

870127

# UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



FALLA DE ORIGEN

*Plesiomonas, Pseudomonas y Acinetobacter  
como causantes de problemas  
gastrointestinales en niños de edad escolar.*

## TESIS PROFESIONAL

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

Ma. de Jesús Bejarano Uzeta

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

Guadalajara, Jal.

Marzo 1991



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

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

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

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

# I N D I C E

INTRODUCCION	1
CAPITULO I MICROBIOLCGIA DEL APARATO DIGESTIVO.	6
1.1 Generalidades.	6
1.2 Metabolismo Energetico Bacteriano.	7
1.3 Metabolismo Energetico de los Bacilos Gram negativos no fermentadores.	9
CAPITULO II CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS DIARREAS.	10
2.1 Generalidades.	10
2.2 Enfermedades Diarréicas.	10
2.3 Papel de los Agentes Infecciosos en la Etiología de las Diarreas.	14
CAPITULO III BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES.	16
3.1 Generalidades.	16
3.2 Características metabólicas del grupo.	18
3.3 Familia VIBRIONACEAE	19
3.3.1 Diferenciación del género Plesiomonas y Aeromonas.	20
3.3.2 Género Plasiomonas.	21

3.3.2.1	Flasíomonas Shigelloides.	21
3.3.3	Género Aerinibas.	22
3.3.3.1	Aeromonas Hydriphila.	24
3.3.3.2	Aeromonas Shigelloides.	24
3.3.3.3	Aeromonas Salmoncida.	25
3.4	Familia PSEUDOMONADACEAE.	25
3.4.1	Género Pseudomonas.	26
3.4.1.1	Pseudomonas Aeruginosa.	28
3.4.1.2	Pseudomonas Putida.	29
3.4.1.3	Pseudomonas Mallei.	29
3.4.1.4	Pseudomonas Pseudomallei	30
3.4.1.5	Pseudomonas Alcaifgenes.	31
3.4.1.6	Pseudomonas Pseudoalcaifgenes.	32
3.4.1.7	Pseudomonas Fluorecens.	32
3.4.1.8	Pseudomonas Stuzeri.	32
3.4.1.9	Pseudomonas Cepacia.	33
3.4.1.10	Pseudomonas Acidovorans y Pseudomo nas Testosteroni.	34
3.4.1.11	Pseudomonas Maltophilia.	34
3.4.1.12	Pseudomonas Diminuta.	35
3.4.1.13	Pseudomonas Putrefaciens.	35
3.5	Familia NEISSERIACEAE.	36
3.5.1	Género Acubetibacter.	36
3.5.1.1.	Acinetobacter Calcoaceticus Var Aní tratus y Acinetobacter Valcoaceti-- cus Var Iwoffí.	37

CAPITULO IV MEDIOS DE CULTIVO PARA AISLAMIENTO E IDENTIFICACION PRIMARIA DE LOS BACILOS GRAM NEGATIVOS- NO FERMENTADORES EN MUESTRAS DE HECES FECALES.39

4.1	Generalidades.	39
4.2	Identificación presuntiva y completa de los aislamientos.	40
4.3	Medios de aislamiento primario.	40
4.3.1	Agar MacConkey.	41
4.3.2	Agar Desoxicolato Citrato.	42
4.4	Medios de Aislamiento Selectivo.	43
4.4.1	Agar Xilosa Lisina Desoxicolato.	43
4.4.2	Agar Tergitol 7.	44
4.5	Caldos de enriquecimientos.	45
4.5.1	Caldo Tetratonato.	46

CAPITULO V IDENTIFICACION BIOQUIMICA PARA BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES EN MUESTRAS DE - HECES FECALES.

		47
5.1	Agar Hierro de Kligler.	47
5.2	Descarboxilasas.	51
5.3	Agar Citrato de Simmons.	52
5.4	Medio Semisólido S.I.M.	53
5.5	RN - VP ( Caldo Rojo de Metilo - Voges Proskauer.	56
5.6	Urea de Christensen.	59
5.7	Sacarosa.	60

5.8	Sensidiscos para detectar oxidasa.	51
-----	------------------------------------	----

CAPITULO VI METODOLOGIA PARA AISLAMIENTO E IDENTIFICACION  
DE BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES DE  
MUESTRAS DE HECES FECALES. 63

6.1	Plan de Trabajo.	63
6.2	Tabla de identificación.	68

CAPITULO VII RESULTADOS.

7.1	Distribución por Grado Escolar.	71
7.2	Relación de Colonias de Bacilos Gram Negativos no Fermentadores identificadas en 266 muestras de heces fecales ( Por Género )	72
7.3	Relación de Colonias de Bacilos Gram Negativos no Fermentadores identificadas en 266 muestras de heces fecales ( Por Género y Especie ).	74
7.4	Relación de Bacilos Gram Negativos no Fermentadores como Flora Única, Flora asociada con otros bacilos Gram negativos entéricos, bacilos Gram negativos entéricos aislados como única flora, número de casos en los que no hubo desarrollo.	81

7.5	Comparación de los hallazgos de las coprobacteriologías con las copro-parasitologías.	85
7.6	Productividad en aislamientos en el primoaislamiento.	89
7.7	Productividad en aislamientos en la resiembra tras enriquecimiento en - Caldo Tetracionato.	90
	RESUMEN.	91
	CONCLUSION.	94
	BIBLIOGRAFIA.	100

DEDICATORIAS :

DEDICATORIAS.

A DIOS:

Por apoyarme espiritualmente  
a lo largo de mi carrera profesional.

A MI PADRE JESUS BEJARANO NOVOA:

Que sin su ayuda y aliento no hubiera  
podido salir adelante en mi compromiso  
para alcanzar la meta que me he fi  
jado.

A MI MADRECITA:

Tu grande sabiduría me llevó por  
el camino del bien con amorosa-  
abnegación.

A MI HERMANA NORA E. BEJARANO UZETA:

Que con su innata alegría hizo más  
placenteros mis estudios Universitarios.

Guardo en mi corazón el más  
preciado de los recuerdos:

MI MAMA CHONITA

en mis oraciones la llevo  
s i e m p r e .

A MI TIA MANUELA BEJARANO NOVOA:

Que su sencillez y profundo amor  
hacia sus semejantes cuidó todos  
los detalles para que no me fal-  
tara nada.

A MI TIO ANGEL BEJARANO NOVOA:

Mi agradecimiento por facilitarme los medios para la realización de esta Tesis.

A MIS MAESTROS:

Que hicieron la luz sobre el misterio -- destacar la silueta de la oscuridad para dar conocimiento. Gracias, Maestros... - dejaron una huella indeleble. Nunca los olvidaré.

EN ESPECIAL A:

QFB. Ma. del Socorro Pulido G.

QFB. Ma. del Refugio Soto Rizo.

QFB. Rosa Ma. Muñoz Saucedo.

Dr. J. Jaime Mendiola Gómez.

Por su cooperación al facilitarme ingreso a las instalaciones de su escuela para hacer posible la realización de esta Tesis.

A MIS COMPANEROS:

Mi recuerdo.

INTRODUCCION:

## I N T R O D U C C I O N .

Por más de dos decenios, los Bacilos Gram negativos han ocupado el primer lugar como causa de proceso patológico en sujetos comprometidos, desplazando a las bacterias gram positivas.

La causa de este fenómeno es múltiple y depende de la complejidad de la medicina moderna: uso de sustancias inmunosupresoras, agentes antimicrobianos, procedimientos quirúrgicos prolongados e instrumentación mecánica, que a su vez, condicionan el sistema inmunitario local y sistémica, al propiciar una puerta de entradas a diversos microorganismos de origen endógeno y exógeno, que pueden actuar como simples colonizadores de la lesión o como invasores de tejidos profundos o de los órganos de la economía que parece originarse después de la infección intestinal o de heridas.

El número de informes de infección general en individuos normales parece ir en aumento, pero los más frecuentes se refieren a casos de gastroenteritis.

Los Bacilos Gram negativos no fermentadores se encuentran en la naturaleza como habitantes del suelo y del --

agua y como parásitos inofensivos en las mucosas del hombre y animales. Estas bacterias pueden causar enfermedad por colonización y posterior infección de un huésped inmunodeficiente o llegando a localizaciones estériles del organismo a través de un trauma. Menos de un quinto de las bacterias Gram negativas aisladas de las muestras clínicas son bacilos no fermentadores y la especie predominante entre ellas Pseudomonas Aeruginosa. El 66% de las cepas no fermentadoras encontradas en el laboratorio Clínico de la Universidad de California en Los Angeles ( UCLA ) en 1976 fueron P. Aeruginosa, según ha sido descrito por Pickett y Pedersen. Aunque los no fermentadores constituyen un pequeño porcentaje de los aislamientos totales, en general requieren mayor esfuerzo para identificación debido a que los microbiólogos están menos familiarizados con estas bacterias, las que además requieren con frecuencia estas bacterias, las que además requieren con frecuencia pruebas especiales.

Los Bacilos Gram negativos no fermentadores aparecen actualmente como importante problema para los laboratorios clínicos, ya que es un grupo de bacterias heterogéneo y se han encontrado con dificultades para su identificación, porque frecuentemente son inertes en las bioquímicas utilizadas.

Se enfocará este estudio a la población infantil ya que están expuestos a este tipo de infecciones debido a

factores antes mencionados.

La intención de esta tesis es enfatizar la necesidad de conocer las vías bioquímicas y metabólicas básicas en la que se fundamentan las técnicas de identificación de los aislamientos clínicos de Bacilos Gram negativos no fermentadores, e ilustrar los rasgos coloniales, que representan las características destacables de importancia para los seres humanos, ya que de esto depende el éxito de la prevención o el tratamiento para evitar siguientes infecciones.

Analizar la utilidad de un estudio epidemiológico.- Un primer paso esencial en el estudio de una enfermedad particular es el describir con exactitud su ocurrencia en la población. Esta descripción requiere que la enfermedad específica puede ser conocida con razonable certeza.

Por otro lado la nueva importancia de tales infecciones provienen en parte de grandes cambios en el ambiente y modo de vida impuestos por la industrialización de la economía y la consecuente migración de gente a las ciudades, - también cabe mencionar a los turistas, un foco de infección muy importante. También se refiere al considerable incremento numérico y proporcional en los grupos de población de mayor edad, que es el resultado de la disminución de muertes tempranas por infecciones.

Para evitar esta disminución de muertes se puede lograr al establecer métodos de prevención contra estas diarreas infantiles.

Se ha preparado un resumen de los conceptos y características fundamentales de las especies bacterianas que se sometieron a estudio, lo más actual con el fin de proporcionar información, así como hacer un llamado a la conciencia de los estudiosos para hacerles ver las necesidades de la población ya que prevenir es ahorrar a la economía del país, tener una población sana dará rendimientos y tendremos un país mejor desarrollado.

" El conocimiento minucioso de los factores que intervienen en la dinámica de la transmisión es básico para el éxito de los programas ".

" El primer paso hacia el triunfo,  
es no tenerle miedo al -  
fracaso " .

## C A P I T U L O I

## MICROBIOLOGIA DEL APARATO DIGESTIVO.

## 1.1 Generalidades.

Existen microorganismos que se encuentran siempre presentes en las diversas partes del organismo y son denominadas comensales o flora residente normal, y que bajo ciertas condiciones pueden causar enfermedad.

Al nacer, el intestino es estéril, pero pronto son introducidos los microorganismos con el alimento. En niños amamantados, el intestino contiene un gran número de Estreptococos lácticos y Lactobacilos. En los niños alimentados con biberón existe una flora mixta más en el intestino y los Lactobacilos son menos prominentes. Cuando se desarrollan los hábitos alimentarios tendiendo hacia el patrón adulto, la flora intestinal cambia. La dieta tiene una influencia marcada sobre la composición relativa de la flora intestinal y fecal.

En la diarrea, el cambio bacteriano puede disminuir grandemente, mientras que en el estancamiento del líquido

do intestinal se eleva.

En el colon del adulto normal, la flora bacteriana residente consiste de 96% a 99% de anaerobios ( Bacteroides, especialmente beta-fragilis, Lactobacilos anaerobios por --- ejemplo Bifidobacterium, Clostridios ( Clostridium per fringens  $10^2 - 10^4$ /gr. y Peptoestreptococos ) y solo 1-4% de aerobios ( Coliformes, Enterococos y un pequeño número de Proteus, Pseudomonas, Lactobacilos, Candida y otros organismos).

Los microorganismos susceptibles a los medicamentos antimicrobianos empleados son reemplazados por otros resistentes a ellas, particularmente Staphilococcus sp., Enterobacter sp., Streptococcus grupo D, proteus sp., Pseudomonas sp. Clostridium difficile y Candida albicans.

## 1.2 Metabolismo Energético Bacteriano.

Para comprender mejor los resultados de los medios de cultivo para aislamiento y pruebas bioquímicas para identificación, a continuación se da una explicación somera del metabolismo energético bacteriano.

La degradación bacteriana de los hidratos de carbono tiene lugar por vías metabólicas e implica una serie de etapas en las que los iones hidrógeno son transferidos sucesivamente a compuestos de mayor potencias redox, con la li-

beración final de energía en la formación de Adenosina Tri--  
fosfato ( A.T.P. ).

La glucosa constituye para la bacteria la princi--  
pal fuente de carbono y su degradación se produce por tres -  
vías principales y son: La vía Entner-Duoderoff ( E.D. ), la  
vía Embden-Meyerhof-Parnas ( E.M.P. ) y la vía de Warbur-Dic  
kens ( Hexosamonofosfato o H.M.P. ), la conversión de la glu  
cosa es ácido pirúvico se lleva a cabo en cada una de estas  
tres vías por medio de una serie de diferentes etapas de de  
gradación.

Las bacterias utilizan una o más de estas etapas -  
de degradación.

Las bacterias utilizan una o más de estas tres ---  
vías para metabolizar la glucosa, de acuerdo con su composi  
ción enzimática y la presencia o ausencia de oxígeno.

Metabolismo fermentativo de la glucosa. La fermenta  
ción de la glucosa sigue la vía anaerobia de E.M.P. que --  
conduce a la formación de ácido pirúvico del cual derivan --  
una gran cantidad de ácidos orgánicos. Todas las enterobacte  
rias fermentan glucosa por esta vía, produciendo una fermenta  
ción ácida mixta.

### 1.3 Metabolismo energético de los Bacilos Gram negativos no-fermentadores.

Ahora nos encargaremos del estudio de la vía metabólica utilizada por la mayoría de las bacterias Gram negativas no fermentadoras, siendo ésta la vía de Entner-Doudoroff, la cual es también llamada aerobia ya que requiere oxígeno para que se lleve a cabo la glucólisis.

La glucosa en la vía de E.D. no se divide en dos triosas como en la vía de E.M.P. en lugar de ello es oxidada a 6-fosfogluconato y 2-ceto-3-desoxi-6-fosfogluconato antes de la formación de ácido pirúvico a ácido láctico y otros ácidos mixtos, las bacterias oxidativas más bien transfieren los iones  $H^+$  disponibles del ácido pirúvico al ciclo de Krebs donde finalmente se unen al oxígeno elemental para formar agua.

La diferencia en el metabolismo, promueve un criterio práctico alternativo para la identificación de bacterias oxidativas y fermentativas.

## C A P I T U L O   I I

CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS  
DIARREAS.

## 2.1 Generalidades.

Las diarreas tienen prácticamente un cuadro clínico igual, y los elementos del interrogatorio, así como la exploración física e instrumental del paciente no puede dar -- certeza en el diagnóstico etiológico a excepción hecha de -- ciertos exámenes de laboratorio que muchas veces no están -- disponibles para el médico que ejerce en hospitales.

Algunos errores en los laboratorios de rutina en -- la realización de los estudios bacteriológicos clínicos y la carencia en los hospitales de casi todas las otras pruebas -- de laboratorio para el diagnóstico de las enfermedades bacte-- rianas. El uso de los mejores procedimientos en el laborato-- rio de rutina es de gran trascendencia.

## 2.2 Enfermedades Diarréicas.

Los padecimientos diarréicos constituyen un síndro

me de etiología variable que incluye enfermedades infecciosas específicas como shigelosis, salmonelosis- amebiasis, en enfermedades causadas por bacilos gran negativos no fermentadores, protozoos, virus, helmintos, participando en forma secundaria otros factores.

En la mayor parte de América Latina, especialmente en las áreas rurales, los servicios clínicos y de laboratorio no son adecuados para identificar los agentes infecciosos causales, dado por resultado que un gran número de muertes y de casos reportados como infecciones entéricas se incluyen en el capítulo de diarreas no específicas.

Los estudios epidemiológicos de las diarreas llevan implícito el concepto de un factor infeccioso causal y relacionan infección entérica con manifestaciones clínicas, apreciándose tasas muy elevadas en los primeros años de la vida; íntimamente ligadas a la frecuencia de la diarrea están situación económica y social y grado de higiene de las comunidades.

Los datos hacen patente la gravedad del problema de salud pública que constituyen las diarreas, pero es difícil el análisis de los mismos porque a menudo la información es incompleta.

Las diarreas ocupan el segundo lugar como causa de

muerte en los menores de un año; el primero de los comprendidos entre uno y cuatro años y el segundo de los cinco a los catorce.

La situación estacionaria en la morbilidad y mortalidad por diarrea son índices indirectos de que las condiciones de vida, higiene, saneamiento, educación higiénica, estado de vivencia, carencia de agua interdomiliaria, etc. y todos los demás factores que intervienen en la producción de gastroenteritis y colitis en la mayor parte de la población no se han modificado sustancialmente.

Indirectamente a través de programas de investigación sobre etiología, fisiopatología, terapéutica, enseñanza y si sus estudios son aprovechados adecuadamente a un nivel gubernamental es posible que se logre un abatimiento de la morbilidad por diarrea, claro que sin pasar por alto que lo más importante es el mejoramiento de las clases económicamente débiles y la educación higiénica de la comunidad.

Las enfermedades diarréicas incluyen las diarreas simples y las disenterías. Están muy extendidas y se presentan en todos los lugares donde las condiciones sanitarias -- permiten la contaminación de los alimentos y del agua con -- las deyecciones humanas. El agua contaminada, la disposición insalubre de las excretas y la mosca doméstica que siempre -- han sido los medios de transmisión más importantes.

Las diarreas simples y las disenterías no tienen -- un punto exacto de separación clínica. Son causadas por diversos agentes etiológicos y se les designa en distintas partes del mundo con nombre que no hace referencia ni al agente etiológico ni al modo de reaccionar del organismo. El diagnóstico específico se hace solamente en una pequeña proporción de los casos.

La diferenciación entre diarreas simples y las disenterías depende más bien de modo de reaccionar del organismo que de la naturaleza del agente infeccioso. Se basa en la presencia o ausencia de reacción inflamatoria en la pared intestinal que se revela por las características microscópicas de la evacuación. En las diarreas simples no hay exudado celular inflamatorio en las heces. En las disenterías por lo contrario si hay inflamación y ésta se acompaña de un exudado característico característico consiste en glóbulos rojos, leucocitos polimorfonucleares y grandes células fagocitarias mononucleadas, los macrofagos.

### 2.3 Papel de los agentes infecciosos en la etiología de las Diarreas.

Son muy variables los datos de que se dispone en la literatura acerca de la distribución y frecuencia de los diferentes grupos de microorganismos productores de diarrea. En general dependiendo de distintos factores como las técnicas empleadas, la calidad de los medios de cultivo, la procedencia y edad del enfermo, la etapa clínica y severidad del padecimiento, la ausencia o presencia de tratamientos previos con agentes antimicrobianos, etc., con los recursos actuales de laboratorio, no todos ellos al alcance de la rutina diaria, se puede llegar al diagnóstico de la etiología de las enfermedades diarreicas agudas, aproximadamente en un 60% a 80% de los casos que se estudien.

De tiempo en tiempo se ha incrementado a otros grupos de bacterias, en general mal estudiadas, como responsables de cuadros diarreicos, pudiéndose mencionar entre otras, Pseudomonas, Klebsiella, Arizona, Providencia, Proteus, etc. Su importancia quizás se limite a ciertos tipos de deficiencias inmunológicas o bien, se presentan como infecciones intrarrecurrentes en el curso de enfermedades graves en las que las defensas del paciente se encuentran disminuidas. Además de casos esporádicos, difíciles de evaluar, se han descrito algunos brotes de enteritis atribuibles a estos gérmenes.

A pesar de innumerables esfuerzos encaminados a explicar el origen o etiología del enorme grupo de las enfermedades diarréicas a través de los más diversos mecanismos, el factor infeccioso continúa siendo el más importante, sin duda por su carácter contagioso. Además del papel que los microorganismos enteropatógenos clásicos Shigella sp., Salmone-lla sp., Vibrio cholerae, Entamoeba histolytica, intoxicaciones alimenticias- juegan en la etiología de las diarreas en años recientes se ha encontrado que ciertos miembros del grupo de los Rotavirus, así como Escherichiacoli enterotoxigénica tienen crédito de estos padecimientos.

Igualmente, ha sido demostrado que otros microorganismos también son capaces de producir diarreas en el hombre, en particular algunos E. Coli invasiva, ciertos Parvovirus - Vibrio parahemolyticus, Campylobacter fetus ss jejuni, Yersinia enterocolitica y Clostridium difficile. A esta larga lista se agregan otros agentes como los serotipos de Escherichia coli enteropatógena, algunos Adenovirus y Coronavirus, - lo mismo que diversas bacterias posiblemente productoras de citotoxinas, Klebsiella, Enterobacter, Proteus, Pseudomonas- y más recientemente Aeromonas y Plesiomonas, cuyo papel en este grupo de padecimientos es limitado o no ha sido plenamente confirmado, y que nos ocupa en esta tesis.

Su interpretación se complica por el hecho de que estos microorganismos forman parte de la flora normal del --

hombre y de que su número en las evacuaciones se ve frecuentemente aumentado por la diarrea misma por cambios en la alimentación de antibióticos, entre otras causas.

La posibilidad de que algunos de estos microorganismos sean capaces de elaborar enterotoxinas así como su aparente habilidad para multiplicarse en el intestino delgado en condiciones patológicas especiales abren nuevos caminos que probablemente permitan aclarar su verdadero papel en las diarreas.

## C A P I T U L O   I I I

## BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES.

## 3.1 Generalidades.

Los Bacilos Gram Negativos no fermentadores no representan un grupo taxonómicamente bien definido, sino más bien comprender más de treinta especies englobadas en 7 géneros diferentes entre los que se encuentran: Pseudomonas, Acinetobacter, Aeromonas, Plesimonas, Flavobacterium, Achromobacter, Alcalígenes, Bordatella y Moraxella.

Este tipo de bacterias tiene importancia en Bacteriología Médica porque se caracterizan como patógenos oportunistas siendo los agentes causales del 15% del total de las infecciones ocasionadas por bacterias Gram negativas. Además de que pueden encontrarse como habitantes que está presente a un tiempo en varias partes de los nosocomios y presentar un elevado índice de resistencia a los antimicrobianos.

Se han realizado muchos estudios para poder identificar a este tipo de bacterias y actualmente existen diversos criterios para efectuar este fin. Los cuatro esquemas --

más importantes son los de: King Weaver, Giralddi, Pickett --  
 ( Koneman p.111 ) y el de J. Rubin ( Lennette p. 263 ).

Sin embargo, hay discrepancias desde el criterio --  
 desde el criterio para considerar a una bacteria dentro del-  
 grupo de las No fermentadoras. Kin-Weaver, consideran que --  
 los géneros que conforman este grupo sean:

Pseudomonas	Bordetella	Alcaligenes
Acinetobacter	Moraxella	Flacobacterium
Xantomonas		

Por otro lado, J. Rubin y colaboradores señalan --  
 que los géneros comprendidos en este tipo de bacterias son:

Eikenella	Agrobacterium
Acinetobacter	Pseudomonas
Alcaligenes	Flavobacterium
Achromobacter	Moraxella
Kingella	

El término no fermentador está referido a un grupo  
 de bacilos gramnegativos aerobios, no esporulados, que son -  
 incapaces de utilizar los hidratos de carbono como fuente de  
 energía o que los degradan por la vía oxidativa.

Si las bacterias gramnegativas, que no fermentan -

la glucosa constituyen aproximadamente el 15 por cien de todos los aislamientos que se efectúan en los laboratorios de microbiología clínica, alrededor de un 5 por cien no se corresponden con Pseudomonas y se incluyen en un grupo heterólogo, que aunque cuantitativamente minoritario, tiene interés por su papel en las infecciones hospitalarias y su frecuencia por la resistencia a los agentes antimicrobianos. Los datos disponibles indican que el brote moderno de gastroenteritis causado por Bacilos Gram negativos no fermentadores comenzó concomitante con el consumo sostenidamente creciente de aguas o alimentos contaminados durante los últimos dos decenios.

### 3.2 Características Metabólicas del Grupo.

Los Bacilos Gram negativos no fermentadores no son particularmente exigentes en cuanto a requerimiento para su desarrollo y son incapaces de utilizar glucosa por la vía fermentativa.

Algunas especies poseen metabolismo oxidativo y otros son "no sarrarolíticas", es decir, utilizan compuestos distintos de los hidratos de carbono como fuente de energía, como ya se ha indicado.

Todos los microbiólogos coinciden en ciertos puntos en sus esquemas básicos para diferenciar los géneros de

los Bacilos Gram negativos no fermentadores de acuerdo a sus características metabólicas:

- 1).- Utilización de glucosa.
- 2).- Movilidad.
- 3).- Actividad de citocromo oxidasa.
- 4).- Capacidad de desarrollar en agar de MacConkey.
- 5).- Morfología celular.

Estos son los cinco pasos fundamentales, además de éstos, cada microbiólogo estudioso del tema incluye otras -- pruebas más específicas, pero que éstos nos servirían para -- un estudio más profundo del microorganismo y con fines epidemiológicos, además de que un laboratorio de análisis clínico de pequeña escala no los llevaría a cabo, pues sólo interesa un estudio preliminar de un mínimo de características, a fin de identificar rápidamente las especies no fermentadoras más comunmente halladas.

### 3.3 FAMILIA VRIBRIONACEAE.

Los miembros que integran esta familia tienen mucho parecido con la familia Enterobacteriaceae, de los que -- se diferencian, entre otros caracteres suelen ser oxidasa positivos y porque son móviles gracias a que poseen flagelos -- polares.

Algunas especies de cada género son agentes etiológicos de diarreas en el ser humano.

Esta familia incluye tres géneros de importancia médica: Vibrio, Aeromonas y Plasiomonas, estos dos últimos géneros dan lugar a cuadros clínicos en diversas locaciones.

Las Vibrionaceae se encuentran en aguas dulces y - aguas de mar, siendo patógenas para los animales acuáticos.

### 3.3.1. Diferenciación de los Géneros Plesiomonas y Aeromonas.

Plesiomonas puede diferenciarse de Aeromonas, porque produce ornitina descarboxilasa y por falta de producción de DNasa. Ambos microorganismos se encuentran en la misma familia que el género Vibrio, al que se parecen en la flagelación polar y en la positividad de la prueba de oxidasa.

Plesiomonas fue identificada por Bader en 1954 dentro del género Pseudomonas, posteriormente en 1961 fue transferido por Eeing al género Aeromonas y finalmente en 1962 -- Schubert y Habs argumentaron la creación de un nuevo género, Plesiomonas, debido a que estos microorganismos, no exhibían características de Aeromonas o Vibrio.

La especie Aeromonas shigelloides ha pasado a constituir el género Plesiomonas.

### 3.3.2 Género Plesiomonas.

Es un bacilo Gram negativo no esporulado, móvil debido a la presencia de un flagelo polar, utiliza la glucosa por vía fermentativa sin producir gas, descarboxila la ornitina así como la lisina y presenta la reacción de oxidasa y catalasa positiva.

Esta puede crecer en los medios de MacConkey y SS, donde las colonias son de tamaño regular y no utilizan la lactosa. La identificación presuntiva de este género, bioquímica y filosóficamente es semejante al género Aeromonas.

Este microorganismo se encuentra formando parte de la flora normal en perros, gatos, ganado vacuno, ostras y chimpancés, además se ha encontrado en aguas de mar, dulces, negras, etc., pero en mayor frecuencia que Aeromonas hydrophila. Sin embargo es considerada como enteropatógena sospechoso en la especie humana y se la ha encontrado en casos de meningitis y bacteremia secundaria a celulitis, septicemia y gastroenteritis.

En aislamientos Plesiomonas ha sido resistente a la penicilina, ampicilina y carbecilina.

#### 3.3.2.1. Plesiomonas Shigelloides.

Se conoce una sola especie de Plesiomonas: P. shigelloides.

Plesiomonas ha sido relacionada con enfermedad gastrointestinal moderada de curación espontánea, la diarrea es acuosa no mucóide y sin sangre en la mayor parte de los casos, aunque en casos graves puede ser verdosa, esponjosa y con sangre. Se ha descrito casos posiblemente adquiridos a partir de ingestión de ostiones o del manejo de serpientes. No es posible calcular el período de incubación. La duración de la enfermedad es de uno a siete días en individuos normales pero en infantes puede ser mayor. En pacientes con enfermedad hepatobiliar o procesos malignos pueden presentarse complicaciones graves como septicemia.

### 3.3.3. Género Aeromonas.

Las células se presentan como bacilos pleomórficos Gram negativos, de tamaño mediano y lados rectos, móviles -- por flagelo polar único, de fácil cultivo, fermenta carbohidratos y muy variable reacción bioquímica entre sus especies. Son aerobios facultativos, oxidasa positivos. Sin embargo, la identificación de las Aeromonas como agentes etiológicos de diarreas es más difícil, ya que muchas cepas fermentan la lactosa y sacarosa y sus colonias pueden no ser suficientemente características en agar de MacConkey.

Aunque esta bacteria recientemente ha tenido gran atención de los bacteriólogos, su aislamiento no es nuevo -- porque en el año de 1891 se aisló de ranas y otros animales de sangre fría, un bacilo que en estos animales causaba septicemia o mal de la "pierna roja " y al cual le dieron el -- nombre de Bacillus hydrophilus fucus. Esta bacteria ha ido -- recibiendo diversos nombres tales como: Proteus hydrophilus, Proteus melanovogenes, Pseudomonas hydrophila, Flavobacte---  
rium hydrophilum, hasta que en la 8a. Edición del Manual de Bergey fue reconocida con el nombre con el que actualmente -- se le distingue.

Su habitat natural es la superficie de aguas dul-- ces y saladas, aunque no se le considera como una bacteria -- halofílica, también se han aislado a partir de la crina, los esputos, las heces y la bilis sin importancia patógena evi-- dente. Generalmente se les encuentra asociadas con heridas -- contaminadas con agua o con cuadros diarreicos.

Aeromonas no son muy exigentes en sus medios de -- crecimiento. No tienen requerimientos especiales. Crecen --- abundantemente en agar nutritivo además de crecer en agar -- sangre y también las colonias aparecen en medios selectivos-- y diferenciales como el MacConkey, medio con Eosina y Azul -- de Metileno y medio SS. Algunas cepas crecern en agar con -- Verde Brillante, y en este caso las colonias se parecen a -- las de Salmonella.

El fármaco de elección para su tratamiento es la -  
Gentamicina, pero también es sensible a Kanamicina, Colimici  
na, Tetraciclina y Cloranfenicol.

### 3.3.3.1 Aeromonas hydrophila.

Se ha aislado de una gran variedad de muestras de  
procedencia humana, como de la sangre de pacientes con fie--  
bres, exudados de heridas y úlceras, pus de osteomielitis, -  
exudados faríngeos, orina, bilis, heces de personas con en--  
fermedades diarreicas y heces normales. Se encuentran en el  
agua, alimentos, aguas de desecho y en heces de animales.

### 3.3.3.2 Aeromonas Shigelloides.

Se ha aislado de heces humanas y de animales y de  
una gran variedad de muestras humanas, como sangre y líquido  
cefalorraquídeo. Se ha encontrado asociada con Shigella en -  
personas con disenterías.

Muchas cepas producen colonias incoloras en medios  
como agar MacConkey y Desoxicolato. En estos medios las ce-  
pas que fermentan la lactosa dan colonias de color rojo a ro  
sado. Las colonias son a menudo incoloras a blancas después  
de ser incubadas por 24 horas, pero pasan a ser rosadas o in  
coloras con papilas rojas después de una incubación continú  
da.

Algunos autores han sugerido que estos microorganismos deben ser reclasificados como Plesiomonas shigelloides.

### 3.3.3.3. Aeromonas salmonicida.

Este microorganismo produce furunculosis espiloótica y bacteremia en peces, particularmente en los salmónidos. Tiene una amplia distribución geográfica en lagos o presas - de agua dulce y es importante para la industria de criaderos de peces.

Según bibliografía consultada hasta ahora no se ha aislado de procedencia humana, aunque cabe la posibilidad de que alguna vez pueda ser aislada.

Este microorganismo no crece, o tan sólo crece pobremente a 35-37°C, probablemente que no pueda aislarse de medios incubados a esta temperatura.

## 3.4 FAMILIA PSEUDOMONADACEAE.

Constituida por bacilos móviles con un flagelo polar, aerobios estrictos, son oxidasa positivos, poseen un metabolismo respiratorio donde el oxígeno es el aceptor final de electrones, aunque en algunos casos los nitratos pueden ser utilizados como aceptores.

Debido a la complejidad del Género hay múltiples - problemas taxonómicos y por consiguiente de identificación - de especies entre la familia Pseudomonadaceae, y esto a consecuencia de lo grande que es. Entre ellas se han logrado -- distinguir perfectamente 29 especies y otras 206 no defini-- das.

#### 3.4.1 Género Pseudomonas.

Las células se presentan como bacilos Gram negativos, móviles por uno o varios flagelos polares, son aerobios estrictos, metabolismo oxidativo.

Se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, su principal habitat es el suelo y el agua, de ahí - pasan a todos los seres vivos: vegetales, animales y hombre.

Algunas especies son patógenas para los vegetales- y animales. En el hombre es un microbio típico oportunista, - que causa infecciones fundamentalmente hospitalarias con una marcada gravedad y alta mortalidad, a la vez que es ~~patente~~ - su resietncia a los antibióticos y antisépticos.

GRUPO	ESPECIE
Fluorescentes	P. aeruginosa, P. fluorescens, P. Putida
Pseudomallei	P. pseudomallei, P. mallei, P. cepacia
Acidocorans	P. acidovorans, P. testosteroni.
Alcaligenes	P. alcaligenes, P. pseudoalcali- genes.
Diminuta	P. diminuta, P. vesiculares
No agrupadas	P. stutzeri, P. maltophilia, P. putrefaciens.

Lámina No. I Pseudomonas que han sido aisladas de especímenes clínicos.

### 3.4.1.1 Pseudomonas aeruginosa.

Se encuentran frecuentemente en el suelo, y está extendida por el mundo. No parece que sea el intestino humano normal su habitat principal, aunque se le aísla frecuentemente en una de cada diez muestras de heces normales. Tanto las heces cp,p la región anogenital son focos de infecciones epidémicas y de contaminación de la piel. Esta bacteria ha sido aislada incluso de antiséptico como Zephiran ( Cloruro de benzalconio ), en el jabón de hexaclorofeno, también se ha aislado de aspiradpres por agua, grifos, forceps, cepillos, termómetros orales, jeringas, instrumentos en general, del suelo, de los pisos de los hospitales, baños y cafeterías de desagüe, en general del medio ambiente hospitalario.

A pesar de que se le ha determinado su virulencia, se le considera un patógeno no oportunista rara vez se le ha aislado de una infección primaria en individuos normales.

Los pacientes de alto riesgo de sufrir una infección por Pseudomonas aeruginosa, son aquellos que son tratados con terapia inmunosupresoras, también pacientes que han sufrido quemaduras graves son colonizados, así como aquellos que tienen heridas de origen quirúrgico o heridas por traumatismos accidentales no atendidos.

Este especie de Pseudomonas es la que se encuen-

tra con mayor frecuencia del resto de la familia Pseudomonada-  
ceae y de otros bacilos Gram negativos no fermentadores.

#### 3.4.1.2 Pseudomonas pútida.

se le ha aislado de fuentes de aguas, en hospitales  
catéteres intravenosos, rara vez se le asocia a enfisema, in  
fecciones de heridas, septicemia y abscesos.

No hidroliza la gelatina, produce un pigmento: pio  
verdina por esta razón se le encuentra clasificada en el gru  
po fluorescente, no produce plocianina. Desarrolla muy bien-  
en medios como X.L.D., A.D.C., y Mac.Conckey, con frecuencia  
produce pigmentos verdosos.

#### 3.4:1.3 Pseudomonas mallei.

Es el agente etiológico del muermo. Es un bacilo pe  
queño recto, o levemente curvo que normalmente tiene los ex--  
tremos redondos y con frecuencia un contorno irregular, en -  
cultivos los bacilos pueden aparecer en pares. Los bacilos --  
son inmóviles no capsulados y no producen esporas.

Crece en medio de cultivos normales, pero su creci  
miento es pobre y lento, recuperándose por una incubación --  
prolongada de 48 horas obteniendo un crecimiento uniforme.

La característica colonial: pequeñas, redondas, -- convexas y de consistencia amorfa, pasando el tiempo de incubación a temperatura ambiente se hacen opacas con el centro de color marrón claro.

Ocasionalmente se transmite el huésped equino al hombre por contacto directo a través de erosiones en la piel o por inhalación. Es transmisible de una persona a otra. La bacteria se aísla en el hombre, de la sangre, esputo o del pus. Pseudomonas mallei es el representante de Pseudomonas -- más especializado en cuanto a parásito de animales.

#### 3.4.1.4 Pseudomonas pseudomallei.

Como una de las representantes de la familia Pseudomonadaceae tiene morfología y características de tinción-similar. En comparación con Pseudomonas mallei, Pseudomonas pseudomallei es un bacilo móvil, desarrolla a los 42°C y licua la gelatina entre otras características.

Sus características de crecimiento al igual que el bacilo del muermo, puede ser difícil de aislar de un medio de cultivo primario, aunque el crecimiento de Pseudomonas -- pseudomallei puede ser vigoroso. Las colonias pueden ser mucoides, lisas o rugosas, y la pigmentación varía de un color crema hasta un naranja brillante.

Se ha aislado del suelo y agua en las áreas endémicas. Parece que es un microorganismo que vive libremente -- en el suelo y que causa infección cuando el agua contaminada entra en contacto con abasiones de la piel. No se transmite de hombre a hombre. Puede ser aislada de esputos, orina, pus de úlceras y abscesos, o de sangre, dependiendo de la situación clínica.

Es el agente productor de la melioidosis, enfermedad de los roedores, que contaminan el suelo y el agua. Cursa en tres formas clínicas diferentes: Sobreaguda o de septicemia fatal, subaguda y crónica con la aparición de abscesos viscerocutáneos o en los huesos.

#### 3.4.1.5 Pseudomonas alcaligenes.

Es un bacilo no pigmentado y no licúa la gelatina, no hay producción de ácidos con azúcares, es monotrica.

Al igual que otras especies de esta familia se le encuentra ampliamente distribuida, se ha aislado de aguas - de charcos, piscinas, incluso en acuarios: en alimentos como leche fresca, pescado congelado, también se ha encontrado en heces de conejo, ranas y humanas. Es un patógeno oportunista que ha sido aislado de la sangre de pacientes con pirexia, - de la orina, vías respiratorias y abscesos.

#### 3.4.1.6 Pseudomonas pseudoalcaligenes.

Esta especie ni produce pigmento y no licúa la gelatina ni produce ácidos con azúcares, crece a 41°C y es móvil con un flagelo polar.

Se ha aislado de equipos terapéuticos. Ningún antibiótico por sí sólo es efectivo contra esta especie.

#### 3.4.1.7 Pseudomonas fluorescens.

Es un bacilo recto Gram negativo no fermentador -- crece entre 25 y 40°C y es monotrico. Es capaz de crecer en medio de base mineral, sin factores de crecimiento con amoníaco como única fuente de nitrógeno y de glucosa como única fuente de energía y de carbono.

Se le encuentra como un contaminante ambiental y en raras ocasiones, un patógeno oportunista para el hombre.

A esta especie se le ha aislado de heridas, esputo, líquido pleural, orina y en sangre de transfusiones.

#### 3.4.1.8. Pseudomonas stutzeri.

Posee las características de Pseudomonas, produce un pigmento intracelular amarillo, crece produciendo colo---

nias rugosas, es móvil con flegelo polar monotrico, crece -- bien en agar desoxicolato citrato a 37°C.

Se le encuentra ampliamente distribuido en el suelo y agua. Se ha hallado en estiércol, humus, paja, agua de desecho, heces, aguas estancadas, compuestos preparados para niños, y en animales.

Ha sido aislado de muestras clínicas en muchas ocasiones y de heridas, esputos, garganta y nariz, sangre, líquido cefalorraquídeo, orina, oído, genitales, ojos y en heces, aunque generalmente no se ha asociado a ninguna enfermedad. Se cree que vive como saprófito en el cuerpo humano. Es difícil asignarle un papel patógeno a este microorganismo.

#### 3.4.1.9 Pseudomonas cepacia.

Esta especie tiene dos sinónimos P. multivorans y P. kingii. Tiene amplia distribución. Es un microorganismo - patógeno oportunisto, se ha aislado principalmente en adictos a la heroína produciendo infecciones respiratorias y urinarias.

A Pseudomonas cepacia se ha relacionado con endocarditis septicemia, neumonitis, infecciones de las heridas, abscesos e infecciones del tracto urinario.

#### 3.4.1.10 Pseudomonas acidovorans y Pseudomonas testosteroni.

Estos microorganismos crecen entre los 35 y 42°C, no utilizan ningún tipo de carbohidrato. Pseudomonas acidovorans y Pseudomonas testosteroni, se han aislado de fuentes humanas como sangre, orina y tracto respiratorio, se les aisló también de anscesos y heridas, pero no se les ha atribuido ninguna significación clínica a estos aislamientos.

Un organismo llamado Comomonas se considera idéntico a Pseudomonas acidovorans y Pseudomonas testosteroni. Su nombre fue originalmente Vibrio terrigenus luego cambió a Vibrio percolans, después a Lophomonas alcalifera y finalmente Comomonas terrigena. Es un organismo del suelo que se encuentra muy raramente en material clínico, sólo se diferencia de los anteriores por ser ureasa positivo y citrato de Simmons negativo.

#### 3.4.1.11 Pseudomonas maltophilia.

Patógeno oportunista ocasional, es móvil por varios flagelos paritricos y aerobia estricto. Una prueba típica para su identificación es que todas las cepas dan negativa la reacción de la oxidasa.

Vive en estado libre, con una amplia distribución-- generalmente aislada de medio húmedo, en leche, aguas pota---

bles, aguas estancadas de ríos y en aguas de desecho. En el ser humano se ha aislado de las heces, esputos, orina, sangre, raspados orofaríngeos.

#### 3.4.1.12 Pseudomonas Dininuta.

Crece en agar MacConkey, casi todas las cepas forman un pigmento soluble.

Se han recuperado de aguas corrientes y aguas de arroyos que se utilizan para riego de cultivos. De la anatomía humana ha sido aislada de la sangre de pacientes con endocarditis, de las vías respiratorias, líquido ascítico, líquido cefalorraquídeo, orina, raspados del oído y del pus de los senis maxilares.

#### 3.4.1.13 Pseudomonas putrefaciens.

Sus requerimientos de algunas cepas de esta especie Agar Desoxicolato Citrato incubación de 48 horas aunque hay cepas que no crecen en este medio.

Bacilo con flagelo polar y conserva características propias de la familia Pseudomonadaceae.

Tiene amplia distribución geográfica. Se le encuentra en el suelo y en el agua como de desecho, corrientes, es

tancadas y saladas. Se ha aislado en leche fresca y sus derivados.

Especie responsable del deterioro de la mantequilla produce sulfhídrico cuando descompone los filetes de bacalao y da una coloración verde a la carne fresca.

Aislada de muestras clínicas de procedencia humana de cultivos de sangre, orina, heces, esputos, secreciones de heridas, abscesos, úlceras y otitis media, además de raspados faríngeos.

### 3.5 FAMILIA NEISSERIACEAE.

La familia Neisseriaceae, está compuesta por cocos y cocobacilos aerobios, con tendencia a agruparse en parejas, se dividen en cuatro géneros: Neisseria, Kingella, Acinetobacter y Moraxella.

Los géneros Acinetobacter y Moraxella, por su morfología cocobacilar y sus propiedades metabólicas se acostumbra estudiarlas entre los bacilos Gram negativos no fermentadores.

#### 3.5.1 Género Acinetobacter.

Son bacterias muy ubicuas, que forman parte de la-

flora normal de la piel y mucosas de los aparatos respiratorio, digestivo y genitourinario del hombre y animales, su papel patógeno se relaciona con su capacidad oportunista, principalmente en el medio hospitalario, y con fenómeno de selección de abusos de antibióticos y exploratorios diversos procesos infecciosos localizados, supuraciones, meningitis, septicemia, etc.

3.5.1.1 Acinetobacter calcoaceticus var. anitratus y Acinetobacter calcoaceticus var. Iwoffi.

Se reconocen dos variedades de subespecies: A. calcoaceticus var. anitratus ( corresponde a Herellea vaginalis y Bacterium anitratum ) y A. calcoaceticus var. Iwoffi ( Mima polymorpha, formas oxidasa-negativas ).

Ambas especies crecen perfectamente y se pueden recuperar en medios simples sin suplementos o enriquecimientos.

Muchas cepas de ambas variedades despiden un olor muy desagradable. Algunas cepas de variedad anitratus huelen a frutas, parecido al de manzanas peladas.

Las colonias de ambas variedades son circulares, -convexas, lisas, brillantes, viscosas de color crema o grisáceo blanquecino y opacas con bordes enteros. Se pueden encontrar cepas que son rugosas o muy mucosas lisas.

La morfología celular típica de ambas variedades - de *A. calcoaceticus* consiste en formas bacilares hinchadas, - cocoides y diplococos. Algunas cepas presentan un pleomorfis- mo extremo con filamentos alargados gruesos con zonas anchas e hinchadas.

Las dos variedades de *A. calcoaceticus*, *antitratus* y *Iwoffii* poseen muchas características comunes. Ambas son -- estrictamente aeróbicas, oxidasa negativas, inmóviles y no -- esporuladas. No producen indol, sulfhídrico ni acetona y -- tampoco desaminan la fenilalanina. No descarboxilan la lisi- na, arginina y oritina. Ambas variedades dan reacción positi- va intensa a la catalasa. Utilizan los distintos glúcidos -- oxidativamente con producción de ácido.

*A. calcoaceticus* se encuentra ampliamente distri- buído en la naturaleza y se le ha aislado de casi todas las- procedencias concebibles sobre y dentro del cuerpo humano, - incluso de las heces. Se ha aislado de especímenes como ori- na, sangre y líquido cefalorraquídeo. También se le ha encon- trado en animales, alimentos y del agua.

Sensibles a las tetraciclinas, pero no a la penici- lina y tampoco a la estreptomycinina, cualquiera de ellos sue- le ser sensible a carbenicilina, polimixina y aminoglicósii- dos.

## C A P I T U L O   I V

### MEDIOS DE CULTIVO

#### PARA AISLAMIENTO E IDENTIFICACION PRIMARIA DE LOS BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES EN MUESTRAS- DE HECEC FECALES.

##### 4.1 Generalidades.

Cuando una muestra llega al laboratorio de Micro--  
biología para ser analizada es necesario conocer su proceden-  
cia ya que así se recuerda la flora normal de la zona locali-  
zada ya sea que se encuentra normalmente, muy pocas veces o-  
ninguna y los posibles microorganismos que se recuperarían,-  
que estuvieran causando algún problema al sujeto en estudio;  
para que esto suceda es importante la elección de los medios  
de cultivo adecuados entre los diversos que existen, entre -  
estos se encuentran para elegir medios generales ricos, dife-  
renciales y selectivos y ésta será por su capacidad para ob-  
tener una recuperación del agente etiológico a considerar, y  
dependiendo de los resultados de este trabajo el mismo labo-  
ratorista elige dentro de muchas alternativas y predestina -  
la capacidad del mismo laboratorio para llegar a un diagnós-

tico definitivo.

#### 4.2 Identificación presuntiva y completa de los alimentos.

Fase preliminar para la identificación de microorganismos es la lectura del crecimiento sobre medios de aislamiento iniciales tras el primer período de incubación. Una vez observado el desarrollo o las manifestaciones que sugieran crecimiento en el interior o en la superficie de los medios de aislamiento deberán seguirse una serie de pautas estándar para iniciar la identificación presuntiva completa.

Debido a que la mayoría de las muestras enviadas al laboratorio de microbiología contienen varias especies de bacterias, mezcladas con otros microorganismos se debe utilizar un medio selectivo para aislar aquellas especies que pueden ser de importancia clínica.

Para llevar a cabo esa recuperación del agente etiológico de importancia clínica se dispone de tres tipos generales de medios.

#### 4.3 Medios de aislamiento primario.

Son sólo moderadamente inhibidores y están preparados para recuperar muchas especies diferentes de bacte---

rias dentro de un grupo amplio entre ellos se encuentran: -- Agar MacConkey y Agar Desoxicolato Citrato, utilizados en este estudio.

#### 4.2.1. Agar MacConkey.

Medio diferencial para siembra, los resultados son el aislamiento y diferenciación de bacilos Gram negativos en térucos fermentadores de lactosa y no fermentadores de lactosa.

Sus componentes inhibidores como las sales biliares y cristal violeta con una concentración relativa es importante para determinar la exacta selectividad del medio y evitar el desarrollo de bacterias Gram negativas exigentes.

Es un excelente sustrato para la detención por cultivos de organismos de Salmonella, disenterías, tifoideas y otros, en excremento y otro material infectado.

La lactosa es el único hidrato de carbono que contiene, fundamento en el cual se basa la diferenciación de este medio. Las colonias de organismos capaces de fermentar la lactosa producen una baja del pH ( menor de 6.8 ), seguido por la absorción de rojo neutro, le da una coloración roja a la colonia. También puede localizarse una zona de precipitado biliar, ésto debido a la caída del pH en el medio pro

ducido por la bacteria.

Las colonias de organismos que no fermentan lactosa permanecen incoloras y traslúcidas. Cuando crecen en proximidad de colonias coliformes, fácilmente localizables pues éstas tienen un aspecto como de transparencia de las zonas de precipitado biliar. Salmonella y otros organismos no fermentadores de lactosa pueden detectarse mediante luz traslúcida.

#### 4.3.2 Agar Desoxicolato Citrato. ( A.D.C. )

Medio altamente selectivo, su principal uso: aislamiento de patógenos entéricos, en especial de Salmonella y algunas especies de Shigella.

Debido a que el medio tiene alrededor de tres veces mayor concentración de sales biliares ( desoxicolato sódico ) que el agar de MacConkey, es muy útil para seleccionar especies de Salmonella en especímenes de heces, pues éstas inhiben considerablemente el crecimiento de coliformes y organismos Gram positivos, y los citratos sódicos y férricos retardan el desarrollo de Escherichia coli.

La lactosa es el único hidrato de carbono del medio. Por acción bacteriana se fermenta provocando una acidificación del medio alrededor de la colonia, el indicador ro-

jo neutro detecta el cambio de pH (vira a rojo) y por consiguiente provoca la precipitación de la bilis.

La reducción del citrato férrico amónico o sulfuro de fierro ocasionada por organismos que producen sulfuro de hidrógeno vienen dada por el enegrecimiento de la parte central de la colonia.

Las colonias lactosa positiva son de un color rosa rodeada de una zona de precipitado biliar, las colonias lactosa negativas son incoloras.

#### 4.4 Medios de aislamiento selectivo.

Los medios selectivos se hacen añadiendo a sus fórmulas una variedad de inhibidores, generalmente en mayor concentración que la hallada en los medios de aislamiento primario. Mediante el uso de estos medios se inhibe el crecimiento de ciertas bacterias superfluas, permitiendo el de especies de significación médica potencial.

##### 4.4.1 Agar Xilosa-Lisina-Desociolato (X.L.D.)

Es un inhibidor del desarrollo de coliformes, fue ideado para detectar *Shigella* en heces tras enriquecimiento en caldo.

Las sales biliares concentradas relativamente bajas hacen este medio menos selectivo que otros.

Puede haber producción de ácido a partir de tres hidratos de carbono y el rojo fenol es el indicador de pH. Los organismos lisina-positivos forman colonias iniciales -- amarillas por la utilización de Xilosa y colonias tardías -- rojas por descarboxilación de Lisina. El tiosulfato de sodio es una fuente de azufre y el gas sulfhídrico se detecta mediante el citrato amónico férrico (relativamente sensible).

La utilización de este medio es muy amplia porque -- permite detectar una variedad de características bioquímicas que ayudan a la identificación preliminar de especies.

Las bacterias que no utilizan estos hidratos de -- carbono no forman colonias incoloras.

#### 4.4.2 Agar Tergitol 7 ( T7 )

Es un medio selectivo para la enumeración e identificación de miembros del grupo coliforme. Inhibe la flora -- acompañante indeseable e impide la proliferación de Proteus.

La adición de cloruro trifenetetrazólico ( TTC ) -- al medio de Champan permite la confirmación de Escherichia coli después de 10 horas de incubación, y también proporcio-

na excelentes resultados en el cultivo de Candida y otros -- hongos.

E. Coli produce colonias amarillas rodeadas de zonas amarillas por la producción de ácidos por la degradación de lactosa manifestándose por el viraje del indicador azul - de bromotimol.

Salmonella y Shigella y otros organismos no fermentadores de lactosa producen colonias rodeadas normalmente de zonas azules, en este medio.

Proteus y otros organismos tienen poca tendencia a formar colonias extendidas.

#### 4.5 Caldos de enriquecimiento.

Su uso para acrecentar el desarrollo de ciertas -- especies bacterianas, inhibiendo el de los microorganismos - superfluos. Los caldos de enriquecimiento se utilizan más comúnmente en los laboratorios clínicos para el aislamiento de Salmonella y Shigella de muestras fecales.

Los caldos de enriquecimiento actúan sobre la base del principio de que la flora entérica normal es mantenida - en la fase de retardo del crecimiento bacteriano.

#### 4.5.1 Caldo Tetrationato.

Es más inhibitor del desarrollo de E. coli y otros bacilos Gram negativos entéricos. Por ende, está mejor adaptado al aislamiento de especies de Salmonella o Shigella de muestras fuertemente contaminadas, tales como heces o aguas de desecho, en los que puede ser aconsejable un inóculo abundante.

Para reforzar la acción inhibitora del medio se -- añaden por cada litro de caldo base 20 ml. de una solución -- que contienen 6 grs. de iodo y 5 grs. de ioduro de potasio. -- La adición de verde brillante al caldo es opcional pero lo -- hace más inhibitor del desarrollo de coliformes.

Se eligieron medios de cultivo para el presente estudio, porque inhiben el desarrollo de casi todas las especies de organismos Gram negativos exigentes y nos interesa -- recuperar los bacilos Gram negativos no fermentadores sin tener problemas de un crecimiento masivo de bacilos no deseados que nos enmascaren el cultivo de los microorganismos en estudio, además por sus propiedades inhibitoras e indicadoras tienen la capacidad de diferenciar las especies bacterianas que no utilizan la lactosa para su posterior identificación bioquímica.

## C A P I T U L O V

IDENTIFICACION BIOQUIMICA  
PARA BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERNENTADORES  
EN MUESTRAS DE HECES FECALES.

## 5.1 Agar Hierro de Kligler ( K.I.A. )

Se utiliza para la identificación de bacilos Gram-negativos basada en la fermentación de la glucosa y la lactosa, y en la producción de sulfuro de hidrógeno. Diferencia entre los organismos que fermentan los carbohidratos ( glucosa y lactosa ) de los que no tienen ninguna acción o de los que llevan a cabo un metabolismo oxidativo.

Se prepara el medio con rojo de fenol como indicador de la producción de ácido, además, sulfato ferroso como indicador de la producción de sulfuro de hidrógeno por la bacteria. Esta combinación de ingredientes proporciona reacciones sensibles, distintas y bien definidas.

Para obtener reacciones diferenciales de cultivo es necesario que la bacteria a identificar provenga de una colonia aislada ( no contaminada ), se recomienda tomar de -

los medios de aislamiento, la colonia más alejada de la zona del inóculo y que se encuentre sobre la zona de la estría, - así evitamos arrastrar colonias no deseadas y obtener resultados equivocados de la identificación final.

Se han ideado varias fórmulas como base de medios- ( caldos o agares ) para detectar propiedades fermentadoras- de carbohidratos de las bacterias, la elección depende en -- gran parte de la preferencia personal.

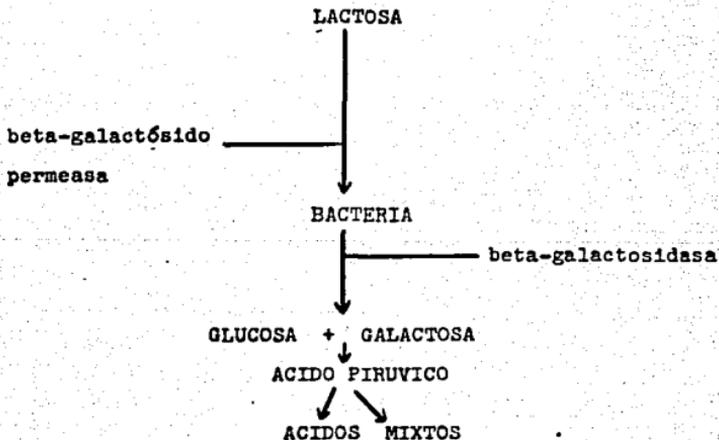
El agar hierro de Kligler ( K.I.A. ) y el agar tri- ple azúcar hierro ( T.S.I. ) son virtualmente indispensables para la identificación de bacilos Gram negativos recuperados en medios de aislamiento primario.

Las siguientes observaciones son importantes en el estudio de la fórmula de KIA. La incorporación de cuatro com- puestos proteicos, extracto de carne, extracto de levadura, - peptona y preteosa peptona, hace que el KIA y el TSI sean -- muy ricos desde el punto de vista nutritivo, y la falta de - inhibidores permite el desarrollo de todas las especies bac- terianas, salvo las más exigentes.

La lactosa está presente en una concentración 10-- veces mayor que la glucosa ( la relación sacarosa/glucosa es también de 10 a 1 en el TSI ). El sulfato ferroso es el de-- tector de la producción de ácido sulfúrico por la bacteria.-

El indicador rojo de fenol es amarillo a pH de menos de 6.8. Puesto que el pH final del medio está estabilizado a 7.4, la producción de cantidades relativamente pequeñas de ácido provocan un cambio visible de color.

La lactosa es un disacárido compuesto por glucosa y galactosa unidos por un enlace galactósido, por hidrólisis se destruye esta unión dejando libres los monosacáridos (glucosa y galactosa). Para que una bacteria utilice la lactosa deben estar presentes las enzimas beta-galactósido permeasa, que permite el paso de la lactosa a través de la pared celular, y la beta-galactosidasa requerida para la hidrólisis -- una vez que el disacárido ha ingresado a la bacteria. La --- reacción ácida proviene de la degradación de la glucosa como se observa en las siguientes reacciones.



Los medios de KIA y TSI se colocan en tubos con el agar inclinado ( pico de flauta ). La porción inclinada del tubo que está expuesta al oxígeno atmosférico tiende a tornarse alcalina por la descarboxilación oxidativa de proteínas, proteosas y aminoácidos del medio. Por acción acelerada de las bacterias que desarrollan en el pico se forman aminas a partir de estos derivados proteicos, y la porción inclinada tiende a permanecer alcalina y de color rojo.

PROTEINAS + AMINOACIDOS + PROTEOSAS -----> AMINAS

$O_2$

pH 7.4 ó mayor, el indicador rojo - de fenol no vira.

En el fondo del tubo donde no hay oxígeno, la degradación proteica es mínima y se puede detectar incluso pequeñas cantidades de ácido por la aparición de un color amarillo. En ausencia de fermentación de carbohidratos, no se forman ácidos y la producción de aminas en el pico, junto con los bufferes alcalinos, hace que todo el medio aparezca de color rojo. Las bacterias que producen este tipo de reacción son conocidas como " no fermentadoras ". Un KIA o TSI negativo es una de las importantes identificaciones de que un organismo no pertenece a la familia Enterobacteriaceae.

## 5.2 Descarboxilasas.

Son un grupo de enzimas sustrato-específicas, capaces de actuar sobre la porción carboxilo ( COOH ) de los aminoácidos, con formación de aminas de reacción alcalina. Esta reacción, conocida como descarboxilación, produce dióxido de carbono como producto secundario. Cada una de las descarboxilasas es específica para un aminoácido. Lisina, ornitina y arginina son los tres aminoácidos ensayados habitualmente en la identificación y producen las siguientes aminas específicas:

Lisina	-----	Cadaverina
Ornitina	-----	Putreseinina
Arginina	-----	Citrulina

Los aminoácidos ensayados en este estudio: Lisina y Ornitina.

Lisina hierro agar ( L.I.A. )

Medio sólido para la detección de lisina descarboxilasa basada en la fórmula de Falkow que incluye citrato -- amónico férrico y tiosulfato para revelar la presencia de --  $H_2S$ . Este medio es empleado en muchos laboratorios para la identificación de especies de *Salmonella* la mayoría de las -- cuales son  $H_2S$  y lisina descarboxilasa positivas. El LIA tiene ventajas de que las especies de *Proteus* y *Providencia* que

desaminan más bien que descarboxilan los aminoácidos, se pueden detectar por un color rojo en el pico del tubo.

aminoácidos descarboxilasa aminas + CO<sub>2</sub>  
reacción alcalina

azul purpúreo = pH alcalino

indicador púrpura de bromocresol

Medio semisólido M.I.O.

Se inocula un tubo con medio semisólido MIO, por picadura. Se incuba a 37°C durante 24 horas. Después de observar la descarboxilación de la ornitina y motilidad se lee la producción del indol.

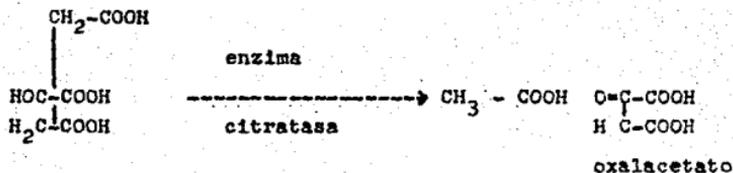
Cuando aparece un color morado en el fondo del tubo, la prueba es positiva para ornitina.

5'3 Agar Citrato Simmons.

Se recomienda para la diferenciación de bacterias Gram negativas en base a la utilización del citrato como única fuente de Carbono.

El citrato de sodio es una sal de ácido cítrico, uno de los metabolitos que forman parte del ciclo de Krebs.

Algunas bacterias pueden obtener energía por vías distintas a la fermentación de carbohidratos. La utilización del citrato por una bacteria se detecta mediante la formación de productos alcalinos, el medio de cultivo Agar Citrato de Simmons incluye: Citrato de sodio y fosfato de amonio como única fuente de nitrógeno. Las bacterias que pueden utilizar el citrato también pueden extraer nitrógeno de la sal de amonio, con producción de amoníaco, llevando a la alcalinización del medio por conversión del  $\text{NH}_3$  en hidróxido de amonio. El azul de bromotimol es el indicador presente en este medio de cultivo, que tiene un viraje a amarillo a pH menor de 6.0 y a azul a pH mayor de 7.6. Los microorganismos que fermentan el citrato inician el proceso con la siguiente reacción empleando la enzima citratasa:



El oxalacetato puede entonces ser fermentado. Algunas moléculas son entonces oxidadas vía piruvato y otras son reducidas a fumarato.

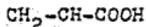
#### 5.4 Medio semisólido S.I.M'

Movilidad

La movilidad bacteriana es una característica importante en la identificación final de una especie. Los medios para determinar si es móvil o no contiene concentraciones de agar al 4% o menos, a mayor concentración del gel es demasiado firme e impide la libre diseminación del organismo. Los medios combinados como el sulfuro-indol-movilidad ( S.I.M. ) o el medio movilidad - indol - ornitina ( M.I.C. ) han hallado amplitud en la aplicación de sus pruebas, pues ofrecen poder medir más de una característica en un mismo tubo, se debe determinar antes de añadir algún reactivo la movilidad, pues al agregar estos en el tubo podría ocasionar una interpretación errónea y causar un resultado falso en la identificación de la bacteria en estudio.

### Indol

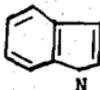
Es uno de los productos del metabolismo del aminoácido triptofano, las bacterias al poseer la enzima triptofanasa degradan el aminoácido con producción de indol, ácido pirúvico y amoníaco. El indol se puede detectar en un medio apropiado observando el desarrollo de un color rojo, luego de añadir un reactivo que contiene para dimetilaminibenzaldehído ( Reactivo de Erlich o Kovacs ).



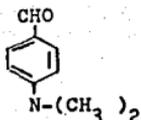
H<sub>2</sub>O desaminación

N  
Triptofano

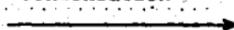
N  
Indol



Indol

p-dimetilamino  
benzaldehído

condensación

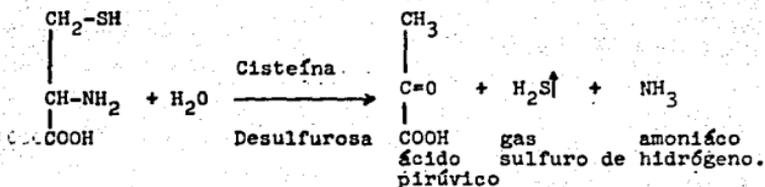
COLOR ROJO  
VIOLETA

Producción de sulfuro de hidrógeno.

La capacidad de ciertas bacterias para liberar --- azufre de los aminoácidos y de otros compuestos que los contienen, en la forma de gas de sulfuro de hidrógeno, constituye una característica importante para su identificación y -- puede ser detectado si el medio cumple con las siguientes -- condiciones:

- 1) Que el medio de cultivo contenga una fuente de azufre. Diversos complejos proteícos contienen cantidades suficientes de aminoácidos azufrados y se puede añadir al medio tiosulfato como fuente adicional de azufre.
- 2) Que el medio contenga un indicador para sulfuro de hidrógeno. Los que pudiéramos citar serían - los siguientes: Sulfuro ferroso, citrato férrico, sulfato o citrato férrico amónico, etc.

- 3) Que el medio de cultivo promueva el desarrollo de bacterias.
- 4) Que las bacterias posean sistemas enzimáticos capaces de producir sulfuro de hidrógeno.



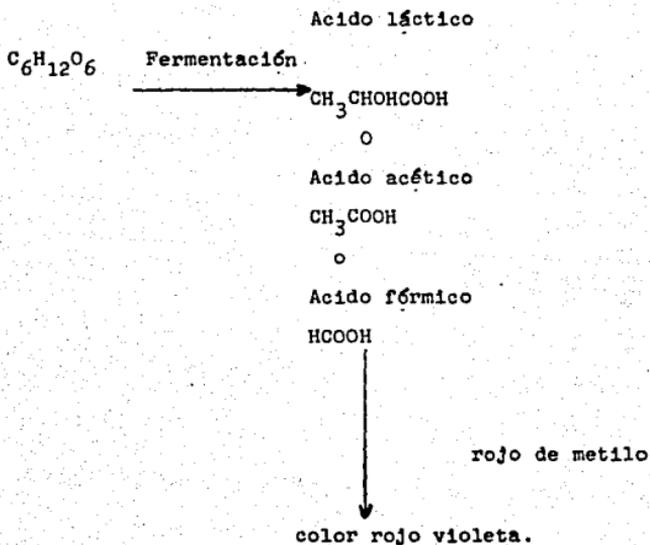
5.5 R.M.- V.P. ( Caldo Rojo de metilo - Voges Proskauer ).

Rojo de metilo.

El medio está formado por un indicador de pH con un intervalo entre 6.0 y 4.4 el pH al cual el rojo de metilo detecta la producción de ácido, es considerablemente menor que otros indicadores utilizados en medios de cultivo bacteriológicos. El medio más comúnmente utilizado es el caldo Rojo de Metilo- Voges Proskauer ( RM - VP ) conteniendo dicho medio - glucosa como sustrato hidrocarbonado.

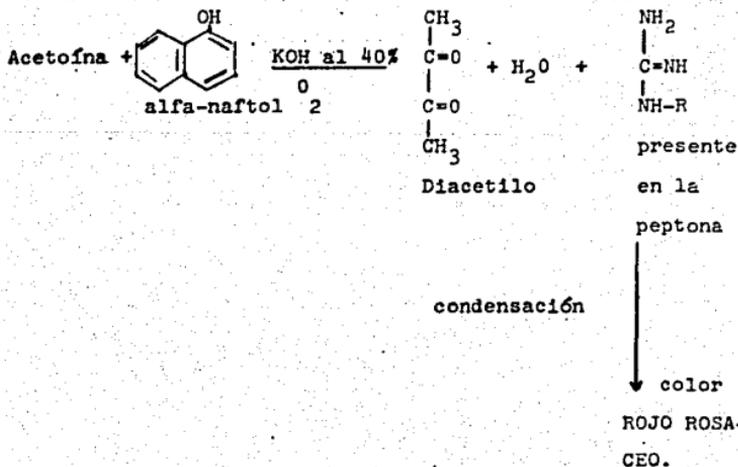
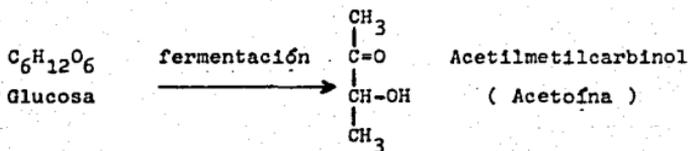
La concentración de hidrogeniones depende de la relación gaseosa (  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2$  ), que a su vez es un índice de los diferentes ciclos del metabolismo de la glucosa que mues

tran diversos organismos. Es decir, se pone de manifiesto la producción de ácido y requiere de bacterias que lo formen a partir de Glucosa, por la vía de fermentación ácida mixta.



## Voges - Proskauer

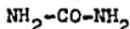
La reacción se basa en la detección de Acetilmetilcarbinol ( Acetoína ), un producto final neutro derivado del metabolismo de la Glucosa. Esta es metabolizada en ácido pirúvico, una bacteria puede seguir muchas vías. La producción de Acetoína es una de las vías para la degradación de la glucosa en las bacterias, que en presencia de oxígeno y de hidrógeno de potasio al 40% se convierte en diacetilo, y el alfa-naftol actúa como catalizador para revelar un complejo de color rojo rosáceo.



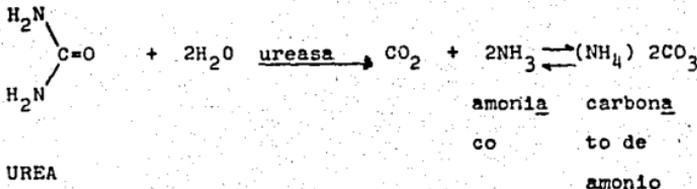
## 5.6 Urea de Christensen

Christensen creó el medio de agar con urea en el que incluyó peptona y dextrosa y redujo el contenido de tampón. Su medio soportaba un crecimiento más enérgico de un gran número de bacilos entéricos Gram negativos y permitía observar fácilmente la producción de ureasa por Proteus y miembros de los grupos intermedios de paracolon y aerobacter paracolon.

La urea es una amida de ácido carbónico con fórmula:

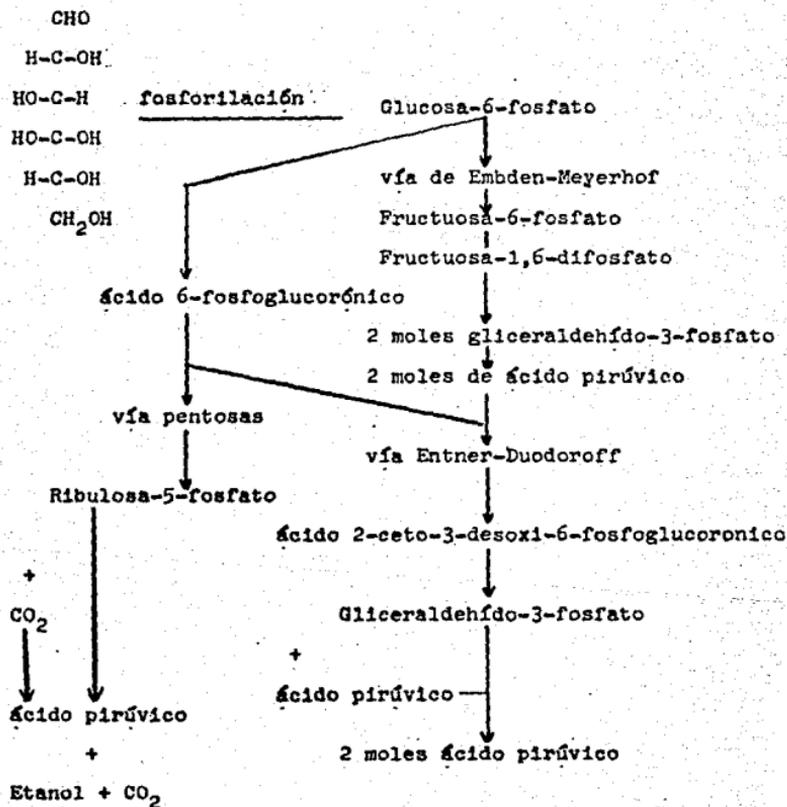


todas las amidas son fácilmente hidrolizadas con la liberación de amoníaco y dióxido de carbono. El amoníaco producido da reacción alcalina al medio, lo cual se demuestra por un cambio del medio de amarillo paja a rojo púrpura,



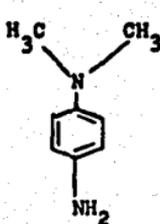
## 5.7 Sacarosa

Para estas pruebas de fermentación de carbohidratos se emplea un medio de agar base o caldo base adicionado de un indicador ácido básico y el carbohidrato por estudiar añadiendo en proporción de 0.5 a 1%.

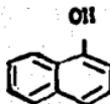




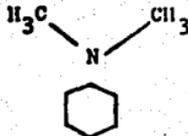
2 Citocromo C oxidasa +



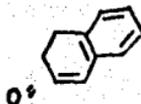
Dimetil-p-fenilendiamina



Indofenol ( azul )



N<sub>2</sub>



Se usaron sensibilizadores con diclorato de N,N,N',N'-tetrametil-p-fenilendiamina ( 160 mcg. ) y una suspensión bacteriana ( a un tubo de ensayo se le añade sol. salina estéril más una asada de cultivo bacteriano puro ), se coloca el sensibilizador en la suspensión preparada la cuál tomará un color azul si hay presencia de oxidasa ( prueba positiva ) o permanecerá sin cambio de coloración la suspensión si la prueba es negativa.

## C A P I T U L O   V I

METODOLOGIA PARA AISLAMIENTO E IDENTIFICACION  
DE BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES DE  
MUESTRAS DE HECES FECALES.

## 6.1 Plan de Trabajo.

La investigación se realizó en época de primavera-verano de 1989. El material humano y la recolección de heces se obtuvo a través de una Escuela Primaria Federal, ubicada en el Sector Libertad, de la ciudad de Guadalajara, Jalisco, clasificando las muestras en estudio de acuerdo a su grado de escolaridad.

La secuencia bacteriológica se realizó en el laboratorio de Microbiología del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Guadalajara.

A cada grupo se le suministró material consistente en:

- a) Frasco estéril para recolectar la muestra y llevarla al laboratorio donde posteriormente se le

dió el proceso de investigación bacteriológica a seguir.

- b) Machotes de sumarios, los cuales incluían datos personales, situación económica y estudios de los padres, estado general de salud, aspectos del comportamiento humano: consumo de agua, dieta y manipulación de alimentos, eliminación de desechos humanos, higiéne personal e higiéne do miciliaria.
- c) Con dos días de anticipación se les comunicó a manera de recordatorio y estímulo, haciéndoles notar la trascendencia de esta investigación.
- d) Al mismo tiempo se le hizo un estudio coproparasitos cópico en paralelo a éste, para hacerlo más completo, como ya lo mencionamos, otra causa de diarreas es la producida por parásitos de los cuales ninguno estamos excentos de portarlos y así evaluar los resultados de los coprobacteriológicos y confrontar los resultados obtenidos con los esperados.
- e) Un reporte de los hallazgos bacteriológicos y coproparasitoscópicos en las muestras remitidas por esta Escuela, a aquellas que venían con pro

blemas; haciendo mención de que en esta época - estaba la campaña " Del niño sano " a cargo de la Secretaría de Salud Pública en el Estado, -- comprometiéndose a darles atención médica a --- quienes lo necesitaran.

Para la realización de este estudio se solicitaron 300 muestras de materia fecal de niños aparentemente sanos.

Se trasladaron las muestras al laboratorio, ahí se le etiquetó con número progresivo, se anotaron en la libreta de control y se hizo una descripción de la muestra para observar el estado en que se le recibió, como aspecto, color.

La siembra se llevó a cabo tomando una muestra representativa con hisopo estéril en los medios elegidos para este estudio de la siguiente manera:

1° Con el primer hisopado se descargaron muestras representativas de cada muestra en las cajas de agar MacConkey, XLD y ADC para el primoaislamiento y se incubaron por 24 horas, después de este período se revisaron las cajas para -- checar el desarrollo de las colonias y aquellas que tuvieran las características presuntivas de ser o no fermentador, se -- sometieron a una serie de pruebas bioquímicas elegidas para -- su identificación : Prueba de la detección de la oxidasa, --- Agar KIA, LIA Agar Citrato de Simmons, Agar semisólido de SIM

Agar semisólido MIO, caldos MR-VP, Agar Urea de Christensen y caldo Sacarosa. Todos los medios fueron incubados a 37°C - por 24 horas.

2° De un segundo hisopado se inoculó el caldo tetratationato enriquecido con una solución de iodo con yoduro de potasio más iodo, en tubos con 5 ml de caldo, se incubaron a 37°C por 24 horas, este procedimiento se realizó con el objeto de recuperar más especies no fermentadoras y comparar resultados con los dos métodos de siembra que llevamos a cabo en este estudio, pues tratamos de organizar un método más práctico de identificación en el cual no nos afecte un sobrecrecimiento de bacterias no deseables y altere nuestros resultados. Una vez que se cumplió el lapso de 24 horas; cada uno de los caldos ya sembrados se descargaron con el hisopo en cajas de Agar XLD, ADC y T7 y se incubaron a 37°C por 24 horas, posteriormente cumplido este lapso se revisaron para la identificación primaria de las colonias sospechosas y se sometieron a su identificación bioquímica en: Prueba de la detección de oxidasa, Agar KIA, agar LIA Agar Citrato de Simmons, Agar semisólido SIM, Agar semisólido MIO, caldos MR-VP. Agar Urea de Christensen y Caldo Sacarosa. Todos los medios fueron incubados a 37° por 24 horas.

Es importante que las lecturas de las pruebas bioquímicas sea hecha a las 24 horas, porque hay algunas reacciones que suelen alterarse, si la incubación llega a prolongar

se por un lapso mayor al citado anteriormente, dándonos como resultado una identificación errónea de la bacteria sospechosa.

Algunos medios de identificación bioquímica y aislamiento selectivo que se utilizaron en este estudio se sometieron a cambio porque al probarlos obtuvimos mejores resultados para los aislamientos e identificación de los bacilos-Gram positivos no fermentadores.



NOTAS:    A: Producción de ácido.  
          K: Reacción alcalina  
          N: No desarrollo.  
          -: Reacción negativa.  
          p: Reacción positiva.  
          v: Reacción variable con resultados  
              positivos o negativos.  
          v<sup>†</sup>: Reacción variable con resultados en  
              su mayoría positivos.  
          v<sup>‾</sup>: Reacción variable con resultados en su  
              mayoría negativos.  
          K/K: Reacción pico alcalino/fondo alcalino.  
          K/A: Reacción pico alcalino/fondo ácido.

C A P I T U L O   V I I

R E S U L T A D O S .

## 7.1 Distribución por Grado Escolar.

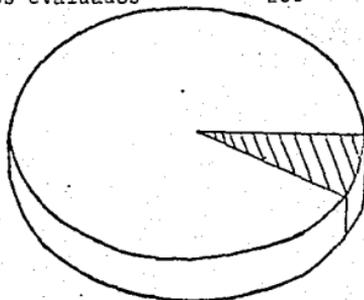
## NUMERO DE CASOS EVALUADOS.

GRADO	SIEMBRA	RESIEMBRA
1°	41	41
2°	44	44
3°	52	52
4°	36	36
5°	41	41
6°	52	52
TOTAL	266	266

A) Número de coprobacteriologías 300

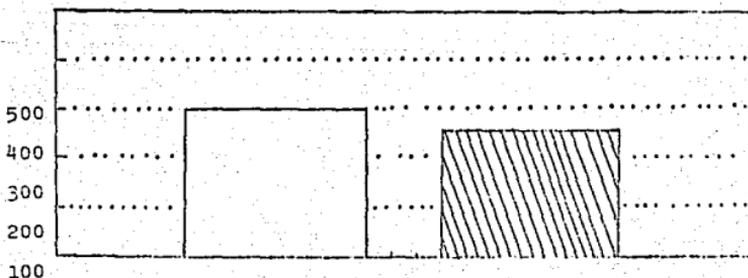
B) Número de casos evaluados 266

88.6%  
CASOS  
EVALUADOS



11.4%

NO EVALUADOS



( A )

( B )

7.2 Relación de colonias de bacilos Gram negativos no fermentadores identificadas en 266 muestras de heces fecales - de niños en edad escolar ( por género, agrupados por grado escolar ).

	<u>SIEMBRA</u>	<u>RESIEMBRA</u>
<u>1° Grado.</u>		
Plesimonas	14	6
Aeromonas	18	20
Pseudomonas	26	16
Acinetobacter	5	5
<u>2° Grado.</u>		
Plesimonas	9	7
Aeromonas	17	12
Pseudomonas	22	30
Acinetobacter	4	1
<u>3° Grado.</u>		
Plesimonas	15	19
Aeromonas	23	15
Pseudomonas	33	30
Acinetobacter	6	5
<u>4° Grado.</u>		
Plesimonas	6	9
Aeromonas	18	13

		73
Pseudomonas	14	17
Acinetobacter	2	3

5° Grado.

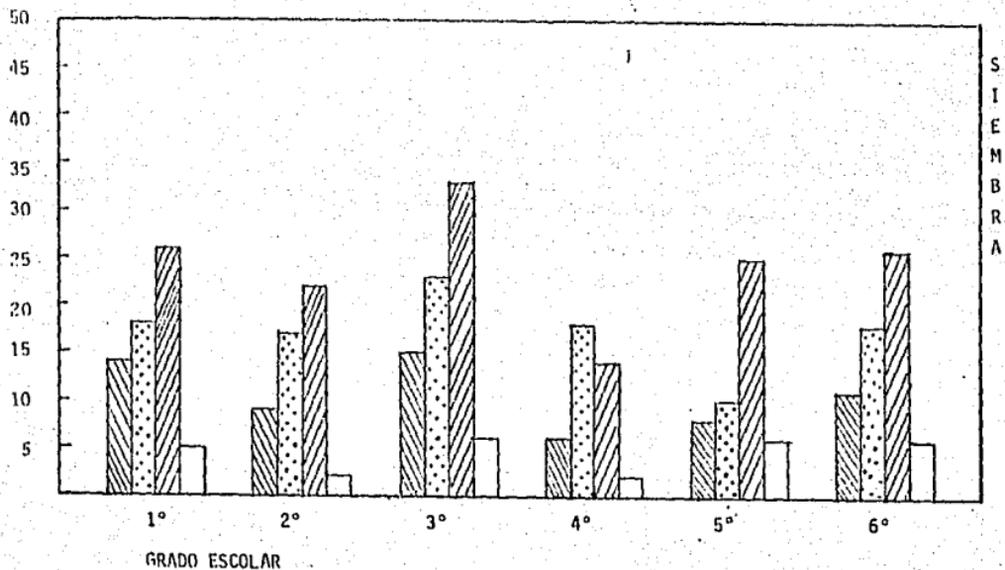
Plesimonas	8	8
Aeromonas	10	6
Pseudomonas	25	33
Acinetobacter	6	6

6° Grado.

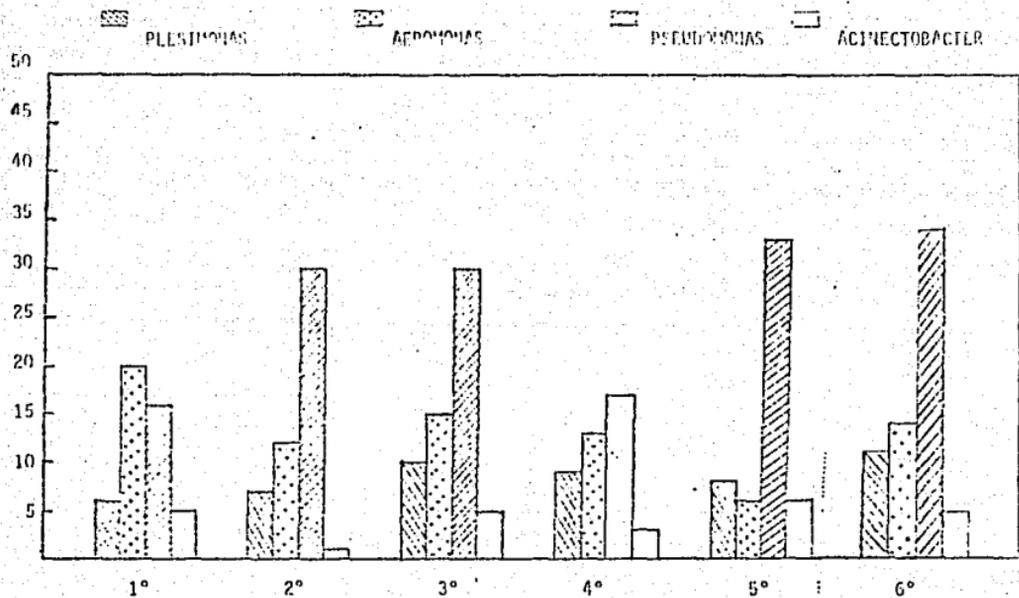
Plesimonas	11	11
Aeromonas	18	14
Pseudomonas	26	34
Acinetobacter	6	5

7.2 NÚMERO DE BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES AISLADOS POR GÉNERO

PLESIOMONAS     
  AEROMONAS     
  PSEUDOMONAS     
  ACINETOBACTER



7.2. NÚMERO DE BACIOS POSITIVOS EN FERMENTACIONES AISLADOS POR GÉNERO



7.3 Relación de colonias de Bacilos Gram negativos no fermentadores identificadas en 266 muestras de heces fecales de niños en edad escolar (por género y especie, agrupados por grado de escolaridad ),

	<u>SIEMBRA</u>	<u>RESIEMBRA</u>
<u>1° GRADO.</u>		
Plesiomonas:		
shigelloides	14	6
Aeromonas:		
hydrophila	10	12
shigelloides	8	8
Pseudomonas:		
aeruginosa	10	8
putida	2	2
cepacia	ND	ND
maltophila	3	ND
pseudomallei	ND	1
putrefaciens	6	4
acidovarans	ND	ND
stutzeri	1	ND
alcaligenes	3	ND
fluorecens	1	ND
mallei	ND	1

## Acinetobacter:

calcoaceticus var anitratus	5	5
calcoaceticus var lwoffii	ND	ND
No desarrollaron	28	12

2º GRADO.

## Fleisomonas:

shigelloides	9	7
--------------	---	---

## Aeromonas:

hydrophila	12	7
shigelloides	5	5

## Pseudomonas.

aeruginosa	17	22
putida	2	1
cepacia	ND	2
maltophilia	ND	ND
pseudomallei	ND	ND
putrefaciens	1	2
acidovarans	ND	ND
stutzeri	1	2
alcaligenes	ND	ND
flourecens	ND	ND
mallei	1	1

## Acinetobacter:

calcoaceticus var anitratus	2	ND
calcoaceticus var lwoffii	2	1
No desarrollaron	25	24

3° GRADO.

## Plesiomonas:

shigelloides	15	11
--------------	----	----

## Aeromonas:

hydropila	8	5
shigelloides	15	10

## Pseudomonas:

aeruginosa	19	18
putida	2	2
cepacia	3	2
matophilia	5	7
pseudomallei	ND	ND
acidovorans	1	ND
putrefaciens	3	1
stutzeri	ND	ND
alcaligenes	ND	ND
fluorecens	ND	ND
mallei	ND	ND

## Acinetobacter:

calcoaceticus var anitratus	2	1
calcoaceticus var lwoddi	4	4
No desarrollaron	24	21

4º GRADO.

## Plesiomonas:

shigelloides	6	9
--------------	---	---

## Aeromonas:

hydrophila	8	9
shigelloides	10	4

## Pseudomonas:

aeruginosa	9	14
putida	1	ND
cepacia	ND	ND
maltophilia	4	3
pseudomallei	ND	ND
putrefaciens	ND	ND
stutzeri	ND	ND
alcaligenes	ND	ND
mallei	ND	ND

## Acinetobacter:

calcoaceticus var anitratus	1	1
-----------------------------	---	---

calzoaceticus var lwoffii	1	2
---------------------------	---	---

No desarrollaron	17	9
------------------	----	---

5° GRADO.

Plesimonas:

shigelloides	8	8
--------------	---	---

Aeromonas:

hydrophila	7	4
------------	---	---

shigelloides	3	2
--------------	---	---

Pseudomonas:

aeruginosa	18	23
------------	----	----

putida	3	3
--------	---	---

cepacia	ND	ND
---------	----	----

maltophilia	ND	2
-------------	----	---

pseudomallei	ND	ND
--------------	----	----

putrefaciens	ND	ND
--------------	----	----

acidovorans	1	ND
-------------	---	----

stuzeri	2	4
---------	---	---

alcaligenes	ND	ND
-------------	----	----

mallei	ND	ND
--------	----	----

Acinetobacter:

calcoaceticus var anitratus	ND	ND
-----------------------------	----	----

calcoaceticus var lwoffii	6	6
---------------------------	---	---

No desarrollaron.

6° GRADO.

Plesiomonas:

shigelloides

Aeromonas:

hydrophila

shigelloides

Pseudomonas:

aeruginosa

putida

cepacia

maltophilia

pseudomallei

putrefaciens

acidovorans

stizeri

alcaligenes

fluorecens

mallei

Acinetobacter:

calcoaceticus var anitratus

calcoaceticus var lwoffii

No desarrollaron

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

17

12

11

11

11

11

7

3

16

21

2

ND

ND

ND

4

8

ND

ND

2

4

1

ND

1

1

ND

ND

ND

ND

ND

ND

2

2

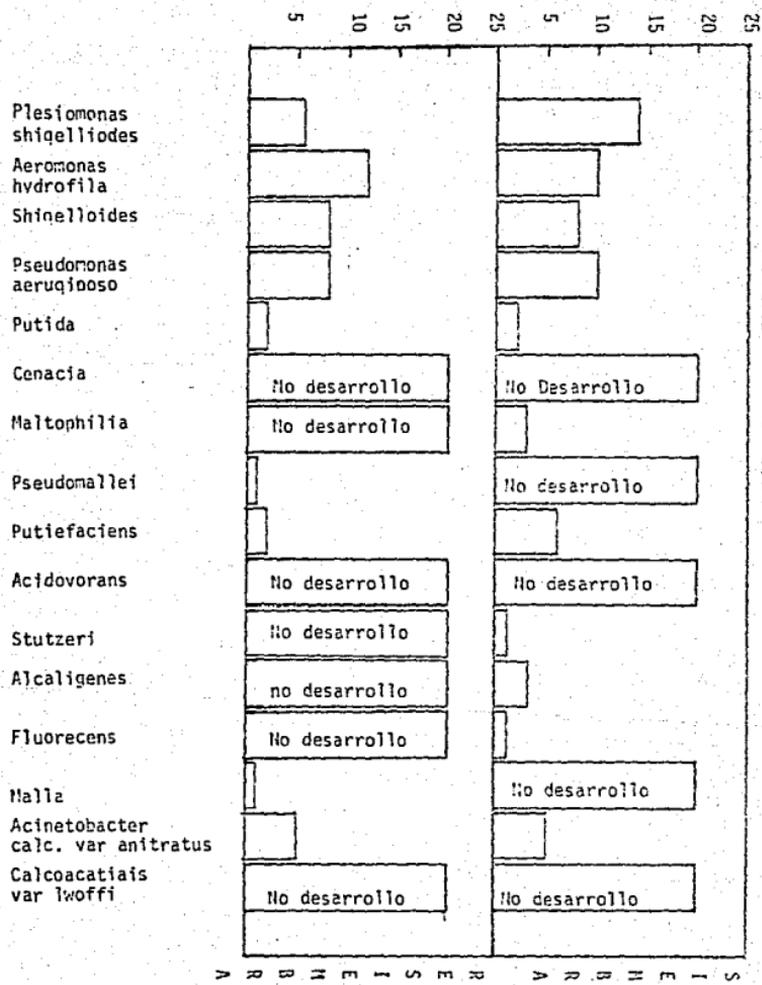
4

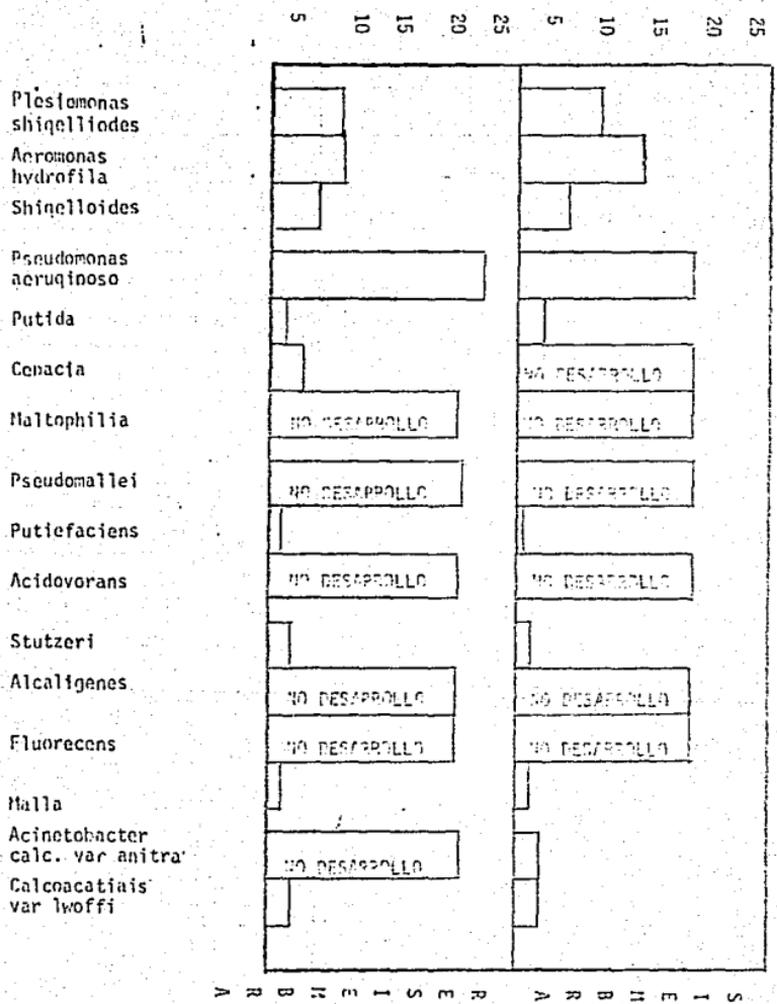
3

32

17

Un total de 658 bacterias identificadas como Exci-  
los Gram negativos no fermentadores en 266 muestras de heces  
fecales de niños en edad escolar. La importancia de estos re-  
sultados es que se ha comprobado una vez más que las infec-  
ciones intrahospitalarias y de individuos aparentemente sa-  
nos, en un momento dado, cuando las condiciones del huésped-  
son favorables para los microorganismos, pueden ser produci-  
das por una flora heterogénea y que con los factores del me-  
dio ambiente como son: cambios de clima, cambios de pobla-  
ción por la constante migración de individuos de un lugar a  
otro, los cambios de la dieta alimenticia, la falta de urba-  
nización de algunos puntos de las ciudades, etc., esta flora  
cambia constantemente y no sólo está integrada por patógenos  
primarios, sino que también por una gran variedad de patóge-  
nos potenciales u oportunistas que forman parte de la flora-  
normal del organismo o se comportan como saprófitos, así ---  
pues nos damos cuenta de que hoy en la actualidad debemos po-  
ner interés en este grupo de microorganismos en los aisla-  
mientos clínicos en el laboratorio, como único agente etioló-  
gico, lo hace como flora asociada y causando por consiguien-  
te más problemas a su huésped.



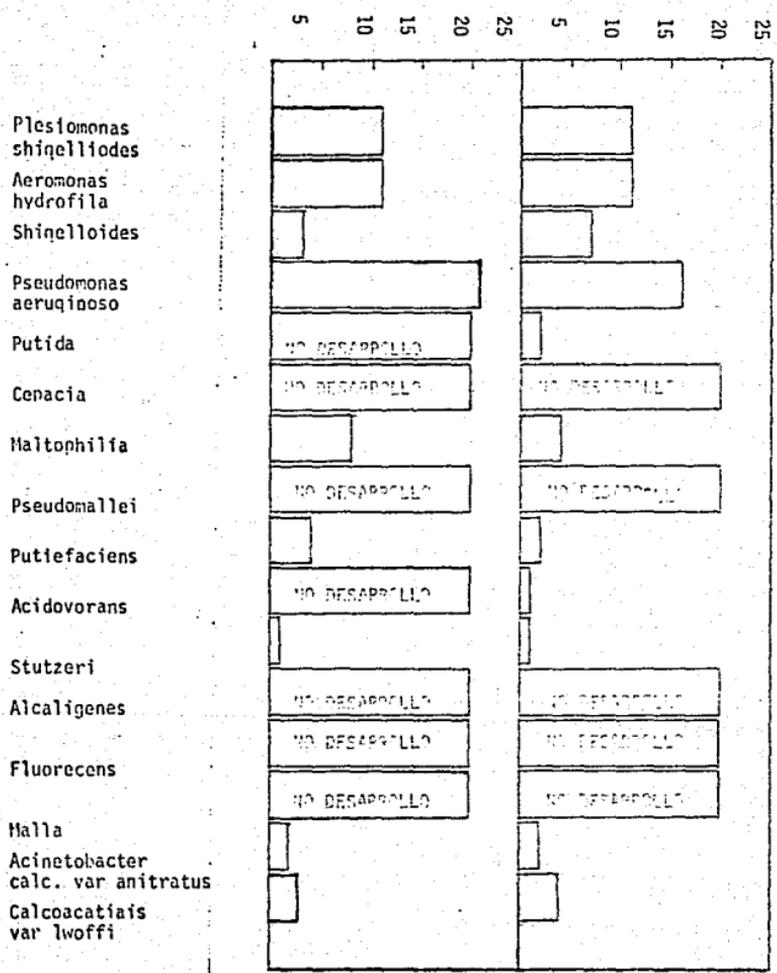








7.2. Distribución de bacterias pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Shigella*, *Shigelloides*, *Putida*, *Cenacia*, *Maltophilia*, *Pseudomallei*, *Putrefaciens*, *Acidovorans*, *Stutzeri*, *Alcaligenes*, *Fluorecens*, *Halla*, *Acinetobacter calc. var anitratus* y *Calcoacetiis var lwoffii* en el agua de las piscinas de la Estación de Recreación y Esporte de Paraná.



A S

- 7.4 Relación de bacilos Gram negativos no fermentadores como flora única, flora asociada con otros bacilos Gram negativos entéricos, bacilos Gram negativos entéricos aislados como única flora, número de casos en los que no hubo desarrollo.

Número de casos en los que se aislaron sólo bacilos Gram negativos no fermentadores.

GRADO	SIEMBRA	RESIEMBRA
1°	18	26
2°	18	21
3°	23	28
4°	16	25
5°	20	23
6°	22	30
TOTAL	117	153

Número de casos en los que se aislaron bacilos Gram negativos no fermentadores y otros bacilos entéricos.

GRADO	SIEMBRA	RESIEMBRA
1°	13	3
2°	11	8
3°	17	9
4°	9	2
5°	9	7
6°	13	7
TOTAL	72	36

Número de casos en los que solo se aislaron otros Bacilos entéricos.

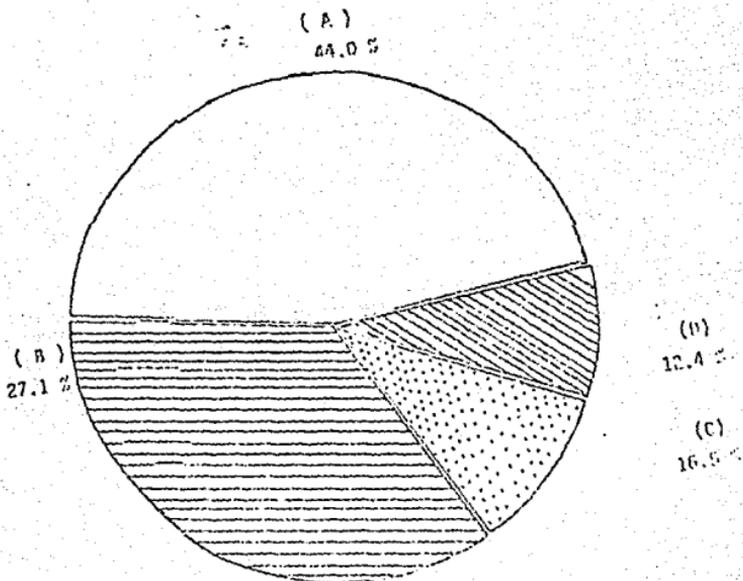
GRADO	SIEMBRA	RESIEMBRA
1°	6	7
2°	11	6
3°	5	9
4°	6	5
5°	6	3
6°	10	6
	TOTAL	44
		38

Número de casos en los que no hubo desarrollo de colonias sospechosas de Bacilos Gram negativos no fermentadores.

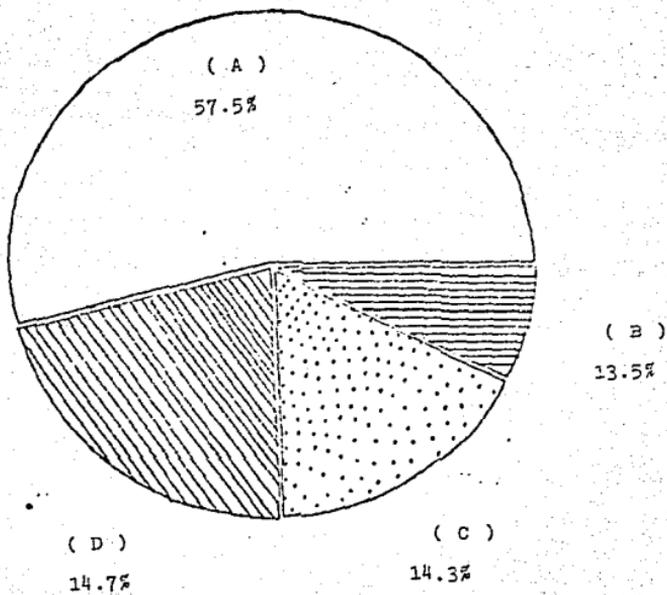
GRADO	SIEMBRA	RESIEMBRA
1°	4	5
2°	4	7
3°	7	6
4°	5	4
5°	6	6
6°	7	9
	TOTAL	33
		39

- A) Número de bacilos Gram negativos no fermentadores aislados como única flora. S=117 N=153
- B) Número de bacilos Gram negativos no fermentadores y otros bacilos Gram negativos entéricos aislados como flora asociada. S= 72 N= 36
- C) Número de otros bacilos Gram negativos entéricos aislados como única flora. S= 44 N= 38
- D) Número de casos en los que no hubo desarrollo de colonias sospechosas de bacilos Gram negativos no fermentadores. S= 33 N= 29

PORCENTAJES DE BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES AISLADOS EN SIEMBRA



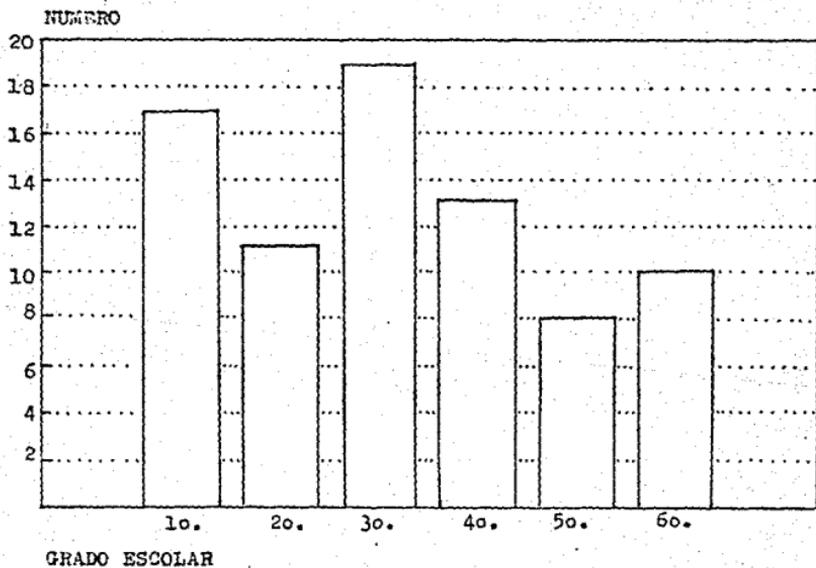
PORCENTAJES DE BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES  
AISLADOS EN RESIEMBRA



7.5 Comparación de los hallazgos de las coprobacteriologías con las coproparasitologías.

-Número de casos en los que se aislaron Bacilos Gram negativos no fermentadores y coproparasitoscópico positivo.

GRADO	NÚMERO	%
1o.	17	41.5
2o.	11	25.0
3o.	19	36.5
4o.	13	36.1
5o.	8	19.5
6o.	10	19.2



Número de casos en los que se aislaron Bacilos ---  
Gram negativos no fermentadores y coproparasitópi-  
co negativo.

GRADO	NUMERO	%
1°	14	34.1
2°	18	40.9
3°	21	40.4
4°	12	33.3
5°	19	46.3
6°	24	46.2

NUMERO

26

24

22

20

18

16

14

12

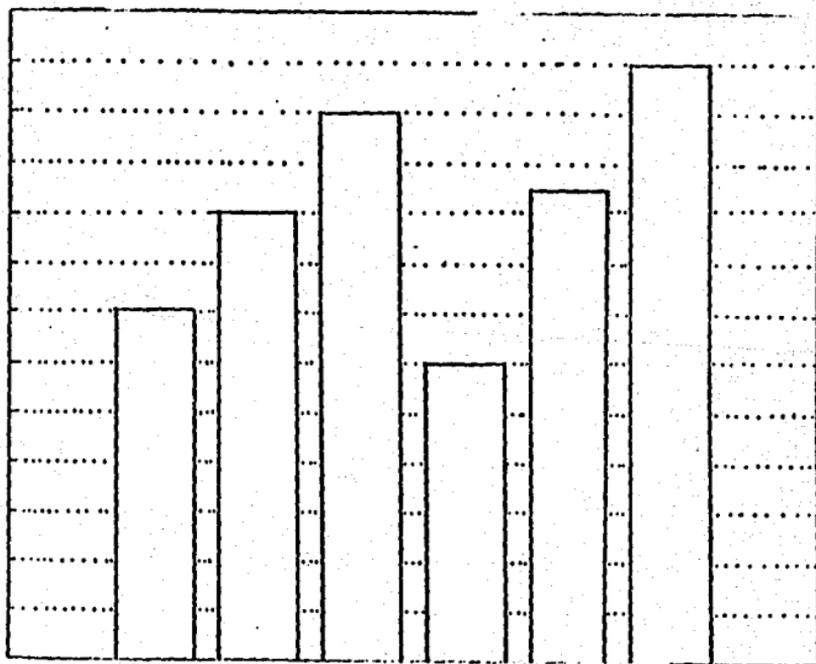
10

8

6

4

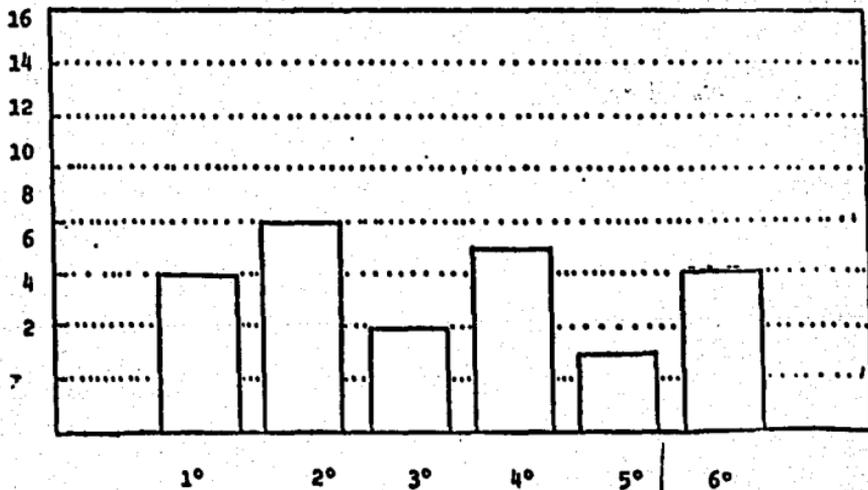
2



Número de casos en los que no hubo desarrollo de -  
Bacilos Gram negativos no fermentadores y coproparásitos cópico-positivo.

GRADO	NUMERO	%
1°	6	14.6
2°	8	18.2
3°	4	7.7
4°	7	19.4
5°	3	7.3
6°	6	11.5

NUMERO

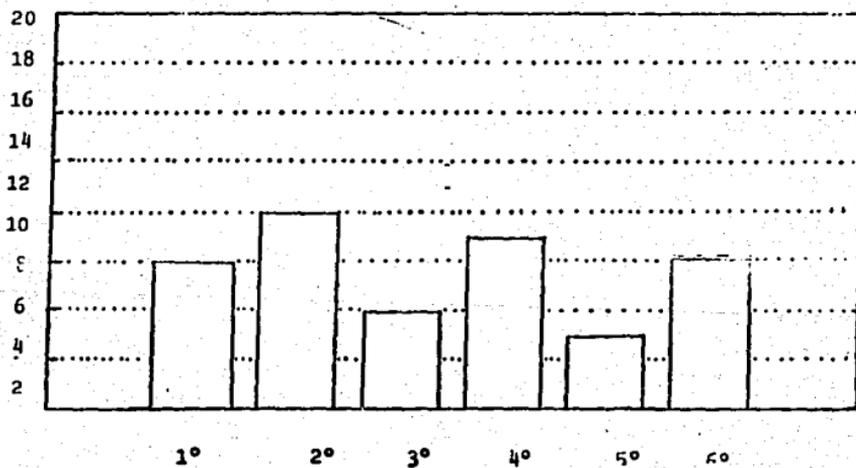


GRADO ESCOLAR:

Número de casos en los que no hubo desarrollo de -  
Bacilos Gram negativos no fermentadores y el coproc  
parasitoscópico negativo.

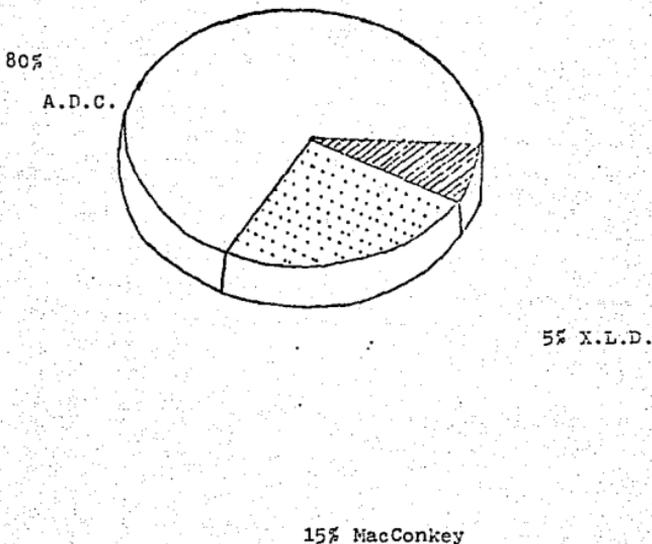
GRADO	NUMERO	%
1°	4	9.8
2°	7	15.9
3°	8	15.4
4°	4	11.1
5°	11	26.8
6°	12	23.1

NUMERO



GRADO ESCOLAR:

## 7.6 Productividad en aislamientos en el primoaislamiento.

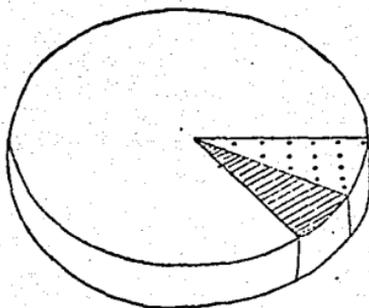


Por medios de cultivos la mejor recuperación de Bacilos Gram negativos no fermentadores se obtuvo del Agar Desoxicolato Citrato ( ADC ) con el 80% seguido del Agar de MacConkey 15% y Agar Xilosa Lisina Desoxicolato ( XLD ) con un 10% pero que éste último inhibía mejor el crecimiento de otros Bacilos Gram negativos entéricos.

7.7 Productividad en aislamientos en la resembra tras enri-  
quecimiento en Caldo Tetracionato.

80%

A.D.C.



10% T7

10%

X.L.D.

Tras enriquecimiento en Caldo Tetracionato la tasa de --  
crecimiento porcentual por medios de cultivo fue para Agar -  
Desoxicolaro Citrato ( ADC ) 80%, Agar Tergitol 7 10% para -  
Agar Xilosa Lisina Desoxicolaro ( XLD ), en la recuperación  
de Bacilos Gram negativos no fermentadores.

R E S U M E N .

## R E S U M E N .

Una de las infecciones más frecuentes y comunes de las vías gastrointestinales es la diarrea en una población menor infantil, la que está más predestinada por una serie de factores que las favorece. Actualmente se le ha dado mucha importancia debido a la infinidad de agentes causales y al descubrimiento de nuevos agentes patógenos causantes de estas diarreas.

En estudios realizados se han definido como causantes de brotes de enfermedad intestinal en huéspedes sanos a *Plesiomonas*, *Aeromonas*, *Pseudomonas* y *Acinetobacter*. La mayor parte de su evidencia de su papel como patógeno proceden de estudios que demuestran que hay mayor número de aislamientos en heces de enfermos con diarrea que en heces de individuos sanos testigos; sin embargo, aislar un microorganismo de las heces no prueba su papel etiológico.

Este estudio fue con el fin de poner en evidencia estos casos.

En la investigación se utilizaron dos procedimientos convencionales para el aislamiento de estos microorganismos en-

el cual se usaron para el primoasilamiento agar MacConkey con un rendimiento del 15%, Disoxicolaro Citrato ( ADC ) un 80% - y Xilosa Lisina Desoxicolaro ( XLD ) con un 5%. El aislamiento en los medios de cultivo Agar Desoxicolato Citrato ( ADC ) Xilosa Lisina Desoxicolato ( XLD ) y Tergitol 7 ( T7) tras enriquecimiento en caldo Tetracionato fue de 80%, 10% y 10% respectivamente.

En la identificación bioquímica se utilizaron los medios convencionales arrojando como resultado de esta experiencia - que es muy importante para la identificación de bacilos Gram negativos no fermentadores la prueba de la oxidasa que los diferencia de los bacilos Gram negativos entéricos fermentadores el resto de las pruebas se elegirán de acuerdo a las necesidades del Clínico.

Los hallazgos bacteriológicos realizados por el laboratorista y con técnicas convencionales, muestran solamente un panorama general de la incidencia de microorganismos responsables de las diarreas en un grupo similar por su edad.

El estudio se realizó con un número de 300 muestras para que tuvieran valor epidemiológico pero esto se limitó a un total de 266 muestras, ya que sólo éstas reunían las condiciones necesarias para su estudio, aunque este número de casos analizados en relación con grado de escolaridad, edades, tipo de alimentación y condiciones clínicas no permitieron -

hacer consideraciones epidemiológicas de incidencia de los cuadros diarréicos en niños en edad escolar en el Estado de Jalisco.

Es importante hacer mención de la magnitud que tiene un estudio epidemiológico ya que de este depende un grandísimo ahorro al país, pues hay menos pérdida del factor físico tan necesario para nuestra nación que está en vías de desarrollo.

Actualmente se han hecho campañas de Salud Pública por medio de difusión: Prensa, Radio y Televisión con buenos resultados.

CONCLUSION.

## C O N C L U S I O N .

Existe evidencia en la literatura de que Plesiomonas, -- Aeromonas, Pseudomonas y Acinetobacter se han definido como causantes de brotes de enfermedad intestinal en huéspedes sanos. La mayor parte de su evidencia de su papel como patógenos proceden de estudios que demuestran que hay mayor número de aislamientos en heces de enfermos con diarrea que en heces de individuos testigos. Sin embargo, aislar un microorganismo de las heces no prueba su papel etiológico, pero se encuentran entre las llamadas nuevos agentes productores de -- diarreas en el humano.

En la investigación se utilizaron dos procedimientos convencionales para el aislamiento de estos microorganismos en el cual se usaron para el primoaislamiento agar MacConkey -- con un rendimiento del 15%, Desoxicolaro Citrato ( ADC ) un 80% y Xilosa Lisina Desoxicolaro ( XLD ) con un 5%. El aislamiento en los medios de cultivo Agar Desoxicolaro Citrato -- ( ADC ), Xilosa Lisina Desoxicolaro ( XLD ) y Tergitol 7 --- ( T7 ) tras enriquecimiento en caldo Tetracionato fue de 80% 10% y 10% despectivamente.

Se obtuvo mejor recuperación de bacilos Gram negativos--

no fermentadores tras enriquecimiento en caldo Tetracionato- siendo evidente que sigue siendo factible este procedimiento. También se observó que en los dos métodos utilizados tanto - en el primoaislamiento directo y en el efectuado por enriquecimiento en caldo Tetracionato el agar Desoxicolato Citrato- ( ADC ) tuvieron igual rendimiento, así que se podría recomendar su uso para la recuperación de bacilos Gram negativos no fermentadores. Otra observación fue que el medio Xilosa - Lisina Desoxicolaro ( XLD ) se tuvo una recuperación moderada de los bacilos en estudio, pero inhibía mejor el crecimiento de otros bacilos Gram negativos entéricos.

El estado dinámico de la biósfera íntima humana hace --- que el microbiólogo clínico deba conocer en cada momento los cambios que provocan la llegada de nuevas poblaciones en este medio ambiente y descubra con plenitud el papel desempeñado por los recién llegados en la aparición y producción de - enfermedades y así preparar medios de cultivo apropiados para su aislamiento.

En la identificación bioquímica se utilizaron los medios convencionales arrojando como resultado de esta experiencia- que es muy importante para la identificación de Bacilos Gram negativos no fermentadores la prueba de la oxidasa que evita confundirse con Enterobacterias, otra observación que se hizo en este estudio que para diferenciar los géneros de Aeromonas shigelloides y Plesiomonas shigelloides es necesario -

incluir la prueba de la ornitina descarboxilasa como ya se mencionó antes se consideraba como un género, a estos dos microorganismos, sin olvidar el Kligler donde se observa la utilización de la glucosa y lactosa, así como los resultados de la producción de gas a partir de glucosa y producción de gas sulfhídrico, el resto de las pruebas bioquímicas se elegirían de acuerdo a las necesidades del Clínico.

Como se ve el diagnóstico de laboratorio no es tan complejo y es de esperarse que en el futuro el acúmulo de información epidemiológica y estudios básicos definan la aparente enteropatogenicidad de estas bacterias.

Los hallazgos bacteriológicos realizados por el laboratorio y con técnicas convencionales muestran solamente un panorama general de la incidencia de microorganismos responsables de las diarreas en un grupo similar por su edad.

Las cifras tan altas de bacilos Gram negativos no fermentadores aislados en nuestra serie están de acuerdo con las marcadas por las modernas investigaciones copro bacteriológicas en relación con los reportes de años pasados en las que se encontraban mayores porcentajes debido a que las técnicas de identificación y bibliografía de estos bacilos eran menos precisos.

A la par que la investigación bacteriológica se llevó a-

cabo el análisis parasitológico para obtener un panorama -- más o menos general de las causas de diarreas en el infante -- y el principal microorganismo que la causa, porque no hay -- que olvidar cuando en una diarrea se hace un estudio bacteriológico y éste arroja resultados negativos, probablemente la causa sea por parásitos o virus, aunque de estos últimos no se realizaron pues se ocuparía un laboratorio altamente sofisticado. Esto se diagnostica por medio de pruebas inmunológicas más sencillas y de menor riesgo para el laboratorista.

El concepto de que los agentes infecciosos son la causa más importante de diarreas en niños de edad escolar ha cobrado interés por la búsqueda de nuevos conocimientos en el campo de la bacteriología y virología intestinales. Aunque los parásitos son causa de diarreas no es tan difícil su diagnóstico ni tan drásticos los síntomas clínicos con los que cursa como sucede en el caso de una diarrea de etiología bacteriana o cólica, además de los estudios biológicos en las rutinas aún en medios hospitalarios bien dotados, no aportan una exclusiva información en este aspecto. No podemos de ninguna manera apoyar el concepto simple de considerar como única respuesta, que a tal cuadro diarréico corresponde tal organismo causal y por consiguiente tal tratamiento. En las -- diarreas del niño en nuestro medio, aún cuando reconocamos una etiopatogenia toxi-infecciosa frecuente, a menudo carecemos de hallazgos positivos de laboratorio.

Con este trabajo se marca la pauta para seguir adelante la ampliación de esta investigación.

Las diferencias en el número de casos analizados en relación con grado de escolaridad, tipos de alimentación y condiciones clínicas, no permiten hacer consideraciones epidemiológicas de incidencia de los cuadros diarréicos en niños de edad escolar en el Estado de Jalisco.

Es importante hacer mención de la magnitud que tiene un estudio epidemiológico. Concientizar al público de lo importante que es mejorar nuestra vida y todo lo que la rodea.

- 1.- Elevar la calidad de vida.
- 2.- Reducir el gasto público.
- 3.- Aumentar la productividad del país.

Al promover la práctica de conductas sociales como la higiene en la nutrición, la construcción, la preservación de la condición de la salud y rescatar y enfatizar los valores morales del mexicano, indudablemente se conseguiría una mejor calidad de vida.

Se puede contribuir a reducir el gasto público evitando que la gente se enferme y fomentando que la misma crezca sana, con la que se lograría un menor gasto en la medicina curativa.

Al mismo tiempo se elevaría la productividad del país -- porque al reducir el número de enfermos se incrementaría la productividad, por lo que habría un incremento en la población sana y por lo tanto económicamente activa.

Sin intereses económicos o políticos de por medio ayudar a las áreas de la problemática nacional de una manera positiva que son en orden ascendente: La Salud, La Educación y la Justicia.

Parece que aplicando las técnicas de persuasión y educación de la Publicidad para la modificación de patrones de -- conducta masiva, puede tener una acción profiláctica al prevenir enfermedades, promover la detección oportuna de malescurables y proporcionar la higiene y la nutrición y sobre todo promover una conducta social, responsable u constructiva.

El futuro es de los jóvenes que desean hacer algo por su país.

BIBLIOGRAFIA.

## B I B L I O G R A F I A .

1. Balows Albert, Hausler William J. Jr., Shadomy H. Jean --  
" MANUAL DE MICROBIOLOGIA CLINICA ". 4ta. edición, Editores , Washington, D.C. 1985.
2. Bailey/ Scott, Finegold/Baron. " DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO ", 7a. edición, Panamericana, Argentina 1989.
3. Coronel Thomas, T. Mackie. " MANUAL DE LA MEDICINA TROPICAL " La Prensa Médica Mexicana, México, D.F. 1946.
4. Davis, Dulbecco, Eisen, Ginsberg, Wood. " TRATADO DE MICROBIOLOGIA ". 2da. edición 1978, reimpresión 1983. Salvat, Mallorca, 41 Barcelona, España.
5. Divo Alejandro Dr. " MICROBIOLOGIA MEDICA ", 3a. edición, Interamericana México 4, D.F. 1977.
6. Freeman Bob A. Dr. " TRATADO DE MICROBIOLOGIA MEDICA DE BURROWS ", 21a edición, Interamericana, S.A. DE C.V. México, D.F. 1983.
7. Fox, Hall, Elvebach. " EPIDEMIOLOGIA EL HOMBRE Y LA ENFERMEDAD ", reimpresión, La prensa Médica Mexicana, S.A. México

8. Jawtz Ernest. " MANUAL DE MICROBIOLOGIA MEDICA ", El Manual Moderno S.A. de C.V., México, D.F. , 9a edición 1981.
9. Jinich Horacio, Dr., Hersh Teodoro, Dr. " DIARREA DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO ", Oteo Editos, México D.F. 1978.
10. Koneman, Allen, Dowell, Sommers. "DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO" Panamericana, México D.F., 1985.
11. Kumate Jesús, Dr. y Gordillo Paniagua Gustavo, Dr. " ENFERMEDADES DIARREICAS EN EL NIÑO ", Bayer de México, S.A., División Farmaceutica, Tomo I, 7a edición. 1981 México.
12. Lennette E.H., Spaulding E.H., Truant J.P. " MANUAL DE MICROBIOLOGIA CLINICA " , Salvat, Barcelona España, 2a. edición.
13. Miller Irwing - Freund John E. " PROBABILIDAD Y ESTADISTICA PARA INGENIEROS", Azteca S.A., México D.F. , traducido de la tercera edición en inglés.
14. Pumarola A., Rodríguez Torres A., García Rodríguez J.A., Piedrola Angulo G. " MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA MEDICA " , Salvat editores, S.A., Mallorca 41, Barcelona España, 1984.
15. -M. en C. García Gonzalez. " SENSIBILIDAD IN VITRO DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA " , Rev., Año 6, Núm. 4:94-99, Abril 1986.
16. " MANUAL DIFCO " , Laboratorios Difco, Detroit Michigan 48221 USA 10a edición 1984.
17. Barry, D. Hill (1980). " EVALUACION DEL SISTEMA O/F Y LOS METODOS CONVENCIONALES PARA LA IDENTIFICACION DE BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES " , Canad J. Med. Tech., 42:1-18.
18. Giano, S., García Padilla, M.E. y Barrigo, G. " TIPIFICACION PIOCINICA DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA AISLADAS DEL HOSPITAL GENERAL -- DEL CENTRO MEDICO " LA RAZA " DEL IMSS " , Rev. Lat-amer. Microbiol 24:69-76, 1982.
19. Revista Infectologica, Año 6 Num. 4. Abril ( 1986 ), 94 " SENSIBILIDAD IN VITRO DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA " .

20. Revista Infectiología, Año V, Num. 6, Junio (1985), 104.  
" AEROMONAS Y PLESIOMONAS".
21. Revista Laboratorio. Año 40, Vol. 79 Num. 470, febrero (1985) pp11 3-120. " ESPECTRO HETEROLOGO DE LAS BACTERIOCINAS DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA" .