

78  
24



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
"ZARAGOZA"**

**OPTIMIZACION Y VALORACION DE UN MEDIO  
DE CULTIVO PARA EL DIAGNOSTICO DE  
INFECCION DE VIAS URINARIAS**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**QUIMICO FARMACEUTICO**  
**B I O L O G O**  
**P R E S E N T A :**  
**MARIA SARA VALDIVIA GALICIA**



**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

MEXICO, D. F.

ABRIL 1990



## **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 .

	Pag.
INTRODUCCION.	1
FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA	27
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	29
OBJETIVOS	31
HIPOTESIS	32
MATERIAL	33
METODOLOGIA	36
RESULTADOS	39
ANALISIS DE COSTOS	61
ANALISIS DE RESULTADOS	62
CONCLUSIONES	66
BIBLIOGRAFIA	68

## 1. INTRODUCCION.

1.1. El aparato urinario está compuesto de los órganos encargados de segregar la orina, los riñones, y de una serie de conductos de excreción; cálices, pelvis renal, uréter, que la llevan a un recipiente, vejiga, de donde es lanzada al exterior por un conducto llamado uretra. (1)

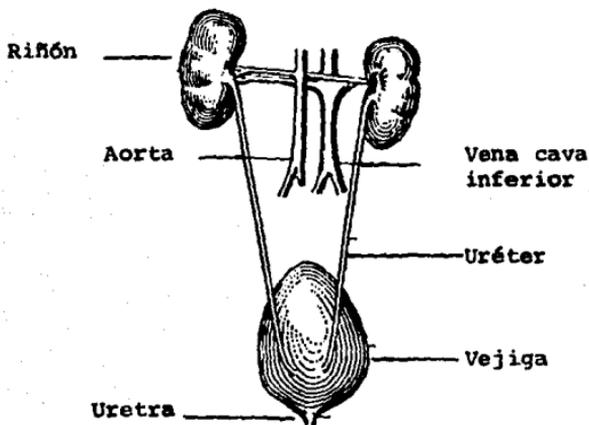


Fig. 1  
Aparato Urinario

### 1.1.1. Riñones.

Los riñones son los órganos donde se forma la orina. Tiene forma de frijol con la cavidad hacia la columna con dimensiones de 5 a 7 por 12 a 14 cm, situados a los lados de la columna vertebral a la altura de la 12a. dorsal y la 2a. lumbar. Pesan de 25 gr. en recién nacidos a 150 gr en adultos. En un corte transversal muestra dos porciones: 1) la médula, formada por pirámides o conos invertidos. 2) la corteza, donde se encuentran las nefronas. (1,11,17,19)

Cada uno se compone de 1 a 2 millones de nefronas que son la unidad funcional, además de vasos arteriales, venosos, linfáticos, nerviosos e intersticio.

### 1.1.2. Unidad funcional renal y fisiológica renal.

La unidad funcional renal es la nefrona que mide aproximadamente 5 cm c/u y que en conjunto forman aproximadamente 10 km de un tubo de 20 a 50 mm de diámetro. La nefrona está formada por: glomérulo, cápsula de Bowman, túbulo contorneado proximal, túbulo contorneado distal, Asa de Henle y tubo colector.

Además es irrigada por: Arteriola aferente y eferente.

Tiene como función la de formar la orina a través de los siguientes procesos:

- Ultrafiltración glomerular.
- Resorción túbular
- Secreción túbular
- Concentración de la orina (17,24)

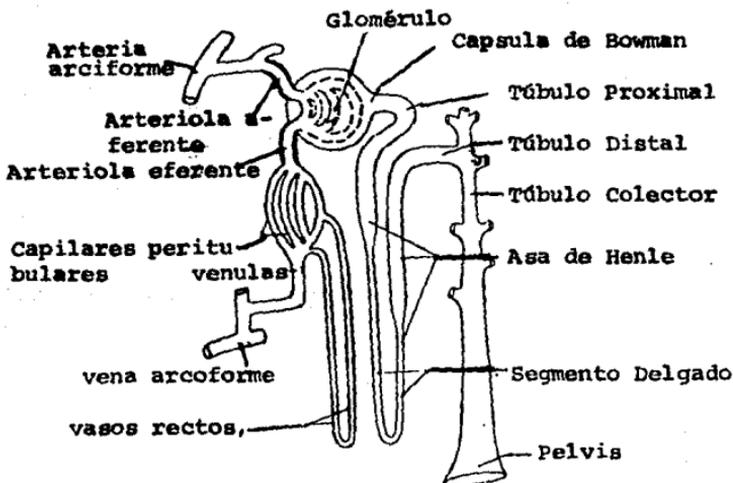


Fig. 2 Nefrona

### 1.1.3. Cálices.

Los pequeños cálices son conductos membranosos en forma de conos huecos, de una longitud de 1 cm; se les distingue una extremidad renal, que toma inserción en la base de una papila y otra extremidad que desemboca en un cáliz mayor.

### 1.1.4. Pelvis Renal.

La pelvis renal es el segundo segmento del aparato excretor del riñón, comprendida entre los grandes cálices y el uréter.

### 1.1.5. Ureter.

El uréter es un tubo membranoso extendido de la pelvis renal a la vejiga; tiene una longitud media de 28 cm y un diámetro medio de 5 mm.

### 1.1.6. Vejiga.

La vejiga es un recipiente musculomembranoso, donde se acumula la orina que llega por los uréteres y permanece en ella el tiempo comprendido entre las micciones.

### 1.1.7. Uretra.

La uretra es el conducto secretor de la vejiga, exclusivamente urinario en la mujer, la cual se extiende del cuello de la vejiga a la vulva. En el hombre tiene un corto trayecto de dos centímetros, exclusivamente urinario, después del cual recibe los canales eyaculadores y se transforma en un conducto genitourinario que deja paso a la orina y al líquido seminal. (1,17,19,24).

## 1.2. MEDIOS DE CULTIVO.

Excepto algunas raras veces, todo examen bacteriológico necesita el cultivo del producto a examinar. Este cultivo es necesario para la evidenciación de las bacterias, el aislamiento y separación de las distintas especies bacterianas presentes en un producto patológico; casi siempre necesario para la identificación de las bacterias aisladas (ya que los caracteres morfológicos observados al microscopio son amenudo insuficientes); necesario también para los estudios complementarios, como los de la sensibilidad de las bacterias a los distintos antibióticos.

Cultivo se entiende como el crecimiento de los gérmenes en un medio, obtenido de una forma artificial; a su vez los medios de cultivo son sustratos que aportan las necesidades nutritivas para la multiplicación bacteriana, de ellos obtienen las fuentes de carbono, nitrógeno, fósforo, potasio, sodio, magnesio y otros oligoelementos, algunos organismos necesitan además los factores de crecimiento que hay que suministrarlos en los medios.

Los numerosos medios de cultivo utilizados en bacteriología pueden clasificarse según distintos criterios pero todas las clasificaciones son superponibles. (4,7,14,20)

### 1. Por su Estado Físico.

Se pueden clasificar en medios líquidos, semisólidos y sólidos. A los medios se les puede añadir sustancias solidificantes con los que utilizando placas de Petri podemos obtener de cada microorganismo el desarrollo de una colonia.

Los medios semisólidos con agar al 3 % pueden ser útiles para estudiar la movilidad. (15,18,20)

### 2. Por su Función.

- Medios de aislamiento. Los medios para aislamiento se emplean para sembrar las muestras, tales como orina o LCR. Pueden utilizarse para un aislamiento general o para un aislamiento selectivo de un organismo en particular o de un grupo de organismos.

- Medios de Propagación (mantenimiento de cepas).  
Son aquellos que permiten el desarrollo del germen, quizá no de un modo óptimo, pero sí para una alta supervivencia. Por ejemplo, los medios de dextrosa.
- Medios de Identificación.  
El examen microscópico y la observación del aspecto de los cultivos en medios ordinarios no permiten la identificación suficientemente precisa, por lo que se investiga un cierto número de reacciones bioquímicas o enzimáticas cuyo conjunto constituye en suma el "carnet de identidad de la bacteria".
- Medios de Conservación.  
Son en general medios pobres que mantienen las bacterias viables.

### 3. Por su Uso.

- Medios Simples, que son líquidos y sólidos.  
Son los medios más simples, que solo contienen algún extracto de carne u otra infusión simple, peptona, sal y agua.
- Medios Enriquecidos.  
Los medios "ordinarios" no permiten el crecimiento de ciertas bacterias exigentes. Ello puede ser debido a:
  - una deficiencia en factores de crecimiento.
  - la presencia de posibles inhibidores, sobre todo en las peptonas.
  - una falta de factores de energía.Por ello es preciso, para ciertas bacterias difíciles, "enriquecer" los medios ordinarios. Este enriquecimiento se hace por adición de sangre u otro producto biológico que aportan los factores de crecimiento y que neutralizan a menudo los factores inhibidores. (26,27)
- Medios Selectivos. Deben su importancia al hecho de que contienen sustancias que impiden el desarrollo de cualquier bacteria que no sea la que está en investigación. Se emplean diferentes sustancias. Por ejemplo las sales biliares en un medio impiden el desarrollo de los microorganismos no entéricos. (13,14,20,27)

- **Medios de Transporte.**  
Son aquellos que permiten la supervivencia del microorganismo en condiciones favorables para el transporte, cuando no se pueda sembrar en un lapso corto de tiempo. (13)
- **Medios Diferenciales.**  
Diferentes combinaciones de nutrientes e indicadores de pH pueden ser usados para producir la diferenciación visual de diversos microorganismos creciendo en el mismo medio. Un medio diferencial es un soporte de crecimiento de varias especies en el cual se observa una fácil diferenciación visual entre diferentes organismos. (13,14)
- **Medios Especiales.**  
Son aquellos con componentes específicos que permiten el crecimiento de ciertas bacterias en particular. Por ejemplo los medios de Micobacterias como el Lowensten-Jensen. (20,26).

Para el diagnóstico de Infección de Vías Urinarias se realiza un cultivo de la muestra de orina para saber la cuenta precisa de bacterias por ml de orina. En este análisis se utilizan generalmente 3 medios de cultivo, uno enriquecido y dos diferenciales.

En el medio enriquecido, Agar Sangre, se lleva a cabo la cuenta de colonias, además de que permite el crecimiento de todo tipo de bacterias, también permite ver la hemólisis del *Estreptococo* si es que éste es el agente causal de la infección.

De los medios diferenciales uno puede ser EMB o MacConkey los cuales solo permiten el desarrollo de bacterias gram negativas, el otro puede ser S-110 o Sal y Manitol para el desarrollo de bacterias halofílicas gram positivas.

### 1.3. INFECCION DE VIAS URINARIAS.

#### 1.3.1. DEFINICION.

Puede definirse infección de vías urinarias como la presencia de microorganismos bacterianos, y su consiguiente reproducción en ríñón y/o vías urinarias.

Las infecciones bacterianas de las vías urinarias son uno de los principales problemas médicos y su estudio es de importancia por la frecuencia con que se presentan, además de su resistencia al tratamiento y su tendencia a reincidir.

Son peligrosas por que pueden causar enfermedades renales graves (pielonefritis) y sirven como fuente de diseminación de la infección hacia el torrente circulatorio. Especialmente en los niños pequeños puede amenazar la vida o la función renal, constituyendose causa importante de insuficiencia renal en jóvenes y adultos. (2,11,17,18,19)

#### 1.3.2. CLASIFICACION.

Anteriormente las infecciones de vías urinarias se clasificaban de diversas formas como: primarias y secundarias; agudas o crónicas, etc. El uso de estos términos causaban confusión, por esta razón surgió una nueva clasificación que en especial es útil para seguir la evolución de infecciones de vías urinarias en pacientes aislados:

- A. Primera Infección. En cualquier individuo, es la primera infección comprobada de vías urinarias.
- B. Bacteriuria no resuelta. Son las infecciones de vías urinarias en que este aparato no se esteriliza en realidad durante la terapéutica. Los cultivos obtenidos durante el tratamiento, o inmediatamente después, muestran que el patógeno infectante no se eliminó por completo con la terapéutica. Las principales causas de bacteriuria no resuelta son:

- B. - Resistencia bacteriana al fármaco seleccionado para el tratamiento.
- Falta de adaptabilidad del paciente a tomar el medicamento.
  - Desarrollo rápido de resistencia por bacterias sensibles en un principio.
  - Infecciones mixtas con cepas de bacterias de diferentes sensibilidad antimicrobiana.
  - Infección rápida con una nueva especie resistente durante la terapéutica del microorganismo inicial.
  - Insuficiencia renal.
- C. Persistencia Bacteriana: Son los casos de infección de vías urinarias en que los cultivos de orina se esterilizan durante la terapéutica, pero no así una fuente persistente de infección en contacto con las vías urinarias y la orina, con la resultante reinfección de la orina por los mismos microorganismos. Algunas causas son las siguientes:
- Calculos urinarios infectados.
  - Prostatitis bacteriana crónica.
  - Nefropatía obstructiva.
  - Cuerpos extraños.
- D. Reinfección. Son los casos de infección de vías urinarias en que ocurre una nueva infección con nuevos patógenos a intervalos variables después de erradicar una infección anterior. Es probable que cuando menos 80% de todas las infecciones recurrentes de vías urinarias sean reinfecciones, tal vez secundarias a alteraciones de las defensas del huésped. (1,2,17)

### 1.3.3. ETIOLOGIA.

La importancia de conocer la etiología de cualquier infección nunca puede ser subestimada; en la infección de Vías Urinarias (IVU) los bacilos gram negativos corresponden al 84%, los gram positivos al 11% y las levaduras al 5%.

Muchos microorganismos diferentes pueden infectar los tejidos y los líquidos de los órganos urinarios, pero el grupo de los coliformes es el más común, principalmente E. coli. Se pueden encontrar otros microorganismos que incluyen el enterococo, Proteus, etc. En la siguiente tabla 1 se muestran los principales microorganismos causantes de Infección de Vías Urinarias. (2,19,17).

=====

**Cocos gram positivos**

Staphylococcus aureus  
Staphylococcus epidermidis  
Staphylococcus saprophyticus  
Streptococcus, grupo D  
Streptococcus, grupo B

**Otros Patógenos.**

**Hongos (especies de Candida)**  
Trichomonas vaginalis

**Bacilos gram negativos**

Escherichia coli  
Especies de Enterobacter  
Especies de Klebsiella  
Proteus mirabilis  
Pseudomona aeruginosa  
Especies de Serratia

=====

Tabla no. 1. Microorganismos que causan comúnmente Infección de Vías Urinarias.

En las infecciones agudas, suele encontrarse un solo patógeno infectante, en las crónicas se observan con frecuencia dos o más.

En cuanto a la frecuencia de los microorganismos, en la tabla No. 2 se enlistan los generos aislados más frecuentemente. (9)

=====

Género	Porcentaje
<u>Escherichia coli</u>	60 %
<u>Klebsiella sp.</u>	15 %
<u>Proteus sp.</u>	10 %
<u>Staphylococcus sp.</u>	8 %
<u>Pseudomona sp.</u>	5 %
otros	2 %

=====

Tabla No. 2. Generos aislados más frecuentemente en IVU.

#### 1.3.4. PATOGENIA.

No siempre es posible descubrir con seguridad la forma de entrada de las bacterias al aparato urinario.

Existen cuatro vías principales:

- A. Infección Ascendente. Las bacterias se introducen en vejiga procedente de uretra o a través de ella. Normalmente las bacterias son depuradas en 48 a 72 hrs, pero pueden colonizar por razones desconocidas. Si hay una pérdida de competencia de la o las válvulas vesicouretrales, entran microorganismos en los uréteres y ascienden por la orina por propia motilidad o alteran el peristaltismo del uréter invadido, hasta alcanzar médula renal. La infección ascendente de la uretra es la causa más común de infección urinaria en niños y mujeres.
- B. Diseminación Hematógena. La infección de las vías urinarias por diseminación hematógena es rara, aunque hay grandes excepciones como tuberculosis, abscesos rectales y perinéfricos. Es más probable que las infecciones de vías urinarias se compliquen con bacteremia cuando hay anomalías estructurales y funcionales.
- C. Diseminación Linfática. Es probable que haya infección de las vías urinarias a través de los conductos linfáticos, pero es rara.
- D. Extensión directa desde otros órganos. Los abscesos intraperitoneales, afección inflamatoria pélvica fulminante en mujeres, abscesos paravesicales y fistulas de las vías genitourinarias, pueden infectar al aparato urinario por extensión directa. (1.2.17.19)

En la siguiente figura se esquematiza las diferentes vías de infección del aparato genitourinario.

1 Hematogena a los  
riñones prostata  
y testiculos

Linfogena (intes-  
tino cuello uterino)

Ascendente (ure-  
tra) a prostata  
y vejiga

Hacia arriba y abajo  
por la uretra del rec-  
to a vejiga y del cuello  
del utero a ve-  
jiga.

Ascendente  
(reflujo) de la ve-  
jiga al riñon

Extension directa  
(intestino) a ve-  
jiga

Prostata  
& epidi-  
dimo

Prostata  
& vesic.  
las se-  
mina-  
les

Epididi-  
mo a tes-  
ticulo

fig. 3 Vias de Infeccion en el  
Aparato Genitourinario

### 1.3.5. EPIDEMIOLOGIA.

La infección de vías urinarias es la infección bacteriana más común del humano a cualquier edad. La distribución es mundial.

En el periodo neonatal, la frecuencia de infección de vías urinarias tanto en los bebés enfermos asintomáticos como en los sintomáticos es mucho mayor en el varón que en la mujer. Este es el único periodo en el lapso de vida del ser humano donde la frecuencia en el hombre es mayor que en la mujer. Estas infecciones podrían estar asociadas con trastornos diferentes a los que radican en las vías urinarias, tales como prematurez, sepsis neonatal y problemas respiratorios, pero hay una frecuencia significativa de lesiones urológicas que pueden ser tratadas quirúrgicamente.

Después del periodo neonatal, la frecuencia de la infección de vías urinarias en el hombre disminuye a 1- 2 % hasta los cuarenta años de edad. Después de los cuarenta el hombre empieza a presentar trastornos médicos y urológicos que, combinados con la instrumentación, son conducentes a la infección de vías urinarias, lo cual hace que la frecuencia aumente en forma gradual.

La frecuencia reportada de bacteriuria en las niñas en edad preescolar varía extensamente en la literatura, debido a los diferentes métodos de recolección y a la variabilidad de los criterios para determinar la presencia de infección; la frecuencia más alta de bacteriuria (entre 2-3%) se presenta a la edad de un año o alrededor de la misma.

Después de esta frecuencia la infección de vías urinarias en niñas de edad tan temprana, la tasa de infección disminuye a aproximadamente 1% y continua disminuyendo durante la edad correspondiente a la educación primaria.

Inmediatamente antes de la pubertad la frecuencia de bacteriuria o infección de vías urinarias probablemente es inferior a 2%. En la pubertad, o poco después, con la introducción de la actividad sexual y el embarazo, la frecuencia de la IVU en la mujer aumenta. Parece haber un aumento progresivo en la frecuencia aproximadamente de un 2 a 3% de los quince a los veinticuatro años de edad (de 1 a 2% por década, hasta 20% a los 55-64 años de edad).

De 10 a 20% de las mujeres experimentan Infección de Vías Urinarias en algún momento de su vida.

Al parecer no hay predisposición de raza y en general se puede decir que la infección de vías urinarias sintomática es menor en frecuencia que la asintomática.  
(1,4,16,17)

Grupo de edad	Frecuencia %	Relación aproxima- da por sexo. (varones:mujeres)
Neonatal	1	1.5 : 1
Edad preescolar	2-3	1 : 10
Edad escolar	1-2	1 : 30
Edad reproductiva	2.5	1 : 50
Edad avanzada (65-70 años) que viven en casa	20	1 : 10
Edad avanzada (mayor 80) que viven en casa	30	1 : 2
Edad avanzada, que viven en hospitales o instala- ciones para cuidados cró- nicos.	30	1 : 1

Tabla No. 3, Frecuencia de Infección de Vías Urinarias según edad y sexo.

### 1.3.6. FACTORES PREDISPONENTES.

Aunque se conoce que las bacterias que causan estos procesos residen principalmente de la flora fecal, existen factores que permiten que estos gérmenes invadan las vías genitourinarias y produzcan síndrome infeccioso.

A. Edad y sexo. Los lactantes durante el periodo de uso de pañales tienen con frecuencia infecciones de vías urinarias por contaminación fecal. En cuanto al sexo se podría decir que la mujer tiene un mayor porcentaje de infección que el hombre; Existen muchos factores predisponentes, entre ellos se encuentra la anatomía del aparato urinario de la mujer que está constituido por una uretra muy corta y además muy próxima al recto, por lo que hace más fácil su infección. En las mujeres las bacterias patógenas del recto forman inicialmente colonias en la mucosa vaginal y se diseminan por la uretra hasta pasar a la vejiga.

También se ha demostrado que las relaciones sexuales, las manipulaciones de la uretra y los partos, son factores que aumentan este ascenso. Existen otros factores en las mujeres como el pH relativamente alto de las secreciones vaginales, en las mujeres postmenopausicas, lo cual permite el desarrollo de bacterias entericas.

Con lo que respecta a los hombres la mayor parte de los estudios sugieren que la principal vía de infección de vías urinarias es la ascendente a partir de colonias uretrales. Al contrario de lo que sucede con las niñas y mujeres, la uretra masculina no está cerca del ano, ni posee una mucosa adyacente (vagina) en la que pudieran formarse colonias de bacterias. Además normalmente la próstata secreta una substancia antibacteriana potente que probablemente sirve como mecanismo de defensa natural contra infecciones ascendentes de vías urinarias. Fair, Couch y Wehner (1976) identificaron que se trataba de una sal de zinc y observaron que no existía, o sólo en cantidades reducidas, en varones con prostatitis bacteriana.

A. Al parecer, la infección bacteriana crónica de la próstata es la causa principal de infecciones recurrentes de vías urinarias en varones. (2,17,22).

B. Embarazo. La pielonefritis aguda es la causa no obstétrica más común de hospitalización durante el embarazo, y además de que la hospitalización es costosa, la pielonefritis puede producir morbilidad materna y fetal. El embarazo desempeña un papel mínimo en el desarrollo de una bacteriuria asintomática, pero los cambios anatómicos y fisiológicos que se asocian al embarazo hacen más vulnerable a las pacientes al desarrollo de pielonefritis; por ejemplo, en la segunda mitad del embarazo existe una frecuencia de 2-3% ya que en esta época la uretra y pelvis renal están un poco dilatados. (2,3,17,23)

C. Trastornos Obstructivos. En 1961 Cox y Hinman comprobaron que bacterias colocadas en la vejiga de voluntarios se eliminaban rápidamente por la micción espontánea normal sin tratamiento. Calculos, estrechez, tumor hipertrofia prostática o cualquier alteración que impida el paso libre de orina producen estasis y favorecen la infección de vías urinarias. La obstrucción persistente produce hidronefrosis, y aumenta la frecuencia de pielonefritis en 10 a 12 veces. (2,3,17).

Los calculos se forman en los sistemas colectores mayores (en general como resultado de una infección con microorganismos que degradan la urea, en particular cepas de Proteus) y pueden crecer con rapidez como consecuencia del depósito de carbonatos -apatita y estuvita- (fosfato mixto de magnesio y amonio) en una matriz frías. A medida que crecen, producen obstrucción y aumento retrógrado de la presión. La combinación de obstrucción e infección destruye el tejido renal, con la consiguiente pérdida de función que a veces se acompaña de pionesfrosis y septicemia.

Se sabe que pueden aparecer en etapas tempranas de la vida, con más frecuencia en varones que en mujeres, probablemente por que la infección por Proteus es más común en los muchachos.

D. Disfunción vesical neurógena. La capacidad para vaciar la vejiga en forma regular y completa es vital para mantener la esterilidad de las vías urinarias. De ahí se deduce que cualquier paciente en el cual esa capacidad se altere por razones neurológicas, como malformaciones congénitas del tipo de la espina bífida, los diabéticos con enfermedades neurológicas y lesiones traumáticas de la médula espinal, están predispuestos a las infecciones urinarias. De hecho, la frecuencia de aparición de infecciones en todos esos tipos de pacientes es elevada y su manejo es difícil.

Las consecuencias juzgadas en términos de aparición de cuadros sintomáticos, especialmente de incontinencia y ataques repetidos de enfermedad sistémica debidas a la infección ascendente, así como de lesiones renales, son muy importantes. Hay varias posibilidades para enfocar el manejo de dichos pacientes. Puede intentarse esterilizar la orina por medio de un tratamiento con fármacos antibacterianos; pueden tomarse medidas para mantener vacía la vejiga sea por medio de la cateterización o de la esfinterotomía, con lo cual disminuyen los riesgos de aumento de la presión en sentido retrógrado y de infección ascendente; por último puede crearse un sistema al cual se le llama "de baja presión" mediante la reimplantación de los uréteres en una derivación lineal. (3,10,17).

E. Diabetes Sacarina. Entre las personas con diabetes sacarina la bacteriuria importante es tres veces mayor de lo común, y la pielonefritis es cuatro veces mayor de lo normal en comparación con la población no diabética.

Los supuestos factores causantes de este problema son: resistencia más pobre de los tejidos, riego circulatorio más deficiente y posiblemente disfunción vesical neurógena.

La cistitis es muy común en la diabetes, las pielonefritis de todas las formas (agudas, crónicas, intersticial, abscesos intrarrenales y papilitis necrosante) son varias veces más comunes en la población diabética como en la no diabética. (17)

F. Factores de virulencia bacteriana.

La mayor parte de las infecciones de vías urinarias son causadas por Escherichia coli; de hecho, este microorganismo origina el 85% de estos procesos primarios en pacientes externos. Aunque se han identificado más de 150 cepas de E. coli, casi todas estas infecciones son causadas por los serogrupos 01, 02, 04, 06, 018 y 075.

No se sabe si una cepa determinada causa la infección de vías urinarias por ser el microorganismo predominante en la flora fecal de huésped o por que tiene propensión especial a provocar infecciones de este aparato.

Se sabe que las bacterias se adhieren selectivamente a diversas superficies mucosas; ocurre por medio de pequeños pili o fimbrias que van del cuerpo de las bacterias a receptores de superficie específicos de las células epiteliales. (17,22)

#### 1.4. TOMA DE MUESTRA.

La contaminación de la orina por bacterias de genitales externos es un problema importante en los cultivos de orina y, en consecuencia, al hacer el diagnóstico; por lo que es de suma importancia que la muestra de orina para realizar el cultivo sea tomada correctamente

Existen varios métodos para toma de orina:

- A. Toma urinario de "Chorro Medio". Es el método más útil en pacientes con capacidad de cooperación, tiene una confiabilidad del 80%. Debe realizarse aseo genital con un antiséptico y posteriormente lavado con agua estéril; además, en el hombre no circuncidado se realiza retracción de prepucio, y en mujeres, separación de labios menores procediéndose así a la toma de orina a mitad de la micción.
- B. Colección de orina en bolsa de plástico. Este método es utilizado cuando el vaciamiento vesical no es controlado como sucede en recién nacidos, lactantes y preescolares. Es poco satisfactorio debido a la fácil contaminación durante su manipulación con bacterias de piel o fecales.
- C. Aspiración vesical por punción suprapúbica. Es un magnífico método de obtención de orina para cultivo; se realiza en:
- individuos cuyo vaciamiento es involuntario.
  - presencia de lesiones perineales o uretrales.
  - en niñas o mujeres con flujo vaginal, etc.
- Es un método confiable en alto grado y cualquier cantidad de bacterias es significativa para hacer el diagnóstico.
- D. Muestra urinaria por obtención con sondeo (cateterismo).  
Es un método bueno pero se corre el riesgo de introducir la infección, por lo cual debe reservarse para situaciones especiales. Tiene prácticamente las mismas indicaciones que la aspiración vesical por punción suprapúbica, con la ventaja de ser el único procedimiento que también facilita la determinación de orina residual.
- (1,3,17)

### 1.5. DIAGNOSTICO DE LA INFECCION.

El diagnóstico de una infección del tracto urinario se basa principalmente en la demostración de una bacteriuria significativa. Existen diferentes formas de demostrar la presencia de bacterias en la orina.

- Métodos Cualitativos. Ej. tiras de papel filtro para la - determinación de Nitritos.
- Métodos Semicuantitativos. Estos han sido desarrollados para discriminar entre conteos significativos y no significativos. Ej. Microscopia de orina y Uricult.
- Métodos Cuantitativos. Tienen la finalidad de cuantificar las bacterias presentes en la orina para poder determinar el grado de infección. Ej. Técnica de cuatro placas " Cultivo con asa calibrada.
- Métodos Automaticos y Semiautomaticos. Estos han sido desarrollados para poder identificar al agente etiológico - en poco tiempo, pero tienen el gran inconveniente de requerir aparatos de alto costo, que pocos laboratorios pueden adquirir. Estos pueden ser como el Lumac System (3M, St. Paul MN).

#### 1.5.1. METODOS CUALITATIVOS.

- Tiras de papel filtro para determinación de Nitritos.

Esta prueba depende de la conversión de los nitratos (derivados de la dieta) a nitritos por acción de las bacterias gram negativas presentes en la orina. Al pH ácido del árca reactiva, los nitritos de la orina reaccionan con el ácido p-arsalinico (o naphtylendiamina) para formar un compuesto diazonio. Este compuesto a su vez se acopla con el 1,2,3,4,-tetrahidrobenzo (H) quinolin 3-ol para producir un color rosa.

Reactivos:

- 1.4% p/p para-arsanilico ácido
- 1.3% p/p 1,2,3,4,-tetrahidrobenzo(H)quinolin-3-ol
- 10.8% p/p amortiguador
- 86.5% p/p ingredientes no reactivos.

Interpretación: cualquier grado de color rosa uniforme que se desarrolle, deberá interpretarse como resultado positivo que sugiere la presencia de  $10^5$  o más microorganismos por ml, pero el desarrollo de color no es proporcional al número de bacterias presentes. Un resultado negativo no prueba por si solo que no hay bacteriuria significativa. Se puede presentar un resultado negativo cuando las infecciones urinarias son producidas por organismos que no contienen la reductasa que convierte los nitratos a nitritos; cuando la orina no ha sido retenida por suficiente tiempo en la vejiga (cuatro o más horas) como para que los nitratos sean reducidos a nitritos; o cuando no hay presencia de nitratos aunque haya presencia de bacterias con reductasa y la incubación de la vejiga sea suficiente.

La tira de nitritos no detecta organismos gram positivos como Staphylococcus, Streptococcus faecalis, o especies de Candida.

#### 1.5.2. METODOS SEMICUANTITATIVOS.

##### 1.5.2.1. URICULT.

Uricult es una técnica semicuantitativa de medio de cultivo para la demostración de infecciones del tracto urinario. El medio de cultivo usado en Uricult es Agar CLED en un lado y MacConkey en el otro. El agar CLED permite el crecimiento de prácticamente todos los microorganismos presentes en las infecciones del tracto urinario.

Los patógenos más comunes del tracto urinario, fermentan la lactosa y cambian el color azul-verde del agar CLED a amarillo. El agar Mac-Conkey permite el crecimiento selectivo de bacterias gram-negativas que son las causantes principales de este tipo de infecciones. Asimismo permite el crecimiento de algunos enterococos.

Se puede hacer una identificación preliminar, comparando el crecimiento en agar CLED y MacConkey con una tarjeta de control proporcionada por Orion Diagnostica.

Fundamento de la prueba:

La placa de Uricult se sumerge en orina fresca. Al sumergir ésta, las superficies de agar adsorberán un volumen constante de orina. Si la muestra contiene bacterias, algunas de éstas se adherirán de igual forma a las superficies de agar en un número directamente proporcional a su concen-

tración en la muestra. Al inocular este medio las bacterias crecerán formando colonias visibles en la superficie de agar. La concentración bacteriana de la orina se determina al comparar la densidad de las colonias con los patrones de referencia.

### 1.5.2.2. EXAMINACION MICROSCOPICA.

Se coloca una gota de orina perfectamente mezclada sobre un portaobjetos, y se le coloca un cubreobjetos, la lamina es observada con el microscopio en el objetivo de 40x, para lograr el máximo contraste de los elementos, el diafragma del microscopio debe estar casi cerrado a fin de evitar la iluminación excesiva.

La presencia de células, de pus, células epiteliales y bacterias son reportadas de la siguiente forma:

- 0 ± cuando se observa una u ocasionalmente algunas células (orina normal)
- + cuando se observan menos de 10 células por campo
- ++ para más de 10 células por campo.

La presencia de eritrocitos, Candida o Trichomonas vaginalis también son reportadas.

Observación y tinción del sedimento urinario.

Es posible establecer un diagnóstico presuntivo de infección bacteriana basándose en los resultados del examen microscopico del sedimento urinario.

Las muestras de orina son centrifugadas a 3000 rpm durante 5 min. se coloca una gota del sedimento centrifugado en un portaobjetos de vidrio y se fija lentamente con calor en un mechero de laboratorio.

Se enfria el portaobjetos y se cubre con azul de metileno por 10 a 20 seg. Se enjuaga con agua de la llave y se seca con calor suave, se observa el portaobjetos bajo iluminación con aceite (con lente 100x) sin cubreobjetos.

El portaobjetos puede tefirse con colorante de Gram en lugar de azul de metileno, pero es más complicado, toma más tiempo y su única ventaja es que permite identificar a Neisseria gonorrhoeae.

La interpretación es la siguiente:

- 6 ± cuando se observa una u ocasionalmente algunas bacterias.

+ cuando se observan frecuentes grupos de bacterias.

++ cuando la presencia de bacterias es considerable.

La presencia de eritrocitos y Candida se reportan.

### 1.5.3. METODOS CUANTITATIVOS.

#### 1.5.3.1. METODO DE DILUCION DE TUBOS.

En el método de dilución en tubos se preparan 10 diluciones sucesivas de 1 ml de muestras de orina en tubos que contienen 9 ml de caldo soya tripticasa.

Se utilizan pipetas serologicas por separado para cada dilución y a su vez cada dilución es preparada por duplicado. Despues se incuban a 37°C durante toda la noche; El último tubo en donde el crecimiento bacteriano es detectado visiblemente se toma como "el punto final". El conteo de colonias es expresado como el "logaritmo aproximado".

En estudios comparativos se ha demostrado que este método puede ser más exacto, y además se elimina la necesidad de utilizar 4 placas para el conteo de colonias. La técnica sin embargo, presenta el problema de que un solo organismo puede ocasionar un error de un logaritmo en la lectura del punto final.

#### 1.5.3.2. METODO DE 4 PLACAS.

Aunque el método de cuatro placas ha sido criticado como que no refleja el conteo bacteriano verdadero de un espécimen de orina; este representa el procedimiento más practico hasta ahora utilizado para medir el grado de bacteriuria. El procedimiento es el siguiente:

1.- Se preparan diluciones centesimas de orina bien mezclada en solución salina fisiologica en tubos con tapa de roca estériles de la siguiente manera:

$10^2$  (1:100) = 0.1 ml de orina + 9.9 ml de sol. salina

$10^4$  (1:10,000) = 0.1 ml de la dilución  $10^2$  + 9.9 ml de solución salina.

$10^6$  (1:1,000 000) = 0.1 ml de la dilución  $10^4$  + 9.9 ml de solución salina.

- 2.- Pipetee 1 ml de cada dilución y colóquela en los tubos apropiadamente etiquetados, esterilice cajas de petri.
- 3.- Incorpore cada dilución con 12 a 15 ml de agar nutritivo fundido y enfriado (50°C) en cajas de petri, mezcle perfectamente con movimientos en forma de ocho.
- 4.- Cuando solidifique, invieta cada caja e incube toda la noche a 37°C.
- 5.- Usando un cuenta colonias Quebec, enumere el número de colonias en la placa, tomando de preferencia en la que se encuentren de 30 a 300 col. para facilitar el conteo.

Interpretación del conteo de colonias.

Sobre las bases de la estimación del conteo de colonias se reporta el rango de bacteriuria como un conteo de placa de la siguiente forma:

- a) menos de 1,000 ( $10^3$ ) bacterias por mililitro.
- b) entre 1,000 y 100,000 ( $10^3$  a  $10^5$ ) bacterias por ml.
- c) más de 100,000 ( $10^5$ ) bacterias por mililitro.

Generalmente, cuentas inferiores a  $10^3$  indican que existe una contaminación; mientras que orinas que contienen entre  $10^3$  a  $10^5$  organismos son sospechosos de infección, y cuentas de  $10^5$  o más ya indican una infección. Las cuentas de pacientes infectados pueden ser bajas cuando existe un rápido fluido de orina o de pacientes con terapia suprimida, u ocasionalmente cuando la orina tiene un pH inferior a 5 y la gravedad específica de la orina es menor de 1.003. (26,27,28,29)

#### 1.4.3.3. METODO DE ESTRIADO CON ASA CALIBRADA.

El método del estriado con una asa calibrada, fue en un principio reportado por Hoeprich en 1960, el cual se basó en el criterio de la cuenta bacteriana que reportó Kass en 1956 para el diagnóstico de Infección de Vías Urinarias. El usaba una asa bacteriológica calibrada empleada comúnmente en el trabajo diario de bacteriología con la que inoculaba y estriaba medios de cultivo estándares o diferenciales. Después de una adecuada incubación, se estima el número de colonias presentes y se reporta como una medida del grado de bacteriuria.

El método inicia con una toma de muestra correcta, el más común es el de "Chorro Medio", el cual consiste en depositar en un recipiente estéril la porción intermedia de la micción, desechando la porción inicial y final de esta. Con el desecho de la primera porción se eliminan las bacterias que pudieran haberse reproducido en la parte inicial del aparato urinario y por lo mismo sirve como un lavado de la uretra.

- 1.- Se utiliza un asa calibrada de 4 mm de diámetro y 75 mm de perímetro que deposita 0.01 ml de muestra; primeramente se esteriliza a flama y se enfria; se agita perfectamente la muestra y con el asa se toma un poco, procurando no introducir toda el asa para no tomar un exceso de muestra.
- 2.- Se inocula a una placa de agar sangre y una de EMB. Se estrián ambas placas; la de Agar Sangre con un estriado masivo y la de EMB por estriado de 3 para permitir un aislamiento del microorganismos patógeno.
- 3.- Se incuban ambas placas toda la noche a 37°C y se leen a la siguiente mañana. Se examinan y se cuentan las colonias en ambas placas; Se estima el conteo total de colonias a partir de la placa de Agar Sangre y las bacterias gram negativas se cuentan a partir de la placa de EMB. En cada caso el conteo de colonias es multiplicado por 100 (0.01 ml de inoculado de muestra) esto da un número estimado por mililitro de orina. Después de determinar el conteo de placa, se procede a la identificación del microorganismo presente, y se determina la susceptibilidad a los antibióticos.
- 4.- Si no se presento desarrollo a las 24 hrs. ambas placas se incuban durante 24 hrs. más y si nuevamente no se presento crecimiento se reporta "No hubo crecimiento bacteriano en 48 hrs."

#### 1.5.4. MÉTODOS AUTOMATIZADOS.

Lumac System. En una cubeta de plástico se colocan 25 microlitros de orina, después se incorporan una mezcla de un

agente nucleotido-liberador para células somáticas y ATPasa y se incuban por 25 minutos a 35°C. La cubeta despues de este periodo se introduce en una camara que mide luz "Bio-counter 2020", donde se adicionan 100 microlitros del agente nucleotido-liberador para la célula bacteriana. Despues de los siguientes 10 segundos de la liberación del ATP bacteriano, se dispensan 100 microlitros de un agente Luciferin-Luciferasa dentro de la cubeta de la maquina. La emisión de luz resultante es medida y expresada como unidades relativas de luz (RLU)

Los criterios de bacteriuria del método son:  
menor o igual a 200 RLU, se reportan como bacteriuria negativa.  
mayor a 200 RLU, se reportan como bacteriuria positiva. (25)

## 2. FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA.

Por infección de las vías urinarias se entiende la aparición de cantidades elevadas de bacterias en la orina; la bacteriuria puede ser asintomática o presentarse como enfermedad crónica o aguda. (1,2,5,6)

Existe controversia acerca de la patogénesis de las infecciones de vías urinarias, pero casi todas las investigaciones aceptan tres rutas de infección que son la ruta ascendente o retrógrada, la ruta linfática y la ruta hematogena. (9,16).

En la infección de vías urinarias algunos factores pueden predisponer a la implantación de los microorganismos: malformaciones (1), uropatía obstructiva, enfermedad renal (1,2,6), hipertensión, diabetes mellitus, embarazo (5,6,8), el cateterismo (10), terapia con fármacos potentes (8), alteraciones en las defensas antibacterianas del huésped y otras enfermedades donde las defensas han sido abatidas.

Los microorganismos patógenos que con mayor frecuencia colonizan el tracto genitourinario son:

Escherichia coli

Proteus mirabilis

Enterobacter sp.

Klebsiella sp.

Pseudomonas aeruginosa

Streptococcus faecalis

Staphylococcus aureus y ocasionalmente pueden encontrarse Neisseria gonorrhoeae

Candida albina

y otros microorganismos oportunistas (6,7,9,4)

La infección de vías urinarias puede presentarse a cualquier edad, aunque su incidencia es mayor en la lactancia, durante la etapa sexual activa de la mujer y el embarazo.

En cuanto al sexo sólo en la etapa neonatal y en la vejez es mayor en el sexo masculino; en cualquier otra edad la frecuencia es mayor en la mujer. (1,2,5,6,8,12)

El diagnóstico de una Infección de Vías Urinarias se basa principalmente en:

- a) interrogatorio.
- b) diagnóstico anatómico (localización de la infección)
- c) diagnóstico de uropatía obstructiva o reflujo primario.
- d) diagnóstico clínico.

El Profesional en Laboratorio Clínico tiene una participación directa en el diagnóstico clínico de la infección de vías urinarias, ya que en el laboratorio realiza:

- Cultivo de la muestra de orina.
- Frotis del sedimento urinario teñido con Gram
- Examen general de orina.

Todos estos estudios encaminados a identificar al agente causal de la infección, así como encontrar el antibiótico adecuado para el tratamiento efectivo (9,15,16)

En la investigación de una IVU se necesitan como mínimo dos tipos de medios de cultivo, uno enriquecido y otro diferencial, además de que la identificación requiere como mínimo de 24 hrs. (14,15)

En la E.N.E.P. ZARAGOZA se ha realizado un medio de cultivo para orina que tiene como base células de pulque y otros metabolitos que proporcionan algunas pruebas bioquímicas en el mismo medio. Con este medio es posible realizar la identificación presuntiva del agente etiológico bacteriano en 24 horas.

Pero aún se presentan algunos problemas, principalmente una elaboración complicada, por lo que el objetivo de esta tesis es abatir todavía más tanto el tiempo de la elaboración como el costo de un medio utilizable en el diagnóstico de una Infección de Vías Urinarias, realizando una variación del medio de células de pulque, sustituyendo estas por levaduras de pan.

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Las infecciones de vías urinarias no son las que más frecuentemente sufre el ser humano; sin embargo, generan los cultivos más comúnmente estudiados en los laboratorios de Microbiología General.

Estas infecciones son muy frecuentes, marcadamente resistentes al tratamiento y con tendencia a reincidir; además de que son peligrosas por que pueden evolucionar a enfermedades renales graves, como es la pielonefritis.

De aquí la importancia de llevar a cabo un diagnóstico lo más pronto posible para poder dar un tratamiento eficaz contra el agente etiológico.

En la actualidad el diagnóstico de laboratorio de una Infección de Vías Urinarias es costoso, principalmente por la utilización de más de un medio de cultivo, como Gelosa Sangre y McConkey, los cuales tienen un costo comercial alto; si además a todo esto le adicionamos que la identificación completa con antibiograma tarda más de 24 horas (aproximadamente 3 días), todo nos da por resultado que un médico prefiera dar un tratamiento sin tener la información de un diagnóstico de laboratorio, lo que repercute en la salud del paciente, ya que en muchos de los casos el agente causal se hace resistente a un antibiótico mal empleado.

En el medio para urocultivo a base de células de pulque que previamente se ha realizado en la E.N.E.P. ZARAGOZA, se incluyen varias pruebas bioquímicas, con lo que se obtiene la identificación presuntiva del agente causal en menos tiempo y con un costo inferior, pero en este medio el mayor inconveniente es la obtención de las células de pulque por que es un procedimiento laborioso, además de que existen otros detalle técnicos como son:

- a) La consistencia del medio.
- b) La optimización de los reactivos empleados para las pruebas bioquímicas.

En esta tesis se procurará realizar la optimización de este medio llevando a cabo la sustitución de células de pulque por levaduras de pan, que son más fáciles de obtener, con lo que se disminuirá el tiempo de elaboración; además el precio total del medio también se abatirá, haciéndolo más accesible a los laboratorios.

#### 4. OBJETIVOS .

- Llevar a cabo la variación de un medio de cultivo para orina utilizando levaduras de pan como soporte del medio en sustitución de células de pulque, para disminuir el tiempo en la elaboración.
  
- Realizar una valoración de la formulación de un medio para urocultivo, tomando en cuenta a las levaduras de pan como base del medio.
  
- Lograr disminuir el costo del medio para urocultivo utilizado en el diagnóstico de Infecciones de Vías Urinarias.
  
- Formular un nuevo medio de cultivo para orina en el cual exista un desarrollo óptimo de bacterias además de que en él se pueda identificar a las mismas por medio de pruebas bioquímicas.
  
- Realizar una comparación entre la utilización de células de pulque y levaduras de pan como componentes de un medio para cultivo de orina.

5. H I P O T E S I S .

Si el medio para urocultivo tiene como base células de pulque (levaduras) y se han observado buenos resultados.

Entonces si se sustituyen las células de pulque por levaduras de pan, que son más fáciles de obtener, se obtendrán los mismos resultados, además de disminuir con esta variación el trabajo, tiempo y costo.

6. M A T E R I A L .

Algodón  
Asa y portaasa bacteriológica  
Cajas de Petri de vidrio  
Espatula  
Frascos para recolección de muestra  
Gasa  
Gradilla para tubos de ensaye  
Marcador  
Masking tape  
Matraz erlenmeyer de 125 ml  
Matraz erlenmeyer de 250 ml  
Matraz erlenmeyer de 500 ml  
Mortero  
Papel pH  
Pipeta graduada de 1 ml  
Pipeta graduada de 2 ml  
Pipeta graduada de 5 ml  
Pipeta graduada de 10 ml  
Pipeta pasteur  
Portaobjetos  
Probeta graduada de 50 ml  
Probeta graduada de 100 ml  
Tela de alambre con asbesto  
Termómetro de -10°C a 200°C  
Tripié metálico  
Tubo de ensaye 13 x 100  
Tijeras

MATERIAL BIOLÓGICO

Cepa pura de Escherichia coli  
Cepa pura de Staphylococcus aureus  
Cepa pura de Streptococcus beta-hemolitico  
Cepa pura de Salmonella enteritidis

MATERIAL BIOLÓGICO.

Cepa pura de Proteus mirabilis  
Cepa pura de Klebsiella pneumoniae  
Cepa pura de Enterobacter cloacae  
Cepa pura de Pseudomona aeruginosa

EQUIPO .

Autoclave  
Balanza analítica METER modelo H-80  
Balanza granataria CHAUS, modelo Florham  
park  
Incubadora MAPSA, modelo EC-334  
Microscopio AMERICAN OPTICAL, modelo one-  
ten  
Refrigerador Mabe, modelo Space linea

COLORANTES.

Rojo de Fenol al 0.002%  
Safranina  
Cristal Violeta.

SOLUCIONES Y REACTIVOS.

Lactosa  
Lugol  
Cittrato Ferrico  
Peptona de Caseína  
Sulfato Ferrico amoniacal  
Sulfato Ferroso amoniacal  
Solución de Kovacs  
Solución de KOH al 10%  
Tiosulfato de Sodio  
Urea

SOLVENTES.

Acetona  
Agua destilada  
Etanol absoluto

MEDIOS DE CULTIVO Y PRUEBAS BIOQUIMICAS.

Base de Agar  
Base de Agar Sangre  
Caldo Lactosado  
Caldo Urea  
Cittrato de Simmons  
EMB  
LIA  
Medio RM-VP  
MIO  
Agar Sal y Manitol  
TSI

## 7. METODOLOGIA.

Este trabajo fue realizado en diferentes etapas, las cuales fueron por ensayo y error.

### I. ETAPA. SOPORTE DE CRECIMIENTO.

En esta etapa el objetivo fue tener un medio base en el cual crecieran favorablemente las cepas problemas. Las variaciones que se realizaron fueron las siguientes:

- Agar
- Levadura de Pan
- Peptona de Caseína.

Las cepas que se inocularon fueron:

- Escherichia coli
- Salmonella enteritidis
- Staphylococcus aureus
- Streptococcus beta-hemolitico
- Klebsiella pneumoniae
- Enterobacter cloacae
- Pseudomona aeruginosa

### II. ETAPA. INTEGRACION DE METABOLITOS PARA PRUEBAS BIOQUIMICAS.

En esta etapa se integraron diversas sustancias que nos permitan llevar a cabo una identificación del microorganismo de acuerdo a sus diferencias metabólicas.

Se incorporó:

- Lactosa con un indicador (rojo de fenol)
- Sales de Fe<sup>+3</sup>: Citrato Ferroso  
Sulfato Ferroso  
Sulfato Ferrico
- Urea

Con la incorporación de la Lactosa principalmente que remos reconocer a los microorganismos fermentadores de la lactosa, ya que si esto ocurre se acidificara el medio y por lo tanto cambiara de color.

En cuanto a la incorporación de una sal de Fierro, el objetivo es que haya producción de  $H_2S$ .

Y con respecto a la urea, también los microorganismos que la hidrolicen alcalinizaran el medio produciendo tambien un cambio de color en el medio. Cabe mencionar que en la preparación del medio la urea se incorpora estéril, adicionandola después de que el medio ha sido esterilizado para evitar que se hidrolice.

### III. COMPARACION CON EL MEDIO DE CELULAS DE PULQUE.

En 1987 se realizó un medio parecido, pero tenia como soporte de crecimiento células de pulque, en esta tesis se tomo como objetivo el comparar los dos medios y observar cual resulta ser mejor.

Para poder realizar una comparación más óptima se procedio a llevar a cabo esta desde la formulación del medio por lo que al mismo tiempo se elaboro el medio de levaduras de pan y el de células de pulque, realizando la comparación de ambos.

### IV. ETAPA. ESTABILIDAD.

Se procedio a elaborar un lote de 10 cajas de petri del medio con la siguiente formulación final:

Agar	1.5 %
Peptona de caseína	0.5 %
Lactosa	1.0 %
$Na_2S_2O_3$	0.6 %
$FeC_6H_5O_7$	0.07 %
Levaduras de Pan	1.5 %
Urea	0.2 %
Rojo de Fenol	0.002 %

En primer termino se pusieron a prueba de esterilidad durante 12 hrs. a 37°C. Cuando se observo que estaban bien preparadas se almacenaron a 4°C en bolsas de polietileno.

Se inocularon durante 2 meses y medio, una caja por semana y las lecturas se realizaron a las 24 hrs. despues de la inoculación. Las cepas inoculadas fueron:

Escherichia coli  
Salmonella enteritidis  
Streptococcus beta-hemolitico  
Staphylococcus aureus  
Pseudomona aeruginosa  
Klebsiella pneumoniæ

V y VI. ETAPAS. COMPARACION DEL MEDIO DE LEVADURAS DE PAN CON EL METODO TRADICIONAL Y PRUEBA DEL MEDIO CON MUESTRAS CLINICAS.

Se realizaron muestras provenientes del Hospital General de Zona # 25 del IMSS y del Laboratorio de Análisis Clínicos de la Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza Campus I, se les practicaron el urocultivo hasta tener 100 muestras positivas.

Se comparo con el método tradicional por que se sembró en los siguientes medios, haciendo una comparación en crecimiento y morfología entre ellos:

- Agar Sangre
- Agar EMB
- Agar Sal y Manitol
- Agar Levaduras de Pan.

VII. ANALISIS DE COSTOS.

Se realizó una investigación del costo de los otros 3 medios comerciales y se comparo con el precio del medio elaborado en este trabajo por litro.

## 8. RESULTADOS .

En la primera parte de las tablas se enlistan las variaciones de los componentes y posteriormente se reportan dos parámetros: crecimiento y diferenciación bioquímica (cuando sea el caso). Para estos parámetros se dan las siguientes claves:

### Claves de crecimiento.

-	negativo
±	escaso desarrollo
+	moderado desarrollo
++	buen desarrollo
+++	excelente desarrollo

### Claves de diferenciación bioquímica:

n	nula diferenciación bioquímica
m	mala diferenciación bioquímica
r	regular diferenciación bioquímica
b	buena diferenciación bioquímica

I. ETAPA. SOPORTE DE CRECIMIENTO.

Se realizaron variaciones en las proporciones de agar hasta obtener la óptima para el buen desarrollo de las bacterias. El nutriente fue células de pulque.

Tabla # 1. Variación de Agar.

Medio.	1	2	3
Agua destilada cbp	100	100	100
pH	7.0±0.4	7.0±0.4	7.0±0.4
Agar	0.5	1.0	1.5
Células de pulque de 100 ml.			

<u>Escherichia coli</u>	-	±	±
<u>Salmonella enteritidis</u>	-	±	±
<u>Streptococcus beta-hem.</u>	-	±	±
<u>Staphylococcus aureus</u>	-	±	±
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	-	±	±
<u>Enterobacter cloacae</u>	-	±	±
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	-	±	±

Una vez tomando a 1.5 % de Agar se procede a variar la levadura de Pan.

Tabla # 2. Variación de Levaduras de Pan.

Medio	4	5	6
Agar	1.5%	1.5%	1.5%
Levaduras de Pan	0.5	1.0	1.5

<u>Escherichia coli</u>	+	++	+++
<u>Salmonella enteritidis</u>	+	++	+++
<u>Streptococcus beta-hem.</u>	-	±	+
<u>Staphylococcus aureus</u>	±	+	++
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	+	++	+++
<u>Enterobacter cloacae</u>	+	++	+++
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	+	++	+++

A partir de este momento se realiza la comparación con el medio de células de pulque y levaduras de pan. Se procede a enriquecer el medio adicionando peptona de caseína, pero además se siguieron variando las concentraciones de levadura, hasta encontrar las cantidades óptimas de estos dos componentes para el mejor desarrollo de las bacterias.

Tabla # 3. Blancos sin levaduras de Pan ni Cel. de pulque.

Medio.	7	8	9
Agar	1.5	1.5	1.5
Peptona	0.5	1.0	1.5

<u>Escherichia coli</u>	+	+	+
<u>Salmonella enteritidis</u>	+	+	+
<u>Streptococcus beta-hem.</u>	+	+	±
<u>Staphylococcus aureus</u>	+	+	+
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	+	+	+
<u>Enterobacter cloacae</u>	+	+	+
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	+	+	±

Tabla # 4. Variación de Peptona; Concentración de Levaduras 0.5 %

Medio	10	11	12	13
Agar	1.5	1.5	1.5	1.5
Peptona	-	0.5	1.0	1.5
Levaduras de Pan	0.5	0.5	0.5	0.5

<u>Escherichia coli</u>	±	+	+	++
<u>Salmonella enteritidis</u>	±	±	+	++
<u>Streptococcus beta-hem.</u>	±	±	+	++
<u>Staphylococcus aureus</u>	±	±	+	++
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	±	±	+	++
<u>Enterobacter cloacae</u>	±	±	+	++
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	±	±	+	++

Tabla # 5. Variación de Peptona; Concentración de levaduras de pan 1.0%

Medio	14	15	16	17
Agar	1.5	1.5	1.5	1.5
Peptona	-	0.5	1.0	1.5
Levadura de Pan	1.0	1.0	1.0	1.0
<u>Escherichia coli</u>	+	+	++	++
<u>Salmonella enteritidis</u>	+	+	++	++
<u>Streptococcus beta-hem.</u>	+	+	++	++
<u>Staphylococcus aureus</u>	+	+	++	++
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	+	+	++	++
<u>Enterobacter cloacae</u>	+	+	++	++
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	+	+	++	++

Tabla # 6. Variación de Peptona; Concentración de levaduras de pan 1.5 %

Medios	18	19	20	21
Agar	1.5	1.5	1.5	1.5
Peptona	-	0.5	1.0	1.5
Levadura de Pan	1.5	1.5	1.5	1.5
<u>Escherichia coli</u>	+	+	++	+++
<u>Salmonella enteritidis</u>	+	+	++	+++
<u>Streptococcus beta-hem.</u>	+	+	++	+++
<u>Staphylococcus aureus</u>	+	+	++	+++
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	+	+	++	+++
<u>Enterobacter cloacae</u>	+	+	++	+++
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	+	+	++	+++

Tabla # 7. Variación de Peptona. Pulque completo 100 ml.

Medio	22	23	24	25
Agar	1.5	1.5	1.5	1.5
Peptona	-	0.5	1.0	1.5
<u>Escherichia coli</u>	±	+	++	+++
<u>Salmonella enteritidis</u>	±	+	++	+++
<u>Streptococcus beta-hem.</u>	±	+	++	+++
<u>Staphylococcus aureus</u>	±	+	++	+++
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	±	+	++	+++
<u>Enterobacter cloacae</u>	±	+	++	+++
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	±	+	++	+++

Tabla # 8. Variación de Peptona. Sobrenadante de Pulque 100 ml.

Medio	26	27	28	29
Agar	1.5	1.5	1.5	1.5
Peptona	-	0.5	1.0	1.5
<u>Escherichia coli</u>	±	±	+	++
<u>Salmonella enteritidis</u>	±	±	+	++
<u>Streptococcus beta-hem.</u>	±	±	+	++
<u>Staphylococcus aureus</u>	±	±	+	++
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	±	±	+	++
<u>Enterobacter cloacae</u>	±	±	+	++
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	±	±	+	++

Tabla # 9. Variación de Peptona. Células (sedimento) de 100 ml de pulque.

Medio	30	31	32	33
Agar	1.5	1.5	1.5	1.5
Peptona	-	0.5	1.0	1.5
<u>Escherichia coli</u>	+	+	++	+++
<u>Salmonella enteritidis</u>	+	+	++	+++
<u>Streptococcus beta-hem.</u>	+	+	++	+++
<u>Staphylococcus aureus</u>	+	+	++	+++
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	+	+	++	+++
<u>Enterobacter cloacae</u>	+	+	++	+++
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	+	+	++	+++

## II. ETAPA. INTEGRACION DE METABOLITOS PARA PRUEBAS BIO-QUIMICAS.

En primer lugar se incorporo al medio de soporte ya establecido Lactosa con un indicador, rojo de fenol, para observar el cambio de color del medio, si un microorganismo ha fermentado la lactosa. En esta etapa tambien se realizó la comparación del medio de levaduras de Pan con el de células de pulque.

Tabla # 10. Variación de Lactosa.

Medio	34	35	36	37
Agar	1.5	1.5	1.5	1.5
Peptona	0.5	0.5	0.5	0.5
Levaduras	1.5	1.5	1.5	1.5
Lactosa	-	0.5	1.0	1.5
Rojo de Fenol %	0.002	0.002	0.002	0.002
<u>Escherichia coli</u>	+ m	++ r	+++b	+++b
<u>Salmonella enteritidis</u>	+	++	+++	+++
<u>Streptococcus beta-hem.</u>	+	++	+++	+++
<u>Staphylococcus aureus</u>	+	++	+++	+++
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	+ m	++ r	+++b	+++ b
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	+	++	+++	+++

Tabla # 11. Variación de lactosa. Cel. de pulque de 100ml

Medio	38	39	40	41
Agar	1.5	1.5	1.5	1.5
Peptona	0.5	0.5	0.5	0.5
Lactosa	-	0.5	1.0	1.5
Rojo de Fenol	0.002	0.002	0.002	0.002
<u>Escherichia coli</u>	± m	+ r	++ b	++ b
<u>Salmonella enteritidis</u>	±	+	++	++
<u>Streptococcus beta-hem.</u>	±	+	++	++
<u>Staphylococcus aureus</u>	±	+	++	++
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	±	+	++	++
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	±	+	++	++

Se incorporo una sal de Fierro, para poder observar la producción de H<sub>2</sub>S en el medio, por formación de un precipitado negro. Al igual que en los ensayos anteriores se realiza la comparación entre las levaduras de pan y células de pulque. Cabe mencionar que no se incorporo en un principio la lactosa para que no interfiriera con el precipitado negro. En este ensayo se sembro Escherichia coli para control de crecimiento, Salmonella enteritidis para H<sub>2</sub>S y Proteus mirabilis para producción de H<sub>2</sub>S y swarming.

Tabla # 12. Variación de Sulfato Ferrico. Levaduras de Pan.

Medio	42	43	44	45	46
Agar	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Peptona	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Levaduras de Pan	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	-	0.05	0.07	0.1	0.15
<u>Escherichia coli</u>	+++	+++	+++	+++	+++
<u>Salmonella enteritidis</u>	+++ n	+++ m	+++ b	+++ r	+++ m
<u>Proteus mirabilis</u>	+++ n	+++ m	+++ b	+++ r	+++ m

Tabla # 13. Variación de Sulfato Ferrico. Cel. de pulque

Medio	47	48	49	50	51
Agar	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Peptona	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	-	0.05	0.07	0.1	0.15
<u>Escherichia coli</u>	+++	+++	+++	+++	+++
<u>Proteus mirabilis</u>	+++ n	+++ m	+++ b	+++ r	+++ m
<u>Salmonella enteritidis</u>	+++ n	+++ m	+++ b	+++ r	+++ m

Tabla # 14. Variación de Sulfato Ferroso. Levadura de Pan

Medio	52	53	54	55	56
Agar	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Peptona	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Levadura de Pan	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
FeSO <sub>4</sub>	-	0.05	0.07	0.1	0.15
<u>Escherichia coli</u>	+++	+++	+++	+++	+++
<u>Proteus mirabilis</u>	+++ n	+++ b	+++ r	+++ m	+++ m
<u>Salmonella enteritidis</u>	+++ n	+++ b	+++ r	+++ m	+++ m

Tabla # 15. Variación de Sulfato Ferroso. Cel. de pulque.

Medio	57	58	59	60	61
Agar	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Peptona	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
FeSO <sub>4</sub>	-	0.05	0.07	0.1	0.15
<u>Escherichia coli</u>	+++	+++	+++	+++	+++
<u>Proteus mirabilis</u>	+++ n	+++ b	+++ r	+++ r	+++ r
<u>Salmonella enteritidis</u>	+++ n	+++ b	+++ r	+++ r	+++ r

Tabla # 16. Variación de Citrato Ferroso. Levaduras de Pan

Medio.	62	63	64	65	66
Agar	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Peptona	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Levadura de Pan	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
FeC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	-	0.05	0.07	0.1	0.15
<u>Escherichia coli</u>	+++	+++	+++	+++	+++
<u>Proteus mirabilis</u>	+++ n	+++ m	+++ b	+++ r	+++ m
<u>Salmonella enteritidis</u>	+++ n	+++ m	+++ b	+++ r	+++ m

Tabla # 17. Variación de Citrato Ferroso. Cel. de pulque.

Medio	67	68	69	70	71
Agar	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Peptona	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
FeC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	-	0.05	0.07	0.1	0.15
<u>Escherichia coli</u>	+++	+++	+++	+++	+++
<u>Proteus mirabilis</u>	+++ n	+++ r	+++ m	+++ m	+++ m
<u>Salmonella enteritidis</u>	+++ n	+++ r	+++ m	+++ m	+++ m

De los medios anteriores se tomaron los que tuvieron mejor producción de H<sub>2</sub>S y se incorporo la lactosa, por lo que en la parte inferior E. coli tambien tiene diferenciación bioquímica, pero es de lactosa.

Tabla # 18. Variación de sales de Fe<sup>+3</sup>. Levaduras de Pan.

Medio	73	74	75
Agar	1.5	1.5	1.5
Peptona	0.5	0.5	0.5
Rojo de Fenol	0.002	0.002	0.002
Lactosa	1.0	1.0	1.0
Levaduras de Pan	1.5	1.5	1.5
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.6	0.6	0.6
Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	0.07	-	-
FeSO <sub>4</sub>	-	0.05	-
FeC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	-	-	0.07
<u>Escherichia coli</u>	+++ b	+++ b	+++ b
<u>Proteus mirabilis</u>	+++ r	+++ r	+++ b
<u>Salmonella enteritidis</u>	+++ r	+++ r	+++ b

Tabla # 19. Variación de sales de Fe<sup>+3</sup>. Cel. de pulque.

Medio	76	77	78
Agar	1.5	1.5	1.5
Peptona	0.5	0.5	0.5
Rojo de Fenol	0.002	0.002	0.002
Lactosa	1.0	1.0	1.0
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.6	0.6	0.6
Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	0.07	-	-
FeSO <sub>4</sub>	-	0.05	-
FeC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	-	-	0.05
<u>Escherichia coli</u>	+++ b	+++ b	+++ b
<u>Proteus mirabilis</u>	+++ r	+++ r	+++ m
<u>Salmonella enteritidis</u>	+++ r	+++ r	+++ m

Se procedio a realizar los siguientes medios con las concentraciones de sales de Fierro que se consideraron que tenian mejor produccion de H<sub>2</sub>S, pero ahora haciendo un control del desarrollo comparando medios con y sin levaduras de Pan. Cabe mencionar que a partir de estos ensayos se trabajo unicamente con levaduras de Pan, y se sembraron todas las cepas.

Tabla # 20. Citrato Ferroso.

Medio	79	80
Agar	1.5	1.5
Peptona	0.5	0.5
Levadura de Pan	-	1.5
Rojo de Fenol	0.002	0.002
Lactosa	1.0	1.0
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.6	0.6
FeC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	0.07	0.07
<u>Escherichia coli</u>	++ m	+++ b
<u>Salmonella enteritidis</u>	++ m	+++ b
<u>Streptococcus beta-hem.</u>	+	++
<u>Staphylococcus aureus</u>	+	++
<u>Proteus mirabilis</u>	++ m	+++ b
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	-	++
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	++ m	+++ b
<u>Enterobacter cloacae</u>	++ m	+++ n

Tabla # 21. Sulfato Ferroso.

Medio	81	82
Agar	1.5	1.5
Peptona	0.5	0.5
Rojo de Fenol	0.002	0.002
Lactosa	1.0	1.0
Levadura de Pan	-	1.5
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.6	0.6
FeSO <sub>4</sub>	0.05	0.05
<u>Escherichia coli</u>	+ m	++ b
<u>Salmonella enteritidis</u>	+ m	++ r
<u>Streptococcus beta-hem.</u>	-	-
<u>Staphylococcus aureus</u>	-	±
<u>Proteus mirabilis</u>	+ m	++ r
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	+ m	++ b
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	-	-
<u>Enterobacter cloacae</u>	+ m	++ b

Tabla # 22. Sulfato Ferrico.

Medio	83	84
Agar	1.5	1.5
Peptona	0.5	0.5
Rojo de Fenol,	0.002	0.002
Lactosa	1.0	1.0
Levaduras de Pan	-	1.5
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.6	0.6
Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	0.07	0.07
<u>Escherichia coli</u>	+ m	++ b
<u>Salmonella enteritidis</u>	+ m	++ r
<u>Streptococcus beta-hem.</u>	-	±
<u>Staphylococcus aureus</u>	-	±
<u>Proteus mirabilis</u>	+ m	++ r
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	+ m	++ b
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	-	+
<u>Enterobacter cloacae</u>	+ m	++ b

Se procede a realizar solamente el medio de Citrato Ferroso, mejor productor de H<sub>2</sub>S, pero ahora variando la levadura de pan y peptona para observar si sigue siendo óptimo el crecimiento bacteriano en el medio con todos los componentes hasta ahora integrados.

Tabla # 23. Variación de Peptona y Levadura de Pan.

Medio	85	86	87	88
Agar	1.5	1.5	1.5	1.5
Rojo de Fenol	0.002	0.002	0.002	0.002
Lactosa	1.0	1.0	1.0	1.0
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.6	0.6	0.6	0.6
FeC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	0.07	0.07	0.07	0.07
Peptona	-	0.5	-	0.5
Levaduras	-	-	1.5	1.5
<u>Escherichia coli</u>	-	+	++	+++
<u>Salmonella enteritidis</u>	-	+	++	+++
<u>Streptococcus beta-hemo.</u>	-	-	+	++
<u>Staphylococcus aureus</u>	-	-	+	++
<u>Proteus mirabilis</u>	-	+	++	+++
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	-	+	++	+++
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	+	+	++	+++
<u>Enterobacter cloacae</u>	+	+	++	+++

Como ultimo ensayo se procede a incorporar Urea para poder diferenciar en el mismo medio a los microorganismos capaces de hidrolizar la Urea, produciendo alcalinidad y un aumento del pH en el medio.

Cabe mencionar que en la preparaci3n del medio la urea se incorpora est3ril, despues de que el medio ha sido esterilizado. El unico microorganismo sembrado fue Klebsiella pneumoniae.

Tabla # 24. Variaci3n de Urea.

Medio.	89	90	91	92	93
Agar	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Peptona	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Rojo de Fenol	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002
Lactosa	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Fec <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
Levadura de Pan	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Urea	-	0.1	0.15	0.2	0.25
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	+++ m				

IV. ETAPA. PRUEBA DE ESTABILIDAD.

Se realizaron las lecturas a las 24 horas después del inóculo de las cepas. Estas se realizaron cada semana. Se tomo en cuenta el crecimiento de las cepas, así como su morfología colonial y sus diferentes pruebas bioquímicas.

Semana.	1	2	3	4	5
<u>Escherichia coli</u>	+++ b				
<u>Salmonella enteritidis</u>	+++ b				
<u>Streptococcus beta-hem.</u>	++	++	++	++	++
<u>Staphylococcus aureus</u>	++	++	++	++	++
<u>Proteus mirabilis</u>	+++ b				
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	+++	+++	+++	+++	+++
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	+++ b				
<u>Enterobacter cloacae</u>	+++ b				
Control	-	-	-	-	-

Semana	6	7	8	9	10
<u>Escherichia coli</u>	+++ b				
<u>Salmonella enteritidis</u>	+++ b				
<u>Streptococcus beta-hem.</u>	++	++	++	++	++
<u>Staphylococcus aureus</u>	++	++	++	++	++
<u>Proteus mirabilis</u>	+++ b				
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	+++	+++	+++	+++	+++
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	+++ b				
<u>Enterobacter cloacae</u>	+++ b				
Control	-	-	-	-	-

### MORFOLOGIA COLONIAL

La morfología que presentan las colonias de las bacterias inoculadas es la siguiente, de acuerdo al medio final obtenido de Levaduras de Pan.

Escherichia coli. Presenta colonias de 2-3 mm de diámetro son circulares, de bordes lisos, de color amarillo pálido, convexas, lisas y brillantes; son lactosa positivo por lo que acidifican el medio produciendo en este un cambio de color a amarillo.

Salmonella enteritidis. Presenta colonias de 1-2 mm de diámetro, son circulares, lisas, convexas, brillosas y tienen producción de  $H_2S$  por lo que son de color negro.

Streptococcus beta-hemolítico. Son colonias puntiformes, incoloras.

Staphylococcus aureus. Tienen un tamaño de 0.5-1 mm de diámetro son circulares, brillosas, lisas y convexas de color amarillo fuerte.

Pseudomona aeruginosa. Son colonias de 1-2 mm de diámetro de bordes irregulares, planas, de color verde, de centro umbilicado y con un brillo metálico.

Proteus mirabilis. Son colonias de 1-2 mm de diámetro, circulares, brillosas, convexas, lisas, no producen swarming y tienen centro negro por producción de  $H_2S$

Enterobacter cloacae. Son colonias de 1-2 mm de diámetro, circulares, lisas, convexas, brillosas de color amarillo pálido.

MORFOLOGIA COLONIAL.

Klebsiella pneumoniae. Son colonias grandes de 2-3 mm de diámetro, son convexas, lisas, circulares, de consistencia mucóide y color amarillo claro.

V Y VI. ETAPAS. COMPARACION DEL MEDIO DE LEVADURAS DE PAN CON EL METODO TRADICIONAL Y PRUEBA DEL MEDIO CON MUESTRAS CLINICAS.

La comparación con el método tradicional se llevo a cabo por que además de utilizar el medio de Levaduras de Pan con las muestras clínicas tambien se sembró Agar Sangre, EMB y Sal y Manitol. Las diferencias que existia entre los medios en cuanto al crecimiento se realizaron por la cuenta de colonias, esto principalmente se tomo en la Gelosa Sangre y el de Levaduras de Pan.

La identificación del microorganismo se llevo a cabo con pruebas bioquímicas.

No.	Clave	UFC/ml en Agar Sangre	UFC/ml en Agar lev.	Microorganismo identificado.
1.	62-PEL	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
2.	59 -AUC	+ 100,000	+ 100,000	<u>Proteus mirabilis</u>
3.	14-EGG	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
4.	50-RUE	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
5.	527-PBE	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli y Klebsiella pneumoniae</u>
6.	29-MHM	+ 100,000	+ 100,000	<u>Proteus mirabilis</u>
7.	34-GRP	+ 100,000	+ 100,000	<u>Proteus vulgaris</u>
8.	59-CMC	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
9.	13-FPR	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
10.	11-PMN	100,000	100,000	<u>E. coli</u>
11.	30-CMP	100,000	100,000	<u>Proteus mirabilis</u>
12.	3-CBF	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
13.	88-MUD	80,000	80,000	<u>E. coli</u>
14.	36-MMA	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
15.	506-GTC	50,000	50,000	<u>Proteus mirabilis</u>
16.	505-RMA	+ 100,000	+ 100,000	<u>S. aureus</u>
17.	92-RSB	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
18.	20-CAE	+ 100,000	+ 100,000	<u>Klebsiella pneumoniae</u>

No.	Clave	UFC/ml en Agar Sangre	UFC/ml en Agar Lev.	Microorganismo identificado.
19.	87	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
20.	311-C	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
21.	106-MMA	70,000	70,000	<u>Enterobacter cloacae</u>
22.	511-MCM	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
23.	530-RSR	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
24.	72-MSR	+ 100,000	+ 100,000	<u>Klebsiella pneumoniae</u>
25.	512-LLT	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u> y <u>Klebsiella pneumoniae</u>
26.	505-RMA	+ 100,000	+ 100,000	<u>Klebsiella pneumoniae</u>
27.	Guille	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
28.	50-EMF	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
29.	367-GTC	+ 100,000	+ 100,000	<u>Proteus vulgaris</u>
30.	351-CLS	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
31.	54-MMO	60,000	60,000	<u>E. coli</u>
32.	GCG	80,000	80,000	<u>Proteus mirabilis</u>
33.	16-AAE	+ 100,000	+ 100,000	<u>Proteus mirabilis</u>
34.	319-RJR	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
35.	511-MHV	60,000	60,000	<u>E. coli</u>
36.	515-BPR	+ 100,000	+ 100,000	<u>Pseudomona aeruginosa</u>
37.	73-OFC	100,000	100,000	<u>E. coli</u>
38.	312-LSA	100,000	100,000	<u>E. coli</u>
39.	314-GRP	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
40.	324-HMN	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
41.	330-HA	+ 100,000	+ 100,000	<u>Proteus mirabilis</u>
42.	423-LUR	+ 100,000	+ 100,000	<u>Proteus mirabilis</u>
43.	426-JC	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u> y <u>Klebsiella pneumoniae</u>
44.	429	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
45.	515-BPJ	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
46.	7-SD	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
47.	37-FE	50,000	50,000	<u>Proteus mirabilis</u>
48.	340-BCM	60,000	60,000	<u>E. coli</u>
49.	342-HAJ	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
50.	417-PLM	+ 100,000	+ 100,000	<u>Proteus mirabilis</u> y <u>Klebsiella ozaenae</u>

No.	Clave	UFC/ml en Agar Sangre	UFC/ml en Agar Lev.	Microorganismo identificado.
51.	-EMF	100,000	100,000	<u>Klebsiella pneumoniae</u>
52.	23-NV	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
53.	70-CR	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
54.	80-VR	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
55.	305	100,000	100,000	<u>S. saprophyticus</u>
56.	440-NBR	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
57.	514-JRE	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
58.	22778	50,000	50,000	<u>Proteus mirabilis</u>
59.	22854	60,000	60,000	<u>Pseudomona aeruginosa</u>
60.	22909	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
61.	23390	100,000	100,000	<u>S. saprophyticus</u>
62.	23299	+ 100,000	+ 100,000	<u>Pseudomona sp.</u>
63.	23298	100,000	100,000	<u>Klebsiella pneumoniae</u>
64.	22273	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
65.	23445	+ 100,000	+ 100,000	<u>Streptococcus</u> grupo D
66.	23472	100,000	100,000	<u>Proteus mirabilis</u>
67.	23501	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
68.	102-BH	100,000	100,000	<u>Proteus vulgaris</u>
69.	420,	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
70.	429	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
71.	435	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
72.	523-SSJ	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
73.	117	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
74.	532	+ 100,000	+ 100,000	<u>Streptococcus sp.</u>
75.	9-MVL	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
76.	69-LMG	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
77.	108-RME	+ 100,000	+ 100,000	<u>Klebsiella pneumoniae</u>
78.	307-TMP	100,000	100,000	<u>E. coli</u>
79.	440-NBL	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
80.	568-CCA	+ 100,000	+ 100,000	<u>S. saprophyticus</u>
81.	52-GMR	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
82.	102-ARM	+ 100,000	+ 100,000	<u>S. aureus</u>
83.	328-ARR	+ 100,000	+ 100,000	<u>Enterobacter cloacae</u>
84.	413-RRF	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>

No.	Clave	UFC/ml en Agar Sangre	UFC/ml en Agar Lev.	Microorganismo identificado.
85.	417-SRJ	100,000	100,000	<u>E. coli</u>
86.	423-AAM	+ 100,000	+ 100,000	<u>Klebsiella pneumoniae</u>
87.	428-SPC	+ 100,000	+ 100,000	<u>Klebsiella ozanae</u>
88.	526-GTA	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
89.	536-RMA	+ 100,000	+ 100,000	<u>Klebsiella pneumoniae</u>
90.	512-NSS	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
91.	222-VSL	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
92.	429-BHG	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
93.	513-PR	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
94.	544	100,000	100,000	<u>S. saprophyticus</u>
95.	430	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
96.	106-RRM	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
97.	41-LRF	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
98.	18-HL	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
99.	120-PLM	+ 100,000	+ 100,000	<u>E. coli</u>
100.	672-TDA	100,000	100,000	<u>Klebsiella pneumoniae</u>

<u>MICROORGANISMO</u>	<u>PORCENTAJE</u>
<u>Escherichia coli</u>	59 %
<u>Proteus mirabilis</u>	11 %
<u>Proteus vulgaris</u>	3 %
<u>Staphylococcus aureus</u>	2 %
<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	4 %
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	9 %
<u>Klebsiella ozanae</u>	1 %
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	3 %
<u>Enterobacter cloacae</u>	2 %
<u>Streptococcus sp.</u>	2 %
<u>E. coli y Klebsiella pneumoniae</u>	3 %
<u>Klebsiella ozaenae y Proteus mirabilis</u>	1 %
	<hr/>
	100 %
Muestras Totales	475
Muestras Positivas	100

VII. ANALISIS DE COSTOS.

Se investigaron los precios de los medios utilizados en este proyecto, así como el de los componentes del medio elaborado con levaduras de Pan. Todos son reportados para un litro.

Agar EMB	\$ 14,500.00 para un litro
Agar Sal y Manitol	\$ 13,296.00 para un litro
Base de Agar Sangre	\$ 12,988.00 para un litro
Sangre de Carnero	\$ 12,000.00 para un litro
Costo método tradicional	<u>\$ 52,784.00</u> para 50 urocultivos
Agar Bacteriologico	\$ 5,080.00 para un litro
Lactosa	\$ 2,166.00 para un litro
Peptona de Caseína	\$ 996.00 para un litro
Urea	\$ 135.00 para un litro
Rojo de Fenol	\$ 242.00 para un litro
Tiosulfato de sodio	\$ 302.00 para un litro
Citrato Ferroso	\$ 78.00 para un litro
Levadura de Pan	\$ 150.00 para un litro
Costo del medio de levadura de Pan.	<u>\$ 9,149.00</u> para 50 urocultivos

## 9. ANALISIS DE RESULTADOS.

En la formulación del medio se incluyeron diferentes etapas. En la primera se realizaron ensayos para obtener un soporte de crecimiento. En el primer ensayo se procedió a realizar variaciones de agar Bacteriologico con nutrientes de células de pulque de 100 ml para poder encontrar la cantidad óptima en la que crecieran las cepas utilizadas, pero se encontro que todos los microorganismos i noculados no crecieron o simplemente el crecimiento fue muy escaso, además de que cuando se utilizaron cantidades bajas de Agar Bacteriologico 0.5 y 1.0 g/dl la consistencia del medio era más blanda que sólida (Tabla No. 1) por lo que se decidió tomar 1.5 g/dl como la cantidad óptima para el medio.

En el segundo ensayo se procedio a adicionar al Agar Bacteriologico las levaduras de Pan a diferentes concentraciones 0.5, 1.0 y 1.5 g/dl (Tabla No. 2), para observar si habia un incremento en el desarrollo de los microorganismos y se observo que en la concentración de 1.5 g/dl de levaduras de pan existia un crecimiento óptimo en la mayoría de las cepas, excepto en Streptococcus beta-hemolitico ya que este microorganismo es muy exigente por lo que se procedio a enriquecer el medio.

En esta etapa se incorporo peptona de caseina para enriquecer el medio; cabe mencionar que a partir de este ensayo se realizaron las comparaciones con el medio de pulque principalmente por que se queria observar desde el inicio de la formulación las diferencias que existian entre la utilización del pulque y la sustitución por levaduras de Pan.

Primeramente se procedio a realizar un blanco (tabla No. 3) sin levaduras y sin pulque con las diferentes concentraciones de peptona de caseina 0.5, 1.0 y 1.5 g/dl y se comprobo que el crecimiento era muy escaso en todos los medios.

En los medios siguientes se varió nuevamente las concentraciones de Levaduras de Pan para poder observar que efecto tenia el agregar peptona al medio y se comprobo

que el que tenía un mayor crecimiento de los microorganismos utilizados fue el medio 21 con 1.5 g/dl de Levadura de Pan y 1.5 g/dl de peptona de caseína; pero con 0.5 y 1.0 g/dl de peptona de caseína también existió buen desarrollo y como este trabajo tiene como uno de sus objetivos el economizar la identificación del agente etiológico de la IVU se tomó la concentración más baja y óptima de peptona que fue el medio 19 Tabla No. 6, con 0.5 g/dl de peptona de caseína y 1.5 g/dl de Levaduras de Pan.

En la comparación con el pulque se observó que los que tuvieron resultados similares al de levaduras de pan fueron los medios de pulque completo y sedimento del pulque y el que tuvo crecimiento escaso fue el del sobrenadante del pulque.

En la segunda etapa de este trabajo se integraron diferentes metabolitos para diferenciar a los microorganismos de acuerdo a sus características bioquímicas. El primer ensayo fue la adición de Lactosa a diferentes concentraciones, en los resultados se tomó en cuenta tanto el crecimiento de todas las cepas inoculadas como la diferenciación metabólica; microorganismos que fermentan la lactosa como E. coli, producen una acidificación del medio que con el indicador utilizado, rojo de fenol, da un cambio en la coloración del medio a amarillo. Se notó que con Levaduras de Pan las concentraciones que mejor diferenciación bioquímica y crecimiento dieron eran las de 1.0 y 1.5 g/dl de lactosa y como anteriormente se expuso se tomó la menor y mejor concentración 1.0 g/dl medio 36, Tabla No. 10.

Como en la etapa anterior se observó que el sobrenadante de pulque no tenía buen crecimiento se eliminó y el pulque completo también por obtenerse los mismos resultados que con el sedimento por lo que el mismo ensayo de lactosa se realizó exclusivamente con este último.

En los resultados de estos medios se observó ya una diferencia con Levaduras de Pan ya que no hubo buen crecimiento en el de células de pulque sin embargo en la diferenciación bioquímica resultaron iguales.

En el segundo ensayo se incorporó una sal de Hierro para inducir la producción de  $H_2S$  de algunas cepas como Salmonella enteritidis.

Se utilizaron 3 diferentes sales, sulfato ferroso, sulfato ferrico y citrato ferroso; a las 3 se les vario las concentraciones.

Se pudo observar en cuanto a concentraciones que con forme se aumentaba la cantidad de sal la producción de  $H_2S$  tambien aumentaba pero llegaba a un máximo para luego descender. En cuanto al crecimiento con todas las sales de hierro y en todas las concentraciones se obtuvieron los mismos resultados y el crecimiento en general de las cepas fue aceptable.

De todas las sales de hierro se tomaron las concentraciones con mayor producción de  $H_2S$ .

Sulfato Ferroso	Medio 44	0.07 g /dl
Sulfato Ferrico	Medio 51	0.05 g /dl
Citrato Ferroso	Medio 64	0.07 g /dl

En cuanto a la comparación con el medio de pulque se obtuvieron resultados iguales en el sulfato ferroso y ferrico, pero en citrato ferroso no existio una concentración que fuera capaz de producir la cantidad de  $H_2S$  como con las otras dos sales.

Cave mencionar que en el ensayo anterior no se incorporo la lactosa para no interferir en la interpretación de la producción de  $H_2S$ .

En el siguiente ensayo se incorporo la lactosa y se prepararon solamente las concentraciones de las sales de hierro que tuvieron mejor producción de  $H_2S$ . En cuanto a las levaduras de pan se observo (Tabla 18) que la sal que tuvo mejor producción de  $H_2S$  fue el citrato ferroso medio 75, y con respecto al pulque todos los medios tuvieron menor producción de  $H_2S$ .

Hasta aqui se realizó la comparación del pulque por que se observo que el de levaduras proporcionaba mejores resultados en cuanto a crecimiento y diferenciación bioquímica, además de que se comprobó que la elaboración del medio con levaduras de pan era mas facil de preparar que el medio de células de pulque.

En el siguiente ensayo se realizaron variaciones de levaduras ( con y sin) para comprobar que hasta este paso se obtuvieran buenos resultados y se trabajo con las tres sales de hierro; Se tomo como medio final de estos ensa-

yos el que mayor producción de  $H_2S$  tuvo que fue el de citrato ferroso con concentración de 0.07 g/dl medio 80, Tabla No. 20.

Por ultimo se incorporo Urea al medio para diferenciar a los microorganismos urea positivos como Klebsiella pneumoniae pero los resultados fueron negativos ya que esta prueba tambien se basaba en el cambio de pH del medio solamente que en este caso alcalinizaba por la hidrolisis de la urea; pero ese cambio no se pudo notar por que predominaba más la acidificación por la lactosa, y sin embargo tambien se dejo la Urea a 0.2 % por que se noto que ha esta concentración lograba eliminar el swarming de Proteus mirabilis.

En la cuarta etapa de este trabajo que es la comprobación de la estabilidad del medio se obtuvieron buenos resultados ya que en las 10 semanas que se sembraron las cepas la morfología y el crecimiento no cambiaron obteniendose buenos resultados.

En la quinta y sexta etapas que fueron la comprobación del medio en muestras clinicas y la comparación con el método tradicional, se encontro que tanto en la cuenta de colonias en Agar Sangre como en el medio de Levaduras de Pan siempre se obtenian resultados iguales. Además de que con la adición de metabolitos tambien se podia dar un resultado presuntivo que correspondia a las características morfológicas de las cepas tanto en EMB como en Sal y Manitol.

De los resultados en las 100 muestras clinicas positivas se obtuvo un porcentaje mayor de E. coli como el agente etiologico en IVU, seguido de Proteus, como se esperaba por los reportes de la bibliografía. (1,4,13,37).

## 10. CONCLUSIONES.

El medio de levaduras de pan formulado esta constituido como sigue:

Agar Bacteriológico	1.5 g/dl
Levaduras de Pan	1.5 g/dl
Tiosulfato de sodio	0.6 g/dl
Lactosa	1.0 g/dl
Rojo de Fenol	0.002 g/dl
Peptona de Caseina	0.5 g/dl
Citrato Ferroso	0.07 g/dl
Urea	0.2 g/dl

En este proyecto de tesis uno de los objetivos principales fue el de llevar a cabo un medio en el que se sustituyeran las células de pulque por levaduras de pan: en cuanto a esto se concluye que en la elaboración es más conveniente el medio a base de levaduras de pan por que no se pierde tiempo y trabajo en neutralizar el pulque. esperar a que se realicen las series de lavados y separar por centrifugación. Uno de los factores importantes es que se obtuvieron resultados mejores en cuanto a crecimiento de microorganismos en el medio a base de levaduras de pan que en el de células de pulque.

Por ultimo en esta comparación se observo que en cuanto a costo es más economico utilizar levaduras de pan que pulque por que un litro de este ultimo cuesta aproximadamente \$ 500.00 y si se utilizan levaduras de Pan su costo para un litro es de \$ 150.00.

Por lo que se concluye que resulta mejor la elaboración del medio para urocultivo con levaduras de pan que con células de pulque.

Otro de los objetivos fue el de compararlo con el método tradicional (utilizando Agar Sangre, MacConkey y EMB) se llevo a la conclusión que se obtienen los mismos resultados en cuanto a cuenta del número de colonias (como se observa en la tabla de resultados con muestras clínicas), además que tomando en cuenta la morfología colonial que ya incluía pruebas bioquímicas fue más facil llegar a identificar al agente etiologico de la Infección de Vías Urina

rias. Con el medio de levaduras de Pan se reduce considerablemente el costo ya que en vez de utilizar 3 medios que tienen un costo en conjunto de \$ 52,784.00, con el nuevo método se necesita solo el medio de levaduras de pan que tiene un precio de \$ 9,149.00 por litro.

Por lo que se concluye que el medio de levaduras de pan si se puede utilizar como sustituto del método tradicional y además con él se puede llegar a dar un resultado presuntivo en caso de requerirlo el medico.

En cuanto a los resultados de las frecuencias de los microorganismos se pudo observar que existia una relación con los datos reportados por la bibliografía, ya que el agente etiologico más frecuente sigue siendo E. coli.

Se concluye que con el medio elaborado es posible hacer el diagnostico de una Infección de Vias Urinarias, identificando al agente etiologico en poco tiempo y además por un precio inferior al del método tradicional.

Propuestas. Se sugiere un nuevo desarrollo, pero ahora de la presentación, ya que se puede idear un recipiente que contenga menor cantidad de medio (por ejemplo en la tapa), disminuyendo el costo del analisis y tambien facilitando la manipulación de la muestra.

11.- B I B L I O G R A F I A .

- 1.- Gonzalez, A. y colaboradores; "INFECTOLOGIA CLINICA". 2a. edición. Ed. Trillas, México 1984: 426-443.
- 2.- Blacklan, S. y colaboradores; "FISIOLOGIA APLICADA E INTERPRETACION CLINICA". 5a. edición. Ed. Interamericana, México 1980: 193-202.
- 3.- Maskell, R.; "INFECCION DE LAS VIAS URINARIAS EN LOS PACIENTES ADULTOS AMBULATORIOS". Ed. Norwich-Eaton 1987: 2-26.
- 4.- Sanford, R. y colaboradores; "DIAGNOSTICO CLINICO POR EL LABORATORIO". 6a. edición Ed. Salvat Barcelona 1986: 975-982.
- 5.- Glover, D.; "INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO DURANTE EL EMBARAZO". Universidad Nacional de Colombia, Ed. Norwich-Eaton 1988: 3-9.
- 6.- Dorsten, J.; "PIELONEFRITIS DURANTE EL EMBARAZO" - The Female Patient. 1986, 11: 15-21.
- 7.- Davis, B. y colaboradores; "TRATADO DE MICROBIOLOGIA". 2a. edición. Ed. Salvat México 1979: 615-634.
- 8.- Walley, Md. y colaboradores; "LA UTILIDAD DEL TRATAMIENTO DE LA INFECCION DE VIAS URINARIAS DURANTE EL EMBARAZO". Contemporary OR/GYN 1986, 27 (5): --76-78.
- 9.- Durazo, F. y colaboradores; "MANEJO DE LAS INFECCIONES DE VIAS URINARIAS DE ACUERDO A LOS ANTIBIOTICOS". Anales Médicos 1986, 30 (2): 2-8.
- 10.- Daifuke, R. y colaboradores; "ASSOCIATION OF RECTAL AND URETHRAL COLONIZATION WITH URINARY TRACT INFECTION IN PATIENTS WITH INDWELLING CATHETERS"; JAMA 1984 252 (15): 2028-2030.

- 11.- Belmont, B. y colaboradores; "URINARY TRACT INFECTION AND REFLUX". JAMA 1981, 246 (1): 74
- 12.- Jerome, A. y colaboradores; "EPIDEMIOLOGY OF BACTERIURIA IN AN ELDERLY AMBULATORY POPULATION". The American Journal of Medicina 1986, 80: 208-214.
- 13.- Koneman, A. y colaboradores; "DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO". Ed. Panamericana 1985: 22-25 y 152-199.
- 14.- Faddin, J.; "PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA LA IDENTIFICACION DE BACTERIAS DE IMPORTANCIA CLINICA". Ed. - Panamericana 1984: 27, 112, 183, 259-273.
- 15.- Daguet, G. y colaboradores; "TECNICAS EN BACTERIOLOGIA" 1a. edición Ed. JIMS Barcelona 1977: 82-86.
- 16.- Grant, S.; "POLEMICAS EN EL TRATAMIENTO DE LA INFECCION DE VIAS URINARIAS". Urology 1986, 27 (2): 3-8.
- 17.- Donal, R. y colaboradores; "UROLOGIA GENERAL". 8a. edición. Ed. El Manual Moderno, México 1985: 41-49 y 167.
- 18.- del Rey, J.; "MICROBIOLOGIA E INMUNOLOGIA DE LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS". Ed. Mazrban, Madrid - - 1976: 37-41.
- 19.- Harrison, C. y colaboradores; "MEDICINA INTERNA". 5a. edición. Ed. Prensa Medica Mexicana 1979: - - 1572-1579.
- 20.- Lynch, R. y colaboradores; "METODOS DE LABORATORIO" 2a. edición. Ed. Interamericana, México 1972: 913-916.
- 21.- Duerden, B. y colaboradores; "COMPARISON OF LABORATORY METHODS IN THE DIAGNOSIS OF URINARY TRACT INFECTIONS J. Clin. Path. 1976, 29: 286-291.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 22.- Calum, M.; "URINARY TRACT INFECTION NEW INFORMATION - CONCERNING PATHOGENESIS AND MANAGEMENT". The Journal of Urology, 128:1233.
- 23.- Chan, R.; "THE INFLUENCE OF GROWTH MEDIA ON THE MORPHOLOGY AND IN VITRO ADHERENCE CHARACTERISTICS OF -- GRAM-NEGATIVE URINARY PATHOGENS". The Journal of Urology 1983 129: 411-417.
- 24.- Quiroz, F.; "ANATOMIA HUMANA". Ed. Porrúa, México -- 1979 218-264.
- 25.- Choong, H. y colaboradores; "RAPID DETECTION OF IN-SIGNIFICANT BACTERIURIA BY CONCOMITANT USE OF LUMAC SYSTEM AND GRAM'S STAIN". Am. J.Clin.Path. 1985, 82 (5) 593-595.
- 26.- Wistreich, G. y colaboradores; "MICROBIOLOGY". Fourth edition. Mac. Millan Publishing Company, New York - 1989 117-122.
- 27.- Bailey, T. y colaboradores; "DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY" Fourth edition. The C.V. Mosby Company, Saint. Louis 1984: 70-75.
- 28.- Hoepflich, B. y colaboradores; "CULTURE OF THE URINE" J.Lab. Clin.Med. 1960, 56: 899-907.
- 29.- Pryles, J. y colaboradores; "THE DIAGNOSIS OF URINARY TRACT INFECTION". Pediatrics 1980, 20: 441-451.
- 30.- Lundberg, G.; "REVIEW OF URINE MICROSCOPY FOR BACTERIURIA". JAMA 1986, 255 (24): 3397-3403.
- 31.- Lynn, E. y colaboradores; "STREPTOCOCCI AS URINARY - PATHOGENS". The LANCET 1986: 479-481.
- 32.- Koxinn, Ph. ; "BACTERIURIA: COLONIZATION OR INFECTION" JAMA 1985, 251 (13): 1878-1879.
- 33.- Russel, R.; "LA INFECCION DE VIAS URINARIAS". Bol -- Med. Hosp.Infant.Méx. 1980, 37 (5): 867-870.

- 34.- Muñoz, R.; "EMBARAZO Y ENFERMEDAD RENAL". Mundo Medico 1980. 7 (81): 29-34
- 35.- Moussali, F. y colaboradores; "REFLUJO VESICO URETRAL" Revista Mexicana de Pediatría 1982, 49 (10). 475-486
- 36.- Dos Santos, M. y colaboradores; "COMPARACION ENTRE EL ESTUDIO BACTERIOSCOPICO CUANTITATIVO Y EL UROCULTIVO PARA EL DIAGNOSTICO DE INFECCION URINARIA EN PEDIATRIA" Bol.Med.del Hosp.Infant.Mex. 1982, 39 (8) 526-529
- 37.- Corlett, R.; "INFECCION DE VIAS URINARIAS". Mundo Medico 1986, 13 (147): 59-72
- 38.- Robins. D. y colaboradores; "URINE MICROSCOPY AS AID TO DETECTION OF BACTERIURIA". The LANCET 1975; 476-478
- 39.- Grouse, L.; "NEW CONCEPTS IN GENITOURINARY TRACT INFECTIONS". JAMA 1981, 246 (18). 2019-2023
- 40.- Partlett, M.; "PREDICTIVE VALUE OF URINE CULTURE". American Society of Clinical Pathologists 1988, 79 (6) 756-757