos:

I Predisponentes:

- Desarrollo inadecuado de las membranas
- Corioamniotitis local

I Predisponentes: (cont.)

- Infiltración sanguínea corioamniótica por sangrados del tercer trimestre del embarazo
- Adherencias entre orificio cervical interno y membranas corioamnióticas
- Multiparidad
- Embarazos cercanos al término
- Polihidramnios
- Embarazo múltiple

II Desencadenante:

- Hipertonia uterina por desprendimiento prematuro de placenta monoinserta
- Administración errónea de oxitocitos
- Movilidad brusca de miembros en la presentación pélvica, situaciones transversas
- Exploraciones manuales cervico-vaginales bruscas o exploraciones armadas con amioscopio
- Infusión hipertónica de glucosa o cloruro de sodio para inducir el parto
- Contusión abdominal
- Coito

El cuadro clínico que presenta la RPM es el siguiente:

- Salida del líquido amniótico por la vulva, sin causa aparente, indolora, pero en cantidad variable. La salida con el ortostatismo desencabulación, cambio de posición así como también con las - contracciones uterinas.

- El líquido amniótico es translúcido, opalescente, a veces lechoso con olor a esperma
- Por medio de la exploración ginecológica con espejo vaginal se corrobora la salida del líquido amniótico
- Se puede sospechar de RMM al no tocar el colchón hídrico entre la presentación y los dedos del explorador (38)

El diagnóstico en el 80% de los casos se hace clínicamente. En el 20% restante, es necesario recurrir al laboratorio para descartarlo o corroborarlo.

Hoy en día además del cuadro clínico existen métodos auxiliares de diagnóstico, éstos se clasifican en:

I Indirectos:

- Determinación del pH vaginal con papel de Nitrazina, papel con Azul de Bromotimol y papel tornasol. El método es útil en un 70 -- 85% de los casos, se encuentran errores por: infecciones cérvico-vaginales, presencia de sangre, uso de soluciones antisépticas y jabón.

II Directos:

- Cristalización del líquido amniótico:

Fundamentado que cuando el líquido amniótico es evaporado, los solutos cristalizan en forma de helecho, debido a la elevada cantidad de electrolitos, mucina y proteínas. Su confiabilidad es del 90 - 95% de los casos. Las falsas positivas son raras por cristalización de mococervical. (15, 38)

Se ha definido como Período de Latencia, al tiempo transcurrido desde el momento en que se rompen las membranas hasta el momento en que se inicia el trabajo de parto. Se ha considerado que el período de latencia máximo es de 72 horas, pero el tiempo es mayor

cuando la edad gestacional es menor. (38)

Las complicaciones potenciales maternas y perinatales y su importancia relativa varían dependiendo el tiempo de gestación. (11)

La RPA trae como consecuencia alta incidencia de infección, - tanto para la madre como para el bebé. La explicación de esta alta incidencia de infección es debido a que se presenta:

1) Eliminación de la barrera corioamniótica que protege y evita el paso de gérmenes patógenos de la vagina a la cavidad amniótica.

2) Alcalinización del medio vaginal por el paso del líquido amniótico a la cavidad vaginal por lo que hay destrucción de bacilos de Döderlein y sustitución de los mismos por gérmenes patógenos, seguido de infección cérvico - vaginal que se disemina fácilmente a la cavidad amniótica. (13, 38)

En la madre, principalmente se produce Corioamniocitis, que se presenta en el 11% de los casos en promedio y varía desde el 0.7% hasta el 29.5%. La corioamniocitis es una infección localizada de las membranas corioamnióticas en embarazos mayores de 20 semanas y que es secundaria en el 95 - 98% de los casos de RPA. Los microorganismos más aislados en la corioamniocitis son: Escherichia coli, Proteus sp., Aerobacter sp., Pseudomonas sp., Providencia sp., Bacteroides sp., Peptococcus sp., Peptostreptococcus sp. Más frecuentemente aislados son enterococo, estreptococo, neumococo, estafilococo y gonoco. Es raro que se llegue a aislar Clostridium, el bacilo de Koch, virus. (19, 28, 38)

Clínicamente, muchos signos y síntomas pueden sugerir corioamniocitis, aunque la mayoría de éstos signos pueden ser sensibles, no son frecuentemente específicos. Como regla general, la presencia de fiebre (temperatura mayor a 38°C) en ausencia de cualquier --

otra causa aparente es necesaria para el diagnóstico clínico de --
corioamnionitis. (11, 20)

También se ha tomado para el diagnóstico la presencia de --
irritabilidad uterina y leucocitosis. (2, 4, 9, 11) Recientemente
se ha encontrado que la elevación de los niveles de Proteína C
reactiva se relacionan bien con el diagnóstico clínico y patológico
de corioamnionitis. (4, 14, 16)

La utilización de la amniocentesis, obtención de líquido am--
niótico trans - abdominal, en pacientes con RPM y sin fiebre para-
cultivo de líquido amniótico y tinción de Gram; ha tenido gran exi
to en el diagnóstico de corioamnionitis inaparente, relacionándose
altamente la presencia de cultivos microbiológicos positivos y tin-
ción de Gram positiva con el desarrollo de corioamnionitis clínica-
(5, 7, 11, 29, 30).

Debido a la RPM se llegan ha presentar complicaciones en el -
2 - 8% de los alumbramientos ya que hay retención de fragmentos --
placentarios y membranas. (38)

En el puerperio la complicación séptica más frecuente es la -
Endometritis, secundaria a la corioamnionitis latente o asintomá-
tica. (38)

Los riesgos fetales caen en tres principales categorías: prema-
turez, infección y anomalías fisiológicas o físicas causadas -
por la ausencia del líquido amniótico. (7)

La prematurez varía entre 9 - 40% con un promedio del 20%. --
(38) Estudios realizados mostraron una relación directa entre el
tiempo de latencia y la infección neonatal: (7), estudios más --
recientes demuestran que esta asociación se presenta generalmente-
en los embarazos de término, sin embargo sugieren que esto no se -

presenta en embarazos de pretermino. (7) Algunos reportes han --
mostrado que no incrementa el riesgo de infección conforme al tiem
po en embarazos pretérmino, una notable excepción es el incrementa
do riesgo de infección seguido de la RPM y las subsecuentes exami
naciones vaginales.

Schutle y colaboradores, recientemente demostraron que la in-
fección neonatal no está necesariamente correlacionada con la dura-
ción de la ruptura de las membranas y que hubo una fuerte relación
entre la incidencia de infección neonatal y muerte neonatal en el
intervalo existente desde la primera examinación pélvica hasta el
nacimiento. Esto viene a confirmar que una vez hecho el primer exa
men vaginal un mecanismo de tiempo es comenzado. (11)

La incidencia de infección neonatal seguida de RPM se reporta
entre el 0.5 y el 25%. (7, 9, 27)

Los microorganismos causales de infección neonatal generalmen
te son los mismos que colonizan la cavidad uterina y causan la co-
rioamnionitis.

La hipoplasia pulmonar se ha presentado en RPM muy prolongada
parece que ocurre cuando hay oligohidramnios de larga duración pre
sentándose antes de la 26^{ta} semana de gestación. También se han ---
observado las deformidades esqueléticas debido a la compresión. --
Con un decremento del líquido amniótico hay un incremento de ries-
go de prolapso de cordón, hipoplasia fetal o muerte. (7, 9, 21, -
38) La mortalidad fetal debida a RPM es variable entre 2.6 - 11%.

El manejo de pacientes con RPM ha creado mucha controversia -
dentro de la obstetricia. Las opiniones distan mucho de ser unáni-
mes en lo que respecta al tratamiento óptimo de los embarazos com-
plicados por una RPM parece que, para servicios de maternidad, ---

donde el índice de morbilidad puerperal febril sea bajo, una continua observación sin manipulación vaginal tiende más a beneficiar - al feto prematuro que las maniobras para dar salida al feto. Por otra parte, en aquellas instituciones en que es frecuente la morbilidad puerperal febril, tanto el feto como la madre tienden a beneficiarse más de un parto en el plazo de 24 horas. Las experiencias tenidas en algunas instituciones públicas confirman en cierto modo esta última afirmación. Se ha propuesto tratar a un embarazo complicado por RPM como sigue:

1.- Efectuar un examen mediante espéculo para identificar el líquido que viene del cervix o que se almacena en la vagina. La demostración de un líquido visible o de una prueba de la nitrazina - es indicativa de la RPM.

2.- Si después de 12 horas, el parto no ha comenzado de manera espontánea, es cuidadosamente inducido mediante la infusión de oxitocina muy diluida por vía intravenosa, evitando una hiperestimulación, a menos que el feto sea muy inmaduro y no exista esperanza de poder salvarlo; por otro lado, si el feto presenta menos de 30-semanas de edad gestacional, se efectuará una operación cesárea en el plazo de 24 horas. Más aún: si la inducción fracasa, se efectuará una operación cesárea.

3.- Si la edad gestacional es menor a 30 semanas, o falta de esta confirmación, si se estima que el feto pesa menos de 1,300 gr y parece que no hay un retraso del crecimiento, no existiendo además otras indicaciones maternas o bien fetales para el parto, puede permitirse que continúe el embarazo sin la administración profiláctica de antibióticos y bajo estrecha observación para detectar signos de sepsis.

4.- El parto y el alumbramiento se tratarán de forma que sea mínima la hipotensión materna, así como la hipoxia y acidosis fetales y la infección, ya que se sabe que estos hechos aumentan la tendencia a un sufrimiento respiratorio que podría ser fatal.

Se ha convertido en una práctica común administrar antibióticos de manera profiláctica al recién nacido después de una prolongada ruptura de las membranas (generalmente 24 horas). Si en la experiencia de la institución se ha demostrado que es frecuente la infección neonatal, puede estar bien indicada una terapéutica a base de antibióticos; en el momento del parto se hará un cultivo de líquido amniótico, aspirado gástrico o bien a partir de un exudado obtenido del oído del lactante. No todos los pediatras están de acuerdo acerca de las ventajas o de la seguridad de la profilaxis mediante antibióticos.

Ya que el sufrimiento respiratorio a partir de la existencia de un surfactante pulmonar insuficiente es una causa principal de muerte en los neonatos muy prematuros, se ha dirigido una considerable atención hacia los posibles medios de acelerar la maduración de la función pulmonar.

En los años de 1974 - 1976 las observaciones de Liggins y Howie recibieron una considerable atención. Sobre la base de las observaciones previas de que los corticosteroides administrados a la oveja aceleraban la maduración pulmonar de su feto, se inició un estudio bien diseñado por ellos con el objeto de evaluar los efectos de administración a la madre de acetato y fosfato de beta-metasona para prevención del sufrimiento respiratorio al recién nacido prematuro. Sus resultados demostraron en los lactantes nacidos antes de las 32 semanas de embarazo una significativa disminución --

de la incidencia de sufrimiento respiratorio y de la mortalidad neonatal si el nacimiento era retrasado de 24 horas a 7 días después del inicio de la terapéutica con esteroides.

El retraso en el parto hasta 72 horas más la beta-metasona -- en casos de RPM no pareció aumentar el riesgo de infección del feto, del neonato, ni de la madre.

No obstante, si el intervalo existente entre la rotura y el parto excedía una semana, aumentaba la infección; se administraron a las madres antibióticos de amplio espectro de manera profiláctica.

Liggins y Howie hacen hincapié en el hecho de que el empleo de corticosteroides en el embarazo humano con el objeto de prevenir el sufrimiento respiratorio es empírico y que la medida de la respuesta depende en gran manera hasta ahora de las pruebas clínicas.

Hoy en día, 12 años después, la utilización de corticosteroides para la maduración pulmonar se ha generalizado un poco más y ya se tienen más estudios de su utilidad.

Como se puede apreciar el manejo de un paciente con RPM no depende sólo de la edad gestacional, sino también de otras variables la presencia o ausencia de trabajo de parto, coriocionocitis, estado fetal y su madurez pulmonar y hasta si la paciente es primigesta o si había sufrido infertilidad o esterilidad; y la habilidad del clínico para llevar a cabo un buen manejo. Es por eso que ahora a más de 20 años de controversia la RPM sigue siendo el enigma del Gineco-obstetra.

El presente trabajo es un estudio prospectivo realizado para conocer la incidencia de sepsis materna y fetal provocada por RPM -- así como los agentes causales de los cuadros y la relación existente entre ambos padecimientos.

Fundamento de elección del tema

La Ruptura Prematura de Membranas es un problema obstétrico - en el que se ve comprometida la salud tanto de la madre como del - niño principalmente debido al riesgo de padecer cuadros infeccio- sos.

Planteamiento del Problema

Se conoce como Ruptura Prematura de Membranas, a la salida de líquido amniótico por la vulva; que de forma espontánea o artifi- cial se lleva a cabo, en embarazos de 20 semanas, antes de iniciar se el trabajo de parto.

Debido a la Ruptura de las Membranas (corión y amnión) pue- de colonizarse el útero, dando de esta forma una infección tanto - en la madre como en el feto.

La infección de la cavidad amniótica, después de la RPM, ocu- rre por la contaminación directa a través del orificio cervical, - generalmente, en forma ascendente existiendo otras vías de contami nación, como son : la hematógena y a través de las Trompas de Fal- o en forma descendente.

En estudios anteriormente realizados (24) se llegó a la con- clusión de que la colonización bacteriana de la cavidad uterina se produce ya pasadas las 12 horas de expectancia, dependiendo este - tiempo del número de tactos vaginales subsecuentes seguidos de la RPM (28) y si la madre sufría infección de la cavidad amniótica- previa a la RPM. (7)

Por ser la RPM un problema obstétrico en el que la madre y el feto tienen alto riesgo de ser infectados por flora normal y/o pa-

tógena y al no conocer la incidencia de sepsis materna y fetal provocada por la RPM así como los agentes causales de los cuadros y - la relación existente entre ambos padecimientos se ve la necesidad de realizar un estudio prospectivo para conocer estas interrogantes.

Objetivos :

- Identificar a los agentes etiológicos, bacterias aerobias y - anaerobias, levaduras y hongos causales de sepsis materna y/o fetal en pacientes con RPM de 12 horas o más de evolución.

- Correlacionar a los agentes causales de sepsis en pacientes - con Ruptura Prematura de Membranas de 12 horas o más de evolución - con infección neonatal.

Hipótesis del trabajo

Los pacientes que sufren Ruptura Prematura de Membranas cuentan con un alto riesgo de presentar sepsis materno - fetal; de ser esto cierto, pacientes que presentan RPM con 12 horas o más de evolución tendrán colonización de cavidad uterina y probablemente desarrollaran sepsis tanto la madre como el neonato.

Metodología

Pacientes estudiados

- Pacientes con RPM de 12 horas o más de evolución con o sin anti bioticoterapia
- Pacientes sin RPM
- Neonatos nacidos de madres con antecedentes de RPM
- Neonatos nacidos de madres sin haber sufrido RPM

Material

- Caldo tioglicolato (con dextrosa y con indicador, sin dextrosa y sin indicador, enriquecido)
- Agar Biggy o Nickerson
- Agar Chocolate (Agar Chocolate con polienriquecimiento)
- Agar Mac Conkey
- Agar New York City o Thayer Martin modificado
- Agar Rosina Azul de metileno
- Agar Sabouraud
- Agar Sal y Manitol
- Agar Sangre de Carnero (Base de agar sangre y/o Base de gelosa sangre con azida)
- Agar Sangre Base alcohol fenil etílico
- Agar Sangre Hemina Menadiona Gentamicina
- Agar de Lombard - Dowell
- Agar de Lombard - Dowell con:
 - Bilis de buey
 - Esculina
 - Yema de huevo

- Agar Staph 110
- Caldo de peptona enriquecido para Hemocultivo
- Gelatina
- Agar Hinton - Müller
- Agar Salmonella - Shigella
- Pruebas Bioquímicas:
MTO, SIM, TSI, Kligler, Citrato de Simons, Caldo Urea, LIA, O/F-
Glucosa, Caldo tioglicolato con carbohidratos, Oxgall, Nitrito -
Indol, Leche Hierro, Glicerol.
- Peroxido de Hidrógeno al 3%
- Dihidrocloreto de tetrametil p-fenilendiamina al 2%
- Sistema para anaerobiosis:
 - Jarra para anaerobiosis
 - Anaerocult A
- Acido pirogálico
- Carbonato de sodio anhidro
- Equipo para tinción de Gram:
 - Cristal Violeta
 - Lugol
 - Alcohol - Acetona
 - Safranina
- Equipo para tinción de esporas:
 - Verde de malaquita
 - Safranina
- Suero fresco
- Plasma fresco
- Discos Taxo (Bacitracina 0.04 U)
- Discos PN (cloruro de etilhidrocupreina 5 ug)
- Discos SPS (Polianetol sulfonato de sodio)

- Discos con :

Kanamicina 1000 ug/ml
Rifampicina 15 ug/ml
Penicilina 2 U

- Gentamicina
- Sulfato de Neomicina
- Reactivo de Kovacs
- Acido Sulfanilico
- alfa-naftilamina
- Hisopos estériles
- Pipetas Pasteur estériles
- Porta objetos
- Cubre objetos
- Microscopio de contraste de fases
- Mechero
- Triple
- Asa-portava bacteriológica
- Algodón y fenol
- Germicida
- Alcohol
- Aceite de inmersión
- Nujol

Método General de Estudio de Muestras

El medio de transporte utilizado para todas las muestras fué Caldo tioglicolato con dextrosa e indicador. Después de haber tomada la muestra; ésta fué llevada al laboratorio donde fué incubada a 37°C por lo menos 2 horas.

Ya en el laboratorio la muestra fué procesada realizándose -- una descarga del medio de transporte con pipeta Pasteur estéril o hisopo estéril en Agar New York City, Agar Chocolate, Agar Sangre de Carnero, Agar Mac Conkey, Agar Sal y Manitol (Agar Staph-110) Agar Biggy y Agar Sabouraud en tubo. Las cajas fueron sembradas -- por estria cruzada en 4 cuadrantes para obtener el aislamiento del (los) microorganismo (s).

Los cultivos fueron incubados a 37°C en aerobiosis y microaerofilia por 24 - 48 horas. Después de este tiempo al desarrollar crecimiento se llevó a cabo la identificación de las bacterias; -- los hongos fueron incubados a 28°C por una semana, a los que desarrollaron se les identificó. El tubo con Agar Biggy se incubó a -- 37°C por 24 - 48 horas, identificándose posteriormente a la colonia del microorganismo que haya presentado desarrollo (Fig. 1, 2, 3).

En caso de no haberse presentado desarrollo de bacterias aerobias o microaerofílicas, se realizó un frotis del caldo tioglicolato que sirvió para transporte de la muestra y se subcultivó en caldo tioglicolato enriquecido; después de lo cual, se realizó el cultivo de la muestra en anaerobiosis.

Exudado cérvico - vaginal

Se procedió a un lavado del área de la vulva con benzal. Enseguida con un hisopo estéril se tomó muestra de la mucosa cérvico - vaginal. El hisopo fué colocado en un tubo con Caldo Tioglicolato. La muestra fué llevada al laboratorio donde fué incubada y procesada conforme se menciona en el método general de estudio de muestras.

Cultivo de Placenta

Después del nacimiento y ya expulsada la placenta, se tomó -- una pequeña porción de ésta utilizando pinzas y bisturí estériles, la muestra así obtenida se colocó en un tubo con Caldo tioglicolato. Enseguida la muestra fué llevada al laboratorio para ser procesada como se mencionó.

Cultivo de Cavidad Uterina

Después del alumbramiento, ya expulsada la placenta y antes de realizar la limpieza de la cavidad uterina, con un hisopo estéril se tomó muestra de la cavidad uterina; el hisopo fué colocado en un tubo con Caldo tioglicolato, cerrandose perfectamente el tubo. La muestra fué trasladada al laboratorio para ser cultivada.

Cultivo de Cordón umbilical

Con unas pinzas y tijeras estériles se tomo una muestra del cordón umbilical del recién nacido. La muestra se colocó en tubo con Caldo Tioglicolato. El estudio microbiológico del cordón umbilical siguió el procedimiento general de muestras.

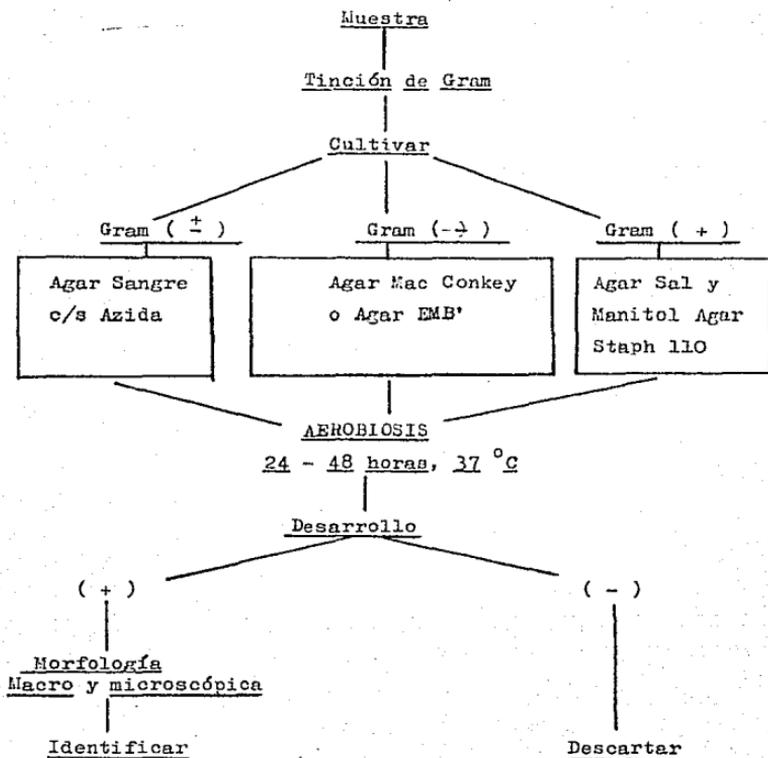
Cultivo de Aspirado Gástrico

Con una sonda y jeringa estériles se extrajo por aspiración el contenido faringo - gástrico del recién nacido y se traspasó el aspirado a un tubo con Caldo tioglicolato, se procedió para su cultivo en el laboratorio en la forma ya indicada.

Cultivo de Secreción Conjuntival y Oído externo

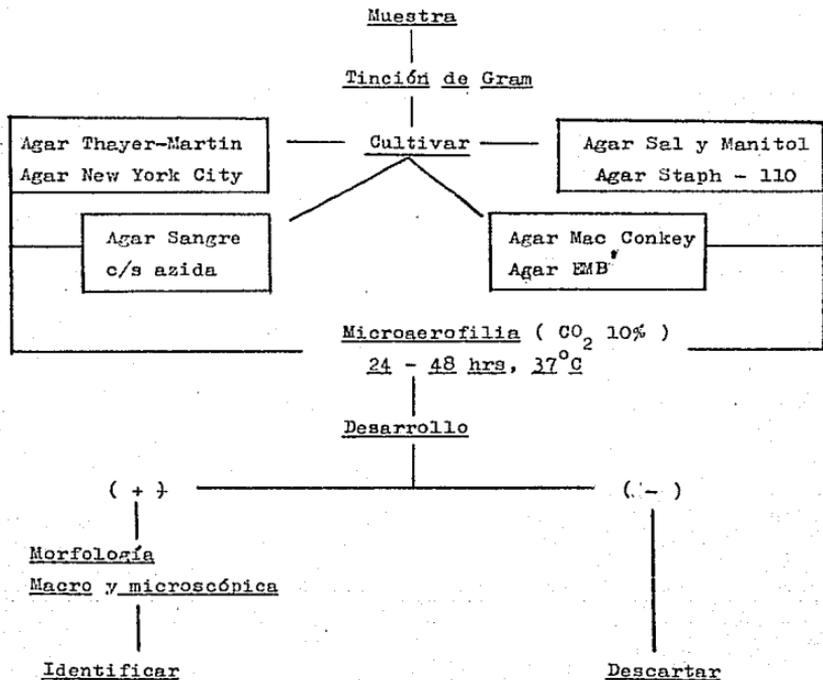
Antes de ser aseado el neonato, con hisopos estériles se tomaron muestras de la secreción conjuntival y del oído externo, de ambos ojos y oídos respectivamente. Los hisopos se colocaron rápidamente en Caldo tioglicolato para ser llevadas las muestras al laboratorio y proceder a su estudio microbiológico.

Fig. 1 Procedimiento General para el aislamiento de microorganismos Aerobios



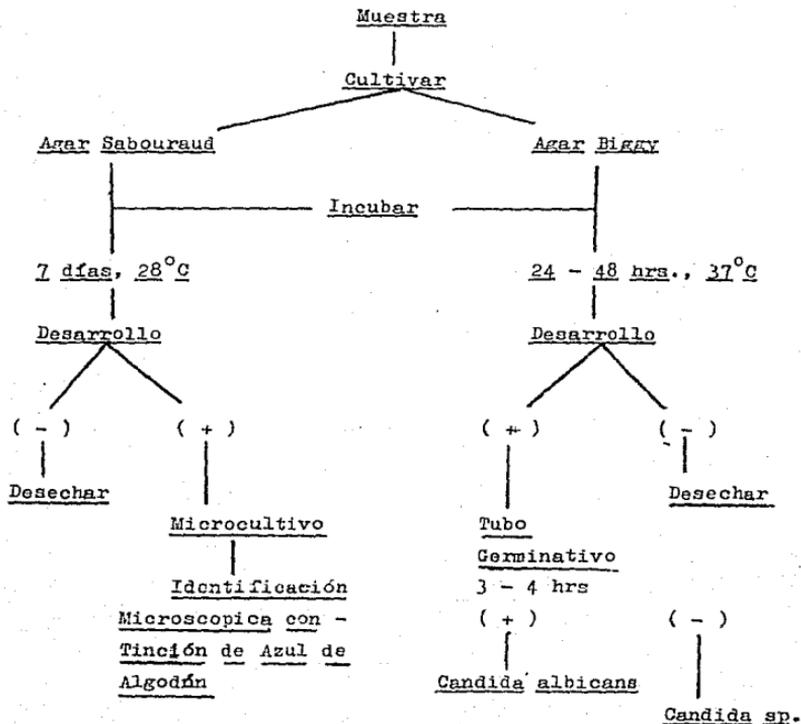
EMB' = eosina azul de metileno

Fig. 2 Procedimiento General para el aislamiento de microorganismos en Microaerofilia



EMB = eosina azul de metileno

Fig. 3 Procedimiento General para el aislamiento de Hongos y de Candida albicans



Hemocultivo

Con medidas de asepsia se tomó un mililitro de sangre venosa del neonato. Esta sangre se traspasó a un frasco para hemocultivo- (hemocultivo difásico o monofásico). Se incubó a 37°C en aerobiosis. A las 24 horas de incubación se revisó el hemocultivo, fijándose perfectamente si existe turbidez, hemólisis, crecimiento bacteriano en la fase sólida - en caso de que fuera medio difásico - crecimiento bacteriano sobre la capa de eritrocitos, crecimiento bacteriano o fúngico en la superficie de los medios, producción de gas en todo el medio líquido o cualquier indicio de que hubo desarrollo de microorganismos en el cultivo. Después de haber revisado el frasco de cultivo (e inclinado unos minutos si fué medio difásico) se realizó un subcultivo en Agar Chocolate incubándose a -- 37°C y en atmósfera de CO₂ al 10%, revisando el crecimiento en el subcultivo a las 24 - 48 horas. Si no hubo desarrollo se desechó - la caja.

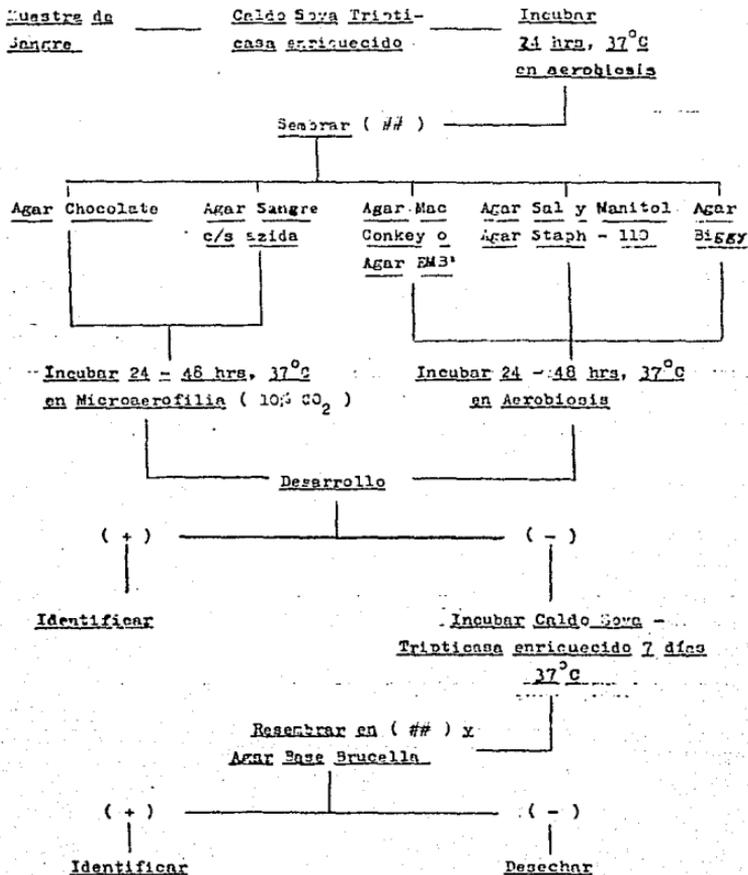
A las 48 horas se revisó el hemocultivo y así diariamente por 7 días. Teniendo en cuenta de no agitar en demasia el medio de cultivo y en caso de medio difásico de cultivo inclinándolo unos minutos sobre la fase sólida.

Si al observar el frasco de hemocultivo se encontró cualquier indicio de desarrollo de microorganismos, se tomó una alícuota revolviendo bien el caldo, se cultivó en dos cajas de Agar Sangre -- (una para cultivo anaeróbico) y otra de Agar Chocolate (para incubarla en microaerofilia), además se realizó un extendido teñido por Gram. Si se encontró en el frotis bacilos Gram negativos; se sembró una alícuota de cultivo en Agar Mac Conkey o en Agar EMB -- (se recomienda también cultivar en Agar Staph 110 o Agar Sal y -- Lanitol y Agar Biggy).

Si después de 7 días de incubación no hubo crecimiento en el frasco de hemocultivo, se conservó por una semana más el frasco de hemocultivo para la búsqueda de Brucella abortus, teniendo en cuenta que, después de una semana de conservar el frasco se puede observar turbidez por las partículas de fibrina, debido a la incubación prolongada; antes de sembrar algún cultivo se realizó un frotis del mismo y se tiñó por Gram, para salir de dudas y buscar microorganismos.

En los hemocultivos con desarrollo positivo se realizó la identificación del agente etiológico.

Fig. 4 Monocultivo



EM3' = eosina azul de metileno

Aislamiento de Microorganismos Anaerobios

De las muestras que no tuvieron desarrollo de microorganismos aerobios y/o microaerofílicos, se les subcultivó en Caldo Tioglicolato enriquecido; después de 24 horas de cultivo en caldo, se procedió a sembrar por estria cruzada una descarga del fondo del Caldo tioglicolato en Agar Sangre Hemina Menadiona Gentamicina y/o -- en Agar Sangre Alcohol feniletílico; se sembró por triplicado para incubar a 37°C en aerobiosis, microaerofilia y anaerobiosis. Después de 48 horas de incubación, se revisó el crecimiento; de las colonias que hayan crecido en anaerobiosis se resembraron en Agar Sangre Hemina Menadiona Gentamicina y/o Agar Sangre Alcohol feniletílico, en los 3 sistemas y a 37°C por 48 horas.

Una vez que se verificó que las colonias sospechosas son pertenecientes a microorganismos anaerobios estrictos, se procedió a realizar frotis y tinción de Gram; si fué necesario también se realizó la tinción de esporas. Enseguida se realizó la siembra de las pruebas presuntivas rápidas. Para Bacilos Gram negativos no esporulados, se realizó sensibilidad a Penicilina 2U, Rifampicina 15 ug. Kanamicina 1000 ug/ml. Para cocos Gram positivos se realizó sensibilidad a Polianetolsulfonato de sodio. Para microorganismos Gram positivos y Gram negativos se realizaron también las pruebas rápidas de Lombard y Dowell.

Enseguida se sembraron las pruebas bioquímicas confirmatorias para bacilos y cocos Gram positivos y Gram negativos. Fig.5, 5-A y 5-B. (5, 6, 10, 19, 24, 28, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 37)

Fig. 5 Aislamiento de Bacterias Anaerobias

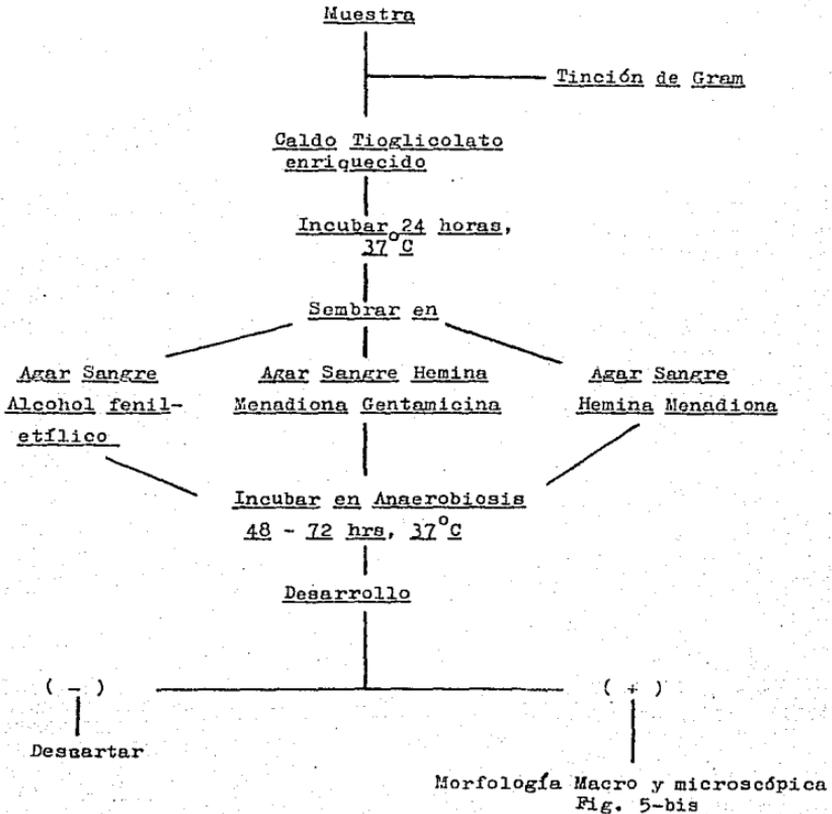


Fig 5-bis Aislamiento de Bacterias Anaerobias

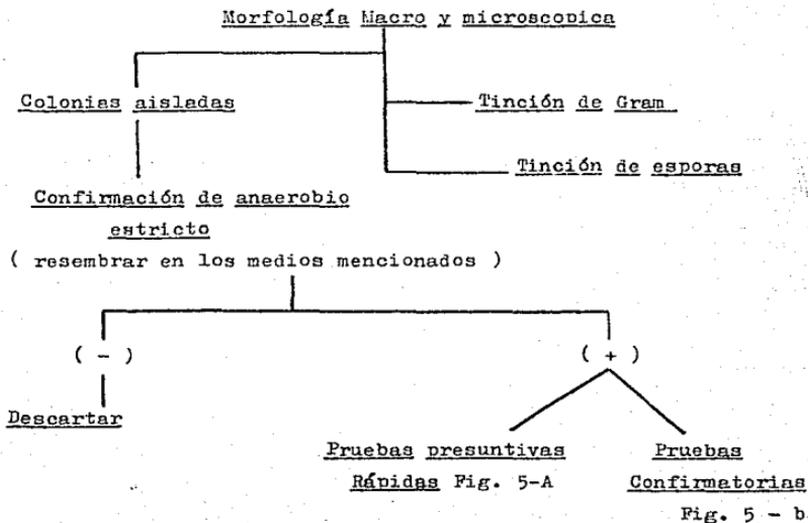
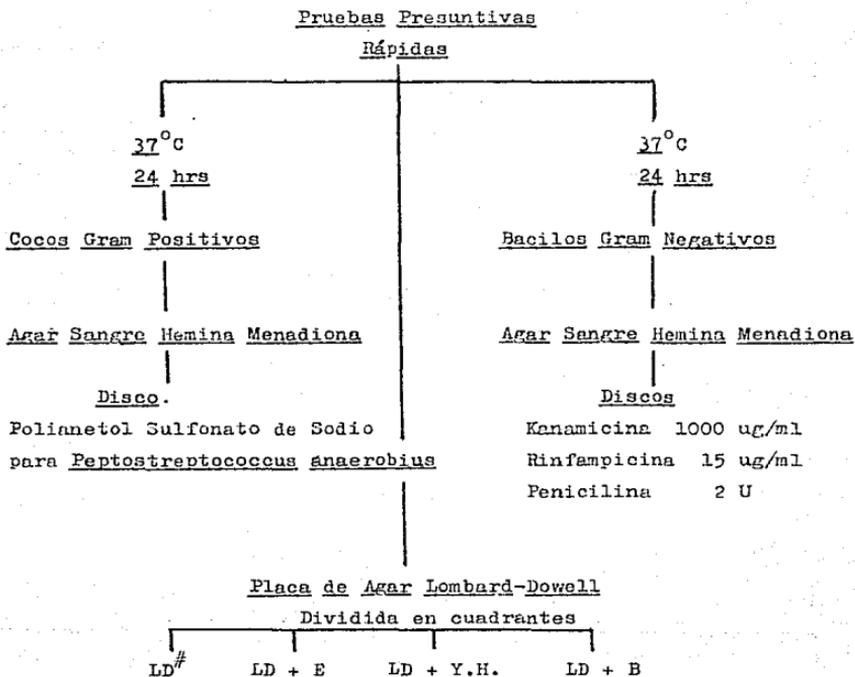


Fig. 5 - A Pruebas Presuntivas Rápidas para Identificación De Microorganismos Anaerobios.



LD.- Agar Lombard Dowell

LD.- Agar Lombard Dowell más Esculina (LD + E)

LD.- Agar Lombard Dowell más Yema de Huevo (LD + Y.H.)

LD.- Agar Lombard Dowell más Bilis (LD + B)

Fig. 5 - b Pruebas Bioquímicas Confirmatorias

Microorganismos
Gram Negativos y Positivos



Pruebas Bioquímicas para:

- | | |
|-------------|-------------------|
| - Glucosa | - Salicina |
| - Maltosa | - Glicerol |
| - Lactosa | - Oxygall |
| - Arabinosa | - Indol - Nitrato |
| - Sacarosa | - Esculina |
| - Ramnosa | - Leche Hierro |
| - Xilosa | - Tiogel |
| - Trehalosa | - BHI |

Resultados:

En el estudio fueron incluidos 34 casos que presentaron RPM - en el periodo de gestación lo que provocó el parto, los casos fueron divididos en grupos según las semanas de gestación que presentaron. Se incluyeron los controles para dos grupos como se muestra en la tabla No. 1

Tabla No. 1 Muestra la distribución de las pacientes con -- respecto a las semanas de gestación al momento de parto.

Grupo	Sémanas de Gestación	Grupo Control n = 15	Grupo de Estudio n = 34
I	menos de 33	0	3''
II	33 - 36	8	16
III	37 ó más	7	15

' se presentó una gestación gemelar
n = número de pacientes

Tabla No. 2 Resume los datos obtenidos en las variables demográficas de las pacientes de los Grupos I, II, y III para el control y el estudio.

Parámetros Maternos	Grupo Control (n = 15)	Grupo de Estudio (n = 34)
Edad (años)	27.93 ± 4.96 [#]	26.67 ± 6.60 [#]
Gestaciones	3.00 ± 1.06	2.41 ± 1.76
Abortos previos (0 - 3)	0.26 ± 0.45	0.38 ± 0.80
Antibioticoterapia	2	28
Periodo de latencia (hrs., 12 - 168)	0	36.27 ± 34.68
Edad gestacional menos de 33 - más de 37 semanas	37.33 ± 2.71	36.35 ± 3.22
Forma de nacimiento	Cesárea	15
	Normal	0
Tactos (0 - 12)	0.33 ± 0.61	4.02 ± 2.62
Nacimientos Prematuros menos de 37 semanas	8	19
Nacimientos de Terminó 37 o más semanas	7	15
Cultivos positivos (%)	26.66	76.47
Sepsis	0	0
Defunciones	0	0

media y desviación estándar

n = número de pacientes

Tabla No. 3 Resume los datos obtenidos en las variables demográficas de los neonatos en los Grupos I, II, y III para el control y el estudio. En el grupo de estudio se presentó una gestación gemelar.

Parámetros Neonatales	Grupo Control (n = 15)	Grupo de Estudio (n = 35)
Edad Gestacional (semanas)	37.31 ± 2.71 [#]	36.35 ± 3.22 [#]
Neonatos Inmaduros 21 - 28 semanas	0	2 [*]
Neonatos Prematuros menos de 37 semanas	8	18
Neonatos Maduros 37 ó más semanas	7	15
Peso al nacer (Kg)	2.82 ± 0.608	2.44 ± 0.796
Neonatos con menos de 2.5 Kg ^{##}	5	19
Hombres	10	14
Mujeres	5	21
Apgar un minuto (2 - 8)	8	7
Apgar 5 minutos (4 - 9)	9	8
Antibioticoterapia	2	28
Sepsis Neonatal	0	0
Cultivos Positivos (%)	26.7	76.5
Muertes Neonatales	0	2

media y desviación estándar

se considera prematuro al que tiene menos de 2.5 Kg de peso al nacer

n = número de pacientes

Tabla No. 4 Muestra a los microorganismos aislados y su frecuencia en el Grupo Control y en el Grupo de Estudio.

Grupo Control n = 15	Grupo de Estudio n = 35
<u>Pseudomonas aeruginosa</u> 26.7% (4)	<u>Escherichia coli</u> 31.4% (11)
<u>Staphylococcus aureus</u> 6.7% (2)	<u>K. oxytoca</u> 25.7% (9)
<u>Acinetobacter lwoffii</u> 6.7% (2)	<u>S. aureus</u> 25.7% (9)
	<u>K. pneumoniae</u> 20.0% (7)
	<u>Candida sp.</u> 20.0% (7)
	<u>Streptococcus sp.</u> beta-Hem., 11.4% (4) No Gpo. A
	<u>Ps. aeruginosa</u> 8.5% (3)
	<u>A. lwoffii</u> 5.7% (2)
	<u>Lactobacillus sp.</u> 5.7% (2)
	<u>K. ozaenae</u> 5.7% (2)
	<u>Pseudomonas sp.</u> 5.7% (2)
	<u>Candida albicans</u> 5.7% (2)
	<u>Citrobacter freundii</u> 5.7% (2)
	<u>Klebsiella rhinoscleromatis</u> 2.85% (1)
	<u>C. diversus</u> 2.8% (1)
	<u>Gaffkia tetragen</u> 2.8% (1)

() número de aislamientos

n = número de pacientes

Se aisló más de un microorganismo en algunos pacientes

Tabla IV (continuación)

Grupo de estudio n = 35	
<u>Enterobacter agglomerans</u>	2.85% (1)
<u>Peptococcus sp.</u>	2.85% (1)
<u>Peptostreptococcus sp.</u>	2.85% (1)

() número de aislamientos

n = número de pacientes

Abreviaturas

K. Micobacteria

S. Staphylococcus

C. Citrobacter

A. Acinetobacter

Pg. Pseudomonas

Estas abreviaturas se encuentran en Tablas subsiguientes.

Fig. 5 - 2 Frecuencia de microorganismos aislados en los Grupos-
Control y de estudio.

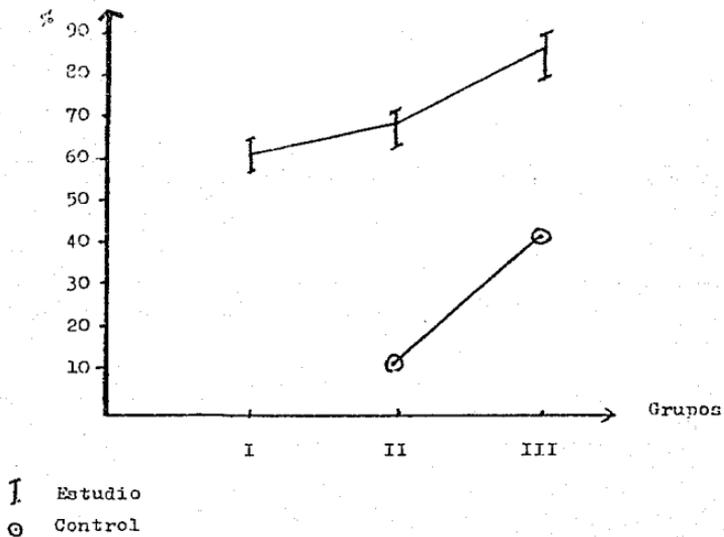
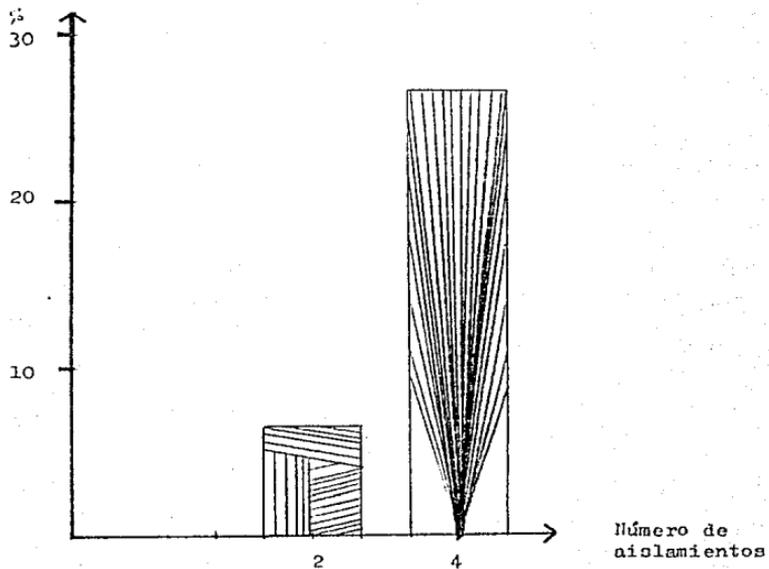


Fig. 6 Microorganismos aislados en el Grupo Control
Porcentaje de aislamiento vs. Número de aislamientos

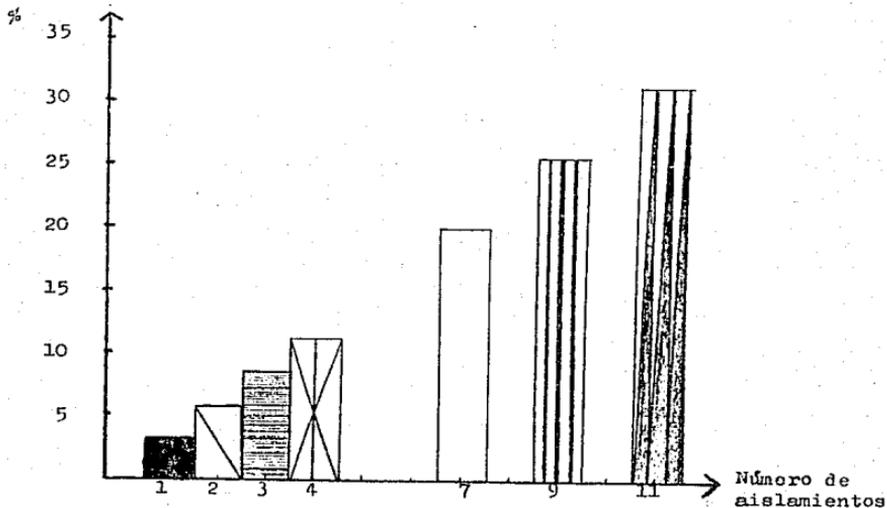


 Pseudomonas aeruginosa

 Staphylococcus aureus

 Acinetobacter lwoffii

Fig. 7 Microorganismos aislados en el Grupo de Estudio
Porcentaje de aislamiento vs. Número de aislamientos



 Klebsiella rhinocleromatis
 Citrobacter diversus
 Gaffkin tetragena
 Enterobacter asblaterans
 Pentococcus sp.
 Pentostreptococcus sp.

 Acinetobacter lwoffii
 Klebsiella ozaenae
 Lactobacillus sp.
 Pseudomonas sp.
 Candida albicans
 Citrobacter freundii

 Streptococcus sp.
 beta-hemolítico No Gpo. A

 Klebsiella pneumoniae
Candida sp.

 Klebsiella oxytoca
Staphylococcus aureus

 Pseudomonas aeruginosa

 Escherichia coli

Tabla No. 5 Muestra al Grupo I que presenta las variables maternas del estudio.

Grupo I (n = 3)		
Parámetros Maternos		Frecuencia
Edad (años)		27.33 ± 8.03 [#]
Gestaciones (1 - 7)		3.33 ± 3.21
Abortos previos (0 - 3)		1.00 ± 1.73
Antibióticoterapia		3
Periodo de latencia (horas, 48 - 168)		92.00 ± 63.49
Edad gestacional (semanas)		30.33 ± 2.08
Forma de nacimiento	Cesárea	2
	Normal	1
Tacto (0-4)		0.33 ± 0.57
Cultivos Positivos (,)		06.66
Sepsis Materna		0
Defunciones		0

En este grupo se presentó una gestación gemelar

media y desviación estándar

n = número de pacientes

Tabla No. 6 Muestra al Grupo I. Se presentan las variables de los neonatos del estudio.

Grupo I (n = 4)	
Parámetros neonatales	Frecuencia
Edad gestacional (semanas)	30.33 ± 2.08 #
Neonatos inmaduros (21 - 28 semanas)	2
Neonatos Prematuros (menos de 37 semanas)	2
Peso al nacer (Kg)	1.162 ± 0.578
Hombres	1
Mujeres	3
Apgar un minuto (2 - 7)	3
Apgar 5 minutos (4 - 9)	5
Antibioticoterapia	4
Sepsis neonatal	0
Cultivos Positivos (%)	75
Muertes neonatales	2

media y desviación estándar
n = número de pacientes

Tabla No. 7 Muestra los microorganismos aislados y su frecuencia en el Grupo I.

Grupo I [#] n = 4	
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	50% (2)
<u>Klebsiella oxytoca</u>	25% (1)
<u>Candida sp.</u>	25% (1)

() número de aislamientos
un paciente desarrollo más de un microorganismo
n = número de pacientes

Fig. 8 Microorganismos aislados en el Grupo I
Porcentaje de aislamiento vs. Número de aislamientos

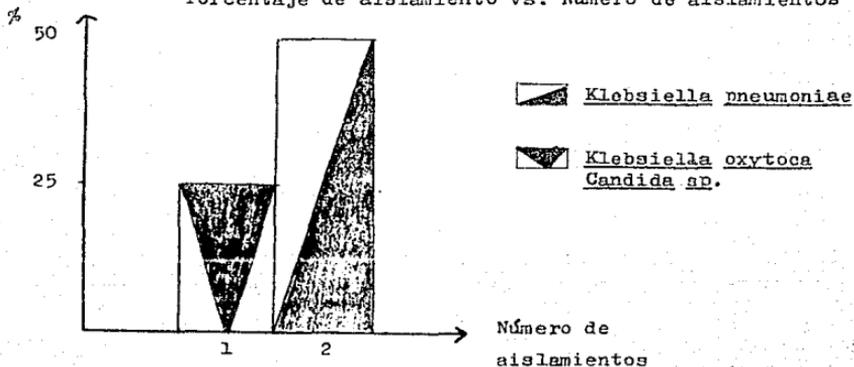


Tabla No. 8 Muestra las variables maternas del control y del estudio para el Grupo II.

Grupo II		
Parámetros Maternos	Control (n = 8)	Estudio (n = 16)
Edad (años)	28.87 ± 5.61 [¶]	24.12 ± 4.81 [¶]
Gestaciones	2.87 ± 0.94	1.81 ± 1.11
Abortos previos (0 - 2)	0.12 ± 0.35	0.18 ± 0.34
Antibioticoterapia	2	13
Período de Latencia (hrs., 12 - 144)	0	36.15 ± 33.02
Edad gestacional (33 - 36 semanas)	35.25 ± 1.16	34.68 ± 1.25
Forma de nacimiento		
Cesárea	6	7
Normal	0	9
Tactos (0 - 12)	0.12 ± 0.35	4.42 ± 3.28
Nacimientos Prematuros menos de 37 semanas	4	10
Nacimientos de Término 37 o más semanas	4	6
Cultivos Positivos (%)	12.5	68.75
Sepsis	0	0
Defunciones	0	0

¶ media y desviación estándar
 n = número de pacientes

Tabla No. 9 Muestra al Grupo II. Se presentan los variables de los neonatos del control y del estudio.

Grupo II		
Parámetros neonatales	Grupo Control (n = 8)	Grupo de Estudio (n = 13)
Edad gestacional (semanas)	35.25 ± 1.15 [#]	34.68 ± 1.25 [#]
Neonatos Prematuros menos de 37 semanas	4	10
Neonatos Maduros 37 o más semanas	4	6
Peso al nacer (Kg)	2.51 ± 0.61	2.42 ± 0.63
Neonatos con peso menor de 2.5 Kg ##	4	10
Mostrés	4	6
Hujeres	4	10
Apgar un minuto (5 - 8)	7	7
Apgar 5 minutos (8 - 9)	9	8
Antibióticoterapia	2	13
Sepsis	0	0
Cultivo Positivo (-)	12.5	38.75
Muerte Neonatal	0	0

medio y desviación estándar

se consideran prematuros a los que tienen menos de 2.5 Kg de peso al nacer

n = número de pacientes

Tabla No. 10 Muestra los microorganismos aislados y su frecuencia en el Grupo II del control y estudio.

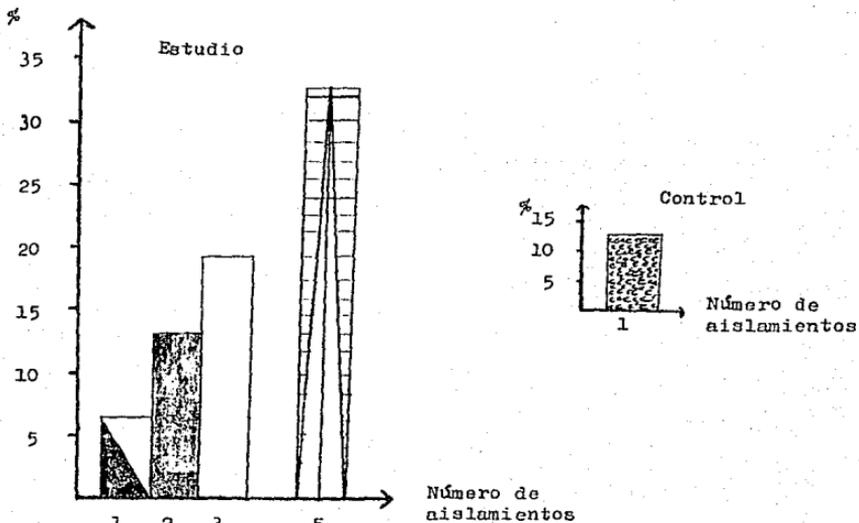
Grupo II	
Control n = 8	Estudio n = 16
<u>Pseudomonas aeruginosa</u> 12.5% (1)	<u>Escherichia coli</u> 31.25% (5)
	<u>K. oxytoca</u> 18.75% (3)
	<u>Candida sp.</u> 18.75% (3)
	<u>K. pneumoniae</u> 12.50% (2)
	<u>Pseudomonas aeruginosa</u> 12.50% (2)
	<u>Streptococcus sp.</u> beta-hemolítico 12.50% (2)
	<u>S. aureus</u> 12.50% (2)
	<u>Enterobacter agglomerans</u> 6.25% (1)
	<u>Candida albicans</u> 6.25% (1)
	<u>A. lwoffii</u> 6.25% (1)
	<u>Gaffkia tetragena</u> 6.25% (1)

Algunos pacientes presentaron desarrollo de más de un microorganismo.

() número de aislamientos

n = número de pacientes

Fig. 9 Microorganismos aislados en el control y el estudio del Grupo II. Porcentaje de aislamiento vs. Número de aislamientos.



 Enterobacter agglomerans
 Candida albicans
 Acinetobacter lwoffii
 Gaffkia tetraena

 Klebsiella pneumoniae
 Pseudomonas aeruginosa
 Staphylococcus aureus
 Streptococcus sp

 Pseudomonas aeruginosa

 Klebsiella oxytoca
 Candida sp.

 Escherichia coli

Tabla No. 11 Presenta las variables maternas del control y del estudio del Grupo III

Grupo III		
Parámetros maternos	Control (n = 7)	Estudio (n = 15)
Edad (años)	26.85 ± 4.25 [#]	29.26 ± 7.55 [#]
Gestaciones (1- 8)	3.14 ± 1.21	2.86 ± 1.95
Abortos previos (0 - 2)	0.42 ± 0.53	0.45 ± 0.83
Antibioticoterapia	0	12
Periodo de Latencia (hrs., 12 - 69)	0	24.46 ± 16.22
Edad gestacional (semanas)	39.71 ± 1.79	39.33 ± 1.58
Forma de nacimiento	Cesárea	7
	Normal	0
Tactos (0 - 6)	0.57 ± 0.78	4.33 ± 1.58
Cultivos Positivos (%)	42.85	86.66
Sepsis	0	0
Defunciones	0	0

media y desviación estándar

n = número de pacientes

Tabla No. 12 Muestra las variables de los neonatos del Control y Estudio para el Grupo III

Grupo III		
Parámetros Neonatales	Control (n = 7)	Estudio (n = 15)
Edad gestacional (semanas)	39.71 ± 1.79 [#]	39.33 ± 1.58 [#]
Peso al nacer (Kg)	3.1 ± 0.26	2.81 ± 0.67
Neonatos con peso menor de 2.5 Kg ##	0	5
Hombres	6	7
Mujeres	1	8
Apgar un minuto (7 - 9)	8	7
Apgar 5 minutos (8 - 9)	9	8
Antibióticoterapia	0	12
Sepsis	0	0
Cultivos Positivos (%)	42.85	86.66
Muerte neonatal	0	0

media y desviación estándar

se considera prematuro a aquel que tiene menos de 2.5 Kg de peso al nacer

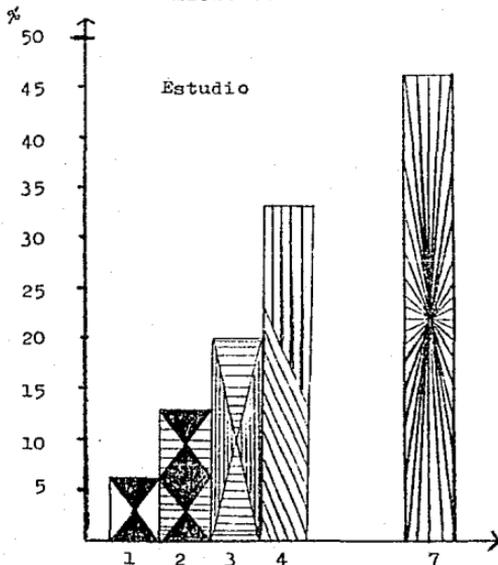
n = número de pacientes

Tabla No. 13 Muestra los microorganismos aislados y su frecuencia en el Grupo III para el control y el estudio.

Grupo III	
Control n = 7	Estudio n = 15
<u>Pseudomonas aeruginosa</u> 28.5% (2)	<u>S. aureus</u> 46.6% (7)
<u>S. aureus</u> 14.2% (1)	<u>Escherichia coli</u> 33.3% (4)
<u>A. lwoffii</u> 14.2% (1)	<u>K. oxytoca</u> 33.3% (4)
	<u>K. pneumoniae</u> 20.0% (3)
	<u>Candida sp.</u> 20.0% (3)
	<u>K. ozaenae</u> 13.3% (2)
	<u>Pseudomonas sp.</u> 13.3% (2)
	<u>Lactobacillus sp.</u> 13.3% (2)
	<u>C. freundii</u> 13.3% (2)
	<u>Streptococcus sp.</u> 13.3% (2) beta-hem.
	<u>Peptococcus sp.</u> 6.6% (1)
	<u>Pepto- streptococcus sp.</u> 6.6% (1)
	<u>C. diversus</u> 6.6% (1)
	<u>Ps. aeruginosa</u> 6.6% (1)
	<u>A. lwoffii</u> 6.6% (1)
	<u>Candida albicans</u> 6.6% (1)
	<u>Klebsiella</u>
	<u>rhinoscleromatia</u> 6.6% (1)

Algunos pacientes desarrollaron más de un microorganismo
 () número de aislamientos
 n = número de pacientes

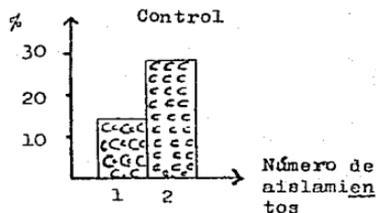
Fig. 10 Microorganismos aislados en el control y en el estudio del Grupo III. Porcentaje de aislamiento vs. Número de aislamientos.



 *Pentococcus* sp.
 *Pseudostratococcus* sp.
 *Pseudomonas aeruginosa*
 *Acinetobacter lwoffii*
 *Candida albicans*
 *Klebsiella rhinoscleromatis*

 *Klebsiella pneumoniae*
 *Candida* sp.

 *Escherichia coli*
 *Klebsiella oxytoca*



Número de
aislamientos

 *Klebsiella ornanae*
 *Pseudomonas* sp.
 *Citrobacter freundii*
 *Streptococcus* sp.

 *Pseudomonas aeruginosa*

 *Acinetobacter lwoffii*
 *Stachylococcus aureus*

 *Staphylococcus aureus*

Discusión de resultados:

En el presente trabajo fueron incluidos 49 pacientes, de los cuales 15 conformaron el Grupo Control y 34 el Grupo de Estudio, - como se muestra en la tabla No. 1: ambos grupos fueron divididos - según las semanas de gestación que presentaron al momento del parto.

El Grupo Control, estuvo constituido por pacientes las cuales estaban clínicamente controladas y generalmente el nacimiento del bebé fué programado por el ginecologo. Como se puede ver en la tabla No. 2, la edad promedio de las pacientes fué de 27.9 ± 4.9 --- años con un promedio de 3 gestaciones (1 - 5 gestas). Las pacientes generalmente no habían sufrido abortos y aquellas que lo habían tenido, fué un aborto. Antes del nacimiento las pacientes generalmente no fueron examinadas vaginalmente por lo que se tiene - un promedio de menos de un tacto vaginal, habiendo pacientes que - cuando más tuvieron dos examinaciones vaginales; esto principalmente debido a que la forma de nacimiento, que predominó en este grupo fué la cesárea.

La edad gestacional promedio del Grupo Control fué de 37.33 - semanas, presentandose 8 nacimientos prematuros (menos de 37 semanas de gestación y/o menos de 2.5 Kg de peso al nacer). La anti-- bioticoterapia previa al nacimiento solo fué administrada a 2 pacientes.

El 26.5% de los cultivos fueron positivos; ningún paciente -- del Grupo Control presentó RPM, corioamniotitis o sepsis puerperal.

La tabla No. 2, nos muestra las variables de las pacientes -- del Grupo de Estudio. Este grupo conformado por 34 pacientes pre-- sentó una edad promedio de 26.6 ± 6.6 años (18 - 42 años); las -- pacientes tuvieron en promedio 2.4 ± 1.7 gestaciones (1 - 8 ges-- tas) y un ligero incremento en la incidencia de abortos con res-- pecto al grupo control; 0.38 ± 0.8 vs. 0.26 ± 0.45 respectivamente.

Todas las pacientes presentaron RPM de 12 horas o más siendo la media del periodo de latencia 36.26 ± 34.68 horas; esta desvia-- ción estándar tan elevada que se observa es debido a que el rango-- es muy amplio 12 - 168 horas.

La edad gestacional promedio fué de 36.35 ± 3.22 semanas (28 - 43 semanas), habiendo 19 nacimientos prematuros y 15 nacimien-- tos de término (más de 37 semanas y/o peso al nacer superior a -- 2.5 Kg). Predominó la forma de nacimiento normal, debido a lo --- cual se presentó un incremento en el número de tactos vaginales -- teniendo una media de 4.0 ± 2.6 (0 - 12 tactos).

De las 34 pacientes que formaron el grupo de estudio 28 reci-- bieron antibioticoterapia durante el periodo de latencia y general-- mente todas recibieron antibióticos durante los primeros 8 días -- del puerperio. De los cultivos microbiológicos, el 76.47% fueron -- positivos. La Fig. 5 -R, pág. 35a nos muestrael porcentaje de culti-- vos positivos tanto en el Grupo Control como en el Grupo de Estu-- dio: siendo significativa la diferencia en ambos grupos. Ninguna -- de las pacientes presentó desarrollo de proceso infeccioso y unica-- mente una paciente presentó corioamnioititis durante el periodo de -- latencia; definiendo la corioamnioititis como fiebre con temperatura -- mayor a 38°C .

En la tabla No. 3 se muestran los datos obtenidos en las variables demográficas de los neonatos para los grupos control y estudio. Los neonatos del grupo control presentaron un peso promedio de 2.824 ± 0.508 Kg, todos los neonatos fueron reportados como sanos desde su nacimiento lo cual se ve reflejado en el Apgar a un minuto y a 5 minutos que en promedio fué de 8 y 9, respectivamente. De los recién nacidos de este grupo solamente 2 recibieron antibioticoterapia, ninguno presentó algún problema infeccioso y no se presentaron muertes neonatales. En el hospital únicamente quedaron depositados 5 recién nacidos que pesaron menos de 2.5 Kg al nacer.

Treinta y cinco neonatos formaron el grupo de estudio, esto-- debido a que hubo una gestación gemelar. El peso promedio del grupo 2.446 ± 0.796 Kg (0.7 - 4.0 Kg). Los neonatos de este grupo no todos fueron reportados como sanos desde el momento del nacimiento, lo que se ve reflejado en el Apgar a un minuto y a 5 minutos: 7 y 8 respectivamente: (rangos 2 - 8 y 4 - 9, respectivamente). Este parámetro fué menor en un punto con respecto al grupo-- control.

Feinstein (8), en un trabajo realizado, encontró el 31.5 y el 12.3% de los neonatos, tuvieron Apgar a uno y cinco minutos, -- respectivamente, menor a 7. Los grupos de estudio y control de Feinstein (n = 73) presentaron en promedio una edad gestacional de 31 semanas y un peso promedio de 1.874 Kg para el grupo control y 1.786 Kg para el grupo de estudio. Aproximadamente el 90% de los neonatos del grupo de estudio fueron pretérmino. En el presente -- trabajo el grupo control no presentó neonatos con Apgar a 1 y 5 -- minutos menor a 7; el grupo de estudio tuvo 3 neonatos con Apgar -- a 1 y 5 minutos menor a 7. El grupo de estudio del presente traba--

jo concuerda en el Apgar con el grupo de estudio del trabajo realizado por Feinstein.

De los 35 recién nacidos del grupo de estudio, 28 recibieron antibiocioterapia, mínima de 2 días y máxima de 8 días: fueron no sensitivos el 76.47% de los cultivos; ningún neonato desarrolló sepsis y se presentaron 2 muertes neonatales.

En la tabla No. 4 se presentan los microorganismos aislados y su frecuencia en el grupo control y de estudio. Se aprecia que en el grupo control se aislaron bacterias patógenas como Pseudomonas aeruginosa y Staphylococcus aureus (26.6 y 6.7% respectivamente) el desarrollo de estos microorganismos se presentó principalmente en el cultivo de aspirado gástrico del recién nacido, debido a que las sondas utilizadas para la obtención del contenido gástrico venían contaminadas por estas bacterias. El control de calidad del material empleado reveló lo anterior. Ningún paciente desarrollo proceso infeccioso.

Se aisló Acinetobacter lwoffii en un 6.7%, considerandose el aislamiento de este microorganismo como contaminación al momento de tomar las muestras, ya que A. lwoffii es habitante normal de agua y suelo. El aislamiento de este microorganismo no oxidativo en el grupo de estudio se presentó en los pacientes que nacieron el mismo día (por lo que se puede pensar que estas muestras también estuvieron contaminadas). En la fig. No. 6 se muestran los porcentajes de aislamiento de microorganismos en el Grupo Control.

Se aislaron en el grupo de estudios gérmenes de patogenicidad reconocida como Escherichia coli (31.4%), Klebsiella oxytoca (25.7%), Klebsiella pneumoniae (20%) y otras enterobacterias (17.4%). Walss R. (28) aisló enterobacterias con una frecuen-

cia del 35% y Acosta (28) aisló E. coli en un paciente con 4 horas de R.M. Minkoff (19) en su estudio encontró que el 23% de -- las pacientes que presentaron parto prematuro durante algún periodo del embarazo desarrollaron cultivos para bacterias de la familia Enterobacteriaceae; en el presente trabajo el 27.7% de las pacientes que presentaron parto prematuro desarrollaron enterobacterias.

Staphylococcus aureus bacteria patógena que colonizó cavidad uterina fué aislada con una frecuencia del 25.7% y se relaciona -- con pacientes que presentaron más de 4 tactos vaginales.

En el grupo de estudio se aisló con una frecuencia del 2.8% - Pentococcus sp., en otros estudios se ha aislado en un 9% (30).

Minkoff (19), en su estudio de la flora vaginal en mujeres embarazadas encontró que el 69.5% de las pacientes desarrollaron - Lactobacillus sp. en el grupo de estudio se encontró que el 5.7% - de las pacientes presentaron colonización de la cavidad uterina -- por Lactobacillus sp.

Las levaduras se aislaron en un 25.7%, de los cuales el 20% - para Candida sp. y el 5.71% para Candida albicans.

De la familia Micrococacca se aisló Gaffkia tetragena (2.8%). Streptococcus sp. beta hemolítico No del Grupo A se aisló en un -- 11.4% y Pentostreptococcus sp. tuvo una frecuencia del 2.8%. Zlatnik (30) encontró que Pentostreptococcus micros colonizaba la cavidad uterina de mujeres que habían sufrido R.M. y se les realizó -- amniocentesis para cultivo de líquido amniótico. Con respecto al -- género Streptococcus generalmente se han aislado Streptococcus -- del Grupo B, según se ha reportado. (1, 4, 9, 16, 19, 20). La -- Fig. 7 presenta a los microorganismos aislados en el Grupo de Estudio y su frecuencia.

La tabla No. 5 nos muestra las variables maternas del Grupo I. En este grupo solamente encontramos pacientes pertenecientes al estudio ($n = 3$). Una paciente del grupo presentó gestación gemelar. La edad promedio del grupo fué 27.3 ± 8.03 años (rango 20 -- 36 años) y un promedio de 3.3 gestaciones. Las tres pacientes recibieron antibioticoterapia; el periodo de latencia fué muy elevado teniendo un promedio de 92.0 ± 63.49 horas (rango 48 - 168 --- horas). Debido a que se presentaron 2 cesáreas se tuvo un promedio de 0.33 tactos vaginales. Se presentaron 66.6% de cultivos positivos, no se desarrolló ningún proceso infeccioso en las pacientes y no hubo muertes maternas.

Las variables de los neonatos del Grupo I se muestran en la tabla No. 6. El grupo constituido por 4 neonatos, debido a que se presentó una gestación gemelar, presentó una edad gestacional promedio de 30.3 ± 2.08 semanas (28 - 32 semanas), 2 neonatos inmaduros y 2 neonatos prematuros. El promedio en peso de los neonatos 1.162 Kg; el promedio del Apgar a un minuto y a 5 minutos fué menor de 6 para el grupo. Los 4 neonatos recibieron antibioticoterapia, el 75% de los cultivos fueron positivos, ninguno de los neonatos desarrolló proceso infeccioso.

En este grupo se presentaron 2 muertes neonatales, los neonatos inmaduros; la causa de la muerte fué inmadurez orgánica generalizada, anemia, síndrome de insuficiencia respiratoria y probable sepsis. Ambos pacientes (la única gestación gemelar) presentaron cultivo positivo de Klebsiella pneumoniae. La bacteria se aisló de los cultivos de aspirado gástrico, secreción conjuntival y placenta.

En la tabla No. 7 se presentan los microorganismos aislados y su frecuencia en el Grupo I. Klebsiella pneumoniae se aisló en un 50%; en 2 pacientes. Un solo paciente desarrolló Klebsiella oxytoca y Candida sp. (25% cada uno). El paciente restante no desarrolló cultivo alguno. La Fig. 8 muestra a los microorganismos aislados en el Grupo I y su frecuencia de aislamiento.

En la tabla No. 8 se muestran las variables maternas del control y del estudio para el Grupo II. Se encuentran diferencias significativas en el número de pacientes que recibieron antibioticoterapia, ya que en el Grupo Control, 2 pacientes tuvieron el tratamiento mientras en el estudio, 13 pacientes recibieron antibiotico terapia en el Periodo de Latencia.

El periodo de latencia en el grupo de estudio presentó un promedio de 36.1 ± 33.02 horas; la desviación estándar es muy grande debido a que el rango es muy amplio 12 - 144 horas. Otra diferencia significativa que se presentó en este grupo fueron las exámenes vaginales que recibieron las pacientes mientras en el control se tuvo como promedio 0.12 tactos vaginales, en el grupo de estudio, se presentó un promedio de 4 exámenes vaginales por paciente. Se presentaron 4 nacimientos prematuros en el Control y 10 en el Estudio; se podría pensar que siendo el Grupo II de 33 - 36-semanas de gestación, todos los nacimientos serían prematuros pero para considerar un nacimiento prematuro el producto debe pesar menos de 2.5 Kg al momento de nacer. También podemos observar en la tabla No. 8 que existe una diferencia significativa en el porcentaje de cultivos positivos en ambos grupos, así pues, en el control se presentó el 12.5% y en el estudio 68.75%. Ninguna madre del grupo desarrolló sepsis ni tampoco hubo defunciones.

En la tabla No. 9 se presentan las variables de los neonatos del control y del estudio para el Grupo II. Se puede ver que entre el control y el estudio existe una diferencia de una semana de edad gestacional en promedio. Así también, se observa que hay aproximadamente 100 grs de diferencia en el peso al nacer entre ambos grupos. Aunque la diferencia en el Apgar a un minuto y 5 minutos, es mínima en ambos grupos, refleja en los neonatos del estudio una salud más delicada.

Se encontraron diferencias significativas entre el control y el estudio con respecto al número de neonatos que recibieron antibioticoterapia y el número de cultivos positivos. Ningún neonato desarrolló sepsis y tampoco se presentaron muertes neonatales en este grupo.

En la tabla No. 10 se muestran los microorganismos y su frecuencia en el Grupo II para el control y el estudio.

En el control se presentó el desarrollo de Pseudomonas aeruginosa en un paciente. Como anteriormente se mencionó debido a que el material de muestreo estaba contaminado; esto mismo sucedió en el material de muestreo del grupo de estudio.

En el grupo de estudio se aislaron bacterias de la familia --Enterobacteriaceae en un 68.75%. Escherichia coli se aisló en el 31.25% de los pacientes; el único cultivo donde no se desarrolló esta bacteria fué en el hemocultivo. Klebsiella oxytoca se aisló en tres pacientes siendo esto el 18.75%. Las anteriores bacterias fueron las más aisladas del grupo. Klebsiella oxytoca se aisló principalmente de las muestras de placenta, cido y conjuntiva.

Candida sp. y Candida albicans también estuvieron presentes en este grupo, se aislaron en un 18.75 y 6.25%, respectivamente, -

aislandose las levaduras principalmente de las muestras de placenta, conjuntiva y exudado cérvico - vaginal.

De la familia Micrococaceae se aislaron Staphylococcus aureus y Gaffkia tetragona; se aislaron con una frecuencia del 12.5% y -- 6.25% respectivamente.

De la familia Streptococaceae se aisló Streptococcus sp. con una frecuencia del 12.5%. La Fig. 9 presenta el porcentaje de aislamiento de los microorganismos presentes en el Grupo II.

Las variables maternas del control y del estudio para el Grupo III se presentan en la tabla No. 11. Las diferencias significativas que se encuentran entre el control y el estudio se observan en antibioticoterapia, periodo de latencia, tactos y cultivos positivos.

En el control ningún paciente recibió antibióticos mientras -- que el 80% de los pacientes del grupo de estudio sí recibieron antibióticoterapia.

El periodo de latencia del estudio tuvo un promedio de 24.4 ± 16.22 horas, al igual que en los grupos anteriores la desviación estándar es muy grande debido a que se tiene un rango muy amplio. (12 - 60 horas). Con respecto a los tactos vaginales las pacientes del control cuando mucho recibieron 2 tactos vaginales, -- aunque hubo pacientes que no fueron examinadas vaginalmente; mientras que en el estudio, las pacientes tuvieron en promedio 4 tactos vaginales; esta diferencia entre ambos grupos se debe a la forma de nacimiento predominante en cada grupo.

En el Grupo III se puede ver, que hubo un incremento en el -- número de cultivos positivos para ambos grupos, siendo más relevante el aumento en el control; mientras que en el control hubo el --

42.85% de cultivos positivos, en el estudio se presentó el 36.6%.

Los neonatos del Grupo III, sus variables se presentan en la tabla No. 12, presentaron un promedio de edad gestacional de 39 semanas tanto para el control como para el estudio. Los neonatos del control, presentaron un promedio de 3.1 Kg de peso al nacer; mientras que los neonatos del estudio tuvieron en promedio en peso de 2.81 Kg, presentándose 5 neonatos prematuros por pesar menos de 2.5 Kg. El 80% de los neonatos del estudio recibieron antibiotico-terapia. Aunque en el control y en el estudio se tuvieron porcentajes elevados de cultivos positivos, no se desarrollaron procesos infecciosos y tampoco se presentaron muertes neonatales.

En la tabla No. 13 se encuentran los microorganismos aislados en el control y estudio del Grupo III.

En el grupo control se aislaron microorganismos altamente patógenos como son Pseudomonas aeruginosa y Staphylococcus aureus. Con una frecuencia del 28.5% y 14.2% respectivamente. En páginas anteriores ya había hablado del Acinetobacter lwoffii.

En el grupo de estudio (n= 15) con una frecuencia del 46.7% fué aislado el Staphylococcus aureus. Las enterobacterias también fueron aisladas en este grupo, siendo la más aislada Escherichia coli y Klebsiella oxytoca ambas con una frecuencia del 33.3%.

S. aureus, E. coli y K. oxytoca se aislaron de todos los cultivos a excepción de hemocultivo.

La familia Pseudomonadacea estaba representada por Pseudomonas sp. y Pseudomonas aeruginosa aisladas con una frecuencia del 13.3% y 6.7% respectivamente; ambas bacterias se aislaron principalmente de cultivo de placenta, cavidad uterina y aspirado gástrico. Candida sp. y Candida albicans fueron aisladas en el 20 y 6.7%

de los casos. Las levaduras únicamente no fueron aisladas en el hemocultivo. Lactobacillus sp. se aisló en el 13.3% de los casos. Lactobacillus sp. se aisló en todas las muestras.

En este grupo de pacientes también se aisló Streptococcus sp. (13.3%) y a los cocos anaerobios Peptococcus sp. y Peptostreptococcus sp. aislados ambos microorganismos en las muestras de la misma paciente (6.7%).

Acinetobacter lwoffii se aisló dentro del grupo de estudio con una frecuencia del 6.7%. La Fig. 10 presenta los porcentajes de aislamiento de los microorganismos encontrados en el Grupo III.

Hace falta aclarar que para poderse referir completamente al análisis microbiológico y a los microorganismos aislados, se tiene que hacer notar que en los resultados obtenidos, no se tomó como cultivo el haber aislado Staphylococcus epidermidis. La frecuencia de aislamiento de este microorganismo fué del 33 y 45.7%, para el control y el estudio respectivamente. S. epidermidis es considerado bacteria perteneciente a la flora normal de la piel y Wals R. (28), en su trabajo realizado, está de acuerdo en considerar a S. epidermidis como habitante normal de la flora vaginal en mujeres sanas; Minkoff (19) al igual que Wals considera a S. epidermidis como normal de la flora vaginal; por lo que no es raro que se haya presentado un porcentaje elevado de aislamiento en este trabajo. Con ésto, no se descarta la posibilidad de que S. epidermidis pueda llegar a cavidad uterina o incluso a tracto gastro-intestinal del producto, pero, no se presentó ningún caso de colonización patógena en el estudio.

Conclusiones:

- 1.- Las pacientes que sufren Ruptura Prematura de las Membranas -- son susceptibles de presentar colonización de la cavidad uterina.
- 2.- La colonización de la cavidad uterina; después de la Ruptura-- Prematura de Membranas, ocurre por contaminación directa a través del orificio cervical; es de forma ascendente, existiendo otras -- vías como la hematógena y de forma descendente a través de las -- Trompas de Falopio.
- 3.- La colonización de la cavidad amniótica se produce cuando la - Ruptura Prematura de Membranas tiene 12 horas o más de evolución;-- dependiendo este tiempo, del número de exámenes vaginales subse-- cuentes seguidos a la RPM.
- 4.- La colonización de la cavidad uterina se ve incrementada en em barazos de término.
- 5.- Generalizando, a mayor número de tactos mayor número de culti vos positivos.
- 6.- La cavidad amniótica es infectada por bacterias aerobias y -- anaerobias y levaduras.
- 7.- Staphylococcus epidermidis no se consideró cultivo positivo -- por ser flora normal de la piel.
- 8.- Los microorganismos patógenos más frecuentemente aislados tan to en la madre como en el neonato fueron: Staphylococcus aureus, - Escherichia coli, Klebsiella oxytoca, Candida sp. y Klebsiella -- pneumoniae.
- 9.- La administración de antibióticos; a la madre y el neonato, -- evitó que se desarrollaran casos de sepsis materno - neonatal.

Anexo

Puntuación Apgar:

Una ayuda útil en la evaluación del niño es el sistema de -- puntuación de Apgar aplicado a 1 min después del nacimiento y de -- nuevo 5 minutos después. En general, cuanto más alto sea la puntuación hasta un máximo de 10, mejor es el estado del niño. La puntuación de Apgar en el primer minuto determina la necesidad de una -- reanimación inmediata. La mayoría de los niños están en estado excelente, como indican unas puntuaciones de Apgar de 7 a 10 y quizá no necesitan otra ayuda que la simple succión nasofaríngea. Los niños ligera a moderadamente deprimidos tienen unas puntuaciones -- de 4 a 7 en el primer minuto, y muestran respiración deprimida, -- flacidez y color pálido a cianótico. Sin embargo, la frecuencia -- cardíaca y la irritabilidad refleja son buenas. Los niños grave--- mente deprimidos tienen una puntuación de 0 a 4 con una frecuencia cardíaca retrasada a inaudible y una respuesta refleja deprimida -- a ausente. La reanimación que incluye la ventilación artificial, -- debe empezarse inmediatamente. El coeficiente de Apgar a los 5 min después de nacer tiene una relación directa con la mortalidad y -- morbilidad.

Sistema de Puntuación Apgar

Signo	0	1	2
Frecuencia cardíaca	Ausente	Lenta (debajo de 100)	Superior a 100
Esfuerzo respiratorio	Ausente	Lento, irregular	Suficiente llanto
Tono muscular	Flácido	Alguna flexión de las extremidades	movimientos
Irritabilidad refleja	Falta respuesta	Llanto débil	Llanto vigoroso
Color	Azul, pálido	Cuerpo color rosado extremidades azules	Totalmente rosado

Anexo I

Medios de Cultivo

1) Agar Biggy (Agar Nickerson)

Para aislamiento e identificación de Candida

Fórmula aproximada en gramos por litro

Citrato de Amonio y Bismuto	5.0
Sulfito de Sodio	3.0
Dextrosa	10.0
Glicina	10.0
Extracto de levadura	1.0
Agar	16.0

Suspender 45 g del medio deshidratado en un litro de agua des--
tilada. Remojar de 10 a 15 minutos. Calentar agitando frecuente
mente y hervir durante no más de un minuto. Dejar enfriar a 45-
50°C. Homogenizar y vaciar en cajas de petri estériles o
en tubos estériles.

2) Agar Chocolate

Aislamiento, cultivo de gérmenes difíciles, medio enriquecido

Fórmula aproximada en gramos por litro

Infusión de Músculo Cardíaco	375.0
Peptona de Carne	10.0
Agar	15.0
Cloruro de Sodio	5.0

Suspender 40g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Remojar entre 5 y 10 minutos. Hervir durante un minuto. Esterilizar a 121°C (15 lb de presión) durante 15 minutos. Cuando el medio esté a unos 80°C agregar con medidas de esterilidad 50 ml de sangre de carnero desfibrinada, calentar un poco hasta que toda la sangre se haya hemolizado. Enfriar a 50°C y vaciar en cajas de Petri estériles.

Agar Chocolate con polienriquecimiento

Preparar de manera idéntica a Agar Chocolate, cuando está a 45 - - 50°C se agrega con medidas de esterilidad 10 ml de polienriquecimiento hidratado con agua estéril.

Polienriquecimiento, Fórmula aproximada en gramos por litro

Vitamina B - 12	1.....	0.010
L - Glutamina		10.000
Adenina	2.....	1.000
Clorhidrato de Guanina		0.030
Acido p - aminobenzoico		0.013
L - Cistina		1.100
Glucosa		100.000
Nucleótido de difosfopiridina oxidada		0.250
Cocarboxilasa		0.100
Nitrato Férrico		0.020
Clorhidrato de Tiamina		0.003
Clorhidrato de Cistina		25.900

3) Agar de Eosina y Azul de Metileno

Para el aislamiento y diferenciación de coliformes de otras - enterobacterias.

Formula en gramos por litro

Peptona de gelatina	10.000
Lactosa	5.000
Sacarosa	5.000
Fosfato dipotásico	2.000
Eosina Y	0.400
Azul de metileno	0.065
Agar	13.5

Suspender 36 g del polvo en un litro de agua destilada. Mezclar y remojar unos 10 minutos para que se hidrate correctamente. - Calentar agitando, hervir un minuto. Esterilizar en autoclave a 15 lb de presión durante 15 minutos. Dejar enfriar a 50°C. - Agitar suavemente hasta uniformisar y vaciar en cajas de Petri estériles.

4) Agar de Lombard-Dowell

Para la identificación presuntiva de microorganismos anaerobios

Fórmula en gramos por litro

Tripticasa	5.0
Extracto de levadura	5.0
Cloruro de sodio	2.5
Sulfito de sodio	0.1
L-Triptofano	0.2

Agar de Lombard -Dowell (cont.)

Vitamina K ₁ (3-fetil manadiona)	0.01
Agar	20.0
L-Cistina +	0.4
Hemina +	0.01

+ Disolver la L-Cistina y la Hemina en 5 ml de NaOH 1N antes de agregar al medio.

Mezclar las cantidades anteriormente mencionadas. Disolver en 1000 ml de agua destilada. Adicionar la Solución de L-Cistina y Hemina, mezclar. Esterilizar el medio a 121°C por 15 minutos y a 15 lb de presión. Enfriar a 50°C y vaciar en cajas de Petri estériles.

5) Agar de Lombard-Dowell con Bilis

Para la identificación presuntiva de microorganismos anaerobios

Para prepararlo se utiliza la Base de Lombard-Dowell suplementada con 20g de Oxgall, 1g de glucosa.

Preparación de forma similar a Agar base de Lombard-Dowell.

6) Agar de Lombard-Dowell con Esculina

Para la identificación presuntiva de microorganismos anaerobios

Para prepararlo se utiliza la Base de Lombard-Dowell suplementada con Esculina 1g, Citrato férrico 0.5g y para su disolución un litro de agua bidestilada.

6) Agar de Lombard-Dowell con esculina (Cont.)

Para su preparación se hace de forma similar a el medio base de Lombard-Dowell.

7) Agar de Lombard-Dowell con Yema de huevo

Para la identificación presuntiva de microorganismos anaerobios

La preparación de este medio se utiliza la misma Base de Lombard-Dowell suplementada con 2.0g de glucosa, 5g de Fosfato di sódico, 0.2 ml de Sulfato de Magnesio al 5% en 900 ml de agua. Esterilizar a 121°C 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 cajas de Petri.

8) Agar Mac Conkey

Aislamiento e identificación selectiva de enterobacterias, coli formes a partir de diversas muestras.

Fórmula en gramos por litro

Peptona de Gelatina	17.0
Mezcla de Peptonas	3.0
Lactosa	10.0
Mezcla de sales biliares	1.5
Cloruro de Sodio	5.0
Agar	13.5
Rojo Neutro	0.03
Cristal Violeta	0.001

8) Agar Mac Conkey (cont.)

Suspender 50 g del medio en un litro de agua destilada. Hidratar 10 a 15 minutos y calentar a ebullición agitando continuamente. Hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a -- 121°C (15 lb) durante 15 minutos. Enfriar a 45-50°C y vaciar en cajas de Petri estériles.

9) Agar Muller-Hinton

Pruebas de sensibilidad a antibióticos y cultivo de *Neisseria*
Fórmula en gramos por litro

Infusión de Carne de Res	300.00
Peptona de Caseína Ácida	17.50
Almidón	1.50
Agar	17.00

Suspender 38g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Remojar de 10 a 15 minutos. Mezclar bien agitando frecuentemente. Hervir durante un minuto y esterilizar a 121°C -- (15 lb) por un tiempo no mayor de 15 minutos. Enfriar a 40-- 45°C y vaciar en cajas de Petri estériles.

10) Agar New York City

Utilizando la Base de Agar de Cassman; medio enriquecido para el cultivo de *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*, - *Haemophilus vaginalis* y estreptococos patógenos

10) Agar New York City (cont.)

Fórmula aproximada

Nicotinamida	0.05
Mezcla de Peptonas	10.0
Peptona Biotriptasa	10.0
Extracto de Carne	3.0
Acido p-amino Benzoico	0.05
Dextrosa	0.5
Almidón de Maíz	1.0
Cloruro de Sodio	5.0
Agar	13.50

Suspender 43 g del polvo deshidratado en un litro de agua destilada de buena calidad, dejar hidratar entre 10-15 minutos. - Calentar agitando continuamente y hervir por un minuto. Esterilizar en autoclave a 15 libras de presión por 15 minutos. Cuando se haya enfriado a unos 75-80°C adicionar de forma estéril-50 ml de sangre desfibrinada de carnero. Enfriar a 45-50°C y a adicionar 10 ml de Polienriquecimiento (mencionado en Agar Chocolatá) y 10 ml de inhibidor V.C.N.T., LA ADICION DE ESTOS INGREDIENTES EN CON MEDIDAS DE ESTERILIDAD.

Vaciar en cajas de Petri estériles.

El Inhibidor V.C.N.T. contiene por ml.

Vancomicina 330 mcg

Colistin 740 mcg

Nistatina 1250 unidades

Trimetropin 500 mcg

11) Agar y caldo para hemocultivo Ruiz Castañeda

Medio difásico para Hemocultivo

Fórmula en gramos por litro

A. Agar inclinado en Botella

Agar Soya tripticasa	40.0
Agar Granulado	15.0
Agua destilada	1000 ml

Calentar en autoclave a 121°C durante 5 minutos hasta disolver el agar.

B. Caldo

Caldo Soya Tripticasa	30.0
Sulfonato Polianetol Sódico.....	5 ml
(Solución estéril al 5%)	
Agua Destilada	1000 ml

Añadir 20 ml de medio de agar (A) en botellas limpias y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. El caldo se esteriliza en un matraz a 121°C por 15 minutos.

Las botellas se colocan horizontalmente hasta que el agar solidifique. Después agregar 30 ml. de caldo a cada botella y tapar con tapones previamente esterilizados.

12) Agar Sabouraud

Cultivo y conservación de hongos

Fórmula en gramos por litro

Mezcla de peptónas	10.0
Dextrosa	40.0
Agar	15.0

Suspender 65 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Hidratar de 10-15 minutos. Mezclar hasta que se obtenga una suspensión uniforme. Calentar agitando frecuentemente y hervir por un minuto. Distribuir y esterilizar a 121°C (15 lb de presión) durante 15 minutos.

13) Agar Sal y Manitol

Aislamiento de estafilococos

Fórmula en gramos por litro.

Extracto de Carne	1.0
Mezcla de peptonas	10.0
Cloruro de Sodio	75.0
D-Manitol	10.0
Agar	15.0
Rojo de Fenol	0.025

Suspender 111 g del medio en un litro de agua destilada y remover unos 15 minutos. Mezclar bien y calentar a ebullición durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 lb de presión) durante 15 minutos. Vaciar en cajas de Petri esterilizadas previamente.

14) Agar para Salmonella y Shigella

Aislamiento de enterobacterias patógenas.

Fórmula en gramos por litro

Extracto de Carne	5.0
Mezcla de Peptonas	5.0
Lactosa	10.0
Mezcla de Sales Biliares	8.5
Citrato de Sodio	8.5
Tiosulfato de Sodio	8.5
Citrato Férrico	1.0
Agar	13.5
Rojo Neutro	0.025
Verde Brillante	0.330

Suspender 60 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Hidratar 15 minutos. Agitar para obtener una suspensión homogénea calentar con agitación frecuente y hervir durante un minuto. No deberá esterilizarse en autoclave. Verter en placas.

15) Agar Sangre

Aislamiento, cultivo y actividad hemolítica de gérmenes difíciles. Medio enriquecido.

Fórmula en gramos por litro

Infusión de Músculo Cardíaco	375
Peptona de carne	10
Agar	15
Cloruro de Sodio	5

15) Agar Sangre (cont.)

Suspender 40 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Hidratar por 10 minutos. Hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 lb de presión) durante 15 minutos. Después de esto enfriar a 45-50°C y añadir 50 ml de sangre desfibrinada, con medidas de esterilidad, homogenizar y vaciar en cajas de Petri estériles.

16) Agar Sangre Base alcohol Feniletílico

Agar selectivo para aislar microorganismos Gram positivos tanto aerobios como anaerobios.

Fórmula en gramos por litro

Peptona de Tripticasa	15.0
Peptona Phytone	5.0
Cloruro de Sodio	5.0
Alcohol beta-feniletílico	2.5
Agar	15.0

Se suspenden 42.5 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Mezclase bien. Se calienta agitando frecuentemente y se hierve durante 1 minuto. Esterilícese a 121°C (15 lb de presión) durante 15 minutos. Enfríese a 45 - 50°C y adiciónese 50 ml de sangre de carnero desfibrinada, homogenícese y distribuyase en cajas de Petri estériles.

17) Agar Sangre con azida

Aislamiento selectivo de estreptococos

Fórmula en gramos por litro

Mezcla de peptonas	10.0
Extracto de Carne	3.0
Cloruro de Sodio	5.0
Azida de Sodio	0.2
Agar	15.0

Suspender 33 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Mezclar bien. Hidrate de 5-10 minutos. Cuando se obtenga una suspensión uniforme calentar agitando frecuentemente y hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C (- 15 lb de presión) durante 15 minutos. Enfriar a $45-50^{\circ}\text{C}$ y con medidas de esterilidad adicionar 50 ml de sangre desfibrinada de carnero, homogenizar y vaciar a cajas de Petri estériles.

18) Agar Sangre Hemina-Menadiona

Para el aislamiento primario microorganismos anaerobios

Fórmula en gramos por litro. (Base Agar Soya Trypticase)

Peptona Trypticase	15
Peptona Phytone	5
Cloruro de sodio	5
Agar	15
Extracto de Levadura	5

Se suspenden 40 g del polvo en un litro de agua destilada. Mezcle bien. Ajuste el pH 7.3-7.5. Caliente ajustando la homogenización hierva por un minuto. Esterilice a 121° por 15 minutos.

18) Agar Sangre Hemina-Menadiona (cont.)

Enfriar a 48°C. Agregar sangre de carnero desfibrinada (50 ml)
Añadir 10ml de solución de trabajo Hemina-Menadiona. Mezclar -
y vaciar en placas.

Solución de Hemina-Menadiona para enriquecimiento de medios de
cultivo.

Solución madre de Hemina

Disolver 50 mg de hemina en 1 ml de NaOH 1N. Añadir 100 ml de
agua destilada. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos.

Solución madre de Menadiona o Vit.K

Menadiona 100mg

Alcohol etílico de 95° 20ml

Esterilizar por filtración

Solución de trabajo

Añadir 1ml de solución estéril de menadiona a 100 ml de solu--
ción estéril de hemina. Guardar en un frasco obscuro, se emple
1 ml por cada 100 ml de medio.

Agar Sangre Hemina-Menadiona Gentamicina o Kanamicina

Medio de cultivo para primo aislamiento de microorganismos
anaerobios.

Para la preparación de este medio se utiliza la misma base Ge-
losa Sangre Hemina-Menadiona adicionada de Kanamicina 10 mg pa
ra 100 ml de medio base.

19) Agar Staph-110

Medio selectivo para aislamiento de estafilococos

Fórmula en gramos por litro

Extracto de Levadura	2.5
Peptona de Caseína	10.0
Gelatina	30.0
Lactosa	2.0
D-Manitol	10.0
Cloruro de Sodio	75.0
Fosfato dipotásico	5.0
Agar	15.0

Suspender 149 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Hidratar 10 minutos. Homogenizar y calentar agitando frecuentemente. Hervir durante 1 minuto. Esterilizar a 15 lb - por 15 minutos. Una vez esterilizado homogenizar y vaciar en cajas de Petri.

20) Agar Thayer Martin

Diseñada especialmente para aislar Neisserias patógenas, gonococo, meningococo.

Fórmula en gramos por litro

Mezcla de Peptonas	15
Almidón de Maíz	1
Fosfato dipotásico	4
Fosfato monopotásico	1
Cloruro de Sodio	5
Agar	10

20) Agar Thayer Martin (Cont.)

Suspender 72 gramos del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Mezclarla y dejar en reposo de 10-15 minutos. Calentar agitando con frecuencia y hervir aproximadamente durante un minuto. Al mismo tiempo en otro matraz suspender y disolver 20 g de hemoglobina en un litro de agua. Esterilizar ambos preparados (la base y la suspensión uniforme de hemoglobina) en el autoclave a 121°C durante 15 minutos. Enfriar ambas soluciones a 50°C. Vaciar la hemoglobina a la base y mezclar bien. Agregar al producto achocolatado 10 ml de mezcla antimicrobiana VCB mas 10 ml de solución de polienriquecimiento. Mezclar perfectamente y vaciar en cajas de Petri estériles.

21) Caldo Infusión Cerebro Corazón

Cultivo y transporte de gérmenes. Medio enriquecido.

Fórmula aproximada en gramos por litro

Infusión de Cerebro de Ternera	200.0
Infusión de Corazón de Res	250.0
Peptona de gelatina	10.0
Dextrosa	2.0
Cloruro de Sodio	5.0
Fosfato de Sodio	2.5

Suspender 37 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada y calentar ligeramente. Se esteriliza a 121°C (15 lb - de presión) durante 15 minutos.

22) Caldo Peptona enriquecido para Hemocultivo
Para Hemocultivo. B-D

Fórmula en gramos por litro

Gelatina	12.0
Extracto de Levadura	9.4
Digerido triptico de Cascina ..	4.7
Hidrolizado enzimático	
de Carne	4.7
Cloruro de Sodio	4.0
Dextrosa	2.5
Bicarbonato de Sodio	2.2
L-Cisteína HCl	0.26
Polianetol Sulfonato de Sodio .	0.25
Sulfato de magnesio	0.2
Fosfato de Sodio	0.14
Glutamina	0.10
Acido p-aminobenzóico	0.05
Prolina	0.05
Sulfato de adenina	0.01
Hemina	0.005
Dinucleótido de Adenina	
Nicotinamida(Oxidado)	0.0025
Coccarboxilasa	0.0003
Guanina HCl	0.0003
Bisulfito Sódico de Menediona .	0.0002
Vitamina B 12	0.0001

- 23) Caldo tioglicolato con dextrosa e indicador
Para aislamiento y transporte de anaerobios.

Fórmula en gramos por litro

Peptona de Caseína	15.0
L-Cistina	0.5
Dextrosa anhidra	5.0
Extracto de levadura	5.0
Cloruro de Sodio	2.5
Tioglicolato de Sodio	0.5
Resosurina	0.001
Agar	0.750

Suspender 29,5 g del medio deshidratado en un litro de agua --
destilada; Agitar y calentar con frecuencia hasta disolver. Dis-
tribuir en tubos de tapón de rosca. Esterilizar a 121°C (15 lb
de presión) durante 15 minutos. Enfriar y guardar a temperatu-
ra ambiente en un lugar protegido de la luz.

- 24) Caldo tioglicolato enriquecido

Para aislamiento de microorganismos anaerobios.

Al caldo tioglicolato con dextrosa e indicador agregar 5 ug
de hemina, Vitamina K 0.1 mg/ ml. Este medio se distribuye en
cantidades de 8 ml en tubos con tapón de rosca. Se esteriliza-
a 121°C durante 15 minutos. El medio se debe de hervir antes -
de usarlo y almacenar a temperatura ambiente en la obscuridad-
+ Base de 100 ml de medio.

25) Caldo Tioglicolato sin dextrosa e indicador

Para cultivar m.o. anaerobios y practicar pruebas de fermentación.

Fórmula por litro en gramos

Peptona de Caseína	20.00
Cloruro de Sodio	2.5
Fosfato dipotásico	1.5
Tioglicolato de Sodio	0.60
L-Cistina	0.40
Sulfito de Sodio	0.20
Agar	0.50

Suspender 25.7 g del medio en polvo en un litro de agua destilada. Remojar de 5 a 10 minutos. Agitar con frecuencia y calentar hasta que el medio hierva un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos. Guardarlo a la obscuridad y no se refrigerere.

A II

Pruebas Bioquímicas
Preparación e Interpretación

I) Citrato de Simons

Prueba de utilización de citrato

Pórmula en gramos por litro

Fosfato dihidrogenado de Amonio	1.00
Fosfato dipotásico	1.00
Cloruro de Sodio	5.00
Citrato de Sodio	2.00
Sulfato de Magnesio	0.20
Agar	15.00
Azul de Brontimol	0.08

Suspender 24.4 g del medio deshidratado en un litro de agua -- destilada. Dejar hidratar por 5 - 10 minutos. Mezclar bien y - calentar agitando frecuentemente hasta ebullición y completar su disolución. Distribuir volúmenes de 3 ml en tubos 13 x 100. Esterilizar a 121°C (15 lb de presión) durante 15 minutos. - Deje enfriar en posición inclinada.

Solamente aquellos organismos que sean capaces de utilizar el fosfato de amonio como única fuente de nitrógeno y el citrato de sodio como única fuente de carbono, podrán crecer - en este medio. El azul de bromotimol se incorpora aquí para - ayudar a la lectura de los rápidos crecedores y cambiará del - verde al azul cuando descienda el pH. Debe notarse sin embargo que la reacción positiva del citrato se registrará siempre que exista crecimiento sobre este medio, sin que importe el color de la reacción.

ESTA YESO DE DECS
CALIB. NO. LA BIOLÓGICA

II) Agar de Fenilalanina

Identificación de m.o. por su capacidad de transformar la fenilalanina, por su desaminación oxidativa, en ácido fenilpirúvico.

Fórmula en gramos por litro.

D-L Fenilalanina	2.0
Extracto de levadura	3.0
Cloruro de Sodio	5.0
Fosfato de Sodio	1.0
Agar	12.0

Suspender 23 g de polvo en un litro de agua destilada. Hidratar de 10 a 15 minutos. Calentar a ebullición agitando frecuentemente hasta que se disuelva el medio. Envasar en tubos de ensayo y esterilizar en autoclave a 15 lb de presión durante 10 minutos. Solidificar en posición inclinada.

La fenilalanina es un aminoácido que por desaminación forma un cetoácido, el ácido fenilpirúvico. La prueba se basa en la detección de ácido fenilpirúvico en el medio, tras el desarrollo del organismo. La prueba es positiva si aparece un color verde visible de una solución de cloruro férrico al 10 %. La inmediata aparición de un color verde intenso indica la presencia de ácido fenilpirúvico y una prueba positiva.

III) Agar de Hierro de Kligler

El Agar de hierro de Kligler es un medio para diferenciar bacilos entéricos Gram negativos en una forma similar Agar de Hierro de Triple Azúcar (TSI) y se basa en las mismas propiedades de fermentar la glucosa y lactosa junto con la formación de sulfuros.

Fórmula en gramos por litro

Mezcla de peptonas	20.0
Lactosa	10.0
Dextrosa	1.0
Cloruro de Sodio	5.0
Citrato de Amonio Férrico	0.5
Tiosulfato de Sodio	0.5
Agar	15.0
Rojo de Fenol	0.025
Sulfato ferroso	0.200

Suspender 52 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Hidratar por 10 minutos. Mezclar bien, Calentar agitando frecuentemente hasta ebullición. Distribuir volúmenes de 3-ml en tubos 13 x 100. Esterilizar a 121°C (15 lb) por 15'. - Los tubos se deben enfriar en posición inclinada, dejando un botón de aproximadamente 1 cm.

El sulfato ferroso es detector de H_2S , lo cual al aparecer H_2S se formará un ppt. negro en el medio. El indicador Rojo de Fenol es amarillo a un pH menor de 6.0. La producción de pequeñas cantidades de ácido provocarán un cambio visible de color.

- A) No fermentador: Pico y fondo alcalinos, H_2S
- B) No fermentador de Lactosa: Pico y fondo ácidos reacción inicial; Pico alcalino y fondo ácido reacción tardía.
- C) Fermentador de Lactosa (Sacarosa): Pico y fondo ácidos.

IV) Agar de Hierro y Lisina

Para la diferenciación temprana de Salmonella y Arizona de Citrobacter. Basado en la descarboxilación de la lisina, formación de sulfuros y fermentación de glucosa. También se puede detectar la desaminación del amino del amino - ácido Lisina.

Fórmula aproximada en gramos por litro

Peptona de gelatina	5.00
Extracto de levadura	3.00
Dextrosa	1.00
L - Lisina	10.00
Citrato de Amonio Férrico	0.50
Tiosulfato de Sodio	0.04
Purpura de Bromocresol	0.02
Agar	13.50
Rojo de Cresol	0.01

Suspender 33g del medio en un litro de agua e hidratar por 10 minutos. Calentar agitando con frecuencia y hervir durante 1'. Distribuir en tubos de 13 x 100. Esterilizar a 121°C, 15 lb de presión, por 12 minutos. Enfriar en posición inclinada.

- A) Cambio a púrpura azulado = (+) Descarboxilación
- B) Cambio a rojo = (+) Desaminación
- C) Cambio amarillo = (+) Fermentación de Glucosa
- D) Ennegrecimiento = (+) H₂S

La descarboxilación de la Lisina da como resultado la Cadaverina, amina de reacción alcalina.

V) Caldo Rojo de Fenol con Carbohidratos

Para estudios de fermentación de carbohidratos por bacterias

Fórmula en gramos por litro

Peptona de caseína	10.0
Cloruro de sodio	5.0
Carbohidratos	5.0
Rojo de Fenol	0.018

Disolver 20 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Esterilizar de 116 a 118^oC (no más de 12 lb de presión) durante 15 minutos. Evitar sobrecalentar.

La adición de los carbohidratos es generalmente al 0.5% y los más empleados son: Lactosa, Maltosa, Manitol y Sacarosa.

El indicador Rojo de Fenol es amarillo a un pH menor de -- 6.8. La producción de pequeñas cantidades de ácido provocarán - cambio visible de color rojo a amarillo.

VI) Caldo Urea

Para la diferenciación de enterobacterias

Fórmula en gramos por litro

Urea	20.00
Fosfato monopotásico	9.10
Fosfato de sodio	9.50
Extracto de levadura	0.10
Rojo de fenol	0.01

VI) Caldo Urea (cont.)

Disolver 3.37g del medio deshidratado en 100 ml de agua destilada sin calentar cuando el polvo se haya disuelto, pasar a través de un filtro bacteriológico estéril. Distribuir en tubos estériles en cantidades de 0.5 a 2 ml. Se puede esterilizar el medio en autoclave a 8 lb de presión durante 20 minutos.

La ureasa es una enzima que poseen muchas especies de microorganismos que pueden hidrolizar urea, de acuerdo a esto, la Urea en sol. acuosa y por actividad de la ureasa será desdoblada en bioxido de carbono, agua y amoniaco el cual formará carbonato de amonio, produciéndose una alcalinización y un aumento en el pH del medio. Debido a la alcalinización y a la hidrólisis de la Urea se apreciará un color rojo en todo el -

VII) Medio Basal O/F Hugh - Leifson

Para identificar a los m.o. no fermentadores de importancia médica y sanitaria

Fórmula en gramos por litro

Peptona de Caseína	2.0
Cloruro de sodio	5.0
Fosfato dipotásico	0.30
Agar	2.5
Azul de bromotimol	0.03

Suspender 9.8 g del polvo en un litro de agua destilada. Hidratar de 10 a 15 minutos. Calentar agitando con frecuencia

VII) Medio Basal O/F Hugh-Leifson (cont.)

hasta disolución del material. Esterilizar en autoclave a -- 15 lb durante 15 minutos. Agregar 10 ml de solución de glucosa al 10% esterilizada por filtración (o el azúcar apropiado) por cada 100 ml del medio fluido. Mezclar y distribuir asepticamente a razón de 5 ml por tubo. Se inoculan dos tubos, una vez inoculados con la cepa problema, a uno de los tubos se le pone una capa de 4 ó 5 mm de petrolato, aceite de parafina o vaspar estériles. Los tubos se incuban a 37°C. por 48 hrs.

Para su interpretación se utiliza como tubo control medio - sin inocular.

- A) Tubo con medio sin inocular: Color verde
- B) Tubo Abierto inoculado: Amarillo (positivo) oxidación
- C) Tubo Abierto inoculado: verde (negativo)
- D) Tubo Sellado inoculado: amarillo (positivo) Fermentación
- E) Tubo Sellado inoculado: verde (negativo)
- F) Tubos Abierto y Sellado inoculados: Amarillos Oxid. y Ferm.

VIII) Medio MIO

Para la identificación de enterobacterias, basada en la decarboxilación de la Ornitina con la formación de la Putrescina, amina de reacción alcalina.

Fórmula en gramos por litro.

Extracto de levadura	3.0
Peptona de gelatina	10.0
Peptona de Caseína	10.0
L-Ornitina	5.0

VIII) Medio MIO (cont.)

Dextrosa	1.0
Agar	2.0
Púrpura de Bromocresol	0.02

Disolver 31 g del medio en un litro de agua. Hidratar por 5- minutos. Calentar hasta ebullición. Distribuir y esterilizar en autoclave a 121°C (15 lb de presión) durante 15 minutos.

El desarrollo de un color amarillo en el tubo indica que el organismo es viable y que el pH del medio ha disminuido lo suficiente para activar las descarboxilasas. El retorno al color azul púrpura del tubo que contiene el aminoácido indica una reacción positiva debida a la liberación de aminos por - descarboxilación.

- A) Turbiedad del medio o crecimiento extendido a partir de - la línea de inoculación, Movilidad (+)
- B) Color púrpura del medio, Ornitina descarboxilasa (+)
- C) Color amarillo en el fondo, que puede ser púrpura al final, ornitina descarboxilasa negativa
- D) Aparición de color rojo al agregar el reactivo de Kovac, Indol (+)
- E) Ningún cambio al agregar el reactivo de Kovac, Indol (-)

IX) Medio SIM

Para la diferenciación e identificación de enterobacterias

Fórmula en gramos por litro

Peptona de Caseína	20.0
Peptona de Carne	6.1
Sulfato de Hierro y Amonio	0.2
Tiosulfato de Sodio	0.2
Agar	3.5

Suspender 30 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada, agitando frecuentemente. Hidratar 10 minutos y hervir a ebullición por un minuto; distribuir en tubos de ensayo a una altura de 4 cm y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

A) El medio contiene como fuente de azufre al Tiosulfato de Sodio, que por acción enzimática del m.o. se puede liberar el azufre como ion sulfuro que por acoplación de un hidrógeno (H^+) formará H_2S , que será detectado este compuesto por el Sulfato de Hierro y Amonio que tiene el medio por la formación de Sulfuro de hierro el cual dará un ppt negro.

B) Los microorganismos que tienen movilidad debida a flagelos, puede ser observada esta característica del m.o. en este medio ya que contiene menos del 0.4% de agar lo cual permite la libre diseminación de m. o. a partir de la zona de inoculación la aparición de turbiedad en el medio indicará motilidad (+).

C) La prueba del Índol indica la capacidad de un m.o. de desdoblar el Indol de la molécula de triptófano. Cuando existe Indol este se combina con el aldehído existente en el reactivo de --

IX) Medio SIM (cont.)

reactivo de Kovacs o Erlich para dar color rojo, debido a una condensación y formación de un desdoblamiento ácido de la proteína. El color rojo aparece en la capa alcoholica debido a -- que el complejo de color es soluble en alcohol.

Color rojo Indol (+)

Color amarillo Indol (-)

X) Medio de tioglicolato sin dextrosa e indicador.

Medio base para la fermentación de carbohidratos por m.o. ---- anaerobios.

Se emplea como base el Caldo Tioglicolato sin dextrosa e -- indicador (descrito en el A I), más:

Extracto de Levadura 2g

Azúl de bromotimol sol. aq. al 1% 1 ml

A. Glucosa

Agregar 6 g de glucosa a 1000 ml de base ántes de distribuir lo en tubos con tapón de rosca y esterilizarlo.

B. Este método se emplea para: Arabinosa, Glicerol, Lactosa, -- Manitol, Ramnosa, Sacarosa, Trehalosa y Kilosa. Preparar --- una solución acuosa al 10% de cada carbohidrato. Esterilizar por filtración. Agregar 0.5 ml a cada tubo que tenga 8 ml -- de base tioglicolato estéril.

Los tubos se inoculan con la cepa problema, se incuban en anaerobiosis a 37°C por 48 hrs. Después de los cual se agrega la -- solución de azúl de bromotimol como indicador de la fermenta-- ción.

X) Para la Salicina

Agregar 1 ml de solución acuosa de salicina al 5%, esterilizada por filtración, a tubos conteniendo 8 ml de medio base -- de tioglicolato estéril.

Al agregar la solución de Azul de Bromotimol al 1% la observación de un color amarillo o naranja, será una prueba positiva.

XI) Medio Indol - Nitrato

Para la identificación confirmativa de m.o. anaerobios.

Fórmula en gramos por litro.

Peptona de Caseína	20.0
Fosfato Disódico	2.0
Dextrosa	1.0
Nitrato de Potasio	1.0
Agar	1.0

Suspender 25 g del polvo en un litro de agua destilada. Calentar agitando continuamente y hervir durante más o menos 1 minuto. Envasar en tubos de ensaye hasta la mitad de su altura y esterilizar en autoclave a 15 libras por 15 minutos.

El medio está basado en la producción de Indol a partir de -- de las peptonas y en la reducción de Nitratos a Nitritos.

Producción de Indol.- Tomar una parte del caldo indol y agregar 0.5 ml de xilol y 0.5 ml de reactivo de Erlich. Prueba -- positiva aparición de un color rojo.

Producción de Nitritos.- A la otra porción del medio agregar 0.5 ml de ácido sulfanílico, más 0.3 ml de alfa-dimetil-naftilamina. Prueba positiva aparición de color rojo.

XI) Medio Indol-Nitrato

Si no se observa color agregar polvo de zinc, si el medio continua igual se debe tomar como prueba positiva de nitratos. - Si por el contrario pasa a rojo, esto indica que no ha habido reducci3n, o sea que la prueba es negativa.

XII) Medio de Esculina

Para la identificaci3n confirmativa de m.o. anaerobios.

F3rmula en gramos por litro

Caldo de infusi3n corazón	25g
Esculina	1
Agar	1

Disolver los polvos en un litro de agua destilada. Caliente hasta su completa disoluci3n. Distribuyase en tubos con tap3n de rosca. Esterilizar a 121°C por 15 minutos.

La hidr3lisis de la esculina ser3 verificada si al agregar al medio inoculado 0.5 ml de citrato f3rrico de amonio al 1% aparece un color caf3 oscuro.

XIII) Leche de Hierro

Para la identificaci3n confirmatoria de m.o. anaerobios

F3rmula por tubo

Leche entera	8 ml
Limadura de hierro	0.250 g

Poner en el fondo del tubo limadura de hierro. Agregar 8 ml de leche entera. Esterilizar a 113°C por 20 minutos, 8 lb. La adici3n previa de azul de metileno a la f3rmula es muy importante, la concentraci3n es al 1%.

XIII) Leche de Hierro

La reducción del azul de metileno, tubo incoloro es una Reac-
ción positiva. Otros microorganismos producen fermentación -
de la leche.

XIV) Licuefacción de la Gelatina

Para la identificación confirmativa de m. o. anaerobios.

Formula en granos por litro

Casitona	15.5
Extracto de levadura	5.0
Dextrosa	2.0
Cloruro de Sodio	2.5
L-Cistina	0.25
Sulfito de Sodio	0.1
Acido tioglicólico	0.3 ml
Agar	0.75
Gelatina	50.0

Pesar exactamente la cantidad según las indicaciones. Rehi-
dratar con un litro de agua destilada. Calentar suavemente -
hasta su disolución. Distribuir en tubos de tapón de rosca -
4 o 5 ml. Esterilizar en autoclave a 121°C, 15 lb, 15 min.
Enfriar en posición vertical.

La capacidad que tiene un m.o. de producir enzimas proteolít-
icas (proteinasas, gelatinasas) hacen que se licue la ge-
latina.

Si el medio fué incubado a 37°C se debe enfriar previamente-
a la lectura. Medio licuado (+). Medio sólido (-)

IV) Prueba de la catalasa

Para comprobar la presencia de la catalasa

La catalasa es una enzima que algunas bacterias cuentan con ella, para la degradación del peróxido de hidrógeno proveniente del metabolismo.

Con una aguja de inoculación recoger el centro de una colonia pura de 18 - 24 hrs y colocar sobre un porta objetos limpios. Agragar una gota de peróxido de hidrógeno al 3%. La formación de burbujas bien visibles por formación de oxígeno es una prueba positiva.

XVI) Oxidasa, Prueba de la

La prueba de la citocromo oxidasa es una prueba que sirve para el screening de colonias sospechosas de ser enterobacterias (todas negativas) y para la identificación de colonias que se presume sean especies de Pseudomonas; Neisseria (positivas). 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. El sistema citocromo se encuentra en los organismos aeróbicos o anaerobios facultativos, de modo que la prueba de oxidasa es importante para identificar a aquellos organismos que carecen de la enzima o son anaerobios estrictos. La prueba utiliza ciertos reactivos y colorantes, como el diclorhidrato de p-fenilendiamina, que actúa como aceptor artificial de electrones, sustituyendo al oxígeno. La p-fenilendiamina es incolora en estado reducido, pero en presencia de la citocromo oxidasa y oxígeno atmosférico se oxida formando azul de indofenol.

XVI) Prueba de la Oxidasa (cont.)

Se prepara una solución de diclorhidrato de dimetil-p-fenilendiamina al 2%, en una caja de Petri se coloca una rueda de papel filtro el cual se humedece con la solución recién preparada. Con una asa de platino o varilla de vidrio se extiende una porción del m.o. sobre el papel. Una reacción positiva es tá indicada por el desarrollo de un color purpurá obscuro.

XVII) Prueba de la coagulasa

La coagulasa es una enzima proteica de composición química desconocida, con actividad semejante a la protrombina, ca paz sé transformar el fibrinógeno en fibrina, provocando la la formación de un coagulo visible en un sistema analítico adecuado. Se cree que la coagulasa funciona in vivo produciendo una barrera en el sitio de la infección estafilococica. Esto puede servir para localizar los organismos in vi vo, en abscesos.

La coagulasa libre es una sustancia semejante a la trombina que se halla presente en los filtrados de cultivo. Cuando-- una suspensión de bacterias productoras de coagulasa se mezcla en partes iguales con una pequeña cantidad de plasma en un tubo de ensayo, se forma un coagulo visible como consecuencia de la utilización de los factores de coagulación del plasma de manera similar a cuando se añade trombina.

Colocar asepticamente 0.5 ml de plasma fresco (dil 1: 4) en el fondo de un tubo estéril. Añadir 0.5 ml de un cultivo puro del m.o. ha investigar. Mezclar por rotación suave. Colocar el tubo en incubación a 37°C. Observe la formación del coagulo visible de 1 a 4 horas. Si la prueba es negativa en ese tiempo dejar incubando hasta 18 horas.

XVI) Prueba de la Oxidasa (cont.)

Se prepara una solución de diclorhidrato de dimetil-p-fenilendiamina al 2%, en una caja de petri se coloca una rueda + papel filtro el cual se humedece con la solución recién preparada. Con una asa de platino o varilla de vidrio se extiende una porción del m.o. sobre el papel. Una reacción positiva está indicada por el desarrollo de un color púrpura obscuro.

XVII) Prueba de la coagulasa

La coagulasa es una enzima proteica de composición química desconocida, con actividad semejante a la protrombina, capaz de transformar el fibrinógeno en fibrina, provocando la formación de un coagulo visible en un sistema analítico adecuado. Se cree que la coagulasa funciona in vivo produciendo una barrera en el sitio de la infección estafilococcica. Esto puede servir para localizar los organismos in vivo, en abscesos.

La coagulasa libre es una sustancia semejante a la trombina que se halla presente en los filtrados de cultivo. Cuando una suspensión de bacterias productoras de coagulasa se mezcla en partes iguales con una pequeña cantidad de plasma en un tubo de ensayo, se forma un coagulo visible como consecuencia de la utilización de los factores de coagulación del plasma de manera similar a cuando se añade trombina.

Colocar asepticamente 0.5 ml de plasma fresco (dil 1:4) en el fondo de un tubo estéril. Añadir 0.5 ml de un cultivo puro del m.o. ha investigar. Mezclar por rotación suave. Colocar el tubo en incubación a 37°C. Observe la formación del coagulo visible de 1 a 4 hrs. Si la prueba es negativa en ese tiempo dejar incubando 18 hrs.

XVIII) Tubo germinativo

La prueba del tubo germinal es el análisis utilizado más ampliamente para la identificación de Candida albicans. Se suspende un inóculo muy pequeño tomado de una colonia aislada en un tubo que contiene 0.5 ml de suero humano normal estéril. La suspensión se incuba por 3 - 4 horas a 37°C y se observa microscópicamente en busca de tubos germinales. Un tubo germinal se caracteriza por la producción de un apéndice de la mitad de la anchura y de tres a cuatro veces la longitud de la célula de la cual procede. La presencia de un tubo germinal proporciona la identificación definitiva de la Candida albicans si se realiza la prueba del modo indicado. C.stellantoidea también produce tubo germinativo pero se diferencia de C. albicans ya que ésta asimila sacarosa y C.stellantoidea no asimila sacarosa

XIX) Lectura de pruebas en el medio Lombard - Dowell

Lombard - Dowell con Bilis

Esta prueba se utiliza, para ver si la bacteria es capaz de desarrollarse en un medio de cultivo que contiene sales biliares. Se toma como referencia el medio de cultivo L - U sin sales biliares para observar si hubo menor o mayor crecimiento en el medio testigo o en el medio con bilis.

Lombard - Dowell con Esculina

La prueba sirve para saber cuales bacterias hidrolizan la Esculina; la hidrólisis de la esculina forma un complejo café - rojizo al reaccionar con el cloruro férrico que contiene el medio de cultivo. Se considera positiva la prueba cuando aparece un color café rojizo oscuro alrededor de las colonias - luego de exponer al aire durante cinco minutos el cultivo.

XIX) Lectura de pruebas en el medio Lombard - Dowell (cont.)

Se considera la prueba negativa cuando no hay cambio de color en el medio de cultivo y en las colonias.

Lombard - Dowell con Yema de Huevo

En este medio se ve la acción de la lecitinasa.

Algunos microorganismos producen lecitinasas que actúan sobre la lecitina - vitelina, componente lipoprotéico de la yema de huevo, produciendo opalescencia del medio debido a que se difunden las lecitinasas en el medio de cultivo.

Será una prueba positiva cuando se aprecia en el medio color blanquecino y hay opalescencia, esto principalmente alrededor de las colonias. Se considera una prueba negativa cuando no hay cambios en el medio de cultivo. Se toma como referencia el medio L - D simple.

A III

Técnicas de Tinción

a) Tinción de Gram

- 1.- Realizar un frotis de el material a estudiar, secar y fijar al calor.
- 2.- Aplicar sobre el frotis solución de oxalato de amonio - ~~en~~ cristal violeta por un minuto.
- 3.- Lavar con agua
- 4.- Aplicar solución de lugol por un minuto
- 5.- Lavar con agua
- 6.- Decolorar con algunas gotas de alcohol - acetona
- 7.- Lavar con agua
- 8.- Aplicar Safranina al 0.5% por 30 segundos
- 9.- Lavar con agua
- 10.- Dejar secar y observar al microscopio a inmersión

b) Tinción de esporas (Método de Schaeffer y Fulton)

- 1.- Realizar un extendido del material a estudiar y fijar al calor
- 2.- Cubrir la laminilla con sol. aq. de verde de malaquita al 5% y calentar hasta la formación de vapor por un minuto.
- 3.- Lavar con agua
- 4.- Contrastar con sol. aq. de safranina al 0.5% por 15 seg
- 5.- lavar con agua y secar, observar al microscopio a inmersión.

Este método puede emplearse como un colorante frío dejando actuar el verde de malaquita durante 10 min.

A IV

Colorantes para Tinción

1.- Colorantes de Gram

Oxalato de cristal-violeta amonio

Solución A

Cristal violeta	10 g
Etanol (95 %)	100 ml

Mezclar y disolver

Solución B

Oxalato de amonio sol. ag. al 1%

Para su empleo, mezclar 20 ml de la solución A y 80 ml de la solución B

Solución de Lugol

a) Yodo cristalino	1 g
Yoduro de Potasio	2 g

Disolver éstas sustancias en 5 ml. de agua destilada

Agregar:

Agua destilada	240 ml
Na_2CO_3 al 5% sol. ag.	60 ml

Mezclar bien y conservar en botella de color ambar

Solución de Safranina al 0.5%

Safranina O	0.5 g
Agua destilada	100 ml

Disolver la safranina en 10 ml de agua. Diluirla con el volumen restante. Conservar en frasco obscuro y bien tapado.

2.- Colorantes de Schaffer y Fulton

Verde de malaquita al 5%

Verde de malaquita	5 g
Agua destilada	100 ml

Disolver el verde de malaquita en 20 ml de agua. Adicionar el volumen restante. Conservar en un frasco oscuro y bien tapado.

Safranina al 0.5% sol. ac.

A V

Reactivos para pruebas de identificación

1.- Azul de Bromotimol al 1%

Disolver 1 g de azul de bromotimol en 20 ml de hidroxido de sodio al 0.1 N. Agregar 80 ml de agua destilada.

2.- Azul de metileno, indicador

Bicarbonato de Sodio	400 g
Glucosa	100 g
Azul de metileno-HCl	trazas

Mezcle los polvos. Inmediatamente antes de usarse, mezclar 2 gramos del indicador en 8 ml de agua destilada. La mezcla debe ser ligeramente azul cuando está oxidada, incolora cuando está reducida.

3.- Sol. ag. de Cloruro Férrico al 10%

Cloruro férrico	10 g
Agua destilada	100 ml

Disolver 10 g de cloruro férrico en 20 ml de agua. Adicionar el volumen restante de agua destilada guardar en un frasco ambar.

4.- Peróxido de hidrógeno

Sol. ac. de peroxido de hidrógeno al 3%
Diluir 1 ml de peroxido de hidrógeno al 30% con 9 ml de agua destilada. Guardar en un frasco ambar y en un lugar frío.

5.- Reactivo de Kovács para indol

p-dimetilaminobenzaldehido	5 g
Alcohol amílico	75 ml
HCl conc.	25 ml

Disolver el aldehido en el alcohol por calentamiento ligero en baño María (aproximadamente de 50 a 55°C). Enfriar y agregar al ácido. Proteger de la luz y almacenar en un lugar frío.

6.- Reactivo para nitritos

Solución A

Disolver con calentamiento ligero 5 gm de ácido sulfanílico en un litro de ácido acético 5 N

Solución B

Disolver con ligero calentamiento 5 g de dimetil-alfa-naftilamina en un litro de ácido acético 5 N.

Polvo de zinc o 10% de polvo de zinc suspendido en sol. de metil celulosa.

Precaución . La alfa naftilamina es carcinogénica y deberá manejarse con cuidado.

7.- Reactivo para la prueba de Oxidasa

Solución acuosa de dicloruro de tetrametil p- fenilen diamina al 2%.

El reactivo debe ser incoloro y conservarse en un frasco con tapón de vidrio a 4°C y protegido de la luz. La solución no debe usarse si toma un color azul intenso. La autooxidación, por la adición de ácido ascórbico al 1%, es evitada.

A VI

Sistemas de anaerobiosis

Los sistemas de anaerobiosis más utilizados para el aislamiento de bacterias anaeróbicas incluye el método de Carquist, el de tarro anaeróbico, La técnica de cilindros Hungate y la Cámara Anaeróbica.

Método de Carquist para cultivar anaeróbicos

Este método es utilizado para crear una atmósfera de anaerobiosis dentro de la caja de cultivo. El ácido pirogálico tiende a absorber el oxígeno atrapado dentro de la caja, y el carbonato de sodio anhidro es un agente desecante.

Método

Después de haber sembrado la placa, depositar sobre la tapa un disco de papel filtro del mismo tamaño de ésta.

Colocar unos cristales de ácido pirogálico.

Mezclar con los cristales anteriores unos cristales de carbonato de sodio anhidro, empleando un abatelenguas.

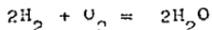
Colocar sobre esta mezcla otro disco de papel.

Colocar " boca abajo " la base de la placa de petri que contiene la gelosa sembrada, sobre la superficie de la tapa procurando que quede bien centrada.

Sellar el borde de unión de ambos componentes de la caja con parafina fundida, o con cinta plástica.

Incubar a 37°C de 24 a 48 horas.

El método de Tarro o Jarra anaeróbica es el más útil y ampliamente utilizado, en el cual se añade agua a un generador de CO_2 y H_2 que contiene bolitas de alúmina recubiertas de paladio y se encuentra en una cámara de tapa, en la cual el oxígeno, en presencia de H_2 por acción catalítica, se convierte en agua.



El catalizador de paladio presente en la jarra Brewer requiere calentamiento con una corriente eléctrica para estar completamente activo, pero los catalizadores utilizados en las modernas jarras (torbal, GasPak) no requiere calentamiento. Es importante mantener las jarras limpias y secar cuando no se utilizan para evitar la inactivación del catalizador. El catalizador de paladio cubierto de alúmina es inactivado por sulfuro de hidrógeno, cloro y gases de dióxido de azufre. La activación del catalizador se hace calentando las pelotitas en un horno de aire caliente a 160 - 170- grados centígrados por 2 horas. Después de activar las perlas del catalizador se deben mantener en un lugar limpio, seco y alejadas de la contaminación de gases. También se dispone en el mercado de envases de evacuación recambio; sin embargo para un laboratorio clínico no es muy habitual. El método de evacuación - recambio es más económico y produce condiciones anaeróbicas más rápidamente. Cuando el método de evacuación - recambio es utilizado, cualquier contenedor el cual pueda ser evacuado y reemplazado con una mezcla de gases por ejemplo 80% N_2 , 10% CO_2 , 10% H_2 , puede servir como sistema anaeróbico efectivo si se provee de catalizador para remover el oxígeno residual. La técnica se basa en: Poner las cajas y los tubos en la jarra anaeróbica. Colocar dentro de la jarra el sobre desechable con las sustancias químicas generadoras de anaero

biosis al igual que el indicador de oxido - reducción. Poner el catalizador activado. Con unas tijeras hacer un orificio al sobre de sechable por una esquina y por él introducir 10 ml de agua. Cerrar perfectamente la jarra e incubar a 37°C por 24 - 48 horas.

Otro sistema de anaerobiosis es la técnica de tubos cilíndricos en el cual se distribuye medio de cultivo prereducido anaerobio--biamente y esterilizado (PRAS) en condiciones anaerobias como -- una capa fina a lo largo de la cara interna del tubo de ensayo. El aire se elimina del tubo durante la inoculación y subcultivo por -- desplazamiento con un gas libre de oxígeno, como CO_2 y se mantiene bien tapado el resto del tiempo. Este método ha sido adaptado para los procedimientos del Laboratorio clínico por el Anaerobe Laboratory en el Virginia Polytechnic Institute. Las ventajas de este -- sistema es que cada tubo recibe su propio sistema de incubación y puede ser examinado sin alterar las condiciones anaerobias de su -- interior. Las desventajas consisten en que los tubos son más engo--rrosos, para trabajar con ellos hace falta más tiempo y la morfología de las colonias puede ser menos clara sobre la capa de agar en el interior del tubo que en las placas de agar.

La última técnica para cultivos anaerobios es la cámara o caja de guantes que está formada por una bolsa grande, hermética, de plástico claro y llena con una mezcla de gases libre de oxígeno, -- que contiene nitrógeno, hidrógeno y bióxido de carbono. Las mues--tras, las placas y los tubos se pueden introducir en la cámara o -- sacar de ella a través del agujero de intercambio de gas. La anaerobiosis de la cámara se mantiene mediante un catalizador de paladio e hidrógeno. Todas las manipulaciones en el interior de la cámara se realizan mediante guantes de neopreno pegados a la pared

La cámara puede funcionar como su propio sistema de incubación co-locando en su interior unidades calefactoras. De modo alternativo, se pueden colocar incubadoras en el interior de la cámara. La camra permite el examen de los cultivos en cualquier momento sin interupción de la anaerobiosis. La cámara utiliza mucho espacio.

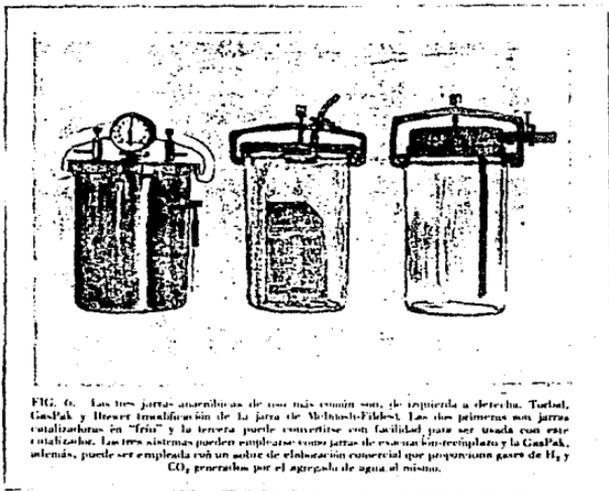


FIG. 6. Las tres jarras anaerobias de uso más común son, de izquierda a derecha, Tardif, GasPak y Howar (modificación de la jarra de McInch-Pitts). Las dos primeras son jarras catalizadoras en "frío" y la tercera puede convertirse con facilidad para ser usada con este catalizador. Los tres sistemas pueden emplearse como jarras de evacuación-recambio y la GasPak, además, puede ser empleada con un sobre de elaboración comercial que proporciona gases de H_2 y CO_2 generados por el agregado de agua al mismo.

A VII Diferenciación Bioquímica de algunas Bacterias aerobias y anaerobias.

Diferenciación de especies del género Staphylococcus

	<u>S. aureus</u>	<u>S. epidermidis</u>	<u>S. saprophyticus</u>
Gram	+	+	+
Temp. optima, °C	37	37	37
Pigmento en ASC 5%	V ⁺³	V ⁺⁴	V ⁺⁴
Coagulasa	+	-	-
Movilidad	-	-	-
H ₂ S	+ ¹	-	-
Indol	-	-	-
Ureasa	+	d	d
Oxidasa	-	-	-
Catalasa	+	+	+
Acido de manitol	+	V	V ⁻
Hemólisis en ASC 5%	+ ²	V ⁻	-

± Positivo

- Negativo

V Variable

V⁻ Variable en su mayoría negativo

V⁺ Variable en su mayoría positivo

+¹ Vestigios

+² beta Hemólisis

V⁺³ Dorado o amarillo

V⁺⁴ Blanco

d 16-84% cepas positivas

ASC 5% Agar Sangre de --
Carnero al 5%

Bibliografía (6, 33, 35)

Diferenciación de subgéneros del género Lactobacillus

Género Subgénero	<u>Lactobacillus</u> Thermobacterium	<u>Lactobacillus</u> Streptobacterium	<u>Lactobacillus</u> Betabacterium
Movilidad	-	-	-
Crecimiento a 5°C	-	-	-
Crecimiento a 15°C	-	+	D
Gas de Glu- cosa	-	-	+
Acido de manitol	-	-	-
lactosa	d	+	d
Indol	-	-	-
Catalasa	-	-	-

+ Positiva

- Negativa

d 16-84 % de las cepas son positivas

D Reacciones diferentes producidas por taxa inferiores

Bibliografía (6)

Diferenciación de especies del Género Streptococcus

	<u>S. pyogenes</u>	<u>S. agalactiae</u>	<u>S. equi</u>	<u>S. pneumoniae</u>
Células esféricas G(+) agrupadas en cadenas largas	+	+	+	+
Células esféricas G(+) agrupadas en dos	V ⁻	-	-	+
Hemólisis en Agar Sangre de Carnero al 5 %	Beta	Beta	Beta	alfa
Sensibilidad a Bacitracina 0.04 U	+	N R	N R	-
Sensibilidad a etilhidrocupreina	-	N R	N R	+

+ Positivo

- Negativo

Beta beta Hemólisis

alfa alfa Hemólisis

V⁻ Variable en su mayoría negativo

N R No reportado

Bibliografía (6, 33)

Diferenciación de especies del género Pseudomonas

	<u>Ps. aeruginosa</u>	<u>Ps. florecens</u>	<u>Ps. mallei</u>	<u>Ps. pseudomallei</u>
Oxidasa	+	+	-	+
Crecimien to a 42°C	+	+	-	+
Crecimien to a 5°C	-	+	-	-
Fluorescen cia en luz U.V.	+	+	-	-
Crecimien to en Agar Mac Conkey	+	+	-	+
Utilizaci ón de Citra to como fuen te de C	+	+	-	+
Crecimiento en Agar S.S.	+	+	-	-
Descarboxi lación de la ornitina	-	-	-	-
Descarboxi lación de la lisina	-	-	-	-

+ Positiva

- Negativa

Bibliografía (6, 17, 33)

Diferenciación de especies del género Acinetobacter

	<u>Acinetobacter anitratus</u>	<u>Acinetobacter lwoffii</u>
Catalasa	+	+
Oxidasa	-	-
Crecimiento en caldo <u>nutritivo</u>	+	+
Requerimiento de suero	-	-
Crecimiento en Agar MacConkey	+	+
Citrato como fuente de C	+	d
Acido de Glucosa	+	-
Lactosa	+	-
Fenilalanina	-	-
Ureasa	d	-
Utilización de carbohidratos	0	-
F/ O / -		

+ Positivo

- Negativo

d 16 - 84 % cepas positivas

Bibliografía (6, 17)

Diferenciación de especies de la Familia Enterobacteriaceae

- 1.- Escherichia coli
- 2.- Citrobacter freundii
- 3.- Citrobacter diversus
- 4.- Klebsiella pneumoniae
- 5.- Klebsiella oxytoca
- 6.- Klebsiella rhinoscleromatis
- 7.- Klebsiella ozaenae
- 8.- Enterobacter agglomerans
- 9.- Proteus vulgaris
- 10.- Proteus mirabilis
- 11.- Enterobacter cloacae

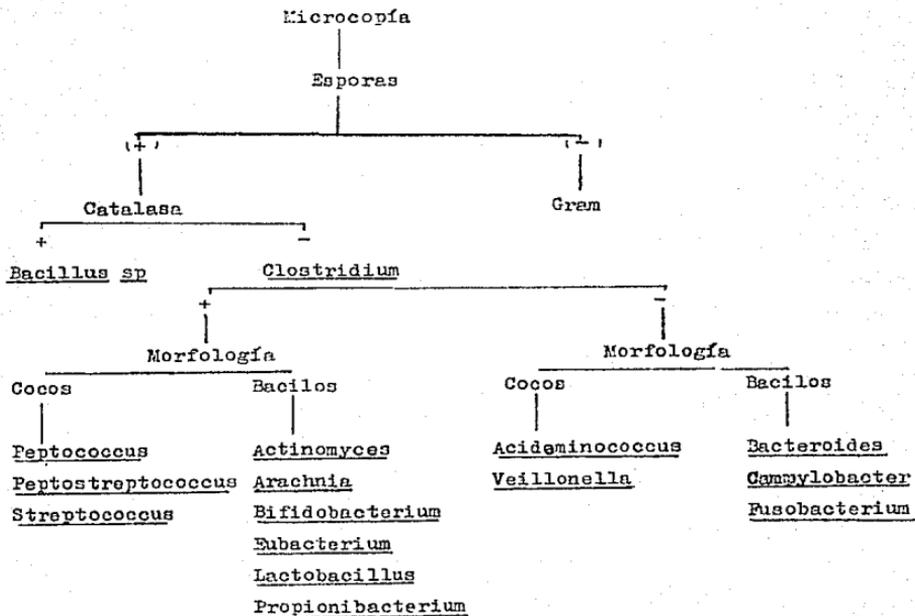
Bibliografía (6, 17, 18)

Diferenciación de especies de la Familia Enterobacteriaceae

Especies/ Reacción	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Movilidad	d	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
Catalasa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Crecimiento en Selenito	+	+	.	+	+	+	+	V	NR	(-)	NR
4 $\frac{1}{2}$											
Indol	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-
Citrato co- mo fuente de C	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ureasa	-	-	w	+	+	d	d	(A)	+	+	d
H ₂ S	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
Descarboxi lasa de la	-	-	-	+	+	d	d	D	-	-	D
Lisina											
Descarboxi lasa de la	d	d	+	-	-	-	-	+	D	+	+
ornitina											
Fenilalanina	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
Acido de											
Lactosa	+	(d)	(d)	+	+	-	(+)	+	-	-	d
Glucosa	+	+	+	D	D	D	D	+	+	+	-
Sacarosa	d	d	d	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+

+ Positiva NR No reportado d 16-84% cepas positivas
 - Negativa V Variable D Reacciones diferentes -
 w Reacción (+) Reacción tar producidas por taxa inferior
 débil día

Diferenciación de Bacterias Anaerobias



Bibliografía (39)

Diferenciación de cocos Anaerobios

Pentococcus

- 1.- P. saccharolyticus
- 2.- P. magnus
- 3.- P. prevotii
- 4.- P. saccharolyticus

Pentostreptococcus

- 5.- P. anaerobius
- 6.- P. micros

Streptococcus

- 7.- S. intermedius

Veillonella

- 8.- V. parvula

Bibliografía (6, 31, 37, 39)

Diferenciación de cocos Anaerobios

ESPECIES / PRUEBAS	1	2	3	4	5	6	7	8
Indol	+	-	-	-	-	-	-	-
Derivado del Indol	-	-	-	-	-	-	-	-
Hidrólisis de Esculina	-	-	-	-	-	-	+	-
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalasa	-	-	V	+	-	-	-	++
Lecitinasa	-	-	-	-	-	-	-	-
Lipasa	-	-	-	-	-	-	-	-
Crecimiento en Agar Bilis	I	I	V	V	I	I	I	I
Fermentación de Glucosa	-	-	-	+	++		+	-
Hidrólisis de Almidón	-	-	-	-	-	-	-	-
Digestión de la leche	-	-	-	-	-	-	-	-
Hidrólisis de Gelatina	-	-	-	-	-	-	-	-
Fermentación de Manitol	-	-	-	-	-	-	-	-
Fermentación de Lactosa	-	-	-	-	-	-	+	-
Fermentación de Ramanosa	-	-	-	-	-	-	-	-

+ = Positivo en 95%
 - = Negativo en 90%
 I = Inhibición de crecimiento
 V = Variable

Diferenciación de especies del Género Bacteroides

- 1.- Bacteroides asaccharolyticus
- 2.- Bacteroides capillosus
- 3.- Bacteroides fragilis
- 4.- Bacteroides melaninogenicus Subsp. intermedius
- 5.- Bacteroides splanchnicus
- 6.- Bacteroides uniformis
- 7.- Bacteroides ureolyticus
- 8.- Bacteroides vulgatus

Bibliografía (39)

Diferenciación de especies del Género Bacteroides

Especies/ Reacción	1	2	3	4	5	6	7	8
Indol	+	-	-	+	+	+	-	-
Hidrólisis de Esculina	-	+	+	-	+	+	-	-+
H ₂ S	-			-			-	-
Catalasa	-	-	+	-	-	-	-	-
Lecitinasa	-	-	-	-	-	-	-	-
Lipasa	-	-	-	+	-	-	-	-
Crecimiento en Agar Bilis	I	I	Eppt	I	B	B	I	B
Fermentación de Glucosa	-	-	+	+	+	+	-	+
Digestión de la leche	+	-	-	+	-	-	-	-
Hidrólisis de Gelatina	+	-	-	+	+	-	-	-
Fermentación de								
Manitol	-	-	-	-	-	-	-	+
Lactosa	-	-	+	-	+	+	-	+
Ramnosa	-	-	-	-	-	+	-	+

+ = Positivo en más del 90%

- = Negativo en más del 90%

-+ = La mayoría negativa

+ = La mayoría positivo

I = Inhibición de crecimiento

Eppt= Precipitación alrededor o debajo del crecimiento

B = Crecimiento igual al control sin bilis

Diferenciación de especies del Género Clostridium

- 1.- C. bifermentans
- 2.- C. botulinum A B C
- 3.- C. botulinum D E F
- 4.- C. butyricum
- 5.- C. difficile
- 6.- C. histolyticum
- 7.- C. novyi A
- 8.- C. perfringens
- 9.- C. septicum
- 10.- C. tetani

Bibliografía (6, 39)

Diferenciación de especies del Género Clostridium

Especies/ Pruebas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Crecimiento aerobico	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Esporas	ST	ST	ST	T						
Movilidad	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Lecitinasas	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-
Lipasa	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-
Acido de										
Glucosa	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
Manitol	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Lactosa	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-
Sacarosa	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
Reducción de										
Nitratos	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-
Indol	+	-	-	-	-	-	-	-	-	V
Hidrólisis de Esculina	V	+	V	+	+	-	V	V	+	-
Hidrólisis de Gelatina	+	+	V	-	V	+	+	+	+	+
Becho de Hierro	CD	CD	NC	CG	NC	CD	(CG)	CG	(CG)	NC

+ Reacción positiva en el 90-100% de las cepas

- Reacción negativa en el 90-100% de las cepas

V Reacción variable

() Variable

C Coagulada

D Digerido

G Gas

NC No coagulación

Bibliografía

- 1.- Arias, P., Alfred B. Knight, Paul B. Tonich, "A retrospective study effects of steroid administration and prolongation of the latent phase in patients with premature rupture of the membranes"; The American Journal of Obstetrics & Gynecology, Vol. - 154, No. 5, May 1986, 1059-1063.
- 2.- Beydoun, N.S., Salih Y. Yasin, "Premature rupture of the membranes before 28 weeks: Conservative management", The American Journal of Obstetrics & Gynecology; 155(3), SEP 1986, 471 - 479.
- 3.- Braude, A. "Microbiología Clínica" Vol. 2
Edit. Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina, 1984.
- 4.- Broekhuizen, P.F., Michael Gilman, Phillip R. Hamilton, "Amniocentesis for Gram Stain and Culture in Preterm Premature of the Membranes" Obstetrics & Gynecology, 66(3), Sep 1985, 316 - 321.
- 5.- Collob J., "Tiempo de colonización bacteriana por gérmenes -- aerobios e inflamación salpingiana en la ruptura prematura de membranas" Tesis para obtener la especialidad en Ginecología y Obstetricia. Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 3 - Centro Médico " La Raza " I.M.S.S. 1987
- 6.- Cowan, S.T., Steel K.J., "Manual para la identificación de bacterias de importancia médica" 2 a ed. Edit. C.E.C.S.A., México D.F. 1985.
- 7.- Eugene G.R. "Premature Rupture of the Membranes, a Review"
The Journal of Reproductive Medicine, 30(11), Nov. 1985, 841 846.

- 8.- Feinstein, J.S., Anthony M. Vintzileos, Jorge G. Lodeiro, et.al. "Amniocentesis with Premature Rupture of Membrane" *Obstetrics & Gynecology*, 68(2), Aug 1986, 147-152.
- 9.- Ferguson, G.M., Philip G. Rhodes, John C. Morrison and Cristina M. "Clinic amniotic fluid infection and its effect on neonate" *The American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 151(8), Apr 1985, 1964.
- 10.- Finegold, S.M., Martin W.J., Scott E., "Baileys & Scott's --- Diagnostic Microbiology" 5th Ed. The C.V. Mosby Co., St. Louis Mo., U.S.A., 1978. Cap. 10
- 11.- Garite J.T. "Premature Rupture of the Membranes: The enigma - of the Obstetrician" *The American Journal Of Obstetrics & Gynecology*, 151(8), Apr 1985, 1001-1005.
- 12.- Geme S.T.W.J., Dennis L. Murray, Joanne Carter, et.al. "Perinatal bacterial infection after prolonged rupture of amniotic membranes: An analysis of risk and management" *The Journal -- Pediatrics*. 104(4), Apr 1984, 608-613.
- 13.- Gonik B., Sidney F. Bottoms and David B. Cotton., "Amniotic - fluid as a Risk Factor in Preterm Premature Rupture of Membranes" *Obstetrics & Gynecology*, 65(4), Apr 1985, 456-459.
- 14.- Harrylysityn P., et.al., "Premature Rupture of Membranes; The Role of C-Reactive Protein in prediction of Chorioamnionitis" *The American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 147(3), - Oct 1983, 240.
- 15.- Ianneta O. "A new simple test for detecting rupture of the fetal membranes" *Obstetrics & Gynecology*, 63(4), Apr 1984, 575

- 16.- Ismael, M.A., et.al., "The significance of C- Reactive Protein Levels in women with Premature Rupture Of Membranes" The American of Obstetrics & Gynecology, 151(4), Feb 1985, 541.
- 17.- Koneman W., Allen D., "Diagnóstico Microbiológico" Edit. Médica Panamericana, México D.F. 1985.
- 18.- Mac Paddin J.F. "Biochemical test identification of Medical - Bacteria" 2nd Ed. London Williams & Wilkins Co. London 1980.
- 19.- Minkoff, H., Amos H. Grunebaum, Richard D. Schwarz, et.al., - "Risks factors for prematurity and premature rupture of membranes: A prospective study of vaginal flora in pregnancy" The American Journal of Obstetrics & Gynecology, 150(8), - Dec 1984, 965 - 971.
- 20.- Møller M., Kirsten Borch, A.C. Thomsen, et.al., "Rupture of - fetal Membranes and Premature Delivery associated with Group B Streptococci in urine of Pregnant Women" The Lancet, 11(-- 8394), 1984, 69-70.
- 21.- Nimrod, C., Frances Varela-Gittens, Geoffrey Machin, et.al., "The effect of very prolonged membrane rupture on fetal development" The American Journal of Obstetrics & Gynecology, --- 148(5), March 1984, 540-543.
- 22.- Romero R., Angela L.Sciocia, Stephen C. Edbery, John C. Hobbins, "Use of Parenteral Antibiotic Therapy to Eradicate Bacterial- Colonization of Amniotic Fluid in Premature Rupture of Mem- branes" Obstetrics & Gynecology, 57 (3)supplement, March -- 1986, 15S - 17S
- 23.- Sutter-Vargo-Finogold;" Manual de Bacteriología anaerobia" Edit. Médica Panamericana; Buenos Aires, Argentina, 1978.

- 24.- Valenzuela, C.J. "Tiempo de colonización, cambios anatómicos tóxicos y correlación clínica salpingiana en la ruptura prematura de membranas" Tesis para obtener la especialidad de Ginecología y Obstetricia Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 3, Centro Médico " La Raza " I.M.S.S., México D.F. 1988.
- 25.- Vintzileos, A.M., Winston A. Campbell, David D. Nochinson., - Paul J. Weinbaun, et. al. "The fetal biophysical profile in patients with premature rupture of membranes, an early predictor of fetal infection" The American Journal of Obstetrics & Gynecology, 152(5), Jul 1985, 510.
- 26.- Vintzileos A.M., Winston A. Campbell, David J. Nochinson, Paul J. Weinbaun, et.al., "Qualitative amniotic fluid volume versus amniocentesis in predicting infection in preterm premature rupture of the membranes" Obstetrics & Gynecology - 167(4), Apr 1986, 579-583.
- 27.- Vintzileos, A.M., Winston A. Campbell, David J. Nochinson, Paul J. Weinbaun, et. al., "Fetal Biophysical Profile Versus Amniocentesis in predicting Infection in Preterm Premature Rupture of the Membranes" Obstetrics & Gynecology, 168(4), Oct 1986 488-494.
- 28.- Wales, R.R.J., Alejandra de la Cruz Aguilera, Irma Telloz Fernandez, "Gérmenes aislados en ruptura prematura de membranas" Ginecología y Obstetricia de México. 53, Sep 1985, 247-251.
- 29.- Yeast, J.D., et. al., "The risks of amniocentesis in management of premature rupture of the membranes" The American Journal of Obstetrics & Gynecology, 149(5), Jul 1984, 505.

- 30.- Zlatnik, F.J., Dwight P. Cruikshank, C. Rosemarie Petzold, Rudolph P. Galask., "Anniocentesis in the identification of ~~inn-~~parent infection in preterm patients with premature rupture of the membranes" The Journal of Reproductive Medicine, 29(9), Sep 1984, 656.
- 31.- "CDC Anaerobe Unit " The Center for Disease Control, Anaerobe Unit. U.S. Department of Health, Education and Welfare.
- 32.- "Cumulated Index Medicus " 1984, 1985, 1986, 1987.
The Mosby Co., St. Louis Mo. U.S.A.
- 33.- "Manual de Biología Médica " Q.F.B. 9^o semestre
Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza
Realizado por: Q.B.P. Lucia Nelly Cantu de Carlos
Q.B.P. Martha Perez Reyes
Q.B.P. José Luis Villareal Lopez
- 34.- "Manual Bioxon, medios de cultivo y reactivos de Diagnóstico"
Bioxon de México, S.A. de C.V., Oaxaca, Oax. México 1987.
- 35.- "Manual de Laboratorio de Biología Médica"
Editado por la Academia de Profesores del Laboratorio de Biología Médica. Departamento de Microbiología, 4^a Ed. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN, México D.F. 1983
- 36.- Manual de Medios de Cultivo Merck
Diagnóstica Merck, México, S.A.
- 37.- "The Virginia Polytechnic Institute & State University Anaerobe Laboratory" 4th Ed., The V.P.1. Anaerobe Laboratory; Blacksburg, Virginia, U.S.A. 1977.
- 38.- Asociación de Médicos del Hospital de Ginecología y Obstetricia " Ginecología y Obstetricia " 2a Ed. Mit. Francisco Mendez Oteo. México, D.F. 1984 pp. 537-548.

- 39.- Curso precongreso sobre bacteriología médica anaeróbica.
Asociación Mexicana de Microbiología, Departamento de Micro--
biología 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.
- 40.- Manual de Procedimientos de Laboratorio y de Productos BBL
5^a edición. Editado por Paul A. Rhode. Director de servicios-
técnicos. BBL Division de Becton - Dickinson Co.
Cockeysville Maryland 21030; U.S.A. , 1974
- 41.- Pritchard, J., MacDonald., "Williams Obstetricia" 2^a ed.
Edit. Salvat S.A.; Barcelona, España. 1980.