

870127

25

29

*Universidad Autónoma de Guadalajara*

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS**



BUSQUEDA DE MICROORGANISMOS DE CRECIMIENTO LENTO  
EN HEMOCULTIVOS DESCARTADOS COMO NEGATIVOS AL  
TERMINO DEL PERIODO DE INCUBACION RUTINARIO.

**TESIS PROFESIONAL**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A

MARIA DOLORES VARGAS ZEPEDA

Asesor: Q.F.B. Ma. del Socorro Pulido G.

GUADALAJARA, JAL.

1990

**FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

|   | Page. |
|---|-------|
| 1.- INTRODUCCION.-  | 1     |
| 1.1.- Justificación y objetivo del trabajo.                         | 2     |
| 2.- GENERALIDADES.-   | 3     |
| 2.1.- Importancia del hemocultivo.                                  | 4     |
| 2.2.- Bacteremias y Septicemias.                                    | 8     |
| 2.3.- Variables que influyen en la confiabilidad de un hemocultivo. | 10    |
| 3.- MATERIAL Y METODO.  | 14    |
| 3.1.- Material.   | 15    |
| 3.2.- Procedimiento que se siguió en el estudio.                    | 18    |
| 4.- RESULTADOS.-  | 21    |
| 5.- CONCLUSIONES.-  | 23    |
| 6.- BIBLIOGRAFIA.-  | 25    |

CAPITULO 1  
INTRODUCCION

## 1.- INTRODUCCION.

### 1.1.- JUSTIFICACION Y OBJETIVO DEL TRABAJO.

El hemocultivo es uno de los procedimientos - más importantes y más decisivos en la Microbiología Clínica. Si se realiza correctamente, puede ser de gran ayuda en el diagnóstico, pero si se efectúa de manera deficiente, puede conducir a confusión y equivocaciones.

Una de las principales indicaciones para la - práctica de un hemocultivo es la presencia de fiebre, sobre todo si es persistente. Numerosas afecciones febriles se acompañan de una invasión de la sangre por bacterias, y el aislamiento del organismo tiene un gran valor diagnóstico.

El hemocultivo consiste en obtener sangre con rigurosa asepsia y cultivarla en un caldo nutritivo con el objeto de descubrir el tipo de bacteria responsable de una bacteremia o una septicemia. Es un procedimiento de extraordinaria importancia en la - práctica médica y hay que saberle utilizar e interpretar adecuadamente.

El desarrollo de esta investigación fue con - el fin de encontrar e identificar microorganismos - que crecen después del séptimo día de incubación en el medio de caldo de peptona suplementado para hemocultivo marca Vacutainer utilizado dentro del Laboratorio de diagnóstico microbiológico. Así pues mediante este trabajo se intentó detectar microorganismos de crecimiento lento en hemocultivos descartados como negativos al término del período de incubación rutinario.

**CAPITULO 2**  
**GENERALIDADES**

## 2.- GENERALIDADES.

### 2.1.- IMPORTANCIA DEL HEMOCULTIVO.

Muy diversas son las infecciones que cursan con bacteremias y cuyo diagnóstico depende fundamentalmente de demostrar el germen en la sangre.

La presencia de microorganismos vivos en la sangre del paciente, refleja casi siempre una infección activa y posiblemente diseminada en los tejidos. El pronóstico de esta bacteremia o septicemia dependerá de su pronto reconocimiento por el examen bacteriológico, que consiste en el aislamiento, identificación y características de sensibilidad antimicrobiana del agente etiológico.

En ocasiones, la metodología necesaria para este proceso emplea algunos días, en tanto que se requiere del pronto inicio de la terapéutica correspondiente. El éxito de este procedimiento depende del estado de la enfermedad en que se lleve a cabo.

En el organismo hay mecanismos muy eficientes que preservan la esterilidad sanguínea; en condiciones normales, el sistema fagocítico mononuclear se encarga de eliminar los microorganismos que alcanzan la sangre, siempre y cuando su número no sea demasiado alto.

De hecho es más fácil producir una enfermedad experimental inoculando microorganismos patógenos por otras vías diferentes de la endovenosa. sin embargo en la sangre pueden encontrarse algunos microorganismos como Streptococcus viridans, Streptococcus pyogenes, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis, Brucella sp., Proteus-Providencia, Pseudomona aeruginosa, enterococos, Streptococcus anaerobius, Salmonella sp., Streptobacillus moniliformis, Escherichia, Citrobacter, Klebsiella (3).

La mayoría de las bacterias desarrollan en el transcurso de los primeros días de incubación en el hemocultivo, pero sin embargo existen algunas otras que requieren más tiempo de lo acostumbrado para su desarrollo; entre ellas podemos mencionar a las siguientes:

Género Brucella.- Es un parásito obligado caracterizado por su existencia intracelular y capaz de invadir los tejidos, causando fiebre ondulante en el ser humano. Se establece el diagnóstico definitivo de brucelosis por el aislamiento e identificación del microorganismo en muestras clínicas.

La sangre es el material que con mayor frecuencia resulta positivo en los cultivos, sobre todo si se extrae durante el período febril de la enfermedad. Para su estudio se recomiendan cultivos de sangre recogidas en muestras múltiples. Se pueden recuperar en ocasiones las brucelas de cultivos de médula ósea, biopsias de ganglios linfáticos y otros tejidos

Es una bacteria con forma de bastoncillo o cocos, gramnegativos, inmóviles, aerobias y crecen a 35° C. Las tres especies principales (B. abortus, B. suis, B. melitensis) reducen los nitritos, son catalasa positiva no licuan la gelatina ni producen indol y dan reacciones de rojo de metilo y de Voges-Proskauer negativas, la urea la hidrolizan rápidamente - la B. suis, pero no la B. melitensis y la B. abortus o muy lentamente. Se pueden diferenciar la B. abortus y la B. suis por la reacción de aglutinación -- utilizando antisueros monoespecíficos absorbidos. -- Los hemocultivos en los que se busca brucelas deben mantenerse durante 21 días por lo menos antes de desecharlos como negativos.

Campylobacter jejuni- Hay evidencias de que tanto los alimentos como el agua constituyen un vehículo importante para la infección. La transmisión



al ser humano es por cachorros infectados y también por gatos y pájaros domésticos. En la actualidad el C. jejuni es la causa principal de diarreas en niños y adultos.

Como no existen características clínicas para diferenciar la infección humana, salvo la fiebre, signos de sepsis y disenteria, el diagnóstico definitivo dependerá del aislamiento e identificación del C. jejuni en la sangre u otras partes del organismo.

El C. jejuni se aísla fácilmente de la sangre cultivada con las mismas técnicas que se emplean en caso de sospecha de brucelosis. Son bastoncillos -- curvos en espiral, rígidos, tienen un movimiento en tirabuzón, por medio de flagelos polares. Las formas patógenas aceptan fácilmente la coloración de anilina (son gramnegativos), Giemsa o de Wright.

Las colonias de C. jejuni no son hemolíticas, pueden ser planas y grises con borde irregular, o -- elevadas y redondas con aspecto mucoso, con diámetro de 1 a 2 mm; algunas cepas pueden tener un color cobrizo o ligeramente rosado. La identificación presuntiva se basa en la morfología típica de las formas curvas, en forma de S ó de espiral alargada -- presentan reacciones de oxidasa y catalasa positivas.

Francisella tularensis.- Es el agente etiológico de la tularemia, se transmite al hombre por contacto con animales infectados como el conejo, o en forma indirecta por los insectos chupadores de sangre (principalmente garrapatas). También se propaga por el agua y por vía de aerosoles.

En el cultivo, la F. tularensis se observa como un bastoncillo diminuto, muy pleomórfico, inmóvil, gramnegativo, con capsula que se produce "in vivo" -- La F. tularensis requiere de medios enriquecidos, como el agar con sangre-cistina-glucosa. En este medio se forman después de dos a tres días de incubación a 35° C, colonias diminutas, transparentes, a gotas, mucoides y muy emulsionables.

El microorganismo puede crecer también en agar chocolate, y otros medios, como los caldos enriquecidos; las colonias necesitan a veces hasta 10 ó 14 días para desarrollarse. Es un anaerobio obligado y crece en forma óptima a 37°C., fermenta la glucosa--maltosa y manosa sin producción de gas.

Streptobacillus moniliformis.- El hombre adquiere la infección por la mordedura de una rata, un ratón u otro roedor, aunque también puede ocasionarla la ingestión de alimentos contaminados sobre todo la leche, ocasionando una enfermedad con los siguientes síntomas: linfadenopatía regional, fiebre y malestar además de una erupción cutánea, como también poliartritis grave.

El diagnóstico definitivo de la fiebre por mordedura de rata depende de la demostración del microorganismo causal en la sangre, el exudado de las lesiones, líquido articular, etc.,. En el caso del cultivo de sangre, después de unos días de incubación, el microorganismo se desarrolla en forma de "copas de algodón" sobre la superficie de la capa de eritrocitos del frasco del cultivo. Es un microorganismo grampositivo, extremadamente pleomórfico, anaerobiofacultativo, que forma cadenas irregulares de bastoncillos pequeños y finos, bastante uniformes de 2 a 4µm de longitud. Las colonias se pueden retirar por medio de una pipeta Pasteur esterilizada, tras pasándolas a medios sólidos ó a portaobjetos para el examen microscópico. Son colonias pequeñas, lisas, brillantes, de forma redondeada irregular con bordes agudos, e incoloras ó grisáceas en medios como el agar con líquido ascítico ó agar con suero.

Infecciones causadas por hongos (fungemias).- Ha aumentado considerablemente la frecuencia con que se produce la invasión de la corriente sanguínea por hongos, sobre todo por miembros del género Candida. Esta infección, que en un tiempo se consideraba un hecho raro, es actualmente una complicación frecuente

en pacientes sometidos a tratamiento con hormonas -- adrenocorticosteroideas, agentes citotóxicos, radiaciones o antibióticos. También se ha encontrado la aparición de fungemia en pacientes luego de un prolongado cateterismo venoso o por hiperalimentación parenteral como posoperatoria en trasplantes de riñón o la colocación de prótesis valvulares cardíacas.

También constituye un problema cada vez más común la endocarditis candidiásica en adictos a la heroína. Especies como la Candida parapsilosis, C. guilliermondii y Torulopsis glabrata, requieren de 1 a 2 semanas de incubación para su crecimiento.

También pueden aislarse microorganismos tales como Staphylococcus epidermidis, ciertas bacterias anaerobias o microaerofílicas y otras, a las que se les atribuye el papel de contaminantes en los hemocultivos, ya que estos microorganismos se han considerado como no patógenos o muy poco patógenos.

## 2.2.- BACTEREMIAS Y SEPTICEMIAS.

El paso de bacterias al torrente sanguíneo es un suceso común, que ocurre con suma frecuencia sin que éste signifique enfermedad en sí.

Las bacterias que alcanzan el torrente sanguíneo pueden producir ya sea una bacteremia o una septicemia; la diferencia entre éstas radica en que el término bacteremia se refiere a la simple presencia de bacterias en sangre, es decir, que los microorganismos se encuentran de paso. Se distinguen tres tipos de bacteremia:

- a).- TRANSITORIAS: Se presentan en diversas circunstancias. Una de ellas, después de comer y cepillar los dientes; también como consecuencia de la manipulación de tejidos infectados, por ejemplo: celulitis, cateterismo vesical, citoscopia y en ciertos estudios de algunas enfermedades como meningitis, artritis piógena, osteomielitis y neumonías.

- b).- **INTERMITENTES:** Se presentan casi siempre en los casos en que existe algún tipo de absceso, entre los más importantes por su frecuencia podemos citar los intraabdominales, hepáticos, pélvicos y perinefríticos.
- c).- **PERSISTENTES:** Se refiere a la presencia continua de un microorganismo en sangre. Tiene su origen en cuadros clínicos como la endocarditis bacteriana, ya sea aguda o subaguda, así como en la fiebre tifoidea y brucelosis.

En los casos de septicemia, aparecen bacterias en sangre provenientes de un sitio donde desarrollan una multiplicación activa; incluso liberando según la especie, uno o varios productos enzimáticos, los que pueden relacionarse con sus propiedades de patogenicidad. Las alteraciones que se producen dan como consecuencia la sintomatología y signología que presenta el paciente debido al daño a los diferentes tejidos y sistemas o ambos.

Existen varios factores y circunstancias que hacen que una bacteremia se convierta en septicemia. Uno de los más importantes es el estado inmune del huésped. Así tenemos que alteraciones en la inmunidad celular y humoral o simple pérdida de mecanismo de defensa como la piel al introducir un catéter, son factores que predisponen a una septicemia. Otros menos importantes pero igualmente significativos; edades extremas de la vida (recién nacidos y ancianidad) malformaciones congénitas como mielomeningocele; --- también contribuyen a la presentación de septicemias.

### 2.3.- VARIABLES QUE INFLUYEN EN LA CONFIABILIDAD DE UN HEMOCULTIVO.

Existen diversas variables que tienen una influencia decisiva para obtener un resultado confiable en la demostración de bacteremia o septicemia mediante un estudio bacteriológico. Entre estas variables podríamos citar; el procedimiento para la toma de la muestra, que ésta sea tomada en el momento oportuno -

en relación con el cuadro clínico, el volumen de sangre extraída y dilución con el medio de cultivo; medio de cultivo empleado y condiciones de incubación.

El laboratorio necesita alguna información, como es el diagnóstico presuntivo, la sensibilidad y naturaleza de la infección, tiempo y dosis de cualquier antibiótico que se esté administrando. Se considera que después de una adecuada terapéutica antibacteriana, es obligación del médico, obtener un cultivo de sangre negativo para documentar la ausencia de bacteremia.

Es importante efectuar cultivos sanguíneos de seguimiento en pacientes bacterémicos, aún cuando estén afebriles como consecuencia de la terapéutica antimicrobiana. En pacientes con shock séptico se debe iniciar inmediatamente la terapéutica.

Nunca se debe depender de un cultivo negativo aislado para eliminar la posibilidad de una bacteremia, porque la muestra aislada puede ser estéril en el momento de la toma. Para prevenir esto, se recomienda efectuar un número de tres cultivos, con muestras obtenidas a intervalos de media hora.

Los cultivos de sangre deben realizarse inmediatamente en todos los casos de shock inexplicable, sobre todo los que suceden a procedimientos efectuados en el tracto genitourinario.

Los escalofríos y fiebre en pacientes con infecciones de las vías urinarias, quemaduras infectadas o que tienen colocado un catéter de infusión intravenosa, los convierten en candidatos inmediatos para el cultivo sanguíneo. También debe extraerse sangre para el cultivo en los enfermos debilitados que presentan fiebre en el curso de una prolongada terapéutica con antibióticos, corticosteroides, drogas inmunosupresoras, antimetabolitos, o sometidos a alimentación parenteral por un largo período.

Sólo se puede hacer el diagnóstico de una bacteremia, por el crecimiento de los agentes patógenos en el medio de cultivo inoculado con cantidades adecuadas de la sangre del paciente. Este medio, para ser ideal, debe proporcionar un ambiente enriquecido para microorganismos aerobios y anaerobios, asegurando que las condiciones de incubación sean óptimas para el crecimiento bacteriano.

Por su composición, los tubos para hemocultivo de caldo peptona suplementado marca Vacutainer, tiene la capacidad de iniciar un crecimiento de los microorganismos más exigentes y difíciles a partir de inoculos pequeños. Estos tubos están envasados al vacío lo cual modifica la composición normal del aire, al dar como resultado una mezcla de  $CO_2$  con gas inerte; ésto permite tener un sistema de cultivo aerobio y anaerobio a la vez, lo cual permitirá el desarrollo de microorganismos anaerobios facultativos, tales como Streptococcus, Staphylococcus, neumococos y otros más.

Una atmósfera aeróbica con presencia de  $CO_2$ , como es requerida por ciertos géneros como Neisseria y Brucella, se obtiene fácilmente permitiendo que entre aire al frasco a través de una unidad filtradora de aire o unidad de ventilación. (ver fig. No.1)

La unidad de ventilación tiene doble propósito: primero, permitir la lenta liberación de gas producido por organismos extremadamente aerogénicos como Clostridium perfringens; la otra finalidad es proveer suficiente intercambio gaseoso para iniciar el crecimiento de organismos aerobios estrictos en la superficie, mientras que a la vez permite la incubación en atmósfera de  $CO_2$  adicional.

Otro factor que interviene en la recuperación favorable de un pequeño número de microorganismos circulares en la sangre, es el uso de un estabilizador osmótico. La sacarosa puede ejercer un efecto protector sobre los microorganismos que han sufrido-

daño en sus paredes celulares previendo los cambios de la presión osmótica; la concentración a la que se utiliza es de 10 a 20 %, teniendo como desventaja que se puede presentar hemólisis espontánea que dificultaría el examen macroscópico de los tubos de hemocultivo.

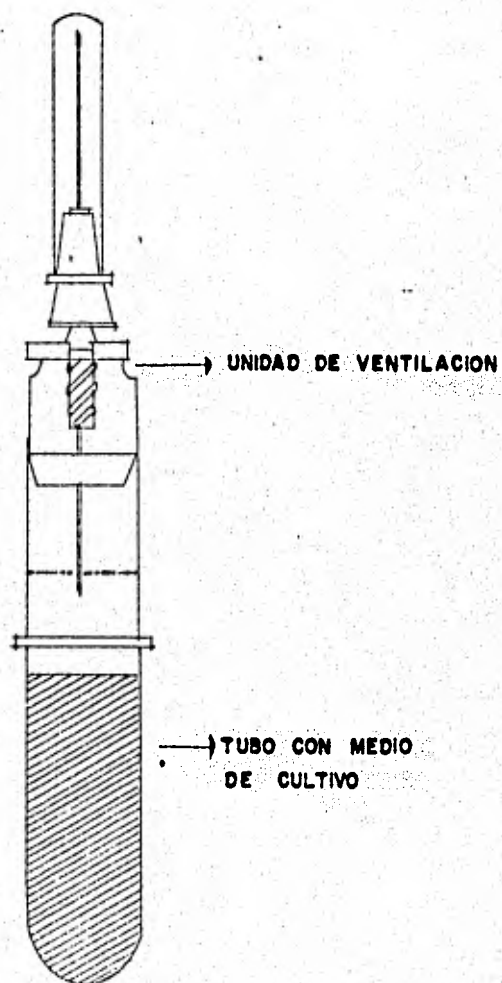


Fig. No. 1 .- Tubo para Hemocultivo con su unidad de ventilación.



C A P I T U L O 3

M A T E R I A L Y M E T O D O

### 3.- MATERIAL Y METODO.

#### 3.1.- MATERIAL.

Muestras.- Tubos de hemocultivos encontrados negativos al final del estudio microbiológico de rutina, procedentes del laboratorio de Patología Clínica del Hospital Dr. Ángel Leño ubicado en el municipio de Zapopan Jal., de los cuales, se trabajó con un total de 300 muestras para esta investigación. No se tomo en cuenta para su estudio ningún parámetro clínico.

Agar sangre.- El medio de base para agar se recomienda adicionado de sangre para emplearlo en el aislamiento y cultivo de muchos organismos fastidiosos. A la base de agar sangre esterilizada, fundida y enfriada a 45-50°C se le añade la sangre desfibrinada estéril al 5-10% y se hace rotar suavemente hasta mezclar uniformemente. El pH final del medio debe ser de 6.8 para favorecer reacciones hemolíticas precisas.

Fórmula:

- medio de agar sangre básico.
- sangre estéril.

Agar chocolate.- este medio es un agar al que se ha agregado sangre o hemoglobina y calentado hasta que el medio tome un color castaño o chocolatado; para esto es necesario fundir y esterilizar el medio de agar, dejarlo enfriar hasta 50°C, mezclarlo con sangre al 5-10% en condiciones asépticas y luego agregarle un enriquecedor.

Fórmula:

- Agar de Thayer-Martin.
- Enriquecedor IsoVitalax (BBL).
- Sangre humana o de carnero.

Agar para prueba de DNasa con verde de metilo.- Se recomienda para determinar actividad de desoxirribonucleasa de microorganismos, particularmente de Staphylococcus aureus y para el aislamiento y diferenciación de Serratia marcescens, de los organismos que no producen DNasa. A su vez se utiliza para diferenciar a éstas, de otros microorganismos con similares características, excepto la producción de DNasa.

**Fórmula:**

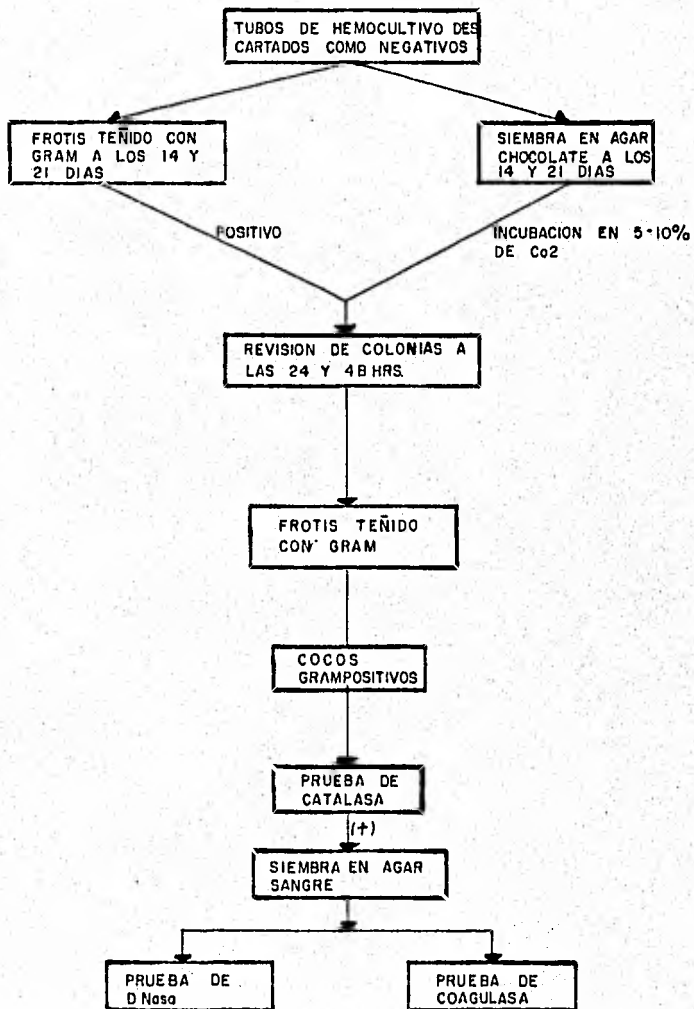
- Triptosa.
- Acido desoxirribonucleico.
- Cloruro de sodico.
- Bacto agar (agar).
- Verde de metilo.

Peróxido de hidrógeno.- Para la prueba de la catalasa.

Plasma.- Para la prueba de coagulasa.

Equipos de colorantes de Gram.

DIAGRAMA QUE ESQUEMATIZA EL PROCEDIMIENTO  
REALIZADO DURANTE EL ESTUDIO



### 3.2.- PROCEDIMIENTO QUE SE SIGUIÓ EN EL ESTUDIO.

Se fueron colectando los tubos de hemocultivo que se iban descartando como negativos al final de su período rutinario de incubación.

Para este proceso, se utilizó la técnica recomendada por la casa comercial (B-D) Sistema Vacutainer por sus tubos de caldo peptona suplementado para hemocultivo.

Dicha técnica se siguió como si se tratara de hemocultivos recién inoculados, sólo que en el presente estudio, las muestras ya llevaban siete días de incubación con sus respectivas revisiones rutinarias.

La técnica indica que los tubos se incuban a 37°C en posición vertical. Los tubos se revisan todos los días para ver sus características macroscópicas como turbidez, hemólisis, producción de gas ó formación de pequeñas colonias entre ó sobre el sedimento de eritrocitos.

Luego de la revisión macroscópica se debe hacer una mezcla por inversiones sucesivas homogenizando la sangre a través de todo el medio. Para ésto, se hace necesario retirar la unidad de ventilación hasta la línea marcada en esta misma. (ver fig. No.1)

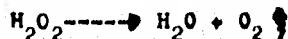
Esto se hace con el fin de evitar el reflujodel caldo a través de la aguja. Una vez mezclados se regresa la unidad de ventilación a su posición original y se continúa incubando.

Cumplidos siete días de iniciado este tipo de estudio, es decir, a los catorce días de inoculado el medio, se procedía a la revisión microscópica del cultivo, previa revisión macroscópica antes descrita. Luego de la homogenización se quitó la tapa de la aguja, se pasó por la flama 3 ó 4 veces y mediante inversión del tubo se colocó una gota del medio en un portaobjetos para hacer un frotis y otra gota en una placa de agar chocolate, después de lo cual se recolocaba la tapa en la aguja.

El frotis hecho se fijó a la flama y se tiñó - mediante la técnica de Gram. El inóculo depositado - en el agar chocolate, se distribuyó en toda la super- ficie, estriando y quemando el asa entre cada estría para obtener colonias. Estos cultivos se revisaron a las 24 y 48 hrs. de incubación en busca de desarrollo.

La revisión consistió en hacer un frotis de -- las colonias aisladas para ver la morfología bacte-- riana. Si las bacterias observadas eran cocos grampo- sitivos, se hizo la prueba que a continuación se des- cribe.

Prueba de catalasa.- La catalasa es una enzi- ma que desdobra al peróxido de hidrógeno en oxígeno- y agua de la siguiente manera:



Esta prueba se emplea comunmente para diferen- ciar Streptococcus de Staphylococcus ya que estos -- últimos son productores de la enzima; consiste en -- poner en contacto una pequeña gota de  $\text{H}_2\text{O}_2$  con una -- porción de colonia bien aislada de la bacteria a es- tudiar. La aparición de burbujas ó efervescencia por el oxígeno liberado, es indicativa de una prueba po- sitiva.

Posteriormente se sembraron las colonias en -- Agar sangre para observar su reacción hemolítica, -- mismas que se incubaron durante 24 a 48 hrs. Las co- lonias aisladas fueron sometidas a las siguientes --- pruebas:

Prueba de coagulasa.- La coagulasa es una enzi- ma con actividad semejante a la protombina, capaz de transformar el fibrinógeno en fibrina, provocando la formación de un coágulo en un sistema analítico ade- cuado.

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---

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

como consecuencia de la utilización de los factores de coagulación del plasma, de manera similar a cuando se añade trombina. El fenómeno sucede de la siguiente manera:

Plasma ----- Bacterias productoras de coagulasa → Coágulo de fibrina

Para la prueba puede utilizarse plasma fresco de conejo o humano, aunque es más recomendable utilizar un análogo comercial liofilizado, por la mayor facilidad para mantener el control de calidad.

El coágulo puede observarse a los 15-20 segundos a manera de un precipitado granular o grumos blancos. La prueba se considera negativa si después de 2-3 minutos no se ha observado coagulación del plasma.

Prueba de DNasa. - Las placas se inoculan rayando o punteando con el cultivo, haciendo una raya de 1-2 cm o con puntos de inoculación de 5 mm de diámetro aproximadamente, se incuba a 37°C durante 18-24 hrs. Se detecta la actividad de DNasa mediante la transparencia del colorante alrededor de las colonias productoras de DNasa. La fermentación de manitol se determina simultáneamente con la producción de DNasa.

Después de la revisión microscópica a los 14 días de la inoculación, continuaran haciéndose las revisiones macroscópicas diarias, hasta cumplir los 21 días, fecha a la cual se realizó otra revisión microscópica mediante el mismo procedimiento descrito.

**C A P I T U L O 4****R E S U L T A D O S**



#### 4.- RESULTADOS.

En los 300 hemocultivos estudiados, se encontraron desarrollo bacteriano en 2, de la siguiente manera:

- 1).- A los 14 días de la inoculación, se encontró 1 -- cultivo en el que creció Staphylococcus aureus, lo que viene a dar como resultado un 0.33% de cultivos con desarrollo.
- 2).- A los 21 días, se encontró otro cultivo con desarrollo bacteriano, que también correspondió a S. aureus, lo que viene a dar otro 0.33% de las muestras con desarrollo en el total de 300 muestras.

Los criterios que se tomaron en cuenta para establecer el tipo de bacterias encontradas, fueron las siguientes:

- 1.- Morfología colonial.
- 2.- Morfología bacteriana y reacción a los colorantes de Gram.
- 3.- Pruebas bioquímicas.

Teniendo así que, para concluir que una bacteria era Staphylococcus aureus, reunía los siguientes requisitos:

- 1.- Colonias amarillentas, redondas, brillantes, grandes, de 5-8mm de diámetro, convexas, cremosas, no hemolíticas.
- 2.- Cocos gram positivos agrupados en racimos.
- 3.- Catalasa positiva, coagulasa positiva, DNasa positiva.

CAPITULO 5  
CONCLUSIONES

## 5.- CONCLUSIONES.

Durante el transcurso de este estudio no se encontró evidencia de desarrollo de microorganismos de crecimiento lento, lo que nos lleva a pensar que las muestras se encontraban libres de cualquier microorganismo de este tipo. Sin embargo, se encontró otro tipo de microorganismo, Staphylococcus aureus.

Este se podría considerar como contaminante, debido al constante abrir y cerrar de los recipientes, pues su desarrollo sucede durante las primeras 24-48 horas de incubación.

Así pues, al no encontrar microorganismos de crecimiento lento, podemos concluir que el período de incubación de 7 días, establecido como rutinario para un hemocultivo en tubo con caldo peptona suplementado marca Vacutainer, resulta ser el más recomendable.

El caldo aquí utilizado es: extracto de levadura altamente nutritivo, tripticasa caseína, peptona de carne suplementada con vitaminas y aminoácidos adicionales y otras importantes sustancias como son: Polianato Sulfonato de Sodio, Bisulfito de Sodio, Ácido para amino benzoico (PABA).

Este caldo es recomendado para hemocultivo por la facilidad para el crecimiento rápido y abundante de los microorganismos. Este tipo de caldo nutritivo permite el cultivo aeróbico y anaeróbico de los microorganismos el cual es recomendable para cultivar sangre y otros líquidos del cuerpo, tales como el líquido cefalorraquídeo pleural y sinovial.

La técnica que se llevó a cabo en este tipo de cultivo, se consideraba tanto la revisión tinción y las resiembras indicadas de acuerdo a la fecha con el calendario.

Durante la colecta de las muestras incubadas - por períodos de 14 días y después hasta los 21 días, se encontró que eran realmente negativas. Por tanto este tipo de cultivo es efectivamente confiable en - la detección rápida de algún tipo de infección.

Demostrándose así que este tipo de cultivo--- (MARCA VACUTAINER), es hasta el momento uno de los - procedimientos mejor utilizados para detectar y diag nosticar el tipo de infección que se éste padeciendo y ayudando al médico a dar un tratamiento temprano y adecuado.

**CAPITULO 6****BIBLIOGRAFIA**

- 1.- Koneman, E.W.: Diagnóstico microbiológico, Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1933, pags. 22, -- 127, 130-144, 262-263, 291-299. 300-310, 413-416.
- 2.- Davidsohn, I., Henry, J.B.: Diagnóstico clínico por el laboratorio, Barcelona España, Editorial Salvat, 1933, pags. 980-982, 934-936, 1000.
- 3.- Lynch, M.J., Stanley, S.R., Mellor, L.D.: Método de laboratorio, México, Nueva editorial Interamericana, 1972, pags. 913-917, 977-979.
- 4.- Bojalil, L.F. Rodrigues, M. Santoscoy, G., Martinez, J.S.: Microbiología Médica tomo I, México: Nueva editorial Interamericana, 1972, pags. 416-417.
- 5.- Carpenter, P.L.: Microbiología, México: Nueva editorial Interamericana, S.A. de C.V., 1979, pags. 130-- 133.
- 6.- Bailey, P., Scott, M.: Diagnostico Microbiológico, - Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1983, - pags. 275, 295-236, 293-293, 307-308, 375-378, 592, - 614.
- 7.- Hawkins, B.L., Peterson, E.M., De la Maza, L.M.: Rapid detection of positive Blood cultures, Journal of clinical microbiology, vol. 18, no. 3, sept. 1933, 716-718.
- 8.- Gorini, L. y Kaufman: The role of the microbiological laboratory in the management of bacterial -- infections, H. Science (N.Y.), vol. 131, 1960. 604-605.
- 9.- Kocka, F.E., Morello, J.A.: Rapid Detection and -- identification of enteric bacteria from blood -- cultures, The Journal of clinical Microbiology, -- vol. 131 no. 4, April 1975, pgs. 456-458.
- 10.- Holly, S.S., Washington, A.: Optimal time for Routine Early Subculture of blood cultures, Journal of clinical microbiology, vol. 12, no. 3, sept. 1930, pags. 445-446.

- 11.- Cruz Gonzalez, R., Arredondo, G.L.: Hemocultivo - y Septicemia, Infectología, año IV, Num. 5, mayo --- (1984), 119-126.
- 12.- Giono, C.S.: Sensibilidad a los antimicrobianos de bacterias aisladas a partir de hemocultivos, - Infectología, Año IV, Num. 6, Junio (1984). Pag. 153--- 163.
- 13.- Todd, J.K., Roe, M.: Rapid detection of bacteremia by and early subculture technic, The Journal of - clinical Microbiology, Vol. 64, Nov. 1975, pags. 694- 699.