

Universidad Autónoma de Guadalajara

4  
2ej

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



**DETERMINACION DEL GRUPO KLEBSIELLA-ENTEROBACTER EN NIÑOS CON INFECCIONES EN LAS VIAS URINARIAS**

*Tesis Profesional*

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

MARCELA GUILLERMINA CHAVEZ GONZALEZ

ASESOR Q. F. B. Ma. DEL SOCORRO PULIDO G.

GUADALAJARA, JAL.

1989

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.

## I N D I C E

INTRODUCCION .....	1-3
I. DEFINICIONES IMPORTANTES Y CLASIFICACION DE LAS INFECCIONES URINARIAS .....	4-7
II. PATOGENIA Y MANIFESTACIONES CLINICAS DE LA INFECCION URINARIA .....	8-11
III. CLASIFICACION DE LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE. GENERALIDADES DEL GRUPO GLEBSIELLA-ENTEROBACTER .....	12-14
IV. MATERIAL Y METODO.....	15-40
RESULTADOS .....	41-46
CONCLUSIONES .....	47-48
RESUMEN .....	49
BIBLIOGRAFIA .....	50-51

## INTRODUCCION.

La infección del tracto urinario es la patología nefrológica más común en la práctica pediátrica y afecta en términos generales al 1 por ciento de la población infantil, más de la mitad de los pacientes con infecciones sintomáticas desarrollarán una o varias recurrencias. Aproximadamente un 5-10 por ciento desarrollarán una cicatriz renal y otros presentarán hipertensión o uremia.

Las infecciones del tracto urinario son muy comunes en niños y producen gran sufrimiento e incomodidad a la mayoría de los pacientes, con un costo muy alto en ocasiones para la familia y la sociedad.

Se insiste en señalar como agentes etiológicos fundamentales en las infecciones de vías urinarias en los diferentes grupos de edad, las bacterias que habitan por lo general el tubo digestivo, sin ser necesariamente enteropatógenas, es indudable el papel de las anomalías urinarias anatómicas por si mismas pueden llevar a deterioro progresivo del riñón, explicable por factores mecánicos, al originar aumento de la presión intrarrenal y alteraciones de la dinámica urinaria que favorecen también el desarrollo del proceso infeccioso.

### Antecedentes.

Estudios realizados por el Dr. Moreno Gomez en el año de 1984 pusieron de manifiesto que si se excluye la edad neonatal, la infección urinaria en la edad pediátrica es una enfermedad predominantemente en niñas; el promedio es de alrededor de 9:1 a favor del sexo femenino, pero varía ampliamente según el criterio de selección de los casos con cifras tan altas como 50:1 en niñas que se estudian por bacteriuria asintomática y tan baja como 2:1 en los casos que tienen infección recurrente o persistencia a la infección.

Afecta por lo general al 1% de la población de recién nacidos, al 3% de lactantes y pre-escolares y 1.1% de escolares. Con pocas excepciones, los gérmenes patógenos responsables de estas infecciones en los niños son los organismos coliformes los cuales frecuentemente provienen del intestino del enfermo.

E. coli es el agente agresor más frecuentemente encontrado, seguida por Proteus, otras bacterias a considerar pertenecen al género Klebsiella (6.6%), - Enterobacter (2.1%); Pseudomonas y Citrobacter

Otros estudios realizados por el Dr. Otto en el 84 nos indica que Escherichia coli es la causa en un 90% de la pielonefritis en niñas y en un 65% en niños. Cuando se presentan anomalías del tracto urinario o cirugías la incidencia de bacterias entéricas gramnegativas como la Klebsiella, Enterobacter o Pseudomonas aumenta considerablemente. También se observó un predominio del sexo femenino, que está de acuerdo en términos generales con lo clásicamente reportado, y que se presenta con una mayor frecuencia en pacientes con obstrucción urológica.

### Planteamiento del problema.

Conocer la frecuencia con que el grupo Klebsiella-Enterobacter se presenta como agente etiológico en la infección del tracto urinario en niños.

### Justificación.

El presente trabajo pretende poner de manifiesto la patogenicidad del grupo Klebsiella-Enterobacter como agentes causales de infección urinaria. Siendo la infección del tracto urinario una enfermedad muy frecuente en los niños en sus diferentes grupos de edad es importante señalar que esta se presenta con mayor probabilidad después de una infección gastrointestinal. Siendo entonces los agentes etiológicos las bacterias que habitan el tubo digestivo se ha observado que hay un predominio del sexo femenino dada a su anatomía y a los hábitos higiénicos.

### Objetivo.

Determinar la incidencia del grupo Klebsiella-Enterobacter en niños con infección del tracto urinario.

*CAPITULO I*

## I. DEFINICIONES IMPORTANTES Y CLASIFICACION DE LAS INFECCIONES URINARIAS.

*Definición de términos de uso frecuente.*

Bacteriuria, es un término utilizado con frecuencia, que significa bacterias en la orina. Sin embargo, la orina obtenida de individuos normales por micción contiene bacterias arrastradas de la uretra anterior, en la que existe la flora normal bacteriana propia.

La orina vesical normalmente es estéril. Bacteriuria significativa es la expresión utilizada para indicar la presencia de bacterias en la orina miccional en cantidad superior a la que normalmente resulta de la contaminación -- por los gérmenes de la uretra anterior, y en proporciones que corresponden a las concentraciones bacterianas que habitualmente se encuentran en la orina vesical infectada en un paciente asintomático.

Pielonefritis, según la definición clásica, es el proceso patológico inmediato o tardío que sigue a la infección bacteriana del parénquima renal y del sistema pilocalicilar.

Pielonefritis aguda se aplica al síndrome caracterizado por dolor lumbar (agudo o a la palpación) y fiebre, generalmente acompañado de disuria y poliuria. Sin embargo algunos de estos síntomas pueden presentarse sin que exista infección (por ejemplo en el infarto renal o en la litiasis renal).

Pielonefritis crónica es un concepto de difícil definición, ya que tiene diversos significados para distintos especialistas. La definición anatomopatológica (que desafortunadamente es la que ha sido utilizada más en los últimos años) es la de una nefritis intersticial con áreas cicatriciales aisladas y zonas de infiltración mononuclear en el parénquima entre los túbulos y alrededor de los glomérulos; con frecuencia hay inflamación de la pelvis renal.

Se dice que la enfermedad es activa cuando se encuentran leucocitos polimorfonucleares e inactiva o curada cuando estas células están ausentes.

El problema de dicha definición es que existen varias afecciones que pueden producir un cuadro anatomopatológico muy parecido. Algunas de ellas son; la



obstrucción de las vías urinarias, la nefritis hereditaria, el abuso de la fenacetina y el déficit del potasio.

Con frecuencia los individuos afectados de estas enfermedades presentan infección y en estos casos resulta difícil precisar en qué proporción las alteraciones patológicas se deben a la infección o a la enfermedad subyacente.

Cistitis, quiere decir infección de la vejiga. Generalmente los pacientes están afebriles y la sintomatología es de tracto urinario bajo, como frecuencia, urgencia y disuria.

Reflujo vesicouretral es el paso de orina desde la vejiga a uno o ambos ureteres.

Recadida de bacteriuria, indica la reaparición de bacteriuria con los mismos gérmenes presentes antes de iniciar el tratamiento.

Reinfección, es la reaparición de bacteriuria, pero con un microorganismo distinto del inicial. La reinfección puede ser precoz (durante el tratamiento o a las pocas semanas de concluirlo) o tardía (meses o años después de -- terminado el tratamiento).

#### CLASIFICACION DE LAS INFECCIONES URINARIAS.

Son posibles muchas clasificaciones clínicas de las infecciones urinarias. El término de infección del tracto urinario se usa como definición general para entidades diferentes en las cuales la bacteriuria es el común denominador, pero sin tener en cuenta o consideración el nivel de infección dentro del tracto urinario.

Un niño con infección del tracto urinario alto tiene una frecuencia significativamente mayor de anomalías anatómicas, y la búsqueda de éstas es de gran

importancia, por otra parte, estas investigaciones son menos importantes en pacientes con infección del tracto urinario bajo sin ninguna otra complicación.

El pronóstico es muy diferente para los pacientes que tienen una infección del tracto urinario alto o bajo. La infección del tejido renal puede llegar a producir una enfermedad progresiva, que termina en falla renal. La pielonefritis crónica todavía se encuentra entre las primeras causas de enfermedad renal en etapas finales que requieren diálisis y trasplante renal.

Las clasificaciones que en el pasado se han demostrado más útiles para la evaluación diagnóstica y encausar el tratamiento de enfermos con infecciones urinarias, se basaron en la cronicidad de la infección y la ausencia o presencia de alteraciones estructurales de las vías urinarias. Un problema de esta clasificación estriba en la catalogación de los enfermos que sufren reinfecciones repetidas después de un tratamiento.

Nos gustaría proponer la siguiente clasificación de orientación terapéutica para las infecciones urinarias. Esta clasificación, que se basa en el cuadro clínico del enfermo y su respuesta al tratamiento antimicrobiano, se utiliza entonces la siguiente clasificación:

- 1.- Infección urinaria sintomática.
- 2.- Bacteriuria asintomática.
- 3.- Infección urinaria recurrente.
- 4.- Reinfección urinaria.

1.- Por infección urinaria sintomática se entiende una infección urinaria con sintomatología clínica, que es nueva o de la que nos falta información adecuada acerca de los resultados de cultivos de orina previos para determinar si el episodio actual es una recaída o una reinfección.

2.- Bacteriuria asintomática es la bacteriuria sin síntomas, recientemente --

descubierta o de la que no poseemos información adecuada de los resultados o de urocultivos previos que permitan decidir si la bacteriuria es una recaída o una reinfección.

3.- La infección urinaria recurrente puede ser aguda o crónica, con alteraciones de las vías urinarias o sin ellas, y puede ser sintomática o asintomática. Si no hay lesiones anatómicas, la terapéutica consiste en un tratamiento prolongado. Si hay lesiones demostrables de vías urinarias, la conducta que debe seguirse es la corrección de las lesiones y/o tratamiento prolongado.

4.- La infección urinaria puede ocurrir en períodos largos o cortos entre reinfecciones y puede ser sintomática o asintomática. La conducta que debe seguirse en la terapéutica de la reinfección es tratar cada reinfección con un tratamiento relativamente corto. Si hay reinfección muy frecuente, puede estar justificado en algunos pacientes recurrir a la quimioterapia profiláctica a largo plazo.

El único método satisfactorio para el diagnóstico de la infección urinaria activa es el urocultivo. Cualquier otro método diagnóstico lo es solamente - de presunción.

CAPITULO II

## II. PATOGENIA Y MANIFESTACIONES CLINICAS DE LA INFECCION URINARIA.

En la infección urinaria, igual que otras infecciones uno de los principios más importantes es tener una completa comprensión de los mecanismos por los cuales las bacterias llegan y empiezan a multiplicarse en el lugar de la infección.

Las bacterias pueden llegar al riñon por vía ascendente, hematógica o linfática.

Vías de invasión y diseminación de los microorganismos en el tracto urinario

Vía ascendente.

Actualmente se considera que la vía ascendente es la más importante, atendiendo a las observaciones clínicas y experimentales.

La parte distal de la uretra, sobre todo en las mujeres está frecuentemente colonizada por una flora bacteriana similar a la que se encuentra en la piel y mucosas adyacentes. La multiplicación bacteriana en la uretra normal por lo general está inhibida en gran parte, y se acepta que la uretra proximal es estéril en ambos sexos. La infección se da con mayor frecuencia en mujeres que en varones. En la mujer la uretra es más corta y mucho más susceptible de contaminación por su situación anatómica (incluyendo su proximidad al recto) y ciertas condiciones favorables para el crecimiento bacteriano (por ej. mayor humedad y temperatura).

La posibilidad que el material contaminado exterior pueda penetrar a través de la corta uretra de las niñas ciertamente parece plausible. Si las bacterias llegan a la vejiga encuentran condiciones adecuadas para su multiplicación, puede producirse una infección urinaria. Una vez en la vejiga, las bacterias pueden multiplicarse y en algunos casos pasar el esfínter vesicouretral y ascender por los uréteres hasta el riñón; esto es facilitado si existe un reflujo vesicouretral. Una vez que las bacterias han alcanzado la pel-

vía renal hay varias vías posibles para que puedan penetrar de forma retrógrada en el riñón.

Esta es la explicación más lógica de la mayor frecuencia de infección urinaria en las mujeres y del riesgo de infección tras sondaje u otro tipo de manobras instrumentales en las vías urinarias.

#### Vía hematógena.

No hay duda que la infección urinaria puede producirse por vía hematógena y ésta es probablemente la vía de infección bacteriana de las vías urinarias de algunos enfermos. En pacientes que presentan una bacteremia estafilocócica o endocarditis, pueden aparecer abscesos estafilocócicos en el riñón. En estos casos, pueden hallarse con frecuencia otros focos metastásicos. Esto suele ocurrir en casos agudos, siendo la afección renal secundaria a la bacteremia.

La introducción de instrumentos en la uretra puede producir una bacteremia. Esto puede ocurrir incluso en individuos sin una infección previa. En estos casos las bacterias que normalmente se encuentran en la uretra son probablemente "exprimidas" hacia la circulación. Los enfermos que fallan a causa de una bacteremia por bacilos gramnegativos tienen frecuentemente una pielonefritis aguda.

#### Vía linfática.

Existen varias teorías conflictivas acerca de la importancia de las vías linfáticas para la difusión de las bacterias en el aparato urinario. La demostración experimental en animales de posibles comunicaciones linfáticas entre el tracto urinario inferior y el superior, por parte de algunos investigadores se consideró que era una prueba muy sólida realizada por éstos en favor de esta vía de infección. Es posible que ejerzan un papel importante en la ex-

tención intrarrenal de la infección.

Tras la penetración de las bacterias en el aparato urinario, el resultado dependerá del volumen del inoculo, de la virulencia de los microorganismos y de los mecanismos de defensa del huésped.

Aunque la orina humana normalmente permite el crecimiento de los organismos infectantes habituales del aparato urinario, en algunas circunstancias la orina de individuos normales pueda inhibir el desarrollo de estos organismos especialmente cuando la inoculación es mínima.

Los factores inhibidores más importantes son osmolaridad elevada, alta concentración de urea, concentraciones altas de ácidos orgánicos y un pH bajo. Al parecer la vejiga normal es resistente a la infección, no solo por su capacidad de evacuar el material infectado, sino además porque presenta una actividad antibacteriana que parece estar ligada a la mucosa vesical.

Se sabe que diversas alteraciones del aparato urinario aumenta la susceptibilidad a la infección, siendo la más importante la obstrucción intrarrenal o extrarrenal. Algunas de las lesiones que producen obstrucción y que se acompañan de elevada incidencia de pielonefritis son: las malformaciones congénitas, los cálculos y las compresiones uretrales extrínsecas.

Con especial frecuencia se producen obstrucciones urinarias en lactantes varones, en niños, en embarazadas y también en ancianos de ambos sexos. Es interesante señalar que la frecuencia de las infecciones urinarias y de la pielonefritis sigue exactamente en la misma distribución. En lactantes y niños, las lesiones obstructivas más frecuentemente encontradas son las válvulas uretrales, las anomalías congénitas de los uréteres y la obstrucción del cuello vesical; en los adultos, especialmente en edades avanzadas, las principales causas de obstrucción son el adenoma de próstata, los tumores y los cálculos.

El reflujo vesicouretral y la infección urinaria presentan una relación causal. Las observaciones clínicas y experimentales ha demostrado que:

- 1) el reflujo predispone a la infección por vía ascendente
- 2) la infección urinaria puede producir reflujo.

El reflujo vesicouretral puede dar lugar a un residuo de orina uretral, que impide conseguir un vaciado completo de las vías urinarias. Además el reflujo puede causar un efecto mecánico en el sistema pielocalicilar, que produce una grave lesión renal asociada a la infección.

Los enfermos que presentan un vaciado incompleto de la vejiga, ya sea por trastornos neurógenos, ya por obstáculos mecánicos en la micción presentan con frecuencia infección urinaria.

Las manifestaciones clínicas de la infección urinaria son fáciles de reconocer. La infección en el tramo urinario produce micción frecuente y dolorosa a veces acompañada de dolor hipogástrico, generalmente sin fiebre.

El cuadro clínico clásico de la infección de las vías urinarias superiores consiste en fiebre, por lo general precedida de escalofríos, dolor lumbar, y frecuentemente disuria. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la sintomatología clínica puede ser muy variada. El cuadro clínico de la infección de las vías urinarias crónica es mucho más impreciso. Puede consistir en periodos repetidos de síntomas agudos, o la enfermedad puede ser silenciosa, manifestándose únicamente por sus consecuencias, como insuficiencia renal insidiosa (especialmente en los casos de obstrucción).



***CAPITULO III***

III. CLASIFICACION DE LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE. GENERALIDADES DEL GRUPO KLEBSIELLA-ENTEROBACTER.

Con pocas excepciones, todos los miembros de la familia Enterobacteriaceae exhiben las siguientes características:

- a) fermentan la glucosa con producción de ácido
- b) carecen de actividad de citocromo oxidasa
- c) reducen los nitratos a nitritos

La familia Enterobacteriaceae se divide en 5 grupos:

- Grupo I Escherichias  
Géneros: Escherichia, Edwardsiella, Citrobacter, Salmonella y Shigella.
- Grupo II Klebsiellae  
Géneros: Klebsiella, Enterobacter, Hafnia y Serratia.
- Grupo III Proteae  
Género: Proteus.
- Grupo IV Yersiniaceae  
Género: Yersinia.
- Grupo V Erwinia  
Género: Erwinia.

Las especies que con mayor frecuencia son patógenas de la vejiga y el riñón son los siguientes géneros: Escherichia coli, Klebsiella, Enterobacter, Proteus, Otros bacilos entéricos gramnegativos y Pseudomonas aeruginosa.

Generalidades del grupo Klebsiella-Enterobacter.

Los géneros Klebsiella, Enterobacter (que anteriormente se denominaba Aerobacter) y Serratia están íntimamente relacionados entre sí, se incluyen hoy en un mismo grupo pueden ser fácilmente identificados mediante pruebas bioquímicas.

Género Klebsiella:

Tres especies de Klebsiella se asocian con infecciones humanas: K. pneumoniae, K. ozaenae y K. rhinoscleromatis.

K. pneumoniae, que se aísla con suma frecuencia de infecciones humanas, ha sido reclasificada como K. oxytoca.

Son bacilos gram negativos, pleomorfos, capsulados, inmóviles y no esporulados. No requieren medios especiales para su desarrollo, no producen hemólisis en medios con sangre y desarrollan mejor en condiciones aerobias.

Fermentan la glucosa, lactosa, sacarosa, manitol, con producción de ácido, - no producen ácido sulfhídrico, no producen indol (excepto K. oxytoca), incapaces de descarboxilar la ornitina.

Los miembros del género Klebsiella son importantes microorganismos patógenos para el hombre. K. pneumoniae es un habitante normal de algunos órganos tales como intestino y vías respiratorias, convirtiéndose en bacteria oportunista patógena en estos órganos, cuando se ponen en juego algunos factores, tales como la baja de defensas inespecíficas, diabetes, alcoholismo, administración de antibióticos hacia los cuales resiste, causantes de enterocolitis en niños, de infecciones del tracto urinario tanto en niños como en adultos.

En el hospital, K. oxytoca es una de las causas de septicemia en las salas pediátricas, y es igualmente responsable de neumonía bacteriana e infecciones del aparato respiratorio y del tracto urinario.

Ciertas enfermedades inflamatorias crónicas del aparato respiratorio superior han sido atribuidas a especies de Klebsiella, por ej. K. ozaenae se aisla de las lesiones de ozona, una rara rinitis atrófica crónica (de la mucosa nasal) y K. rhinoscleromatis en el rinoscleroma, que es una infrecuente enfermedad granulomatosa crónica que se presenta en el epitelio del aparato respiratorio afectando la nariz y la laringe.

#### Género Enterobacter.

Existen cuatro especies en la clasificación de Ewing: E. aerogenes, E. cloacae, E. hafniae y E. agglomerans.

Estas bacterias son comensales comunes en el tracto intestinal del hombre y de los animales, pero están siendo aisladas con creciente frecuencia en pacientes con infecciones en las vías urinarias, heridas infectadas y septicemia.

Los microorganismos del grupo Enterobacter se encuentran en el suelo, en los productos lácteos, en el agua, en las cloacas, generalmente estos microorganismos son considerados como patógenos secundarios (es decir que dan lugar a una infección primaria previa) o como microorganismos oportunistas (por ej. en las infecciones del tracto urinario subsiguientes a una cateterización).

El género Enterobacter son microorganismos gram negativos, fermentadores de lactosa, glucosa y otros azúcares, son móviles y poseen ornitina descarboxilasa.

**CAPITULO IV**

#### IV. MATERIAL Y METODO.

Para la realización del presente trabajo se requirieron los siguientes materiales:

**Materiales Físicos.** - Autoclave, incubadora, refrigerador, mechero Fisher, cajas petris, asas de nicromo, gradilla para tubos, tubos de cultivo y de pruebas bioquímicas, pipetas, probetas, microscopio, balanza, cinta testigo, frascos estériles, bolsas pediátricas, marcadores, gasa.

**Materiales Químicos.** - Medios de cultivo (agar sangre, agar EMB o McConkey) colorantes para el gram, reactivo de Kovas, cloruro férrico, rojo de metilo, KOH, bioquímicas: MIO, Kligler, Urea de Christensen, Sacarosa, Citrato de Simons, RM/VP, manitol, malonato, fenilalanina desaminasa.

#### Método.

Para recolectar la orina se realiza un aseo de genitales y se recolecta en frasco estéril o en bolsa pediátrica, se lleva al laboratorio en el menor tiempo posible y se le practica a la muestra la técnica del urocultivo, preparando diluciones de 1:10, 1:100 en agua destilada y también se observa el sedimento urinario. Las colonias obtenidas en los medios de cultivo después de la incubación se cuantifican y se identifican por medio de las pruebas bioquímicas.

### Plan de trabajo.

Para la realización de este estudio se colectaron las muestras de orina - de niños cuyo rango de edad comprendiera desde recién nacidos hasta los doce años, con diagnóstico de infección de vías urinarias, pacientes que acuden - al Hospital de Pediatría del C.M.O. (I.N.S.S.) hasta completar 100 urocultivos positivos.

Para tomar lo mejor posible la muestra a fin de reducir la contaminación posible se procede de la siguiente manera:

Después de genitales, la recolección de la orina se realiza mediante el uso de bolsas pediátricas o cuando sea factible se recoge la porción media de la micción en un recipiente estéril. Una vez obtenida la muestra se lleva al laboratorio en el menor tiempo posible para iniciar su estudio.

Mezclar la muestra de orina uniformemente para obtener homogeneidad. Preparar diluciones de orina de 1:10 y 1:100 en agua destilada estéril de la siguiente manera:

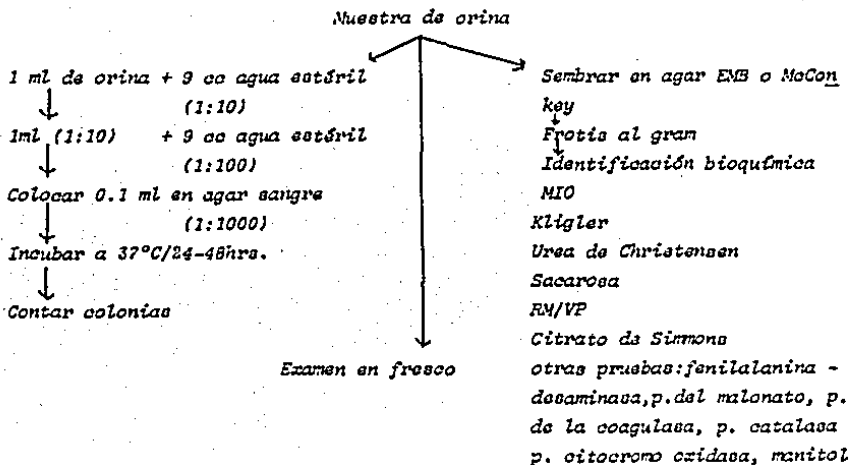
Se toman 2 tubos con 9 ml de agua estéril y tapados, con una pipeta estéril se toma 1 ml de orina se transfiere al 1er. tubo (llenar y vaciar varias veces la pipeta liberando lentamente su contenido en el tubo de diluyente) con otra pipeta estéril mezclar la primera dilución y pasar 1 ml en el segundo tubo, se mezcla como se hizo anteriormente y se toman 0.2 ml de los cuales - se vierte 0.1 ml a una caja de agar sangre y 0.1 ml en agar ENS o McConkey, se siembra con asa de platino frente al mechero (la dilución final será de 1:1000 o sea  $10^{-3}$ ).

Se marcan las cajas con el nombre correspondiente, la fecha y la hora en que se sembró, se incuba de 24 a 48 hrs. a 37°C.

Se procedió a centrifugar el resto de la orina para leer el sedimento urinario para la identificación y cuantificación de estructuras celulares tales - como bacterias, leucocitos, cilindros, eritrocitos, etc.

Transcurrido el tiempo de incubación, se hace un conteo de las colonias de la misma especie y se agregan 3 ceros a la cantidad de colonias contadas para reportar el número de colonias, hacer un frotis al gram de una colonia pura para estudiar su morfología y en base a eso realizar las pruebas bioquímicas a dicha colonia para su identificación.

ESQUEMA DEL PLAN DE TRABAJO.





### Prueba del Citrato.

#### Principio.

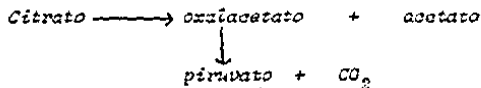
Determinar si un organismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono para el metabolismo provocando alcalinidad.

El citrato de sodio es una sal del ácido cítrico, un compuesto orgánico simple que constituye uno de los metabolitos del ciclo de los ácidos tricarbóxicos (ciclo de Krebs). Algunas bacterias pueden obtener energía por vía directa de la fermentación de hidratos de carbono, utilizando citrato como única fuente de carbono. La determinación de esta característica es importante para la identificación de muchos miembros de la familia Enterobacteriaceae. Cualquier medio empleado para detectar utilización de citrato por parte de las bacterias en estudio debe estar desprovisto de proteínas e hidratos de carbono como fuentes de carbono.

Normalmente, el metabolismo del citrato comprende una condensación de acetoilo con la coenzima A y oxalacetato para entrar en el ciclo de Krebs.

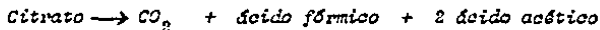
El metabolismo del citrato por la mayoría de las bacterias es rápido a través del ciclo del ácido tricarbóxico o el ciclo de fermentación del citrato. Las bacterias para el desdoblamiento del citrato requieren de una enzima denominada citritasa o citrato desmolasa.

Originalmente se pensó que la descomposición inicial del citrato daba oxalacetato (la sal del ácido oxalacético) y acetato (la sal del ácido acético). Sin embargo, se considera actualmente que el oxalacetato y el acetato son intermediarios en el metabolismo del citrato.



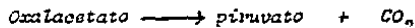
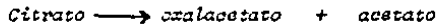
Los productos obtenidos del metabolismo del citrato dependen del pH del medio. Si el pH aumenta (alcalino), se producen más acetato y formiato, con una disminución de la producción de lactato y  $\text{CO}_2$ . Por encima de pH 7 no hay producción de lactato y los productos son ácido fórmico, ácido acético y  $\text{CO}_2$ .

La siguiente reacción nos muestra los productos del citrato por encima de pH7:



Con un pH ácido, el acetilmetilcarbinol (acetofna) y el lactato son los principales productos de utilización del citrato.

Independientemente de los productos terminales producidos, el primer paso de la fermentación del citrato da por resultado la producción de piruvato. La degradación del piruvato depende, entonces del pH del medio.



pH alcalino



pH ácido



El medio utilizado para la fermentación del citrato contiene también sales de amonio inorgánicas. Un organismo que es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono utiliza también las sales de amonio como única fuente de nitrógeno. Las sales de amonio desdoblan en amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) con la consiguiente alcalinidad.

Interpretación

- Prueba positiva.- crecimiento con un color azul intenso en el pico de flauta.

- Prueba negativa.- No se observa crecimiento ni cambio de color del medio (verde).

Esta prueba nos ayuda a la diferenciación entre los géneros:

Grupo Klebsiella-Enterobacter (por lo general +) de Escherichia coli (-).

#### Prueba del MIO (movilidad, indol y ornitina)

Los medios combinados, tales como el sulfuro-indol-movilidad (SIM) o el movilidad-indol-ornitina (MIO), han hallado amplio uso en los laboratorios de microbiología clínica pues se pueden medir más de una característica en un mismo tubo.

#### Movilidad.

##### Principio.

Determinar si un organismo es móvil o inmóvil. Las bacterias se mueven -- por medio de flagelos cuyo número y ubicación varía en las diferentes especies.

La movilidad es otra característica importante en la diferenciación final de una especie o género.

##### Interpretación.

- Prueba positiva.- Los organismos móviles migran de la línea de siembra y se difunden en el medio provocando turbiedad. Pueden mostrar un crecimiento en estufas vellosas.

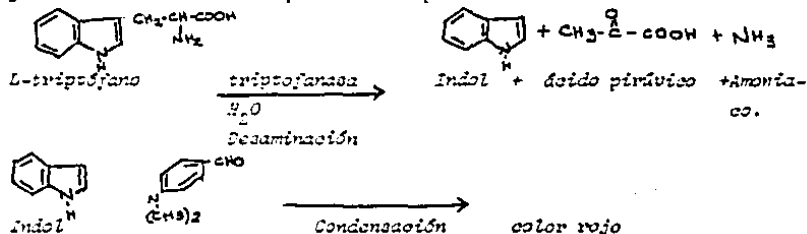
- Prueba negativa.- Crecimiento bacteriano acentuado siguiendo la línea de siembra, el medio circundante se mantiene claro.

Esta prueba nos ayuda a la diferenciación entre los géneros:  
Enterobacter (por lo general +) del Klebsiella (-).

### Indol.

#### Principio.

El indol es uno de los productos del metabolismo del aminoácido triptófano, con producción de indol, ácido pirúvico y amoníaco ( $\text{NH}_3$ ). El indol se puede detectar en el medio apropiado observando el desarrollo de color rojo luego de añadir un reactivo que contiene p-dimetilaminobenzaldehído.



#### Interpretación.

- Prueba positiva.- Un anillo rojo en la superficie del medio en la capa acuosa.
- Prueba negativa.- No se produce color en la superficie del medio, toma el color del reactivo agregado.

Esta prueba nos ayuda a la diferenciación entre los géneros:

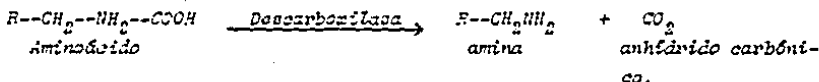
Escherichia coli (por lo general +) del grupo Klebsiella-Enterobacter (por lo general -).

## Ornitina.

## Principio.

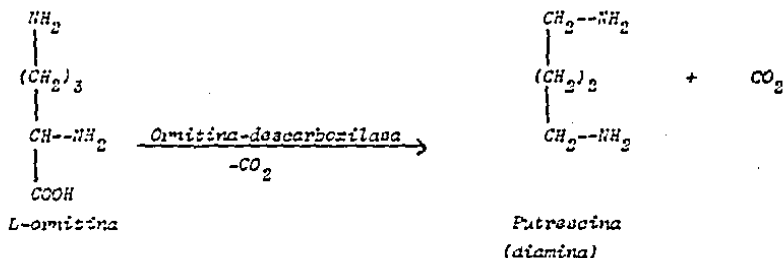
Medir la capacidad enzimática de un organismo para descarboxilar un aminoácido o para formar una amina con la consiguiente alcalinidad.

La descarboxilación es el proceso por el cual las bacterias que poseen enzimas descarboxilasas específicas son capaces de atacar a los aminoácidos en su grupo carboxilo (-COOH), dando una amina o una diamina y anhídrido carbónico.



Las enzimas descarboxilasas son numerosas y cada una es específica para un sustrato determinado. Hay tres descarboxilasas importantes utilizadas para la identificación bacteriana, son la lisina, la ornitina y la arginina.

El aminoácido L-ornitina es descarboxilado por la enzima ornitina-descarboxilasa para dar la diamina putrescina y anhídrido carbónico.



## Interpretación.

- Prueba positiva.- púrpura turbio a un púrpura amarillento

- Prueba negativa.- color amarillo claro.

Esta prueba nos ayuda a diferenciar al género Enterobacter (por lo general +) del género Klebsiella (-)

### Prueba agar hierro de Kligler.

#### Principio.

Determinar la capacidad de un organismo de atacar un hidrato de carbono específico incorporado en un medio de crecimiento básico, con producción o no de gases, junto con la determinación de posible producción de ácido sulfídrico ( $H_2S$ ).

Las reacciones en agar hierro de Kligler (KIA) se utilizan principalmente para la identificación de miembros de las Enterobacteriaceae (entéricas) que son por definición, bacilos gramnegativos catalasa positivos, todos los cuales fermentan el hidrato de carbono glucosa en ácido. Asimismo existen muchos bacilos intestinales gramnegativos no entéricos, a cuya identificación o separación de las entéricas ayudan las reacciones en KIA.

El agar hierro de Kligler (KIA) es un medio diferencial en tubo que sirve a un doble fin:

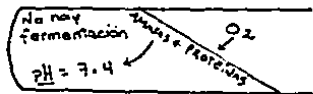
- 1) Determinación de las fermentaciones de los hidratos de carbono: glucosa y lactosa (disacárido formado por dos unidades de monosacárido, glucosa y galactosa) con producción o no de gases ( $CO_2 + H_2$ ).
- 2) Determinación de la producción de ácido sulfídrico.

El agar KIA contiene compuestos proteicos que lo hacen un medio muy nutritivo, contiene sulfato ferroso o citrato férrico como detector de  $H_2S$  y un indicador de pH que es el rojo de fenol, que es amarillo a un pH menor de 6.8. El pH del medio está estabilizado a 7.4, la producción de cantidades pequeñas de ácido provocan un cambio visible de color.

El agar KIA está preparado en "pies de flauta" esto determina que haya esencialmente dos cámaras de reacción dentro del mismo tubo. La porción inferior expuesta en su superficie al oxígeno atmosférico es aerobia, la porción inferior llamada "fondo" o "profundidad" está protegida del aire y es relativamente anaerobia.

Los principios bioquímicos en que se basan las reacciones en KIA se --  
ilustran en el siguiente esquema:

#### NO FERMENTADOR



Pico alcalino/Fondo alcalino.

Pico alcalino/Fondo alcalino: No hay fermentación de azúcares.

La porción inclinada del tubo que está expuesta al oxígeno atmosférico, tiende a tornarse alcalina por la descarboxilación oxidativa de proteínas, pentosas y aminoácidos del medio. Por acción acelerada de las bacterias que desarrollan en el pico, se forman aminas a partir de estos derivados proteínicos y la porción inclinada tiende a permanecer alcalina y de color rojo.

En el fondo del tubo donde no hay oxígeno, la degradación proteíca es mínima y se pueden detectar incluso pequeñas cantidades de ácido por la aparición de un color amarillo.

Las bacterias que no fermentan los hidratos de carbono, son incapaces de producir ácidos, la producción de aminas en el pico, junto con los buffers alcalinos, hace que todo el medio aparezca de color rojo.

Las bacterias que producen este tipo de reacción son conocidas como "no fermentadoras" e indica que el organismo en estudio no pertenece a la familia Enterobacteriaceae.

## NO FERMENTADOR DE LACTOSA



Pico ácido/Fondo ácido  
reacción inicial.



Pico alcalino/Fondo ácido  
reacción tardía.

Pico alcalino/Fondo ácido: glucosa fermentada; lactosa no es fermentada, sólo se puede obtener una cantidad relativamente pequeña de ácido, ya que la concentración de glucosa del medio es de solo 0.1%, durante las primeras 8 a 12 hrs. de incubación, con esta cantidad de ácido puede ser suficiente para hacer virar tanto el fondo como el pico al color amarillo, sin embargo, en las pocas horas siguientes, las proteínas de la parte inclinada del tubo, por acción del oxígeno y las bacterias comienzan a liberar aminas que contrarrestan las pequeñas cantidades de ácido.

A las 13 a 24 hrs. todo el pico retorna a un pH alcalino, retomando un color rojo. En el fondo del tubo, empero, la degradación proteica es insuficiente para contrarrestar el ácido formado y se mantiene amarillo.

De modo que la reacción pico alcalino/fondo ácido es un importante indicador inicial que el organismo en estudio no es un fermentador de lactosa.



## FERMENTADOR DE LACTOSA.



Pico ácido/Fondo ácido

*Pico ácido/Fondo ácido:* glucosa y lactosa fermentadas, las bacterias que utilizan lactosa producen en el KIA cantidades relativamente grandes de ácido debido a la mayor concentración de lactosa (10:1 mayor que la de glucosa) en el medio.

Esta cantidad de ácido es suficiente para superar la reacción alcalina desarrollada en el pico, y todo el tubo permanece de color amarillo.

Esta reacción es característica de coliformas fermentadores de lactosa como *Escherichia coli* y el grupo *Klebsiella-Enterobacter*.

Otro sistema de diferenciación es la presencia de indicadores del ácido sulfhídrico en el medio: una sal, el citrato férrico de amonio, y una sustancia química el tiosulfato de sodio. Ambos indicadores deben estar presentes, puesto que el resultado final es un método de dos etapas.

1a. etapa bacteria (medio ácido) + tiosulfato de sodio  $\rightarrow$   $H_2S$  ↑ gas

El ácido sulfhídrico es un gas incoloro; por lo tanto, es necesario un agente indicador para detectar en forma visible su producción.

2a. etapa  $H_2S$  + iones férricos  $\rightarrow$  Sulfuro ferroso ↓ (precipitado negro insoluble).

El tiosulfato de sodio es la sustancia que provee los átomos de azufre a las bacterias para producir gas  $H_2S$ . El sulfato ferroso o el citrato amónico --

férrico son las sales de hierro comúnmente utilizadas que reaccionan con el gas  $H_2S$  para producir un precipitado negro insoluble de sulfuro ferroso.

#### Interpretación.

Las reacciones que nos encontramos al interpretar la prueba KIA es bucoar siempre estas tres características:

- 1) fermentación de los hidratos de carbono.
- 2) la producción de gases ( $CO_2$  y  $H_2$ )
- 3) la producción de  $H_2S$ .

Las reacciones en KIA pueden interpretarse de cuatro maneras según la bacteria en estudio:

1. Alcalina/Ácida: solamente se ataca la glucosa.
2. Ácida/Ácida: son atacadas la glucosa y la lactosa.
3. Alcalina/Alcalina; no es atacada la glucosa y la lactosa, se utilizan las peptonas que contiene el medio.
4. Alcalina/sin cambio: no son atacadas ni la glucosa ni la lactosa; se utilizan las peptonas.

En cuanto a la producción de gases ( $CO_2+H_2$ )

a) bacteria aeróbica, se manifiesta por lo siguiente:

- 1) Una sola burbuja
- 2) burbujas en el medio
- 3) desplazamiento completo del medio del fondo del tubo dejando un área clara.

La producción de ácido sulfhídrico es manifiesta con la presencia de un precipitado negro insoluble (sulfuro ferroso).

Las reacciones características del grupo Klebsiella-Enterobacter que presentará en la prueba de agar hierro de Kligler son las siguientes:

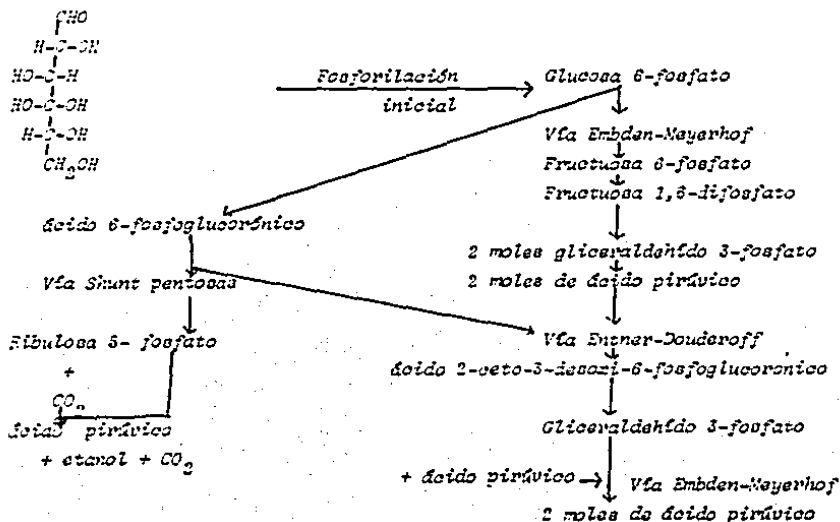
Fico ácido/fondo ácido (fermenta lactosa y glucosa) con producción de gas -- sin producción de  $H_2S$ .

### Prueba de Fermentación de Carbohidratos.

La prueba de fermentación de carbohidratos (sacarosa, manitol, glucosa etc) se utiliza para detectar la capacidad de un organismo para degradar un carbohidrato específico incorporado a un medio basal adicionados de un indicador ácido básico y el carbohidrato por estudiar añadido en proporción de 0.5 a 1%, se detecta por la producción de gas y ácido o solamente ácido.

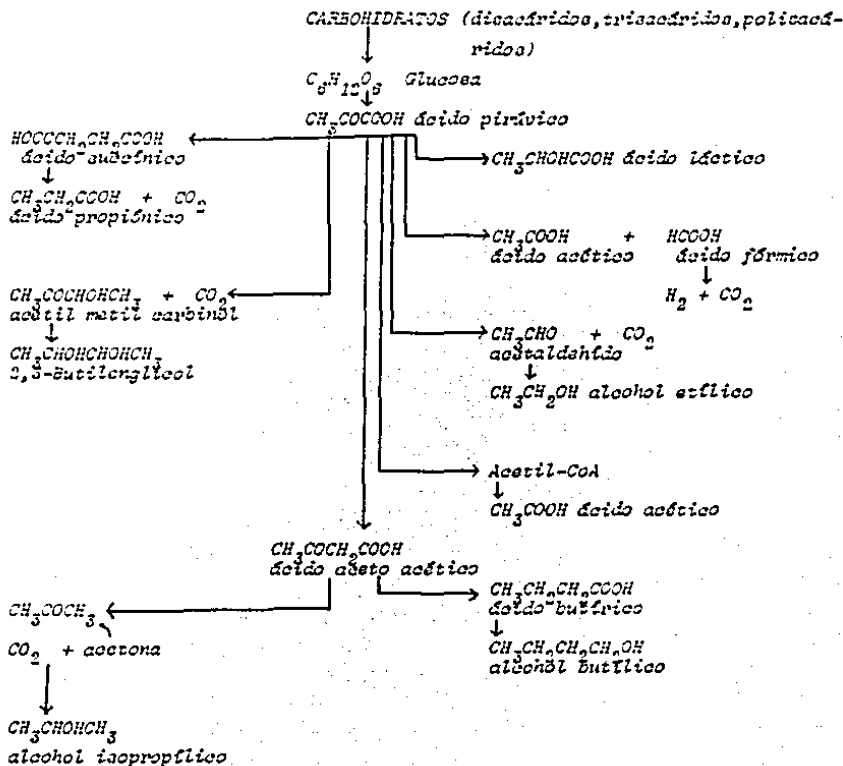
La mayor vía de fermentación de la glucosa es la vía de Embden-Meyerhof, aunque la degradación puede ocurrir vía o en combinación con Shunt de pentosas o la vía de Entner-Doudoroff.

Sin embargo las tres vías requieren la fosforilación de la glucosa como - paso inicial para que ocurra la degradación.



Vía metabólica para la degradación bacteriana de glucosa. (8), (12).

El ácido pirúvico es el producto intermedio en la fermentación de la glucosa, y la degradación del ácido pirúvico experimenta muchos mecanismos diferentes, y forma una variedad de productos finales característicos de la fermentación bacteriana; los monosacáridos son catabolizados como resultado de la oxidación a ácido pirúvico a través de una secuencia en un proceso sucesivo mediado por enzimas específicas.



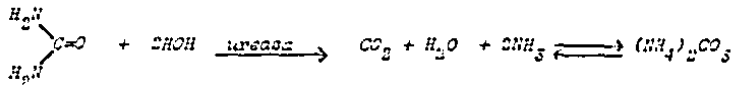
— Fermentación ácida mixta de glucosa por la vía Embden-Meyerhof. (8).

### Reacción de la ureasa.

#### Principio.

La ureasa es una enzima que poseen muchas especies de microorganismos que pueden hidrolizar urea, formándose dos moléculas de amoníaco y la liberación de dióxido de carbono.

El amoníaco reacciona en solución para formar carbonato de amonio produciendo una alcalinización y un aumento del pH del medio.



Esta actividad enzimática es característica de todas las especies de Proteus y se usa sobre todo para diferenciar los organismos Proteus rápidamente urea positivos de otros miembros de las Enterobacteriaceae; otros géneros pueden ser positivos retardados como algunas especies de Klebsiella o Enterobacter.

#### Interpretación.

En el agar urea de Christensen se observan las siguientes reacciones:

- reacción positiva.- color rojo rosado intenso (rojo violáceo) en el pico de flauta. El color puede penetrar en el agar.
- ur. positiva rápida: de una a seis hrs. para todas las especies de Proteus
- ur. positiva retardada: de 24 hrs a 5 días de incubación como algunas cepas de Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter.
- reacción negativa: no se produce cambio de color (color de ante a amarillo pálido)

Esta prueba ayuda a la identificación de géneros:

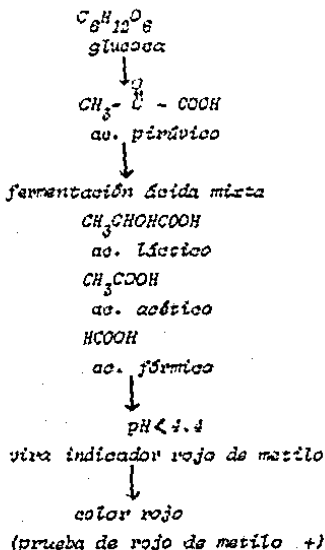
Proteus positivo (rápida), Klebsiella-Enterobacter positiva (algunas cepas reacción retardada), Escherichia (-).

### Prueba del rojo de metilo (RM).

#### Principio.

Comprobar la capacidad de un organismo de producir y mantener estables los productos terminales de la fermentación de la glucosa (ácidos fuertes como láctico, acético, fórmico) y vencer la capacidad amortiguadora del sistema luego de una incubación prolongada (48 a 72 hrs).

La prueba de rojo de metilo es una prueba cualitativa de la producción de ácido (determinación de pH) esta prueba se basa en el empleo del indicador de pH, rojo de metilo, para determinar la concentración de iones hidrógeno (pH) presente cuando un organismo fermenta la glucosa por la vía de la fermentación ácida mixta.



Esquema de la fermentación de glucosa por la vía de ácidos mixtos. (3).

Todos los miembros de las Enterobacteriaceae son fermentadoras de la glucosa. En el caldo RM/VP después de 18 a 24 hrs. de incubación, la fermentación resultante de productos secundarios metabólicos ácidos; por lo tanto inicialmente todos los entéricos darán una reacción positiva con el rojo de metilo. Sin embargo, después de más tiempo de incubación (de 2 a 5 días), aquellos organismos que son rojo de metilo positivos continúan produciendo más ácidos y dan como resultado un bajo pH terminal, venciendo al sistema amortiguador de fosfato, manteniendo un medio ácido (pH: 4.2 o menor)

Los organismos rojo de metilo negativos continúan metabolizando los productos iniciales de la fermentación por decarboxilación, produciendo acetilmetilcarbinol (acetofina) lo que da un elevado pH terminal que disminuye la acidez del medio, elevando el pH hacia la neutralidad (pH: 6 o más)

#### Interpretación.

Después de una incubación del caldo no menor de 18 hrs. y agregado 5 gotas del reactivo rojo de metilo, el desarrollo de un color estable en la superficie del medio indica la producción de ácido en cantidad suficiente como para bajar el pH < 4.4 y es una prueba positiva.

Una prueba rojo de metilo negativa se da cuando en la superficie del medio desarrolle un color amarillo (pH 6) . Algunos organismos pueden producir cantidades menores de ácido a partir de la glucosa, es posible el desarrollo de un color naranja intermedio entre el amarillo y el rojo, esto no indica una prueba RM positiva

Esta prueba nos ayuda a diferenciar géneros:

Escherichia (+) del grupo Klebsiella-Enterobacter (por lo general -)

### Prueba de Voges-Proskauer.

#### Principio.

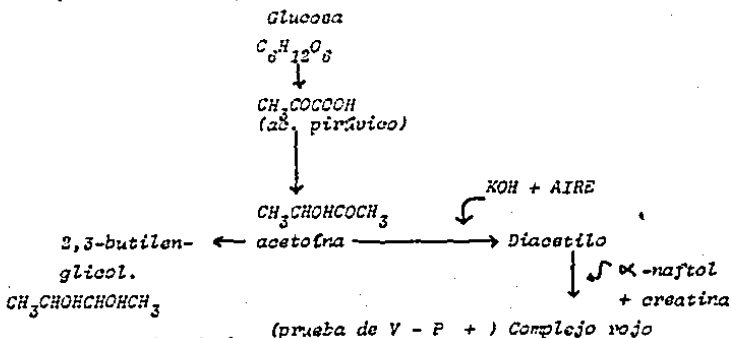
La reacción de Voges-Proskauer (VP) se basa en la detección del acetilmetilcarbinol (acetofna), un producto final neutro del metabolismo de la glucosa.

Las Enterobacteriaceae se clasifican característicamente como fermentadoras de ácidos mixtos, lo cual indica que sus productos terminales por la fermentación de la glucosa son ácidos: ácido fórmico, ácido acético, ácido succínico, alcohol etílico, hidrógeno y anhídrido carbónico.

Estos fermentadores de ácidos mixtos pueden ser derivados a su vez en dos grupos:

- 1) Los que producen ácidos pero no 2,3-butanediol (o 2,3-butilenglicol), como la E. coli (VF-).
- 2) Los que producen 2,3-butanediol como principales productos terminales, como los grupos Klebsiella-Enterobacter (VF+).

El principal producto terminal de la utilización del piruvato por los grupos Klebsiella-Enterobacter y muchos otros organismos, es el 2,3-butanediol, la reacción VP se basa en la detección de la acetofna (acetilmetilcarbinol), un precursor de la producción del 2,3-butanediol.

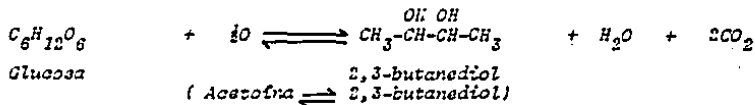


Esquema de la fermentación de la glucosa por la vía de la acetofna (8).



En presencia de oxígeno atmosférico y de hidróxido de potasio al 40 %, la acetofna se convierte en diacetilo y el alfa-naftol actúa como catalizador para revelar un complejo rojo.

La reacción general del metabolismo de la glucosa por los grupos *Klebsiella-Enterobacter* es:



Interpretación.

- Prueba VP positiva.- color rojo rosado en la superficie del medio (presencia de acetofna)
- Prueba VP negativa.- color amarillo en la superficie del medio (el mismo color del reactivo) Puede formarse un color cobrizo, pero aun así la reacción es negativa (debido a la acción de los reactivos al mezclarse).

La reacción de Voges-Proskauer nos sirve para separar los géneros:

*Escherichia coli* (-) del grupo *Klebsiella-Enterobacter* (por lo general +).

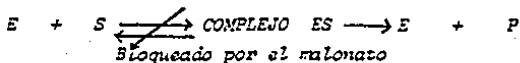
Prueba del malonato.

Principio.

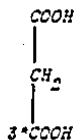
Determinar la capacidad de un organismo de utilizar malonato de sodio como única fuente de carbono, con la consiguiente alcalinidad.

El malonato es un inhibidor enzimático que se une a los sitios de la enzima succinato-deshidrogenasa, de una manera que no puede combinarse con su sustrato normal, el ácido succínico, e interfiere así en la oxidación del ácido

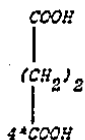
succínico en ácido fumárico, como lo indica la siguiente ecuación:



El ácido malónico es estructuralmente análogo al ácido succínico y compete por su lugar en la enzima. El ácido malónico difiere químicamente del sustrato porque es un ácido 3-carbono dicarboxílico, mientras que el ácido succínico es un 4-carbono dicarboxílico.

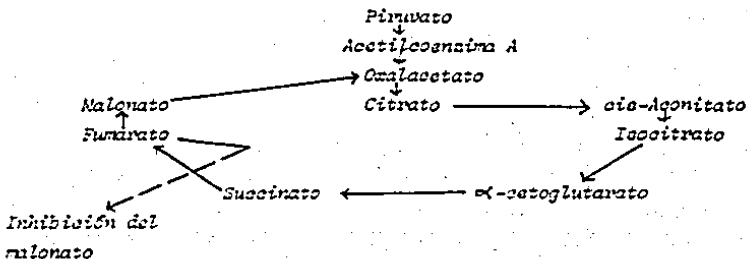


ácido malónico  
(malonato)



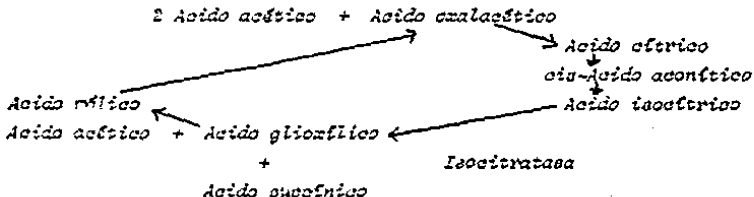
ácido succínico

Esta inhibición enzimática interrumpe el ciclo de Krebs, privando a algunos organismos de su fuente de energía.



La célula bacteriana, entonces recurre al ciclo del ácido glicólico para obtener nuevos intermediarios para la ulterior biosíntesis en el metabolismo.

Por medio del ciclo glicólico la célula bacteriana regula la cantidad de acetilcoenzima A introducida en el ciclo para su continuación, que es controlada por la producción de la enzima isocitrata. Sin embargo, una mayor concentración de ácido succínico también inhibirá a la enzima isocitrata provocando la falta de formación de ácido glicólico y ácido acético.



Por lo tanto, una acumulación del ácido succínico debido a la inhibición de la succinato-deshidrogenasa interrumpe el ciclo de Krebs, privando a algunos organismos de su fuente de energía, e interfiere también en el ciclo del ácido glicólico. El resultado final es que un organismo es incapaz de crecer y reproducirse a menos que pueda fermentar o utilizar el malonato de sodio como su única fuente de carbono.

*Interpretación.*

- Prueba positiva.- color azul claro a azul prusia intenso en todo el medio.
- Prueba negativa.- no se observa cambio de color (verde) o amarillo (únicamente por la fermentación de la glucosa) Se da como prueba negativa hasta no haber incubado los tubos durante 48 hrs.

Esta prueba ayuda a la diferenciación entre géneros:

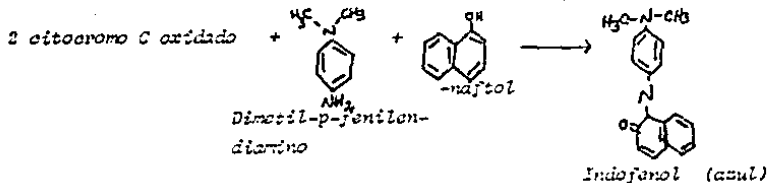
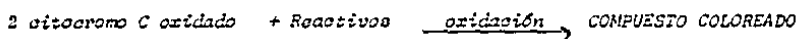
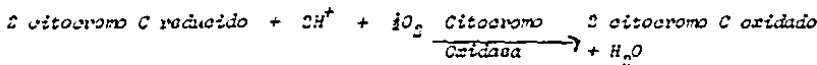
Klebsiella-Enterobacter (por lo general +) de Escherichia coli(-)

## Prueba de Citocromo Oxidasa

### Principio.

Los citocromos son hemoproteínas que contienen hierro y actúa 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 aerobios o anaerobios facultativos, de modo que la prueba oxidasa es importante para identificar a aquellos organismos que carecen de la enzima o son anaerobios obligados. La prueba es muy útil para el "screening" de colonias sospechosas de ser enterobacterias (todas negativas) y para la identificación de colonias que se presume sean especies de Pseudomonas o Neisserias (positivas).

La citocromo oxidasa en presencia del oxígeno atmosférico, oxida el reactivo fenilendiamino oxidasa para formar un compuesto coloreado, el indofenol. La reacción es la siguiente:



### Interpretación.

- Prueba positiva.- Desarrollan en segundos un intenso color azul después de agregarle 2 a 3 gotas del reactivo de Kovacs.
- Prueba negativa.- No se presenta cambio de color.

Dado que la prueba de oxidasa es tan sencilla, se recomienda que la colonia que sea de enterobacterias y que presente como no fermentadora de la lactosa, se investigue actividad citocromo oxidasa antes de elegir la serie de medios diferenciales a utilizar.

### Prueba de la catalasa.

#### Principio.

La catalasa es una hemoproteína que descompone el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en oxígeno y agua. El peróxido de hidrógeno se forma en la bacteria - como uno de los productos finales del metabolismo oxidativo aeróbico de los hidratos de carbono.

Si se deja acumular el peróxido de hidrógeno es letal para las células bacterianas. La catalasa transforma al peróxido en agua y oxígeno, como lo demuestra la siguiente reacción:



#### Interpretación.

- Prueba positiva.- Llevada a cabo en portaobjetos, se produce una rápida -- aparición y producción de burbujas de gas o efervescencia sostenida después de 20 o 30 segundos al ser mezclados con una solución de agua oxigenada - al 3 %.
- Prueba negativa.- No hay producción de burbujas de gas.

La prueba de la catalasa nos ayuda a diferenciar los estreptococos (positivos) de catáfilococos (negativos) o especies de bacilos Gram positivos y micobacterias.

### Prueba de la coagulasa.

#### Principio.

La coagulasa es una enzima proteica de composición química desconocida, - con actividad semejante a la protombina, capaz de transformar el fibrinógeno en fibrina, provocando la formación de un coágulo visible en el sistema analítico adecuado.

Se cree que la coagulasa funciona in vivo produciendo una barrera en el sitio de la infección estafilocócica.

La coagulasa se halla presente en dos formas "libre" y "fija" cada una de las cuales posee diferentes propiedades que requieren el uso de técnicas separadas.

La coagulasa fija (P. en portaobjetos), conocida como "factor de aglutinación" está unida a la pared celular bacteriana y no en filtrados de cultivo. Los hilos de fibrina formados entre las células bacterianas suspendidas en plasma (fibrinógeno) provocan su aglutinación, indicada por la presencia de agregados visibles en el portaobjetos.

La coagulasa libre (p. en tubo), es una sustancia semejante a la trombina - que se encuentra en los filtrados de cultivo. Cuando una suspensión de bacterias productoras de coagulasa se mezcla en partes iguales con plasma en un tubo de ensayo, se forma un coágulo visible, como consecuencia de los factores de coagulación del plasma de manera similar a cuando se añade trombina.

En el laboratorio esta prueba se utiliza para diferenciar al Staphylococcus aureus (coagulasa positivo) de otros estafilococos y micrococcos.

	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. oxytoca</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>E. agglomerans</i>	<i>F. mitterlic</i>	<i>F. vulgaris</i>	<i>C. freundii</i>	<i>Fs. aeruginosa</i>		<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>
Citrato	-	+	+	+	+	d+	+/-	d+	+	v	Manitol	-	+
Lactosa	+	+	+	+	+	+	-	-	d	-	Coagulasa	-	+
Glucosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Catalasa	+	+
Gas	+	+	+	+	+	d+	+	d+	+	+			
Movilidad	+/-	-	-	+	+	v+	+	+	+	+			
Indol	+	-	+	-	-	-	-	+	-	v			
Ornitina	+/-	-	-	+	+	-	-	-	d	-			
Sacarosa	+/-	+	+	+	+	+/-	d	+	d	+/-			
Urea	-	d+	d+	-	+/-	+/-	+	+	d	+/-			
Rojo de metilo	+	-	-	-	-	-/+	+	+	+	v			
Voges-Proskauer	-	+	+	+	+	+/-	-/+	-	-	v			
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	-	+	+	+/-	-			
Manitol	+	+/-	+/-	+	+	+	-	-	+	+/-			
Fenilalanina decarboxilasa	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-			
Malonato	-	+	+	+/-	+/-	+/-	-	-	+/-	-			
Oxidasa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+			

TABLA DE IDENTIFICACION DE LAS ENTEROBACTERIAS.

## **RESULTADOS**



## RESULTADOS

De los 100 urocultivos positivos, tenemos la siguiente relación:  
 43% son del sexo Femenino  
 57% son del sexo Masculino.

Bacteria	% F	% M	TOTAL
<i>E. coli</i>	35	18	43
<i>Proteus</i>			18
<i>P. mirabilis</i>	5	3	
<i>P. vulgaris</i>	-	2	
<i>Klebsiella</i>			14
<i>K. pneumoniae</i>	5	6	
<i>K. oxytoca</i>	-	3	
<i>Enterobacter</i>			8
<i>E. agglomerans</i>	3	3	
<i>E. cloacae</i>	-	1	
<i>E. aerogenes</i>	-	1	
<i>C. freundii</i>	3	4	7
<i>Staphylococcus</i>			7
<i>S. aureus</i>	1	4	
<i>S. epidermidis</i>	-	2	
<i>Po. aeruginosa</i>	1	4	5
	<hr/> 43	<hr/> 57	<hr/> 100

Tabla de Resultados.

No. de muestra	Sexo	Examen microscópico			Urocultivo
		Leucocitos	Bacterias	Eritrocitos	
1	F	15/c	Reg.	0-1/c	+100,000 UFC/ml <i>E. coli</i>
2	M	60/c	Abs.	4/c	+100,000 UFC/ml <i>Ps. aeruginosa</i>
3	F	10/c	Eso.	-	+100,000 UFC/ml <i>E. coli</i>
4	M	0-1/c	Abs.	2/c	+100,000 UFC/ml <i>P. mirabilis</i>
5	F	+50/c	Abs.	0-1/c	+100,000 UFC/ml <i>E. coli</i>
6	F	20/c	Eso.	-	+100,000 UFC/ml <i>E. coli</i>
7	M	1/c	Abs.	3/c	+100,000 UFC/ml <i>S. aureus</i>
8	F	10/c	Eso.	-	+100,000 UFC/ml <i>E. coli</i>
9	F	11/c	Reg.	0-1/c	+100,000 UFC/ml <i>E. coli</i>
10	F	8/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>E. coli</i>
11	M	25/c	Reg.	0-2/c	+100,000 UFC/ml <i>K. pneumoniae</i>
12	F	Ingont.	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>E. coli</i>
13	M	16/c	Eso.	-	+100,000 UFC/ml <i>P. mirabilis</i>
14	M	20/c	Eso.	4/c	+100,000 UFC/ml <i>K. pneumoniae</i>
15	F	58/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml <i>E. coli</i>
16	F	0-1/c	Abs.	0-2/c	+100,000 UFC/ml <i>K. pneumoniae</i>
17	M	20/c	Eso.	-	+100,000 UFC/ml <i>Ps. aeruginosa</i>
18	F	0-3/c	Reg.	2/c	+100,000 UFC/ml <i>K. pneumoniae</i>
19	F	+50/c	Abs.	3/c	+100,000 UFC/ml <i>E. coli</i>
20	M	1/c	Reg.	2-3/c	+100,000 UFC/ml <i>Ps. aeruginosa</i>
21	M	12/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>E. coli</i>

No. de muestra	Sexo	Examen microscópico			Urocultivo
		Leucocitos	Bacterias	Eritrocitos	
22	F	34/c	Eso.	-	+100,000 UFC/ml <i>S.aureus</i>
23	F	9/c	Reg.	0-1/c	+100,000 UFC/ml <i>K.pneumoniae</i>
24	F	20/c	Eso.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
25	M	30/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml <i>S.aureus</i>
26	F	+45/c	Abs.	0-2/c	+100,000 UFC/ml <i>P.mirabilis</i>
27	M	6/c	Abs.	1/c	+100,000 UFC/ml <i>Pa.aeruginosa</i>
28	M	20/c	Reg.	3/c	+100,000 UFC/ml <i>C.freudii</i>
29	F	11/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
30	M	10/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.agglomerans</i>
31	M	3/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
32	M	0-2/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>S.epidermidis</i>
33	F	20/c	Reg.	2/c	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
34	M	10/c	Abs.	0-3/c	+100,000 UFC/ml <i>P.mirabilis</i>
35	M	60/c	Abs.	10/c	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
36	M	4/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
37	F	20/c	Eso.	0-1/c	+100,000 UFC/ml <i>C.freudii</i>
38	M	50/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml <i>C.freudii</i>
39	M	15/c	Eso.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
40	F	7/c	Reg.	0-1/c	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
41	F	4/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>K.pneumoniae</i>
42	M	20/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
43	M	45/c	Eso.	4/c	+100,000 UFC/ml <i>E.sloacae</i>
44	F	+50/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>

No da mastra	Sexo	Examen microscópico			Urocultivo
		Leucocitos	Bacterias	Eritrocitos	
45	F	9/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml E.agglomerans
46	M	10/a	Reg.	3/c	+100,000 UFC/ml E.agglomerans
47	M	0-1/c	Abs.	2/c	+100,000 UFC/ml E.coli
48	F	10/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml E.coli
49	F	+50/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml E.coli
50	M	20/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml K.oxytoca
51	F	25/a	Esc.	3/c	+100,000 UFC/ml E.coli
52	F	6/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml Pa.aeruginosa
53	M	30/a	Abs.	-	+100,000 UFC/ml S.aerogenes
54	M	11/c	Esc.	2/c	+100,000 UFC/ml P.mirabilis
55	N	45/a	Esc.	-	+100,000 UFC/ml P.mirabilis
56	N	1/c	Abs.	3/c	+100,000 UFC/ml S.aureus
57	M	8/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml P.mirabilis
58	M	20/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml E.agglomerans
59	F	10/c	Esc.	1/c	+100,000 UFC/ml P.mirabilis
60	F	+15/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml C.freudii
61	M	35/c	Esc.	-	+100,000 UFC/ml P.mirabilis
62	M	8/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml C.freudii
63	F	15/a	Abs.	3/c	+100,000 UFC/ml E.coli
64	F	+80/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml E.agglomerans
65	M	2/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml K.oxytoca
66	M	20/a	Esc.	4/c	+100,000 UFC/ml E.coli
67	M	8/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml P.mirabilis

No. de muestra	Sexo	Examen microscópico			Urocultivo
		Leucocitos	Bacterias	Eritrocitos	
68	M	Incont.	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
69	M	15/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
70	F	25/c	Esc.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
71	M	38/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml <i>S.aureus</i>
72	F	3/c	Abs.	0-3/c	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
73	M	35/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
74	M	15/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
75	M	20/c	Reg.	0-1/c	+100,000 UFC/ml <i>P.vulgaris</i>
76	M	+50/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>P.vulgaris</i>
77	M	10/c	Esc.	0-2/c	+100,000 UFC/ml <i>C.freudtii</i>
78	M	8/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
79	M	+80/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>K.pneumoniae</i>
80	M	20/c	Abs.	4/c	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
81	F	4/c	Abs.	2/c	+100,000 UFC/ml <i>C.freudtii</i>
82	F	0-2/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
83	M	15/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
84	F	20/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>P.mirabilis</i>
85	M	10/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>P.mirabilis</i>
86	M	+50/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
97	M	50/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
88	F	8/c	Reg.	3/c	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
89	M	20/c	Esc.	-	+100,000 UFC/ml <i>S.epidermidis</i>
90	M	15/c	Reg.	2/c	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>

No. de muestra	Sexo	Examen microscópico			Urocultivo
		Leucocitos	Bacterias	Eritrocitos	
91	M	+50/c	Esc.	-	+100,000 UFC/ml <i>K.pneumoniae</i>
92	F	2/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>P.mirabilis</i>
93	F	20/c	Esc.	1/c	+100,000 UFC/ml <i>P.mirabilis</i>
94	F	11/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.agglomerans</i>
95	M	45/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml <i>K.pneumoniae</i>
96	F	6/c	Abs.	0-2/c	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>
97	M	25/c	Esc.	3/c	+100,000 UFC/ml <i>K.pneumoniae</i>
98	M	30/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>K.oxytoca</i>
99	F	10/c	Reg.	-	+100,000 UFC/ml <i>K.pneumoniae</i>
100	F	45/c	Abs.	-	+100,000 UFC/ml <i>E.coli</i>

## **CONCLUSIONES**

## CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos, la bacteria que con mayor frecuencia causa infección en las vías urinarias en los niños es E. coli con un 43% de las cuales 25% corresponden al sexo femenino y un 18% al sexo masculino.

Proteus se encuentra como segundo agente etiológico con una incidencia del 16%, la especie P. mirabilis aparece con un 14% y P. vulgaris de 2%.

Encontramos enseguida al grupo Klebsiella-Enterobacter, Klebsiella 14% de los cuales K. pneumoniae posee un 11% y K. oxytoca 3%.

Enterobacter presentó una incidencia del 8% distribuidos de la siguiente manera: E. agglomerans 6%; E. cloacae 1% y E. aerogenes 1%.

En orden descendente encontramos a C. freundii 7%, Ps. aeruginosa 5%, S. aureus 5% y S. epidermidis 2%.

De los 100 urocultivos en estudio 43 % corresponden al sexo femenino y un 57 % al sexo masculino, explicable esta diferencia probablemente en que se presenta anomalías del tracto urinario con mayor frecuencia en niños, es indudable pues el papel que desempeñan las anomalías urológicas como factores importantes en la patogenia de las infecciones urinarias.

Siendo la infección del tracto urinario una enfermedad muy frecuente en los niños en sus diferentes grupos de edad, es importante señalar que se presenta con mayor frecuencia en los lactantes después de una infección gastrointestinal, esto se explica cuando son sometidos a una lactancia artificial en los que son más frecuentes los trastornos nutritivos e infecciones intestinales.

La finalidad de este estudio se cumplió al dar a conocer la incidencia del grupo Klebsiella-Enterobacter como agentes causales de infección en vías urinarias independientemente de la causa que origina dicha infección, por último considero importante señalar que el método plenamente satisfactorio para el diagnóstico de la infección urinaria activa es el urocultivo. Cualquier otro método diagnóstico lo es solamente de presunción, de aquí se desprende



la responsabilidad de quien realiza los urocultivos de estar preparados -  
profesionalmente, ya que un diagnóstico bien realizado permitirá tratar el  
problema más eficazmente.

**RESUMEN**

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

49

## RESUMEN

La infección del tracto urinario es una patología nefrológica muy común - en los niños, es importante señalar como agentes etiológicos fundamentales a las bacterias que habitan por lo general en el tubo digestivo, nuestra finalidad en este trabajo fue dar a conocer la incidencia del grupo Klebsiella-Enterobacter como agentes causales de infección, independientemente de -- cual sea la raíz que la causa, ya que la infección de las vías urinarias es presenta con mayor probabilidad después de una infección gastrointestinal, - sin descartar a aquellas infecciones que se asocian a malformación urológica de aquí deriva la importancia de estudiar minuciosamente la causa que la origina para evitar que a largo plazo pueda conducir a una insuficiencia renal desafortunadamente para muchos padres el hecho de que el niño "se vea bien" o "se sienta bien" es indicio de salud y no hacen caso de recomendaciones para practicar estudios sencillos y poco agresivos, evitando así gran sufrimiento e incomodidad a la mayoría de los pacientes que en ocasiones representan un costo muy alto para la familia y la sociedad.

## BIBLIOGRAFIA

## BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Bojalil J., Santoscoy G., Sosa N., Microbiología Médica, tomo I, México D.F., Comite Editorial 1981.
- 2.- Boyd-Koertz, Microbiología Médica, Librería "El Ateneo" Editorial 1974.
- 3.- Davis D.E., Dulbecco R., Tratado de Microbiología, 2a. Edición, Barcelona, España, Editorial Salvat, 1980.
- 4.- Escobar G.A., Atlas de Bacteriología, Vol 6 Scheramez.
- 5.- Freeman A.B., Tratado de Microbiología de Burrows, 21a. edición, México D.F., Editorial Interamericana, 1983.
- 6.- Gardner-Provine, Manual de infecciones bacterianas agudas, Buenos Aires Argentina, Editorial Médica Panamericana, 1978.
- 7.- Kaye D., Clínica y tratamiento de las infecciones urinarias, Barcelona, España, Ediciones Toray S.A. 1979.
- 8.- Koneman N.E. y cols., Diagnóstico Microbiológico, Buenos Aires, Argentina Editorial Médica Panamericana 1983.
- 9.- Lennette E.H., Manual de Microbiología Clínica, Buenos Aires Argentina, Editorial Panamericana, 1987.
- 10.- Maheras-Judgnard, Urinary tract infection in High-risk newborn infants, Rev. Pediatría Vol 36 (No. ) 1984
- 11.- Mendiola J., Prácticas de Ecología, Guadalajara, México. Ed. UAG. 1980.
- 12.- Mc. Fadd in J.F., Biochemical test for identification of Medical bacteria, USA. Editorial Williams and Wilkins, 1980.

- 13.- Moreno G.B. y cols., Infección de vías urinarias asociadas con malformación urológica, Hospital General, Centro Médico La Raza Mexico D.F., Rev. Pediatría Mexicana Vol 24 (No. 6) Abril 1964.
- 14.- Ramirez-Ramos, Infección del tracto urinario en niños, Hospital de Miami, Florida, Rev. Tribuna Médica Vol 7 (no. 75) pp. 30-35 Julio 1964.
- 15.- Todd Sanford, Diagnóstico clínico por el laboratorio, 6a. Edición, Barcelona España Editorial Salvat, 1963.