



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA

Evaluación del material didáctico “Introducción a las bacterias del género *Pseudomonas*” por alumnos que cursan Microbiología General I.

T E S I S

Para obtener el título de:  
Química Farmacéutico bióloga

**PRESENTA:**

**Alumna: Carolina Martínez Ayala**

**Directora de Tesis: Alicia Cabrera Aguilar**

**Asesor de tesis: Beatriz Elena Arellano Pimentel.**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## DEDICATORIA

La presente Tesis está dedicada a Dios, por darme siempre las fuerzas para continuar cuando eh estado a punto de caer y por darme sabiduría en las situaciones difíciles, ya que gracias a el eh logrado concluir mi carrera.

A mis padres, por darme la vida y luchar día a día para que lograra escalar y conquistar este peldaño más en mi vida porque ellos siempre estuvieron a mi lado brindándome su apoyo y sus consejos para hacer de mí una mejor persona.

A mi madre que con su demostración de una madre ejemplar me ha enseñado a no desfallecer ni rendirme ante nada porque ha sabido formarme con buenos hábitos, sentimientos y valores, lo cual me ha ayudado a salir adelante en los momentos más difíciles. Agradezco la confianza y el apoyo brindado, que sin duda alguna en el trayecto de mi vida, me ha demostrado su amor, corrigiéndome de mis faltas y celebrando mis triunfos.

A mi padre por el ejemplo de perseverancia y constancia que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante, por estar a mi lado apoyándome y aconsejándome siempre y sobre todo por su amor y amistad incondicional por que sin su apoyo no hubiera sido posible la culminación mi tesis.

A mi hermana: "Como las ramas de una árbol crecemos en diferentes direcciones, pero nuestra raíz es una sola. Así la vida de cada una siempre será una parte esencial de la vida de la otra". Gracias por estar siempre presente acompañarme y brindándome tu apoyo incondicional.

A mi novio por sus palabras, apoyo constante, confianza y amor incondicional, ha sido amigo y compañero inseparable, fuente de sabiduría, calma y consejos en todo momento, sobre todo por brindarme el tiempo necesario para realizarme profesionalmente.

A mi familia en general que de una u otro manera me han llenado de sabiduría y me han brindado su apoyo incondicional al compartir conmigo buenos y malos momentos para terminar mi tesis.

A mis Maestros y Maestras que por sus conocimientos, sus orientaciones, su manera de trabar, su persistencia, su paciencia y su motivación han sido fundamentales para mi formación como profesionista.

A mi FES Zaragoza en la que compartí conocimiento, alegrías, tristezas en compañía de mis amigos y amigas, por brindarme la oportunidad de realizar mi carrera y lograr que este sueño se haga realidad

# Gracias

## TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN .....	1
MARCO TEÓRICO .....	4
RECURSOS DIDÁCTICOS .....	4
EVALUACIÓN .....	5
Libro .....	6
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	8
OBJETIVOS .....	9
Objetivos Generales .....	9
Objetivos Particulares .....	9
HIPÓTESIS .....	8
METODOLOGÍA .....	10
DIAGRAMA DE FLUJO .....	14
RESULTADOS .....	16
Se presentan a continuación los resultados de los instrumentos A .....	20
Se presentan a continuación los resultados de los instrumentos B .....	28
Se presentan a continuación los resultados de los instrumentos C .....	34
ANÁLISIS ESTADÍSTICOS .....	40
PRUEBA DE HIPÓTESIS .....	40
DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	41
CONCLUSIONES .....	44
ANEXO 1 .....	45
ANEXO 2 .....	47
REFERENCIAS .....	58
Electrónicas .....	58
Libros .....	62

## INTRODUCCIÓN

El actual plan de estudios de la carrera de QFB fue aprobado en el año de 1997 por H. Consejo Técnico el cual fue ratificado por el Consejo Académico de Área de las Ciencias Biológicas y de la Salud en el año 1998. El Plan de Estudios de la Carrera de Química Farmacéutico Biológica consta de 9 semestres con un total de 441 créditos, de los cuáles 347 son obligatorios y corresponden a 25 módulos hasta el 7° semestre; posteriormente, dada la flexibilidad de estudios, el alumno podrá elegir entre una de las tres orientaciones: Bioquímica Clínica, Farmacia Industrial o Farmacia Clínica. Administrativamente está dividida en tres ciclos: básico, intermedio y terminal.

La asignatura de Microbiología General I que se imparte en sexto semestre de la carrera, está dividida en XIII unidades, siendo la unidad III, Las Bacterias de nuestro interés. Esta unidad contempla el estudio de las características más importantes de las bacterias, su clasificación de acuerdo a sus características tintoriales, a su agrupación, y sus requerimientos fisicoquímicos, nomenclatura binomial, taxonomía numérica y estructura. Así como algunos temas importantes de la unidad IV y V, tales como las condiciones del crecimiento de las bacterias, la curva de crecimiento microbiano y su metabolismo.

El presente proyecto está encaminado a la elaboración del material didáctico introducción a las bacterias del género *Pseudomonas* así como su evaluación. El cual servirá de apoyo a los alumnos que inician el estudio de la microbiología en el módulo de Microbiología General I.

El género *Pseudomonas* pertenece a la familia *Pseudomonadaceae*, junto con las *Xanthomonas* se sitúa dentro del orden *Pseudomonadales*, este grupo es tradicionalmente conocido por los microbiólogos como un grupo patógeno de plantas, más que de animales. Se cree que el género fue presentado por primera vez en 1895 por Walter Migula en una publicación donde describía y comparaba todas las bacterias conocidas hasta el momento.

La descripción inicial de *Pseudomonas* por Migula estaba basada únicamente en características morfológicas. Dentro del género *Pseudomonas*, de todas las especies que existen, la más importante es *P. aeruginosa* ya que esta especie tiene la capacidad de producir infecciones en humanos.

*Pseudomonas* es un género de especies capaces de utilizar un amplio rango de compuestos, tanto orgánicos como inorgánicos y capaces de vivir bajo muy diversas condiciones ambientales. Debido a esta característica, estos microorganismos son muy ubicuos y podemos encontrarlos tanto en los ecosistemas terrestres como acuáticos y son importantes como patógenos en plantas, animales y humanos.

El género *Pseudomonas* es bien conocido por su versatilidad metabólica y plasticidad genética. Las especies de *Pseudomonas* en general crecen rápidamente y presentan gran habilidad para metabolizar una amplia variedad de substratos, incluyendo compuestos orgánicos tóxicos como hidrocarburos alifáticos y aromáticos. Las cepas de las especies de *Pseudomonas* son frecuentemente resistentes a antibióticos, desinfectantes, detergentes, metales pesados, y solventes orgánicos.

*Pseudomonas aeruginosa* fue aislada por primera vez de muestras ambientales por Schoroeter en 1872. Debido a que las colonias de *P. aeruginosa* son pigmentadas la denominación de la especie deriva de la palabra aeruginosa (aeruginous) que significa “el color del cobre oxidado”, reflejando el característico color azul-verdoso que presentan las colonias debido a la producción de pigmentos.

Como todos los miembros de esta familia es un bacilo Gram negativo aerobio, muy versátil metabólicamente, pudiendo utilizar más de 80 compuestos orgánicos como fuentes de carbono y energía. Es oxidasa positiva y puede crecer a temperaturas superiores a 42°C. Aunque se clasifica como aerobio estricto, algunas cepas pueden crecer anaeróbicamente mediante desnitrificación o mediante la fermentación de compuestos como arginina o piruvato.

Debido a su habilidad para sobrevivir en ambientes acuosos con nutrientes mínimos, y como consecuencia de su gran versatilidad metabólica, estos organismos, han llegado a ser problemáticos en los ambientes hospitalarios, donde esta especie ha sido aislada de una elevada variedad de soluciones acuosas, incluyendo desinfectantes, jabones, fluidos de irrigación y de diálisis y sus equipamientos.

Actualmente el aislamiento de otras especies como *P. mendocita* o *P. stutzeri* está siendo cada vez más frecuentes en muestras clínicas. A parte de esta procedencia nosocomial, también podemos encontrarla en piscinas, tubos de agua caliente, soluciones de lentes de contacto, cosméticos, uñas artificiales, suelas interiores de zapatillas de deporte e, incluso, en drogas inyectables.

No es frecuente encontrar este microorganismo como parte de la biota bacteriana de individuos sanos, pero en caso que se encuentre, el tracto gastrointestinal es el lugar más frecuente de colonización. Otros lugares húmedos del cuerpo también pueden ser colonizados, incluyendo la faringe, la mucosa nasal y zonas como axilas o el perineo, donde ha sido aislada en un 2-10% de individuos sanos.

Las tasas de colonización son elevadas en individuos inmunosuprimidos u hospitalizados, particularmente aquellos que pasan largos periodos de hospitalización o que han recibido terapia antimicrobiana de amplio espectro o quimioterapia. Los lugares de colonización en estos pacientes son similares a los de los individuos sanos, pero en estos casos se encuentra incluido el tracto respiratorio inferior, sobre todo en pacientes intubados.

## MARCO TEÓRICO

### Recursos didácticos.

Los Recursos didácticos son mediadores para el desarrollo y enriquecimiento del proceso de enseñanza - aprendizaje, que cualifican su dinámica desde las dimensiones formativa, individual, preventiva, correctiva y compensatoria, que expresan interacciones comunicativas concretas para el diseño y diversificación de la actuación del docente y su orientación operativa hacia la atención a la diversidad de alumnos que aprenden, que potencian la adecuación de la respuesta educativa a la situación de aprendizaje, con el fin de elevar la calidad y eficiencia de las acciones pedagógicas.<sup>1</sup>

Los docentes, desde su rol en el proceso de enseñanza - aprendizaje, tienen el reto de lograr manifestaciones creativas en la solución de los problemas de su práctica pedagógica, como garantía de atención a la diversidad de escolares que aprenden.<sup>1</sup>

Es precisamente desde esta perspectiva que se procura un cambio regulado en la cantidad y cualificación de los apoyos, ayudas, estrategias, vías, metodologías, acciones didácticas y recursos para la enseñanza - aprendizaje, lo que puede involucrar aspectos tan diversos como la esfera motivacional – afectiva, el manejo de los procesos de atención, los recursos de memorización analítica, la inducción del aprendizaje y los procedimientos para el manejo eficiente de la información.<sup>1</sup>

Introducen sus puntos de vista en relación con los medios didácticos, recursos educativos, recursos didácticos y materiales, como elementos de apoyo al proceso de enseñanza - aprendizaje, como algo externo a dicho proceso o como componente de este.<sup>1</sup>

Del diálogo anónimo y virtual con las denominaciones y acepciones para la utilización, en el ámbito psicopedagógico del término recursos didácticos, es posible regularizar su identificación con:

- a) Medios de enseñanza o de aprendizaje, según la lógica de la Ciencia y del contenido.
- b) Tecnologías de la Informática y las Comunicaciones.
- c) La facilitación del proceso de enseñanza - aprendizaje.

Los recursos didácticos facilitan la valoración del rendimiento relativo (comparándolo consigo mismo, en relación con la zona de desarrollo actual y la de desarrollo potencial, el avance individual), más que del rendimiento absoluto (en relación con los objetivos generales del plan de estudios del grado o nivel). La adaptación a las posibilidades del escolar, establece la evaluación del proceso de enseñanza – aprendizaje tomando en consideración la afectividad del escolar y la evolución personal.<sup>1</sup>

## Evaluación

Es un proceso integral sistemático, gradual y continuo que tiene como fin la valoración de los cambios producidos en la conducta del alumno, la eficacia de los métodos y técnicas de enseñanza, la capacidad científica y pedagógica de los profesores, la educación de los programas y los planes de estudios y todo cuanto pueda incidir en la calidad de la educación. Cuando se afirma que la evaluación es un proceso se está poniendo de relieve, como una de sus características esenciales, que es algo permanente, continuo, que transcurre paralelo al mismo proceso de aprendizaje y no un acto puntual y esporádico.<sup>2</sup>

La acción evaluadora no debe ser improvisada sino responder a un plan bien elaborado que forme parte de la programación misma del trabajo escolar. Es decir, la evaluación debe formar un todo unitario, concibiéndola en función de los objetivos que se hayan fijado y en función educativos de que se disponga.<sup>2</sup>

Evaluar significa otorgar un juicio de valor. Su resultado es una retroalimentación para el alumno y para el profesor, de tal manera que puedan tomar las acciones correspondientes para asegurar el logro de los objetivos de manera óptima.<sup>2</sup>

<b>Tipos de evaluación</b>	<b>Diagnóstica</b>	<b>Formativa</b>	<b>Sumativa</b>
<b><i>¿Qué evalúa?</i></b>	Conocimientos Contexto Características del alumno	Conocimientos Programa Método Progreso Dificultades Procesos parciales Actividades de producción	Conocimientos Proceso global Progreso Productos
<b><i>¿Para qué evaluar?</i></b>	Detectar ideas y necesidades Orientar Adaptar	Reorientar Regular Facilitar-mediar	Determinar resultados Comprobar necesidades Verificar Acreditar Certificar.
<b><i>¿Cómo evaluar?</i></b>	Historial Pruebas Entrevista	Observación Pruebas Autoevaluación Entrevista	Observación Pruebas Autoevaluación

## **Libro**

La Real Academia Española define al libro como: Obra científica, literaria o de cualquier otra índole con extensión suficiente para formar volumen, que puede aparecer impresa o en otro soporte, para los efectos legales, libro debe contener mínimo 49 páginas no incluyendo cubiertas. <sup>(4)</sup>

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el actual Plan de Estudios de la carrera de Química Farmacéutico Biológica dentro del programa de la asignatura Microbiología General I se contemplan los aspectos teóricos de los siguientes contenidos: clasificación de los seres vivos y antecedentes históricos, su clasificación de acuerdo a sus diferentes características, desarrollo de los microorganismos y características generales de los principales microorganismos patógenos para el hombre así como los fundamentos básicos acerca de las bacterias.

Aprovechando los avances tecnológicos que son una valiosa herramienta en la formación de los estudiantes, se elaborara el material didáctico: "Introducción a las bacterias del genero *Pseudomonas*", (el cual se espera sea útil a los estudiantes que cursen el módulo de Microbiología General I, favoreciendo su aprendizaje). El material didáctico pretende ser de utilidad para los alumnos que tienen su primer acercamiento con el área de microbiología todo con la finalidad que el alumno se motive y profundice más sobre este tema, todo esto de una forma actualizada y explicada no sólo en forma de texto sino también de manera gráfica. Se pretende que este material contribuya y brinde un apoyo para el aprendizaje de las bacterias en forma sencilla, organizada y de fácil comprensión. Para poder determinar la utilidad que este recurso didáctico se propone evaluarlo contestando el mismo cuestionario referente al material didáctico en dos momentos, en el cual, la segunda aplicación se le agregaran preguntas en particular sobre el material didáctico.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivos Generales**

Evaluar el material didáctico Introducción a las bacterias del género *Pseudomonas* por los alumnos que cursan el módulo de Microbiología General I de la carrera Química Farmacéutico Biológica.

### **Objetivos específicos**

- Elaborar el material didáctico denominado “Introducción a las bacterias del género *Pseudomonas*” que será de utilidad para el estudiante que curse el módulo de Microbiología General I
- Evaluar la utilidad que el material didáctico tiene como apoyo a las actividades académicas del módulo de Microbiología General I, (al aplicar un cuestionario a la población de estudio antes y después de la consulta del mismo.)
- Analizar los resultados obtenidos de los cuestionarios, utilizando estadística descriptiva e inferencial.

## HIPÓTESIS

Se espera que mediante el uso del material didáctico Introducción a las Bacterias del genero *Pseudomonas* por parte de un grupo de alumnos de la población de estudio de sexto semestre del Módulo de Microbiología General I de la carrera de QFB este servirá como apoyo en el aprendizaje y se verá reflejado en la evaluación de los instrumentos que se les aplicarán antes y después de la lectura del material.

## METODOLOGÍA

1. Revisar la carta descriptiva, del módulo de Microbiología General I, del plan de la carrera de Q.F.B. de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza
2. Buscar información actualizada apegada al programa del módulo, referente a las generalidades y características del género *Pseudomonas*, material electrónico, publicaciones científicas, bibliotecas y hemerotecas, principalmente de los últimos 5 años.
3. La información se organizará en los siguientes capítulos:

### ✓ CAPITULO 1 INTRODUCCIÓN A LAS BACTERIAS

- Generalidades sobre las bacterias
- Anatomía y fisiología bacteriana
  - Tamaño Forma y Agrupación
- Estructura de las bacterias
  - Envoltura y Apéndices
  - Cápsula
  - Pared
  - Membrana citoplasmática
  - Fimbrias y Pili
  - Flagelos
  - Esporas
  - Citoplasma
  - Nucleoide
- Clasificación bacteriana
  - Criterios de clasificación bacteriana
- Guía de Estudio
- Referencias
- Referencias Figuras
- Referencias tablas

✓ CAPITULO 2 CULTIVO DE MICROORGANISMOS

- Cultivo de microorganismos
- Requerimientos nutritivos esenciales
- Fuentes de energía metabólica
  - Metabolismo de las bacterias
    - Fermentación
    - Respiración
    - Fotosíntesis
- Requerimientos nutricionales
  - Requerimientos de Carbono, Hidrógeno y Oxígeno
    - Carbono
    - Oxígeno
  - Necesidades de Nitrógeno, Fósforo y Azufre
  - Factores de Crecimiento
- Curva de crecimiento bacteriano
- Metabolismo microbiano
- Metabolismo de los no fermentadores
- Metabolismo fermentativo y oxidativo
  - Embder- Meyerhof-Parnas
  - Hexosa monofosfato
  - Entner-Doudoroff
- Guía de Estudio
- Referencias
- Referencias de figuras
- Referencias de tablas

✓ CAPITULO 3 BACILOS NO FERMENTADORES

- Bacilos no fermentadores
- Indicios tempranos de que un aislamiento desconocido es un no fermentador
  - Falta de evidencia de fermentación de la glucosa
  - Reacción positiva de citocromo oxidasa
  - Falta de desarrollo en agar MacConkey
- Pruebas utilizadas para la identificación de los no fermentadores
  - Utilización de la glucosa
  - Motilidad
  - Producción de pigmento
  - Hidrolisis de la urea
  - Reducción de nitratos
  - Desnitrificación de nitratos y nitritos
  - Producción de indol
  - Dexcarboxilación
  - Hidrólisis de la Esculina
  - Coloración de Flagelos
    - Método de Leifson
    - Método de Ryu
    - Técnica de preparación en fresco
  - Morfología de Flagelos
- Guía de Estudio
- Referencias
- Referencias Figuras
- Referencias Tablas

✓ CAPITULO 4 FAMILIA *PSEUDOMONADACEAE*

- *Pseudomonas*
  - Fisiología y Estructura
- Grupo Fluorescente *Pseudomonas aeruginosa*
  - Fisiología y estructura
  - Estructura Antigénica
  - Factores de patogenicidad
  - Factores de virulencia
  - Inmunidad
  - Resistencia a antibióticos
  - Epidemiología
  - Enfermedades Clínicas
- Grupo no fluorescente
  - *P. stutzeri*
  - *P. mendocita*
- Pruebas diagnósticas del laboratorio
- Tratamiento, Prevención y Control
- Guía de Estudio
- Referencias
- Referencias Figuras
- Referencias Tablas

✓ CAPITULO 5 IDENTIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS NO FERMENTADORAS

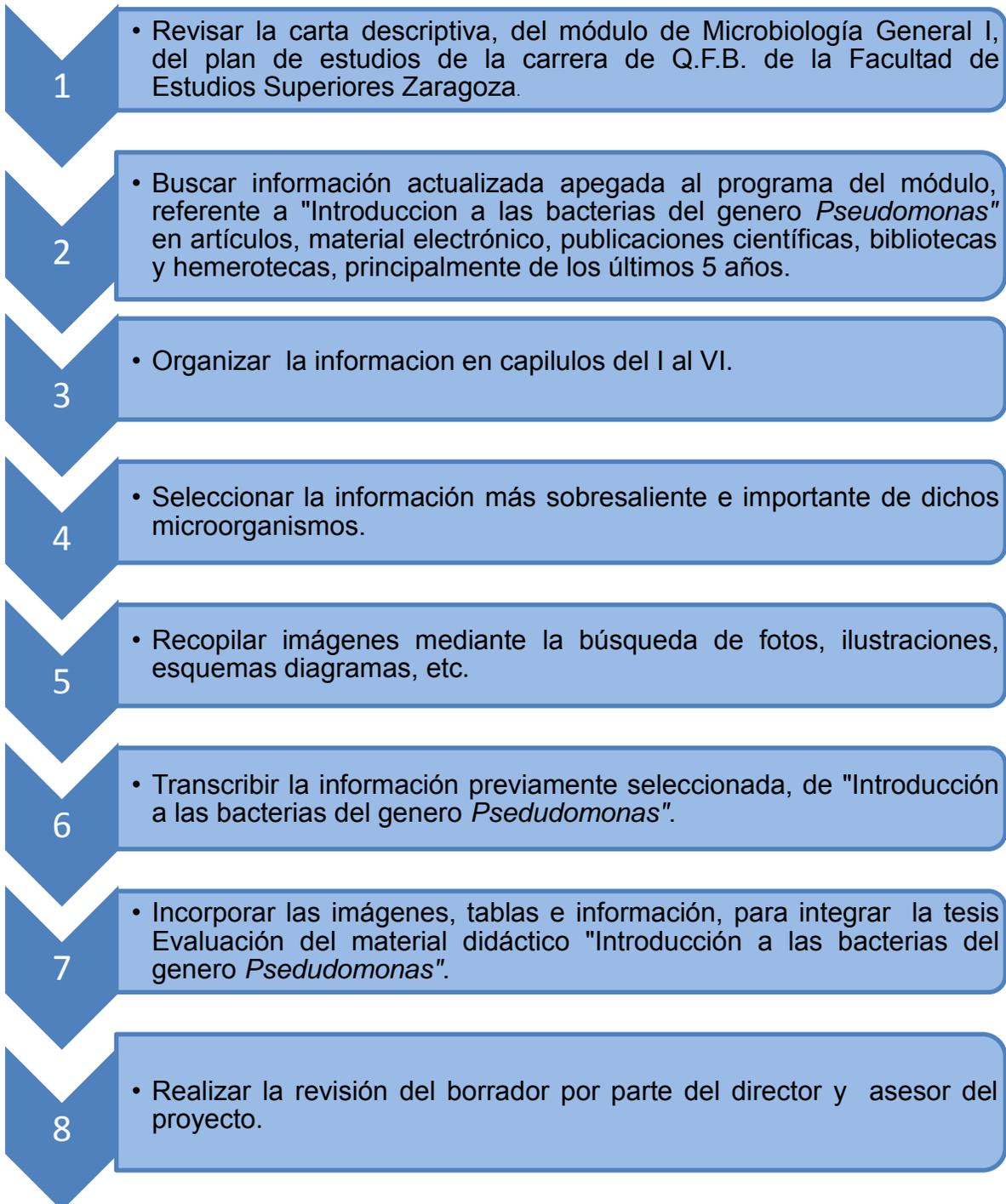
- Pruebas diagnósticas de laboratorio
  - Muestra
  - Microscopia
  - Cultivo
  - Identificación
- Identificación de las especies más frecuentes
  - *Pseudomonas aeruginosa*
- Métodos de identificación que utilizan pruebas convencionales
- Enfoque práctico para la identificación de los no fermentadores
- Tratamiento, Prevención y Control
- Guía de Estudio
- Referencias
- Referencias Figuras
- Referencias Tablas

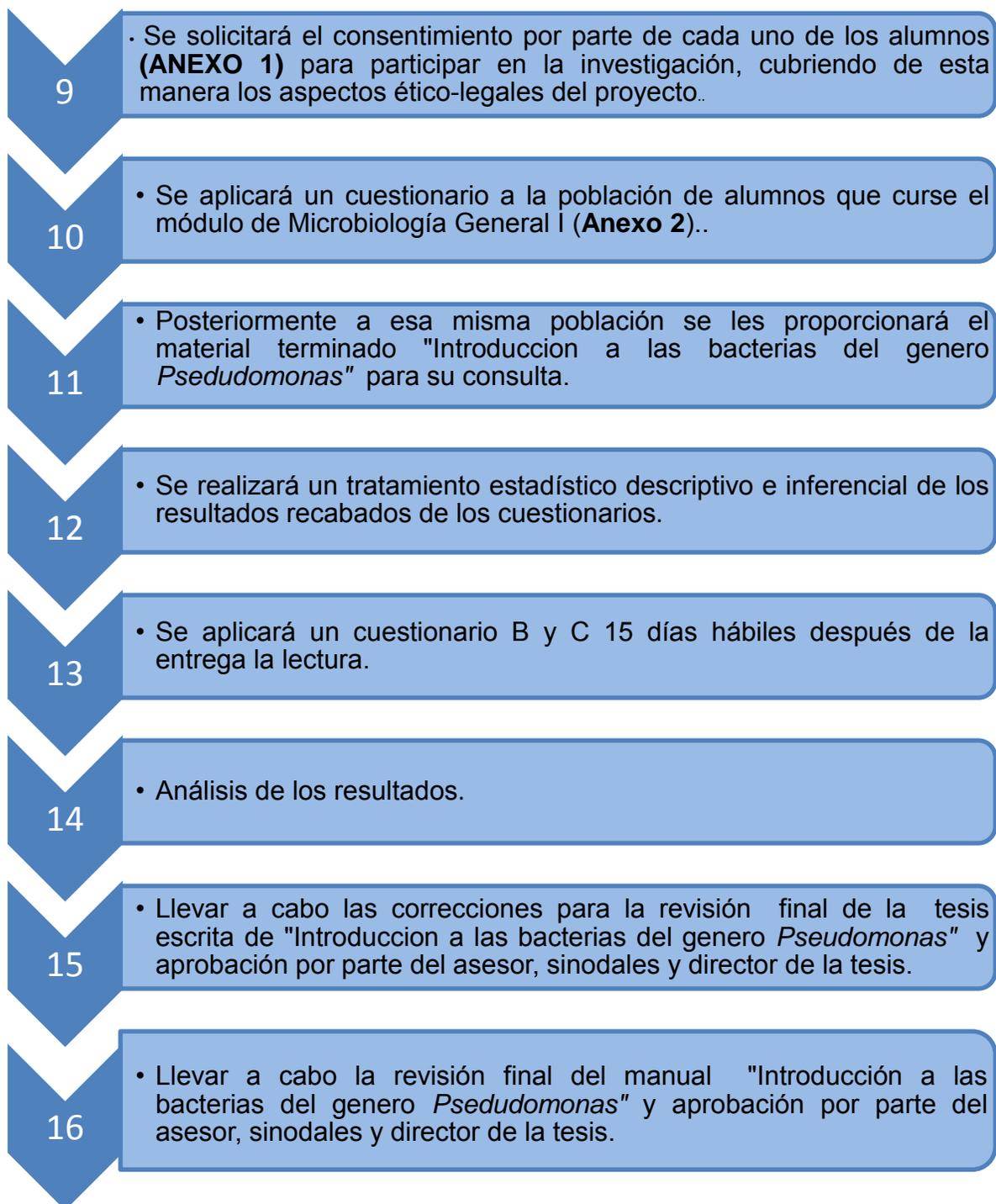
✓ CAPITULO 6 EQUIPOS CONVENCIONALES PARA IDENTIFICACIÓN DE LOS NO FERMENTADORES

- Equipos comerciales
  - Tubo Oxi/Ferm
  - API 20E
  - Sistema API 20NE
  - Sistema Remel N/F
  - Sistema Crystal Enteric/Nonfermenter
  - Sistema RapID NF Plusa
  - Sistema Biolog
- Sistema de identificación automáticos
  - Sistema Vitek Legacy
  - Sistema Microscan Walkaway-96, Walkaway-40 y Autoscan-4
- Guía de Estudio
- Referencias
- Referencias Figuras
- Referencias Tablas

4. Seleccionar la información más sobresaliente e importante de dichos microorganismos.
5. Recopilar imágenes mediante la búsqueda de fotos, ilustraciones, esquemas diagramas, etc.
6. Transcribir la información previamente seleccionada, de “Introducción a las Bacterias del género *Pseudomonas*”.
7. Incorporar las imágenes, tablas e información, para integrar la tesis “Introducción a las Bacterias del género *Pseudomonas*”.
8. Realizar la revisión del borrador por parte del director y asesor del proyecto.
9. Se solicitará el consentimiento por parte de cada uno de los alumnos (**ANEXO 1**) para participar en la investigación, cubriendo de esta manera los aspectos ético-legales del proyecto.
10. Se aplicará un cuestionario a la población de alumnos que curse el módulo de Microbiología General I (**ANEXO 2**).
11. Posteriormente a esa misma población se les proporcionará el material terminado de Introducción de las bacterias del género *Pseudomonas* para su consulta.
12. Se aplicará un segundo y tercer cuestionario 15 días hábiles después de la entrega y consulta del material didáctico por parte de los alumnos.
13. Se realizará un tratamiento estadístico descriptivo e inferencial de los resultados recabados de los cuestionarios.
14. Análisis de los resultados.
15. Llevar a cabo las correcciones para la revisión final de la tesis escrita “Evaluación del material didáctico Introducción a las bacterias del género *Pseudomonas*” en alumnos que cursan microbiología General I; y aprobación por parte del director de tesis, asesor y sinodales.
16. Impresión final de la tesis.

## DIAGRAMA DE FLUJO





## RESULTADOS

Como producto de este proyecto de tesis se elaboró el manual titulado: Evaluación del material didáctico "Introducción a las bacterias del género *Pseudomonas*" por alumnos que cursan Microbiología General I, el cual consta de los siguientes capítulos:

- Capítulo I. Introducción a las Bacterias
- Capítulo II. Cultivo de microorganismos
- Capítulo III. Bacilos no fermentadores
- Capítulo IV. Familia Pseudomonadaceae
- Capítulo V. Identificación de las bacterias no fermentadores.
- Capítulo VI. Equipos comerciales para identificar a los no fermentadores.

Y está estructurado cada capítulo de la siguiente manera:

### ✓ CAPITULO 1 INTRODUCCIÓN A LAS BACTERIAS

- Generalidades sobre las bacterias
- Anatomía y fisiología bacteriana
  - Tamaño Forma y Agrupación
- Estructura de las bacterias
  - Envoltura y Apéndices
  - Cápsula
  - Pared
  - Membrana citoplasmática
  - Fimbrias y Pili
  - Flagelos
  - Esporas
  - Citoplasma
  - Nucleoide
- Clasificación bacteriana
  - Criterios de clasificación bacteriana
- Guía de Estudio
- Referencias
- Referencias Figuras
- Referencias tablas

✓ CAPITULO 2 CULTIVO DE MICROORGANISMOS

- Cultivo de microorganismos
- Requerimientos nutritivos esenciales
- Fuentes de energía metabólica
  - Metabolismo de las bacterias
    - Fermentación
    - Respiración
    - Fotosíntesis
- Requerimientos nutricionales
  - Requerimientos de Carbono, Hidrógeno y Oxígeno
    - Carbono
    - Oxígeno
  - Necesidades de Nitrógeno, Fósforo y Azufre
  - Factores de Crecimiento
- Curva de crecimiento bacteriano
- Metabolismo microbiano
- Metabolismo de los no fermentadores
- Metabolismo fermentativo y oxidativo
  - Embder- Meyerhof-Parnas
  - Hexosa monofosfato
  - Entner-Doudoroff
- Guía de Estudio
- Referencias
- Referencias de figuras
- Referencias de tablas

- ✓ CAPITULO 3 BACILOS NO FERMENTADORES
  - Bacilos no fermentadores
  - Indicios tempranos de que un aislamiento desconocido es un no fermentador
    - Falta de evidencia de fermentación de la glucosa
    - Reacción positiva de citocromo oxidasa
    - Falta de desarrollo en agar MacConkey
  - Pruebas utilizadas para la identificación de los no fermentadores
    - Utilización de la glucosa
    - Motilidad
    - Producción de pigmento
    - Hidrólisis de la urea
    - Reducción de nitratos
    - Desnitrificación de nitratos y nitritos
    - Producción de indol
    - Dexcarboxilación
    - Hidrólisis de la Esculina
    - Coloración de Flagelos
      - Método de Leifson
      - Método de Ryu
      - Técnica de preparación en fresco
    - Morfología de Flagelos
  - Guía de Estudio
  - Referencias
  - Referencias Figuras
  - Referencias Tablas

✓ CAPITULO 4 FAMILIA PSEUDOMONADACEAE

- *Pseudomonas*
  - Fisiología y Estructura
- Grupo Fluorescente *Pseudomonas aeruginosa*
  - Fisiología y estructura
  - Estructura Antigénica
  - Factores de patogenicidad
  - Factores de virulencia
  - Inmunidad
  - Resistencia a antibióticos
  - Epidemiología
  - Enfermedades Clínicas
- Grupo no fluorescente
  - *P. stutzeri*
  - *P. mendocita*
- Pruebas diagnósticas del laboratorio
- Tratamiento, Prevención y Control
- Guía de Estudio
- Referencias
- Referencias Figuras
- Referencias Tablas

✓ CAPITULO 5 IDENTIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS NO FERMENTADORAS

- Pruebas diagnósticas de laboratorio
  - Muestra
  - Microscopia
  - Cultivo
  - Identificación
- Identificación de las especies más frecuentes
  - *Pseudomonas aeruginosa*
- Métodos de identificación que utilizan pruebas convencionales
- Enfoque práctico para la identificación de los no fermentadores
- Tratamiento, Prevención y Control
- Guía de Estudio
- Referencias
- Referencias Figuras
- Referencias Tablas

✓ CAPITULO 6 EQUIPOS CONVENCIONALES PARA IDENTIFICACIÓN DE LOS NO FERMENTADORES

- Equipos comerciales
  - Tubo Oxi/Ferm
  - API 20E
  - Sistema API 20NE
  - Sistema Remel N/F
  - Sistema Crystal Enteric/Nonfermenter
  - Sistema RapID NF Plusa
  - Sistema Biolog
- Sistema de identificación automáticos
  - Sistema Vitek Legacy
  - Sistema Microscan Walkaway-96, Walkaway-40 y Autoscan-4
- Guía de Estudio
- Referencias
- Referencias Figuras
- Referencias Tablas

A continuación se anexa el CD del manual elaborado en formato PDF.

Para la determinación de la utilidad de este recurso didáctico se evaluó contestando el mismo cuestionario referente al material didáctico en dos momentos, en el cual, la segunda aplicación se le agregaron preguntas en particular sobre el material didáctico (**ANEXO 2**) de los cuales de una población de 45 alumnos se descartaron 5 debido a que los cuestionarios tenían que estar apareados para poder realizar las comparaciones debidas así también como para obtener una evaluación del material didáctico.

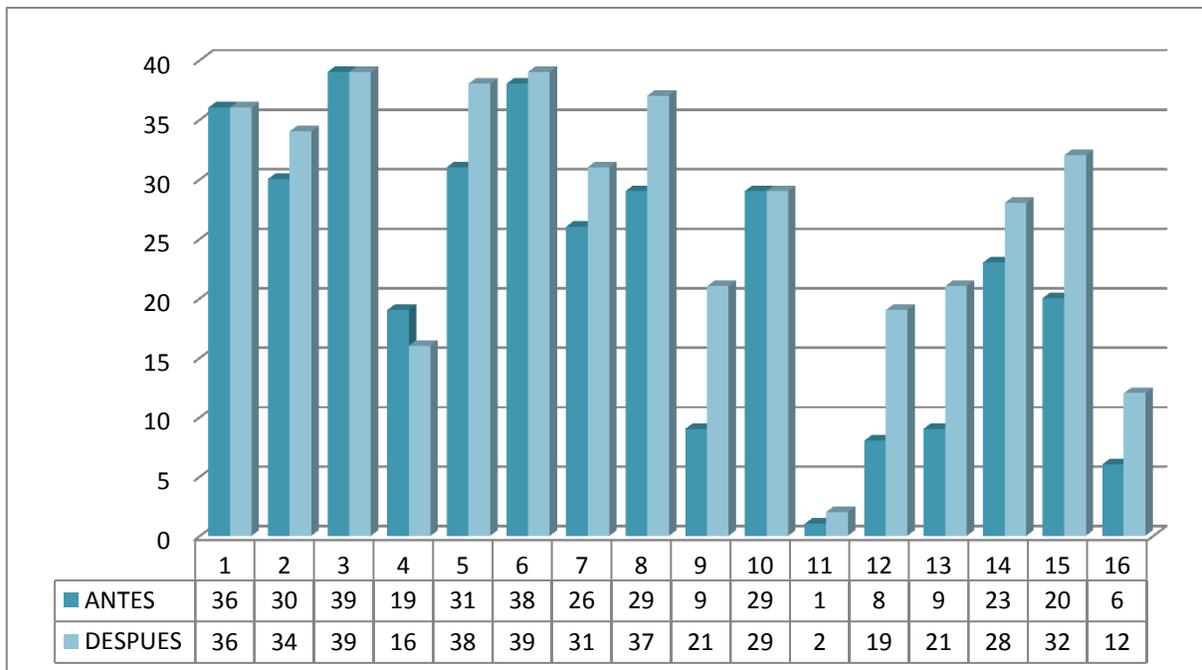


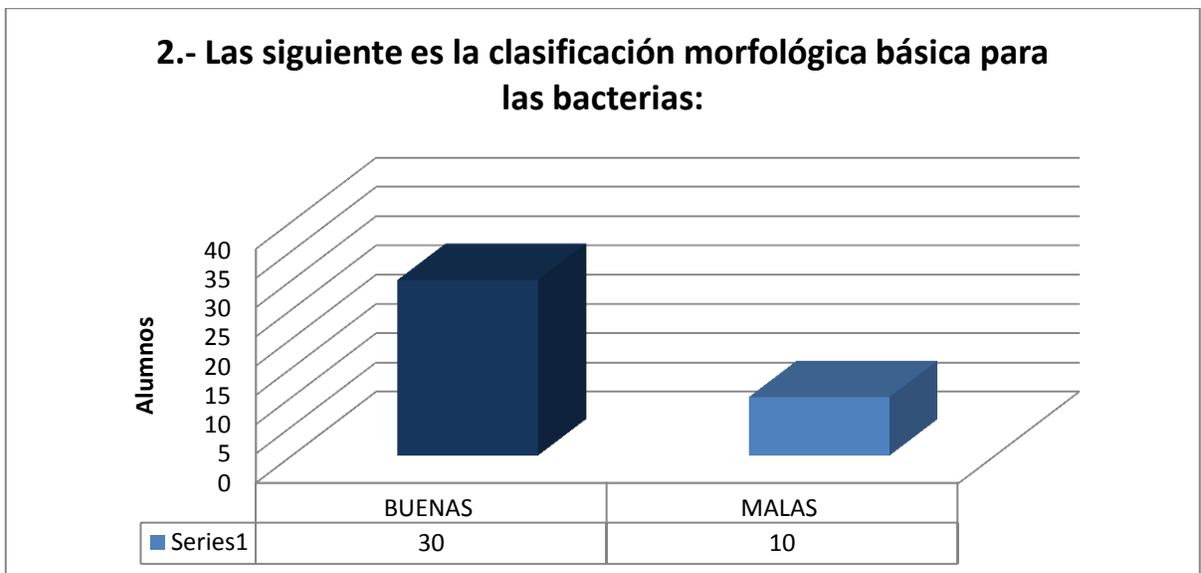
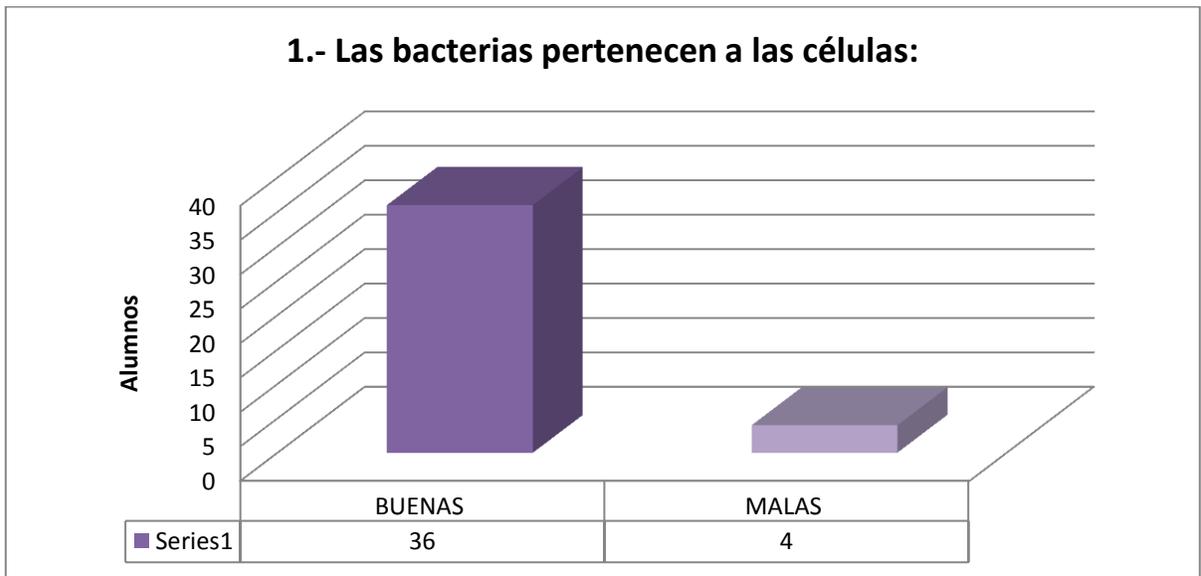
Figura. 1 Comparación del número de alumnos que contestan correctamente cada pregunta antes y después de consultar el material didáctico.

**TABLA 1.- Comparación del número de alumnos que contestan correctamente cada pregunta antes y después de consultar el material didáctico.**

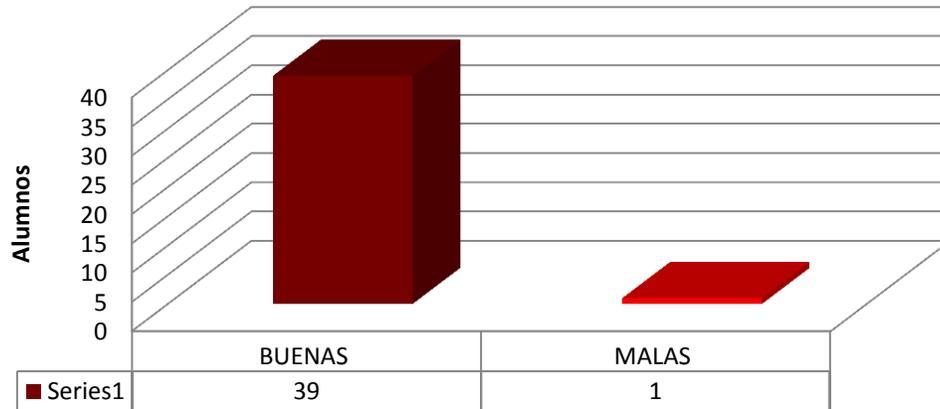
REACTIVOS	Número de Alumnos que contestaron correctamente		Índice de dificultad por pregunta	
	Antes	Después	Antes	Después
1	36	36	0.90	0.90
2	30	34	0.15	0.90
3	39	39	0.97	0.97
4	19	16	0.47	0.40
5	31	38	0.77	0.95
6	38	39	0.95	0.97
7	26	31	0.65	0.77
8	28	37	0.72	0.92
9	9	21	0.22	0.52
10	29	29	0.72	0.72
11	1	2	0.02	0.05
12	8	19	0.20	0.47
13	9	21	0.22	0.52
14	23	28	0.57	0.70
15	20	32	0.50	0.80
16	6	12	0.15	0.30

## Se presentan a continuación los resultados del instrumento A

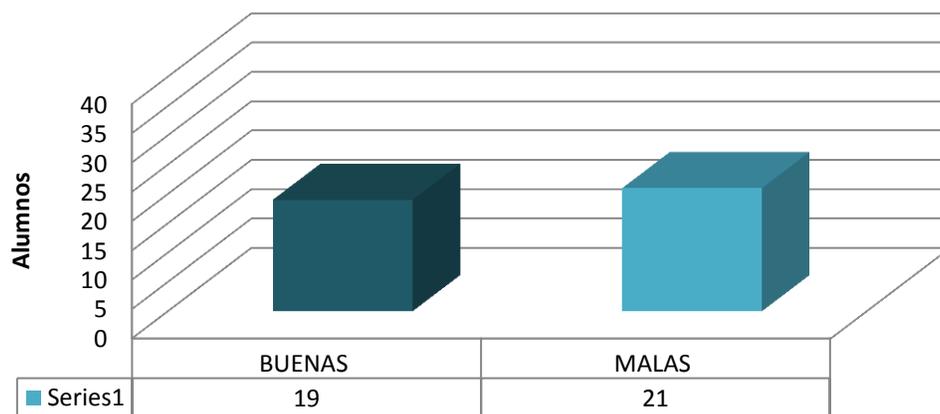
En cada figura se indica la pregunta y el número de alumnos que respondieron correcta o incorrectamente.



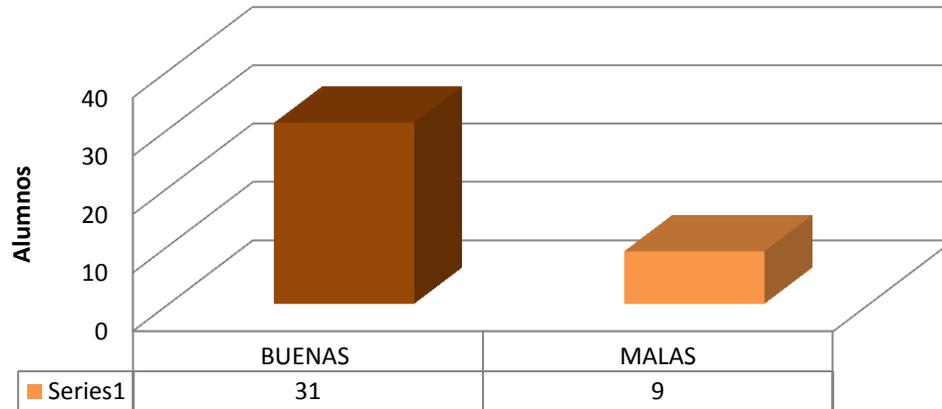
**3.- Los estafilococos pertenecen al grupo, de acuerdo a su morfología:**



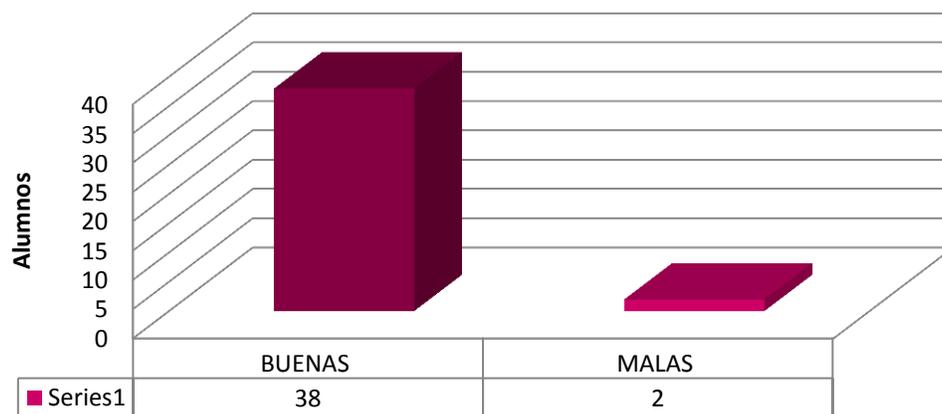
**4.- La pared celular de las bacterias gram negativas está compuesta por:**



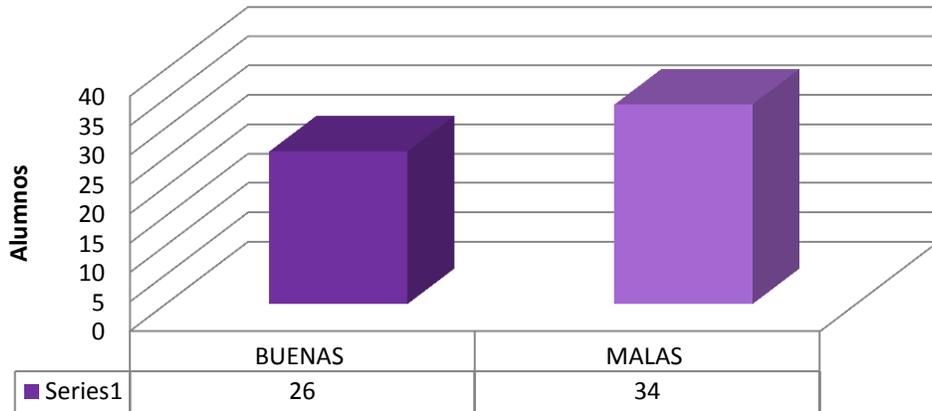
**5.- El grupo de bacterias que tienen flagelo alrededor de la célula se llaman:**



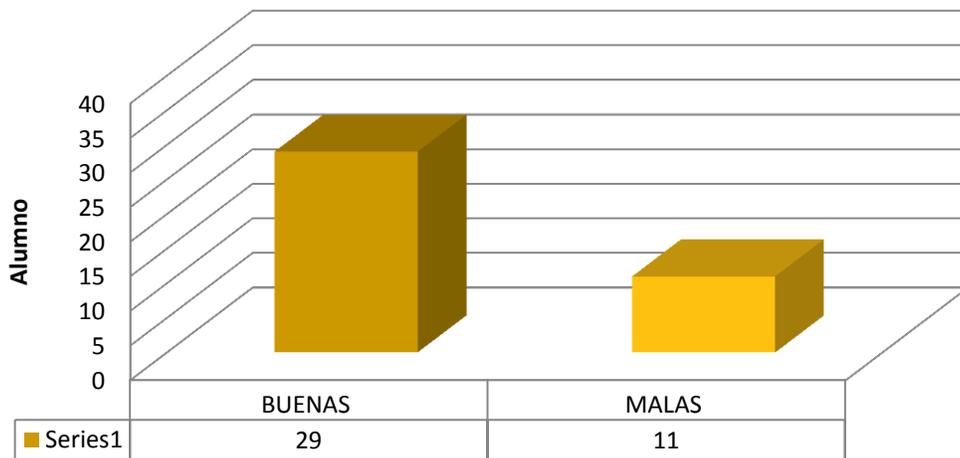
**6.- La tinción de Ziehl-Neelsen nos sirve para identificar algunos tipos de:**



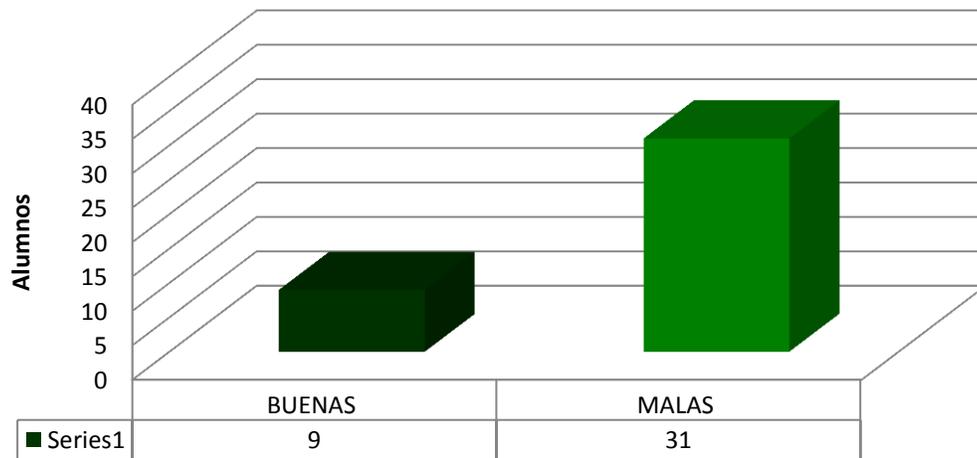
**7.- Los factores que se deben de controlar durante el crecimiento bacteriano son:**



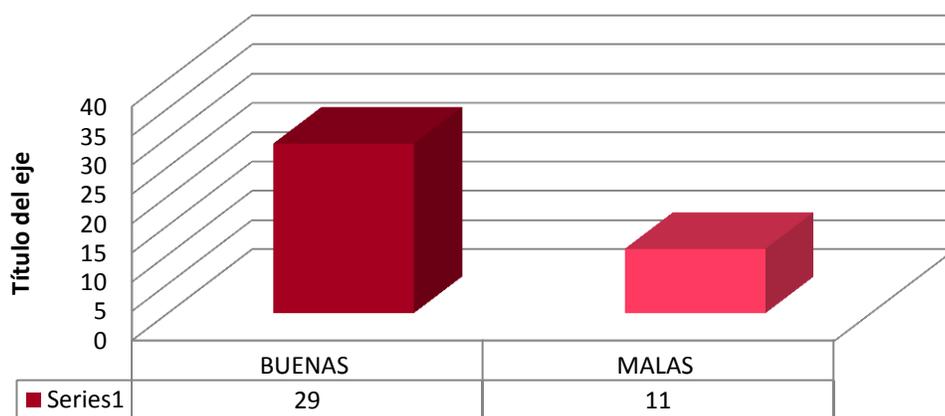
**8.- El género *Pseudomonas* son bacilos:**



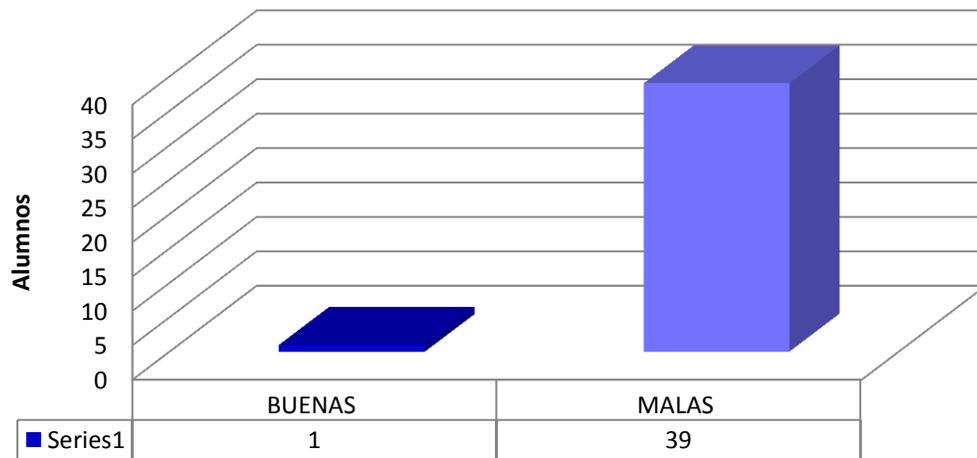
**9.- *Pseudomonas aeruginosa* pertenece al grupo:**



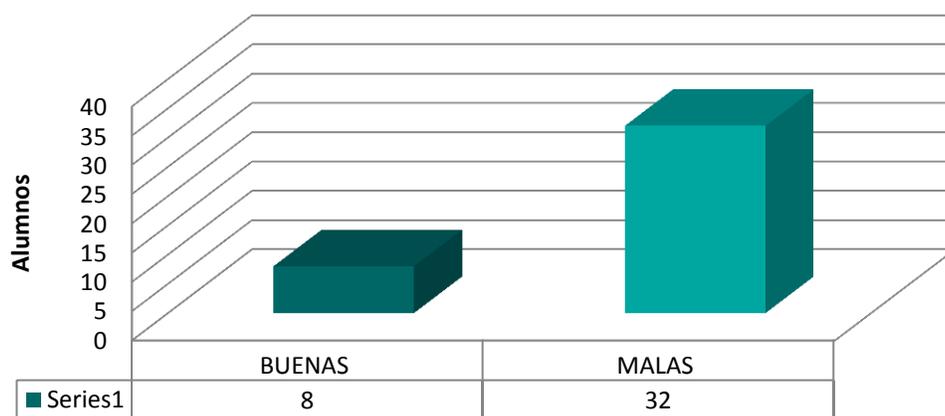
**10.- La curva típica de proliferación se puede describir en etapas las cuales son**



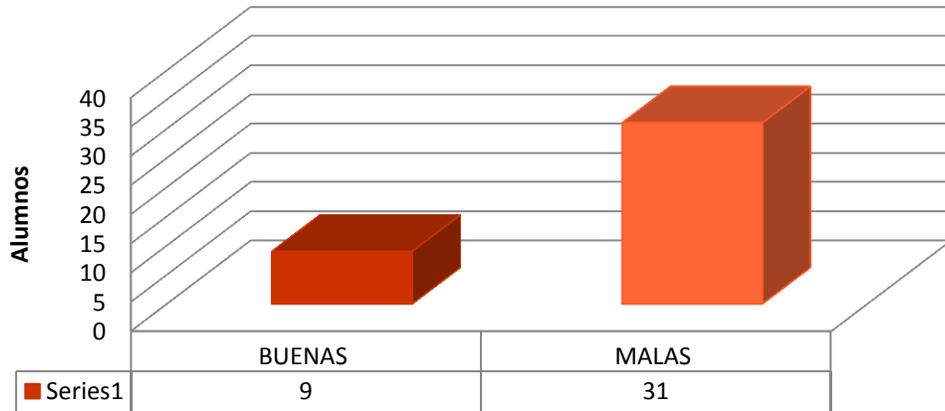
**11.-*Pseudomonas aeruginosa* produce un pigmento llamado:**



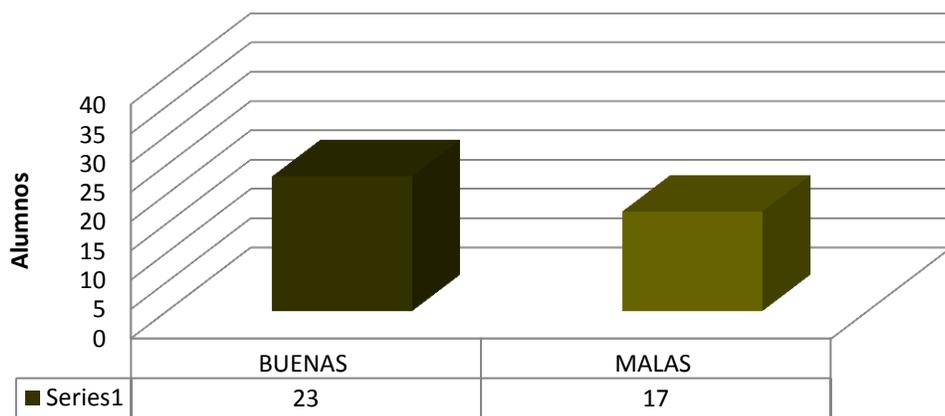
**12.- La bacteria *Pseudomonas aeruginosa* que tipo de hemolisis presenta:**



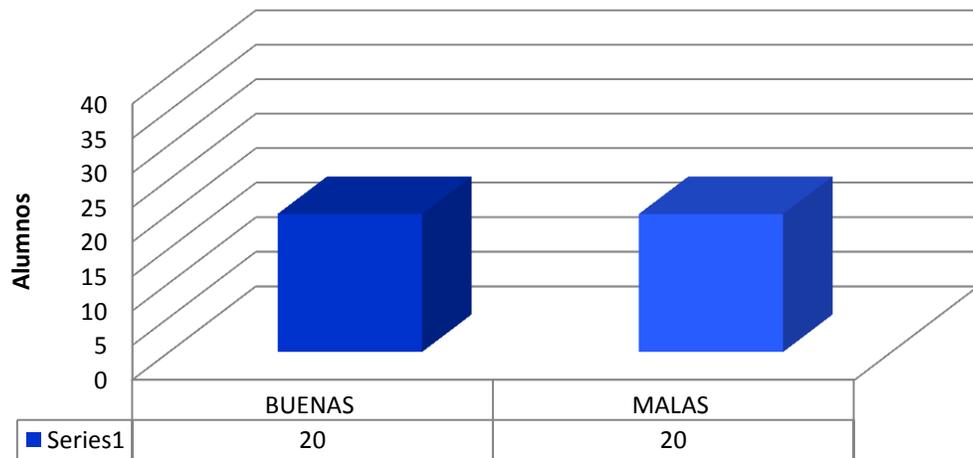
**13.- En función a la necesidad de oxígeno *Pseudomonas aeruginosa* a qué grupo pertenece**



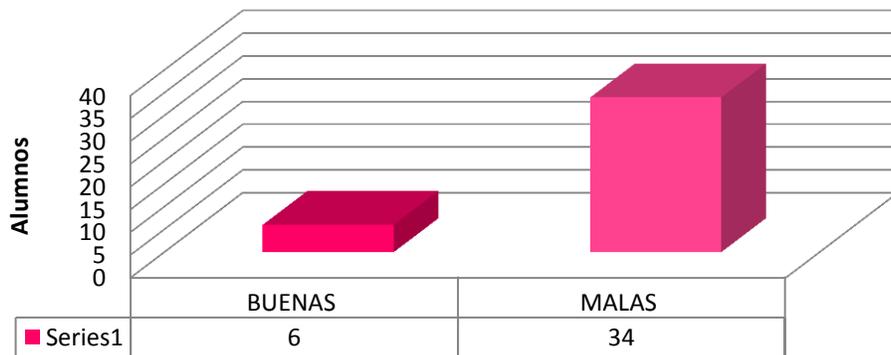
**14.- Cuál es el primer no fermentador hallado con más frecuencia en los laboratorios clínicos:**



15.- Que vía metabólica utiliza la *Pseudomonas aeruginosa*:

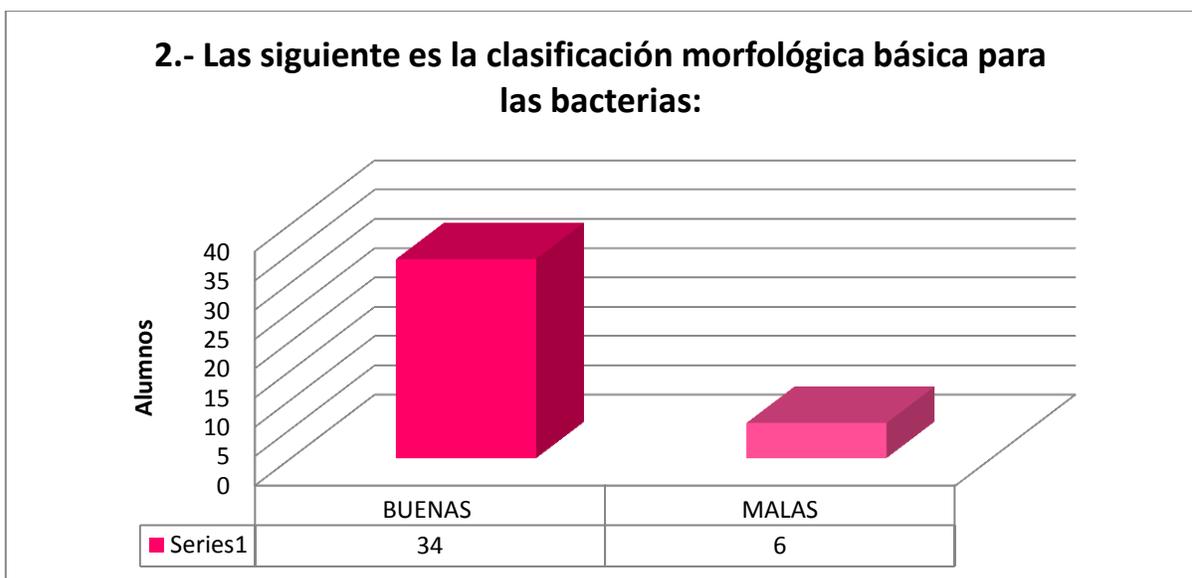
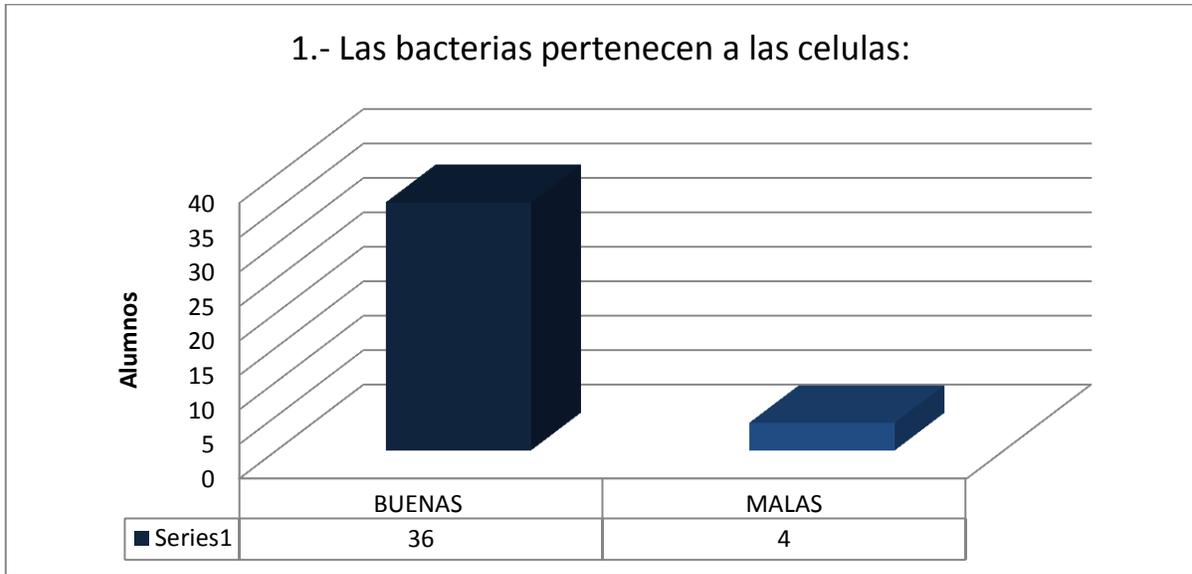


16.-Son factores de virulencia del género *Pseudomonas* EXCEPTO

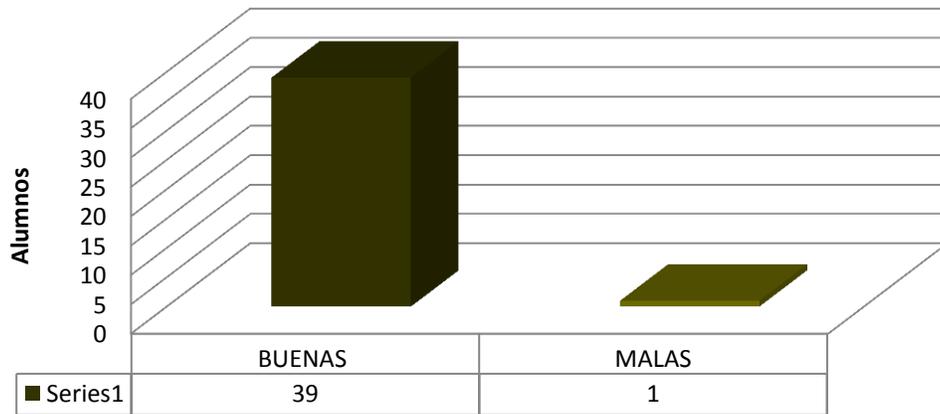


**Se presentan a continuación los resultados del instrumento B**

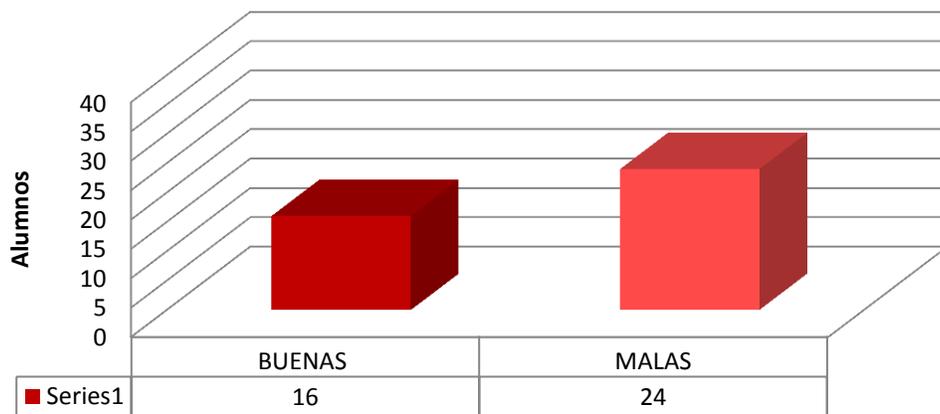
En cada figura se indica la pregunta y el número de alumnos que respondieron correcta o incorrectamente.



**3.- Los estafilococos pertenecen al grupo, de acuerdo a su morfología:**



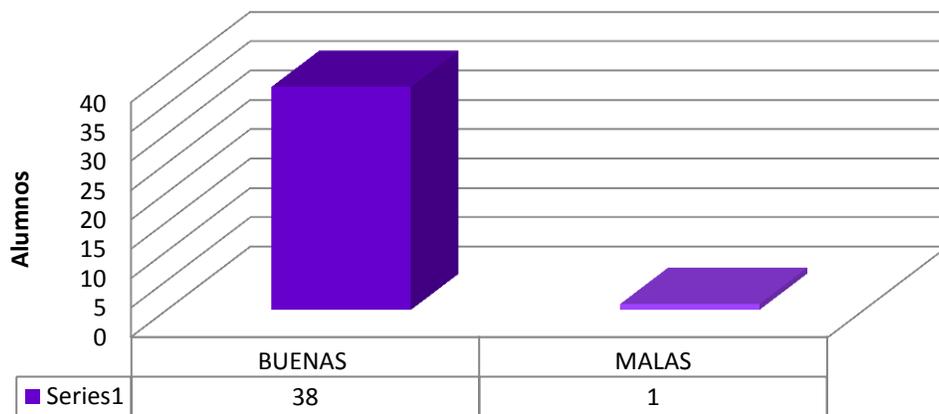
**4.- La pared celular de las bacterias gram negativas está compuesta por:**



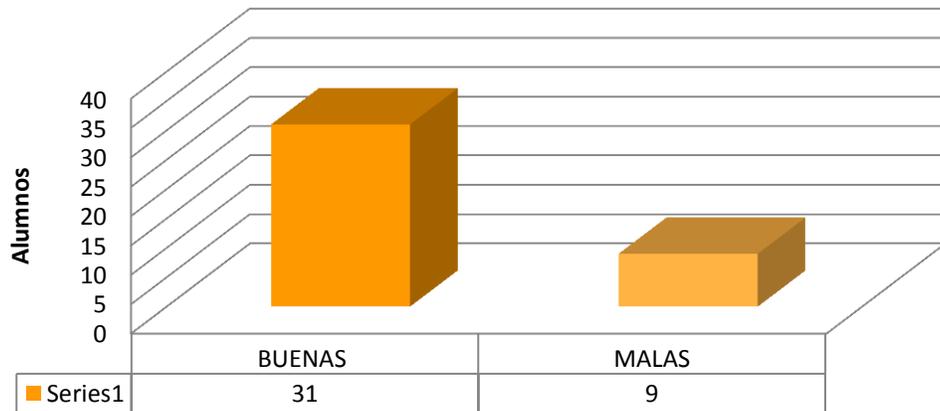
**5.- El grupo de bacterias que tienen flagelo alrededor de la célula se llaman:**



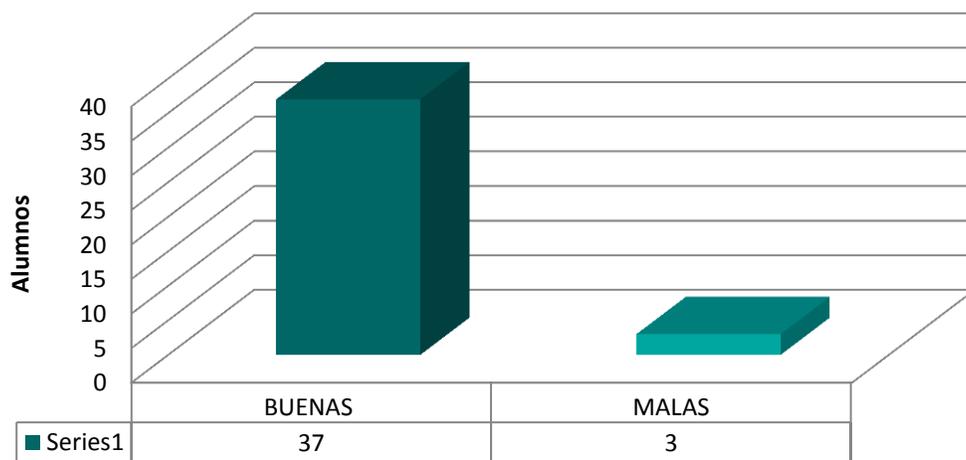
**6.- La tinción de Ziehl-Neelsen nos sirve para identificar algunos tipos de:**



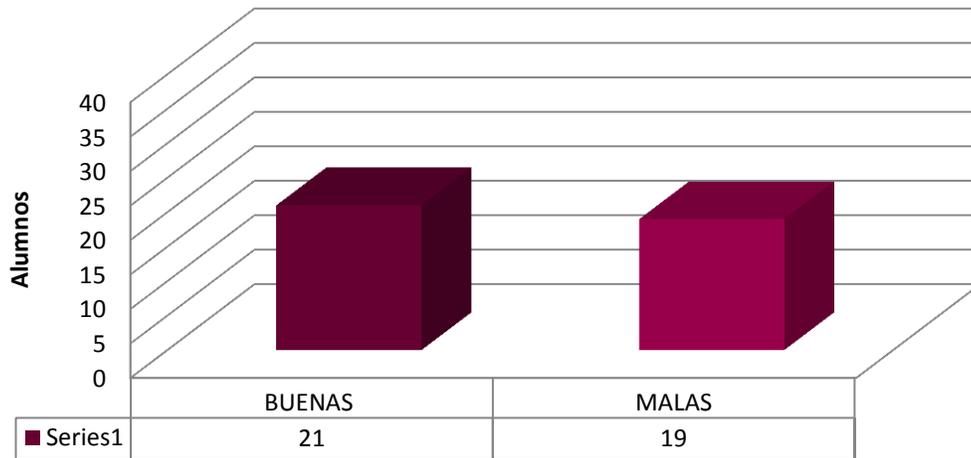
**7.- Los factores que se deben de controlar durante el crecimiento bacteriano son:**



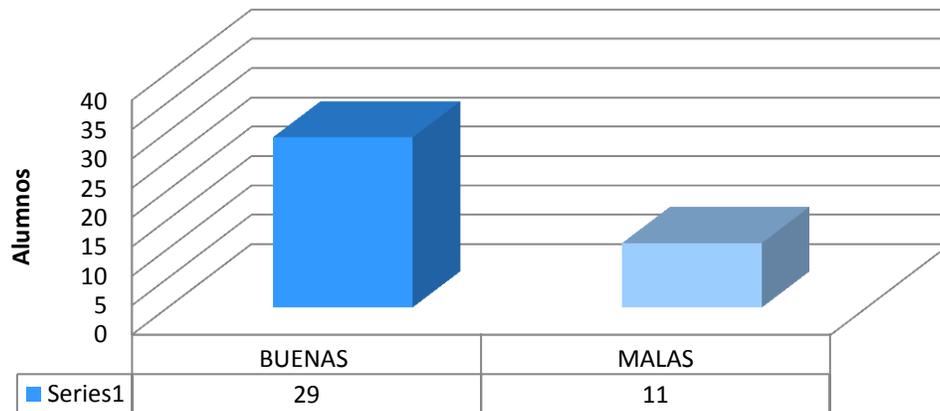
**8.- El género *Pseudomonas* son bacilos:**



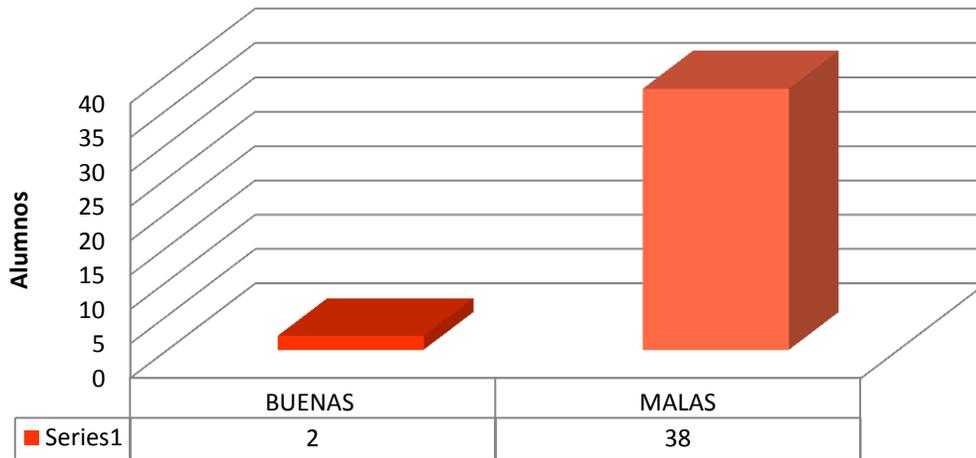
**9.- *Pseudomonas aeruginosa* pertenece al grupo:**



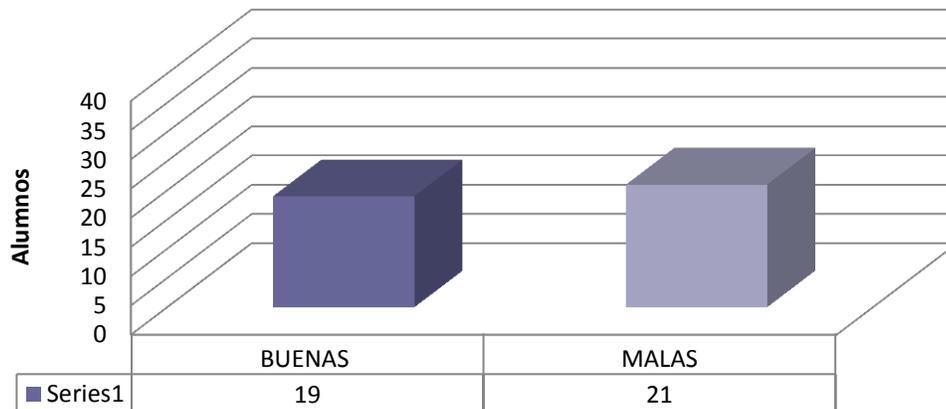
**10.- La curva típica de proliferación se puede describir en etapas las cuales son:**



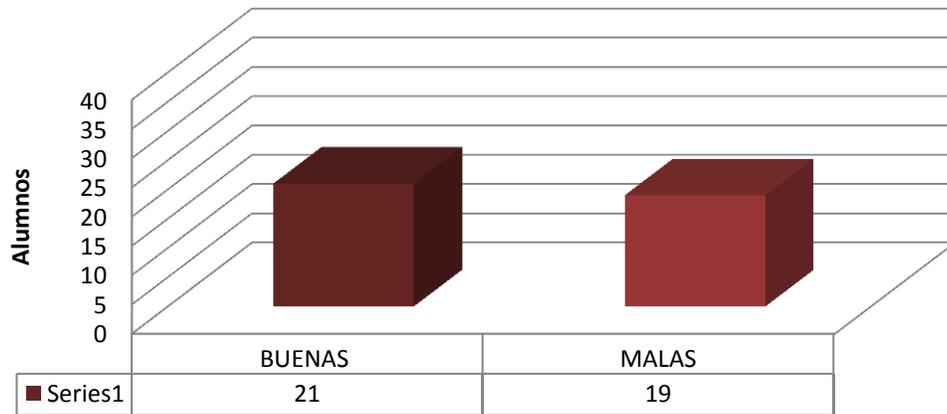
**11.-*Pseudomonas aeruginosa* produce un pigmento llamado:**



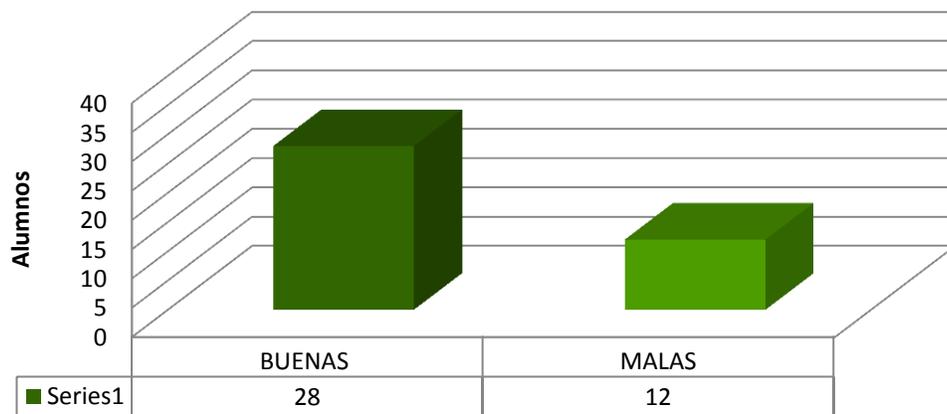
**12.- La bacteria *Pseudomonas aeruginosa* que tipo de hemolisis presenta:**



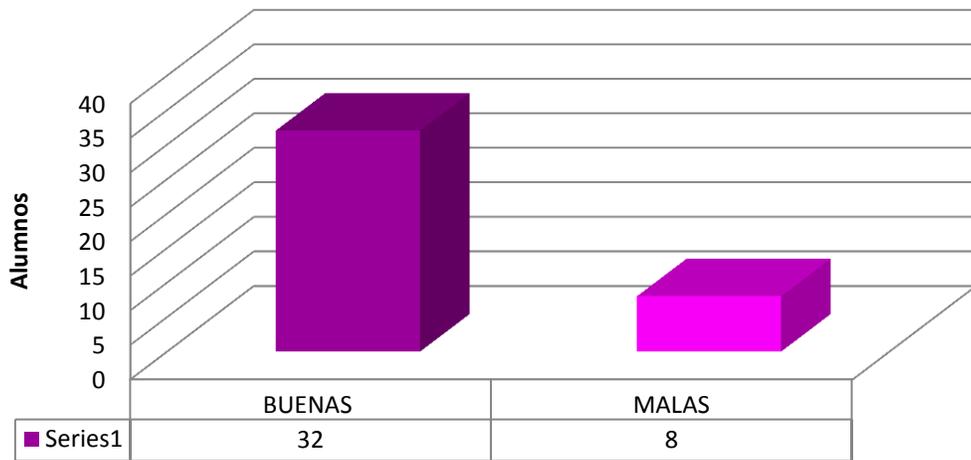
**13.- En función a la necesidad de oxígeno *Pseudomonas aeruginosa* a qué grupo pertenece:**



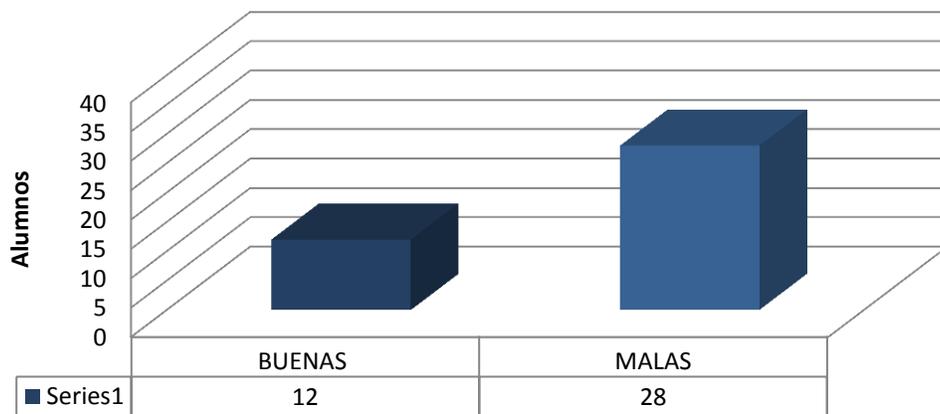
**14.-Cuál es el primer no fermentador hallado con más frecuencia en los laboratorios clínicos:**



**15.- Que vía metabólica utiliza la *Pseudomonas aeruginosa*.**

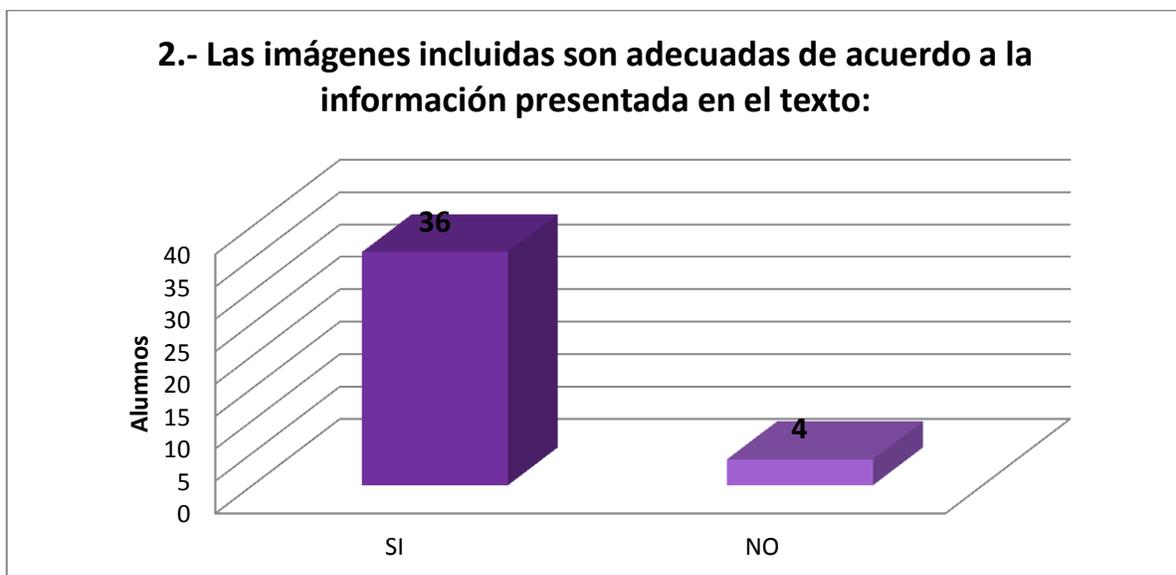
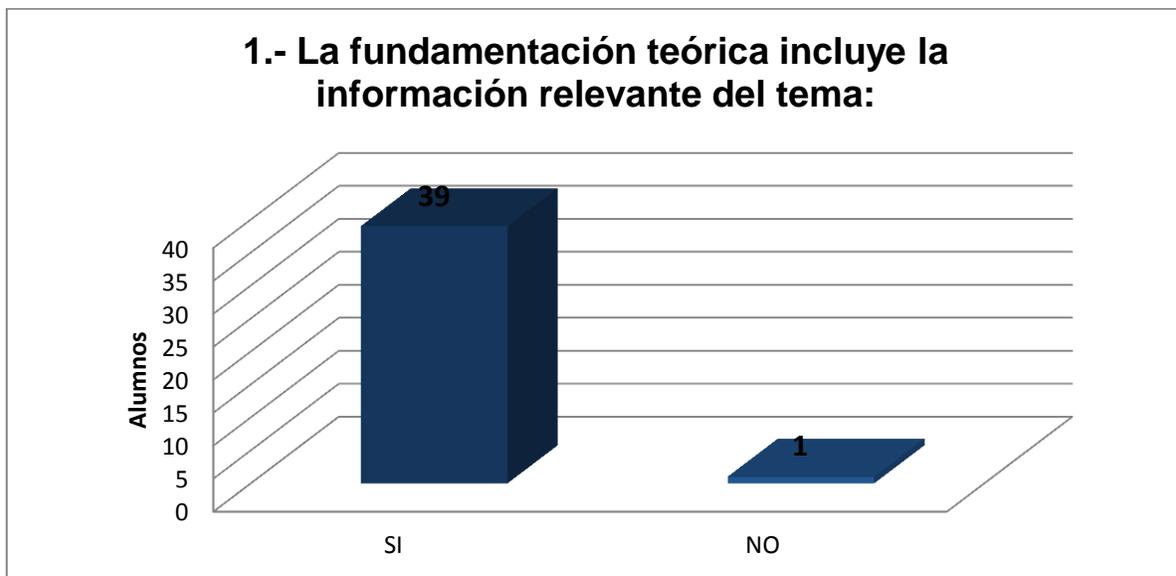


**16.-Son factores de virulencia del género *Pseudomonas* EXCEPTO:**

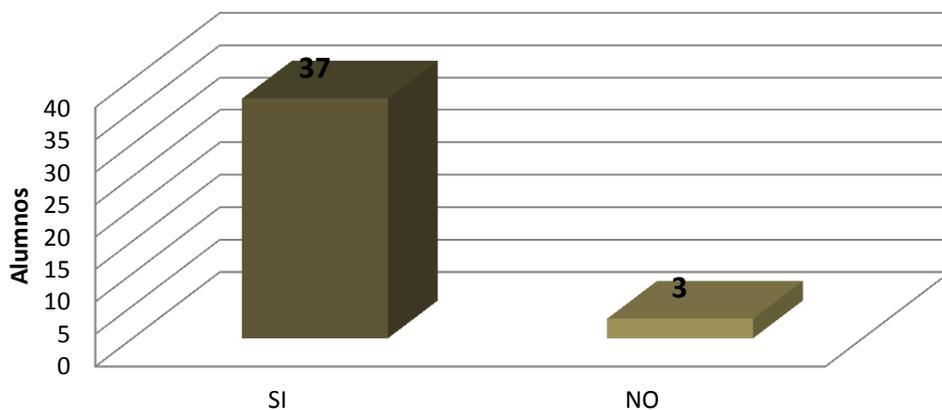


Se presentan a continuación los resultados del instrumento C.

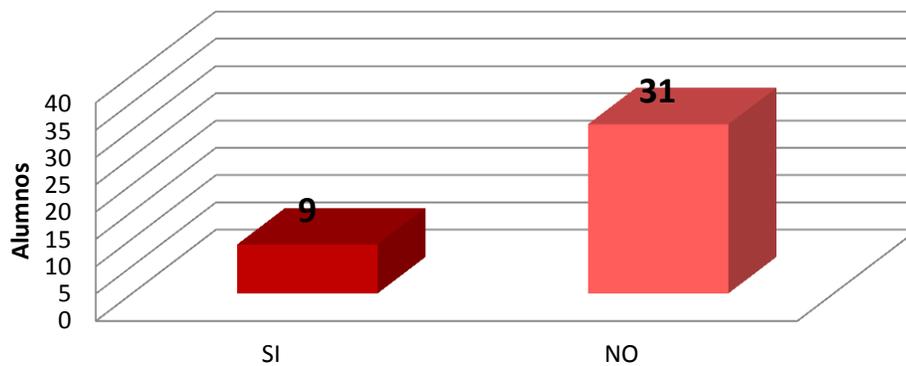
En cada figura se indica la pregunta y las respuestas dadas por los alumnos.



**3.-La distribución de la información esta presentada de forma adecuada, además de que es de interés:**

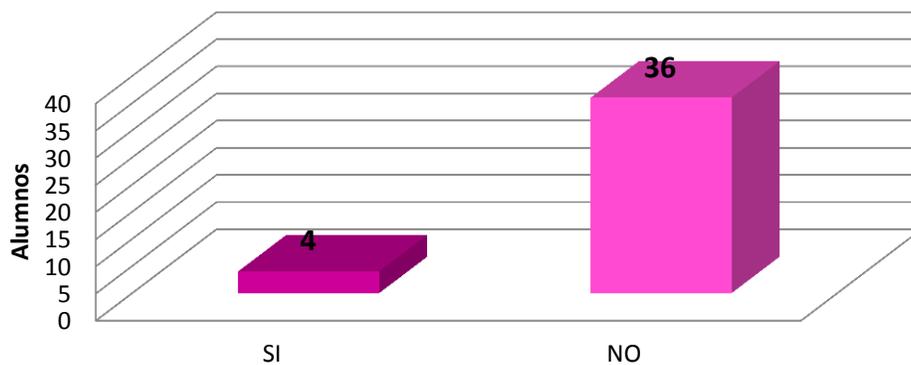


**4.- Considera que el material didáctico requiere alguna modificación en alguno de sus capítulos:  
-Si su respuesta fue si ¿Mencione cual?:**



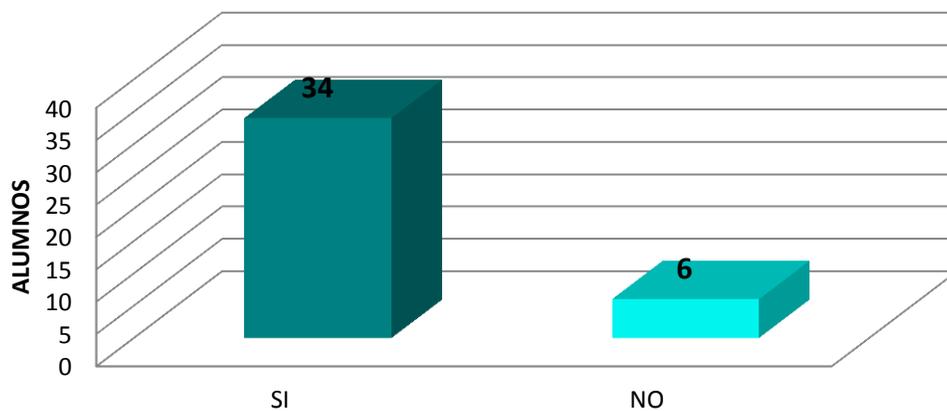
Criterios cualitativos que indicaban los alumnos cuando su respuesta fue SI	
Mejorar imágenes	1
Modificar capítulos	1
Formato de presentación y color	5
Más información con respecto a los temas	2

**5.- Considera que el material debe de incluir algún otro tema de interés con respecto a las bacterias:  
-Si su respuesta fue si ¿Mencione en cuál?**



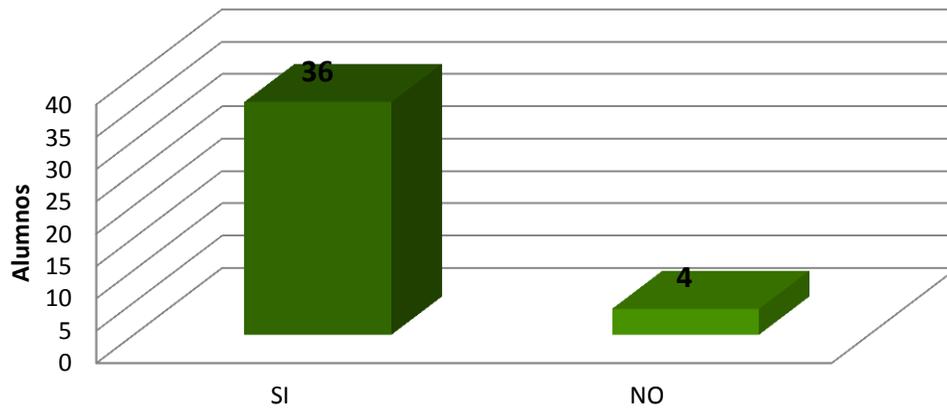
Criterios cualitativos que indicaban los alumnos cuando su respuesta fue SI	
Cultura General	1
Información sobre otros géneros	2
Artículos relacionados	1

**6.- Considera atractivo el contenido del material:  
-Si su respuesta fue Si ¿Mencione en cual?**

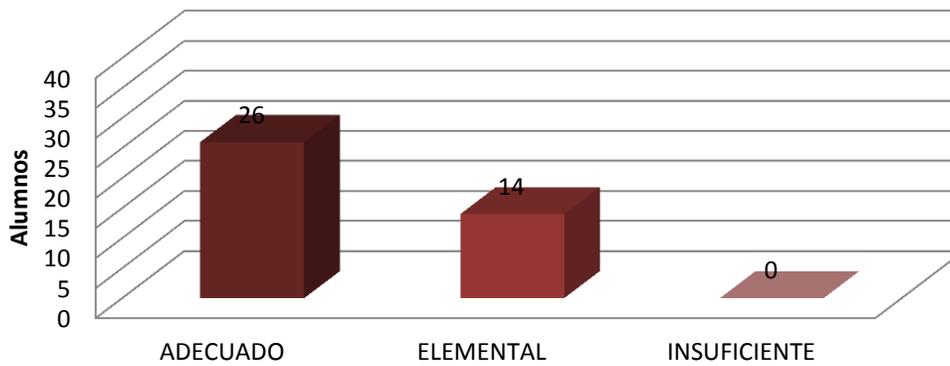


Criterios cualitativos que indicaban los alumnos cuando su respuesta fue SI	
Información General y Orden	26
Imágenes	7
Formato electrónico	1

**7.- Recomendarías este material para alumnos que cursan Microbiología General I:**



**8.- Señale el grado de utilidad que este material tuvo en su proceso de aprendizaje, como apoyo didáctico se esta asignatura:**



## ANÁLISIS ESTADÍSTICO INFERENCIAL

### Prueba t de Student.

#### Prueba de t de Student para datos asociados

	Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. (bilateral)		
	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia						
				Inferior	Superior					
Evaluación previa - Evaluación posterior			- 2.00000	2.67946	.42366	-2.85693	-1.14307	-4.721	39	.001

## PRUEBA DE HIPÓTESIS

Ho:  $\mu_A = \mu_B$  : Sig  $\geq 0.05$

Ha:  $\mu_A \neq \mu_B$  : Sig  $< 0.05$

Sig 0.001

Por lo tanto se rechaza  $H_0$ , las medias son diferentes.

#### Estadísticos de muestras relacionadas

		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	Evaluación previa	8.8500	40	2.05751	.32532
	Evaluación posterior	10.8500	40	2.31550	.36611

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se realizó el material didáctico introducción a las bacterias del género *Pseudomonas* el cual cuenta con seis capítulos distribuidos de la siguiente manera: Capítulo I Introducción a las bacterias, Capítulo II Cultivo de microorganismos, Capítulo III Bacilos no fermentadores, Capítulo IV Familia Pseudomonadaceae, Capítulo V Identificación de las bacterias no Fermentadoras y Capítulo VI Equipos comerciales para identificar a los no fermentadores.

Con el fin de acercar un poco más a los alumnos al tema debido a que el género *Pseudomonas* aunque no está marcado explícitamente en el programa de la materia de Microbiología general I, es una bacteria que se estudia tanto en el laboratorio (tinciones, pruebas bioquímicas, antisépticos, desinfectantes y antibióticos). Debido a resistencia a los antibióticos, desinfectantes y antisépticos, es la bacteria que con más frecuencia se aísla en infecciones nosocomiales, temas que si están marcados en el programa en clase de teoría.

Además incluye otros temas sobre las bacterias como su anatomía y fisiología, estructura, clasificación además de su metabolismo y requerimientos para su crecimiento, temas que si se contemplan de manera explícita en el programa del módulo de Microbiología General I. Razón por la cual es útil e importante el haber elaborado este material como apoyo para el módulo en cuestión.

Para la determinación de la utilidad de este recurso didáctico se evaluó contestando el mismo cuestionario referente al material didáctico en dos momentos, en el cual, la segunda aplicación se le agregaron preguntas en particular sobre el material didáctico, de las cuales se obtuvieron los siguientes resultados: En la figura número uno se realizó una comparación del número de respuestas correctas al aplicar el instrumento A y B a 40 alumnos en donde se puede apreciar que hubo un incremento en el número de respuestas acertadamente después de haber consultado el material didáctico.

Se realizó la comparación del número de alumnos que contestan correctamente cada pregunta antes y después de consultar el material didáctico. En estas graficas se puede observar con más claridad el aprendizaje de los alumnos. Se obtuvo el índice de dificultad para cada pregunta por lo que comprobamos que de las dieciséis preguntas hubo preguntas que para los alumnos tenían un grado de dificultad muy alta como es el caso de la pregunta 11 (*Pseudomonas aeruginosa* produce un pigmento llamado?) el cual tuvo un índice de dificultad antes de 0.02 y después de 0.05 con esto podemos decir que la pregunta fue difícil para los alumnos.

Con esta comparación de las preguntas pudimos observar un ligero cambio del antes y después, esto no quiere decir que los alumnos no tuvieron un aprendizaje o que el material didáctico no les sirviera si no que este grupo de alumnos tenía muchas actividades entre ellas exámenes finales y otros materiales didácticos que leer así como cuestionarios que contestar por lo que el aprendizaje del material didáctico era una carga más a su trabajo semestral, y no es lo mismo tener solo la carga semestral donde el alumno se dedica solo a sus actividades del semestre, a tener actividades adicionales, esto no indica que el material no fue de ayuda al módulo de microbiología general I, debido a que muchas cosas que ellos ven en la materia de vienen incluidas dentro del material didáctico.

Con respecto al material didáctico se realizó un cuestionario para su evaluación, donde se obtuvieron los siguientes resultados:

- 39 alumnos contestaron que la información teórica incluye la información relevante al tema
- 36 alumnos contestaron que las imágenes incluidas son adecuadas a la información en el texto
- 37 contestaron que la distribución de la información está presente de forma adecuada además que es de interés,
- 9 alumnos consideraron que el material requeriría de algunas reestructuraciones entre esas modificaciones se mencionaba mejorar las imágenes, modificar capítulos, el formato de la presentación, color y más información con respecto a otros temas

- 4 alumnos contestaron que el material debería incluir otros temas de interés con respecto a las bacterias, más cultura general, información sobre otros géneros y artículos relacionados
- 34 alumnos consideraron atractivo el contenido del material por su información general y orden, sus imágenes y porque el trabajo estaba en formato electrónico.
- 36 alumnos recomendarían el material.
- De acuerdo a su grado de utilización en su proceso de aprendizaje como apoyo didáctico a la asignatura 26 alumnos contestaron que era adecuado, 14 elemental y a ningún alumno le fue insuficiente.

Se realizó el análisis estadístico en el cual la diferencia de medias usando la t de student indica que si hay una diferencia significativa de 0.0001 en la población entre el antes y el después con una confiabilidad del 95 %, lo cual indica que si hay una diferencia significativa en el tipo de respuestas que dan los alumnos con respecto al uso del material didáctico contestando el mismo instrumento en dos momentos, antes de y después de consultar el material didáctico, lo anterior también se observa de manera gráfica en la estadística descriptiva realizada, lo anterior indica la pertinencia y utilidad del material evaluado.

## CONCLUSIONES

- La elaboración de este material didáctico se llevó a cabo con la finalidad de apoyar la formación profesional de los alumnos de la FES Zaragoza de la carrera de Q.F.B de la asignatura de Microbiología general I en un tema en particular, proporcionando un apoyo durante el semestre.
- Podemos concluir que se cumplieron los objetivos y se elaboró el material didáctico denominado "Introducción a las bacterias del género *Pseudomonas*" el cual va a ser de utilidad para los alumnos de Microbiología general I, por otro lado se logró evaluar la utilidad de este como apoyo a las actividades académicas y se analizaron los resultados obtenidos, estos proporcionaron después de su lectura un incremento en su aprendizaje, lo cual nos da a entender que el material fue de utilidad para los alumnos.
- El material didáctico se presenta en formato PDF electrónico lo que lo hace más atractivo y fácil para su aprendizaje. Podemos concluir que este material didáctico ayudara a los alumnos no solo de QFB también de otras carreras del área biológicas a su aprendizaje debido a que la información mencionada abarca de manera general a las bacterias.
- Por lo cual se espera que no solo quede como una tesis de titulación si no que sirva como apoyo en la materia de Microbiología general I del sexto semestre de la carrera de QFB.

# **Anexo 1**

## **Consentimiento informado**



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA**



**CARRERA QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA**

**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Fecha: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Yo \_\_\_\_\_ alumno de la carrera de Química Farmacéutico Biológica autorizo participar en la investigación: “Evaluación del material didáctico “Bacterias no fermentadoras” aplicada en alumnos de 6º semestre de Química Farmacéutica Biológica FES Zaragoza de la UNAM., la cual es realizada por la pasante Carolina Martínez Ayala.

Así mismo autorizo que la información contenida en el cuestionario aplicado sea utilizada para los fines que convengan a dicha investigación.

\_\_\_\_\_

Firma del alumno participante

# **Anexo 2**

## **Instrumentos para la evaluación**



## Cuestionario A

### Instrumento para la evaluación del material didáctico:

“Introducción a las bacterias del género *Pseudomonas*”

Nombre del alumno: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

**INSTRUCCIONES:** Lea con atención las siguientes preguntas y conteste completo el cuestionario.

Es la primera vez que cursa el módulo de Microbiología General I. Si ( ) No ( )

1. ( ) Las bacterias pertenecen a las células:
  - a) Células Procariotas
  - b) Células Eucariotas
  - c) Reino fungí
  - d) Ninguna de las anteriores
  - e) No lo se
  
2. ( ) La siguiente es la clasificación morfológica básica para la bacterias:
  - a) Espirilos, Vibriones y Cocos
  - b) Cocos, Bacilos, Espirilos y Vibriones
  - c) Bacilos, Espirilos, Estafilococos y Diplococos
  - d) Cocos, Diplococos, Vibriones y Estreptococos
  - e) No lo se
  
3. ( ) Los estafilococos pertenecen al grupo , de acuerdo a su morfología:
  - a) Cocos
  - b) Bacilos
  - c) Espirilos
  - d) Vibriones
  - e) No lo se
  
4. ( ) La pared celular de las bacterias Gramnegativas está compuesta por:
  - a) Ac Lipoteicoico y Membrana citoplasmática.
  - b) Membrana externa, peptidoglucano y membrana citoplasmática.
  - c) Espacio peri plasmático, Membrana plasmática y peptidoglucanos
  - d) Membrana plasmática y peptidoglucanos (Ac. Teicoico y Ac. Lipoteicoico)
  - e) No lo se



**Instrumento para la evaluación del material didáctico:**

“Introducción a las bacterias del género *Pseudomonas*”

5. ( ) El grupo de bacterias que tienen flagelos alrededor de la célula se llaman:
- a) Atricas
  - b) Anfitricas
  - c) Peritricas
  - d) Lofotricas
  - e) No lo se
6. ( ) La tinción de Ziehl-Neelsen nos sirve para identificar algunos tipos de:
- a) Virus
  - b) Hongos
  - c) Bacterias
  - d) Protozoarios
  - e) No lo se
7. ( ) Los factores que se deben de controlar durante el crecimiento bacteriano son:
- a) pH, temperatura y concentración de sales.
  - b) Nutrientos, pH, temperatura y aireación
  - c) pH, aireación, concentración de sales, potencial iónico.
  - d) Nutrientos, pH, aireación, temperatura concentración iónica y presión osmótica.
  - e) No lo se
8. ( ) El género *Pseudomonas* son bacilos:
- a) Gram positivos
  - b) Gram negativos
  - c) BAAR positivas
  - d) Ninguna de las anteriores
  - e) No lo se



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA



**Instrumento para la evaluación del material didáctico:**

“Introducción a las bacterias del género *Pseudomonas*”

9. ( ) *Pseudomonas aeruginosa* pertenece al grupo:
- a) Fluorescente
  - b) No fluorescente
  - c) Grupo III de la clasificación de las *Pseudomonas*
  - d) Ninguna de las anteriores
  - e) No lo se
10. ( ) La curva típica de proliferación se puede describir en etapas las cuales son:
- a) Estacionaria y Latente
  - b) Latente, Exponencial y Muerte
  - c) Muerte, Estacionaria máxima y latente
  - d) Latente, Exponencial, Estacionaria máxima y muerte.
  - e) No lo se
11. ( ) *Pseudomonas aeruginosa* produce un pigmento llamado:
- a) Píocianina, Píomelanina
  - b) Píoverdina, Píomelanina
  - c) Ninguna de los anteriores
  - d) Píoverdina, Píocianina, Píorrubina y Píomelanina
  - e) No lo se
12. ( ) La bacteria *Pseudomonas aeruginosa* que tipo de hemólisis presenta:
- a) Alfa hemólisis
  - b) Beta hemólisis
  - c) Alfa y beta hemólisis
  - d) Ninguna de las anteriores
  - e) No lo se



**Instrumento para la evaluación del material didáctico:**

“Introducción a las bacterias del género *Pseudomonas*”

13. ( ) En función a la necesidad del oxígeno la *Pseudomonas aeruginosa* a qué grupo pertenece:

- a) Anaerobias estrictas
- b) Anaerobias aerotolerantes
- c) Anaerobias facultativas
- d) Aerobias estrictas
- e) Microaerofílicas

14. ( ) ¿Cuál es el primer no fermentador hallado con más frecuencia en los laboratorios clínicos?:

- a) *Acinetobacter baumannii*
- b) *Pseudomonas aeruginosa*
- c) *Stenotrophomonas maltophilia*
- d) *Methylobacterium aminovorans*
- e) No lo se

15. ( ) ¿Qué vía metabólica utiliza la *Pseudomonas aeruginosa*?:

- a) Enter-Doudoroff
- b) Emden-Meyerhof
- c) Hexosa monofosfato de Warburg-dickens
- d) Ninguna de las anteriores
- e) No lo se



## Cuestionario B

### Instrumento para la evaluación del material didáctico:

“Introducción a las bacterias del género *Pseudomonas*”

Nombre del alumno: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

**INSTRUCCIONES:** Lea con atención las siguientes preguntas y conteste completo el cuestionario.  
Es la primera vez que cursa el módulo de Microbiología General I. Si ( ) No ( )

1. ( ) Las bacterias pertenecen a las células:
  - a) Células Procariotas
  - b) Células Eucariotas
  - c) Reino fungí
  - d) Ninguna de las anteriores
  - e) No lo se
  
2. ( ) La siguiente es la clasificación morfológica básica para la bacterias:
  - a) Espirilos, Vibriones y Cocos
  - b) Cocos, Bacilos, Espirilos y Vibriones
  - c) Bacilos, Espirilos, Estafilococos y Diplococos
  - d) Cocos, Diplococos, Vibriones y Estreptococos
  - e) No lo se
  
3. ( ) Los estafilococos pertenece al grupo , de acuerdo a su morfología:
  - a) Cocos
  - b) Bacilos
  - c) Espirilos
  - d) Vibriones
  - e) No lo se
  
4. ( ) La pared celular de las bacterias Gramnegativas está compuesta por:
  - a) Ac Lipoteicoico y Membrana citoplasmática.
  - b) Membrana externa, peptidoglucano y membrana citoplasmática.
  - c) Espacio peri plasmático, Membrana plasmática y peptidoglucanos
  - d) Membrana plasmática y peptidoglucanos (Ac. Teicoico y Ac. Lipoteicoico)
  - e) No lo se



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA



**Instrumento para la evaluación del material didáctico:**

“Introducción a las bacterias del género *Pseudomonas*”

5. ( ) El grupo de bacterias que tienen flagelos alrededor de la célula se llaman:
- a) Átricas
  - b) Anfitricas
  - c) Peritricas
  - d) Lofotricas
  - e) No lo se
6. ( ) La tinción de Ziehl-Neelsen nos sirve para identificar algunos tipos de:
- a) Virus
  - b) Hongos
  - c) Bacterias
  - d) Protozoarios
  - e) No lo se
7. ( ) Los factores que se deben de controlar durante el crecimiento bacteriano son:
- a) pH, temperatura y concentración de sales.
  - b) Nutrientos, pH, temperatura y aireación
  - c) pH, aireación, concentración de sales, potencial iónico.
  - d) Nutrientos, pH, aireación, temperatura concentración iónica y presión osmótica.
  - e) No lo se
8. ( ) El género *Pseudomonas* son bacilos:
- a) Gram positivos
  - b) Gram negativos
  - c) BAAR positivas
  - d) Ninguna de las anteriores
  - e) No lo se



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA



**Instrumento para la evaluación del material didáctico:**

“Introducción a las bacterias del género *Pseudomonas*”

9. ( ) *Pseudomonas aeruginosa* pertenece al grupo:
- a) Fluorescente
  - b) No fluorescente
  - c) Grupo III de la clasificación de las *Pseudomonas*
  - d) Ninguna de las anteriores
  - e) No lo se
10. ( ) La curva típica de proliferación se puede describir en etapas las cuales son:
- a) Estacionaria y Latente
  - b) Latente, Exponencial y Muerte
  - a) Muerte, Estacionaria máxima y latente
  - b) Latente, Exponencial, Estacionaria máxima y muerte.
  - c) No lo se
11. ( ) *Pseudomonas aeruginosa* produce un pigmento llamado:
- a) Píocianina, Píomelanina
  - b) Píoverdina, Píomelanina
  - c) Ninguna de los anteriores
  - d) Píoverdina, Píocianina, Píorrubina y Píomelanina
  - e) No lo se
12. ( ) La bacteria *Pseudomonas aeruginosa* que tipo de hemólisis presenta:
- a) Alfa hemólisis
  - b) Beta hemólisis
  - c) Alfa y beta hemólisis
  - d) Ninguna de las anteriores
  - e) No lo se



**Instrumento para la evaluación del material didáctico:**

“Introducción a las bacterias del género *Pseudomonas*”

13. ( ) En función a la necesidad del oxígeno la *Pseudomonas aeruginosa* a qué grupo pertenece:
- a) Anaerobias estrictas
  - b) Anaerobias aerotolerantes
  - c) Anaerobias facultativas
  - d) Aerobias estrictas
  - e) Microaerofílicas
14. ( ) ¿Cuál es el primer no fermentador hallado con más frecuencia en los laboratorios clínicos:
- a) *Acinetobacter baumannii*
  - b) *Pseudomonas aeruginosa*
  - c) *Stenotrophomonas maltophilia*
  - d) *Methylobacterium aminovorans*
  - e) No lo se
15. ( ) ¿Qué vía metabólica utiliza la *Pseudomonas aeruginosa*:
- a) Enter-Doudoroff
  - b) Emden-Meyerhof
  - c) Hexosa monofosfato de Warburg-dickens
  - d) Ninguna de las anteriores
  - e) No lo se



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA



**Instrumento para la evaluación del material didáctico:**

“Introducción a las bacterias del género *Pseudomonas*”

16. ( ) Son factores de virulencia del género *Pseudomonas* **EXCEPTO:**
- a) Pili
  - b) Alginato
  - c) Flagelos
  - d) Catalasa
  - e) No lo se
17. ( ) De acuerdo al material introducción a las bacterias del género *Pseudomonas* dibuje la curva típica de proliferación.



## Cuestionario c

### Instrumento para la evaluación del material didáctico:

“Introducción a las bacterias del género *Pseudomonas*”

Nombre del alumno: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

**INSTRUCCIONES:** Lea con atención las siguientes preguntas y conteste completo el cuestionario. Es la primera vez que cursa el módulo de Microbiología General I. Si ( ) No ( )

1. ¿La fundamentación teórica incluye la información relevante del tema?

Si ( ) No ( )

2. Consideras que el material didáctico requiere alguna modificación en alguno de sus capítulos

Si ( ) No ( )

Si su respuesta fue Si ¿Mencione en cuál?

3. Señale el grado de utilidad que este material tuvo en su proceso de aprendizaje, como apoyo didáctico de esta asignatura:

- a) Adecuado
- b) Elemental
- c) Insuficiente

4. Consideras que el material debe de incluir algún otro tema de interés con respecto a las bacterias

Si ( ) No ( )

Si su respuesta fue Si ¿Mencione en cuál?

5. Considera atractivo el contenido del material:

Si ( ) No ( )

Si su respuesta fue Si ¿Mencione en cuál?

6. Recomendarías este material didáctico

Si ( ) No ( )

## REFERENCIAS

### Referencias Electrónicas

1. Montiel, rosario, Genética Escolar [en línea], México, Blog educativo de biología para adolescentes, 2012, 08/02/2012, Formato html disponible en internet: <http://geneticaescolar.blogspot.mx/2012/02/pero-cuantas-celulas-existen.html>
2. Organismos de los seres vivos, [En línea] © Taringa! 2014, Formato html disponible en internet: <http://www.taringa.net/posts/ciencia-educacion/9920040/Organismos-de-los-seres-vivos.html>
3. Molina López, José y Uribarren Berrueta, teresa, Generalidades de bacterias [en línea], México, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM, 2011,28/04/2011, [citado], Formato html disponible en internet: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/generalidades.html>
4. Raisman, Jorge, Núcleo Bacteriano [en línea], 2000, Consultado 18/12/12 5:55pm, Formato html disponible en internet: <http://www.biblioteca.org.ar/libros/hipertextos%20de%20biologia/micro2.htm>
5. Célula procariota [en línea], Consultado 19/09/12 11:47am, Formato html disponible en internet: <http://thegreatestwallpapers.blogspot.mx/2011/03/celula-procariota-wallpapers.html>
6. Fimbria [en línea] Consultado 19/09/12 1:40 pm, Formato html disponible en internet: <http://es.wikipedia.org/wiki/Fimbria>
7. Flagelo bacteriano, [en línea], consultado 20/12/12, 10:59pm, Formato html disponible en internet : <http://artigoo.com/el-flagelo-bacteriano>
8. Las bacterias, [en línea], consultado 19/09/12 2:37pm, Formato html disponible en internet: <http://www.mediavida.com/foro/off-topic/las-bacterias-433122>
9. Bacteria, [en línea], Consultado 19/09/12 7:03pm, Formato html disponible en internet: <http://es.wikipedia.org/wiki/Bacteria>
10. Tinciones diferenciales [En línea], 2010, 21/04/2010, formato html disponible en internet: [http://bacterias.blogspot.mx/2010/04/tinciones-diferenciales\\_21.html](http://bacterias.blogspot.mx/2010/04/tinciones-diferenciales_21.html)

11. Morfología Colonial Bacteriana, [en línea], 2010, 14/jun/2010, Consultado 22/09/12 1:15pm. Formato html disponible en internet:  
<http://microbitos.wordpress.com/2010/06/14/morfologia-colonial-bacteriana/>
12. El dominio bacteriano [En línea], 2010, 24/01/2011, formato html disponible en internet:  
[http://www.geonomia.org/dokuwiki/doku.php?do=show&id=el\\_dominio\\_bacteria](http://www.geonomia.org/dokuwiki/doku.php?do=show&id=el_dominio_bacteria), CC Attribution-Noncommercial-Share Alike 3.0 Unported
13. Clostridiumdifficile , [en línea], 2007, 02/09/2007, Consultado 21/01/13, Formato html disponible en internet:  
[http://en.wikipedia.org/wiki/File:Clostridium\\_difficile\\_01.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Clostridium_difficile_01.jpg)
14. Lactobacillusbulgaricus , [en línea] 2011, 06/05/2011, Consultado 21/01/13, Formato html disponible en internet:  
<http://lacienciaysusdemonios.com/2011/05/06/viernes-procariota-lactobacillus-bulgaricus/>
15. Escherichia coli: Micrografía electrónica de barrido de Escherichia coli, crecer en cultivo y se adhirieron una hoja de cubierta., [en línea] 2005, 10/04/2005, Consultado 21/01/13, Formato html disponible en internet:  
[http://en.wikipedia.org/wiki/File:EscherichiaColi\\_NIAID.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:EscherichiaColi_NIAID.jpg)
16. McTaggart, Megan y Chelsea, Tabellion, Micobarterias y tuberculosis, [En línea], 2010, formato html disponible en internet:  
<http://microbiologyspring2010.wikispaces.com/Watch+Out+Mycobacterium+tuberculosis>,
17. Campylobacterfetus, Micrografía electrónica de barrido de Campylobacterfetus [en línea], Consultado 21/01/13, Formato html disponible en internet:  
<http://science.howstuffworks.com/life/evolution/natural-selection1.htm>
18. Sociedad Americana de Microbiología, Las bacterias gramnegativas,[En línea], 1997,Consultado 06/10/12, Formato html disponible en internet:  
<http://www.asm.org/division/c/gramneg.htm>
19. Bacterias gram negativas: Moraxellaolsoensis, [en línea], 1997, Consultado 06/10/12, , Formato html disponible en internet:  
<http://www.asm.org/division/c/gramneg.htm>
20. TP Microbiología, Tinción de Gram, [En línea], 2007, 20/03/2008, formato html disponible en internet:  
<http://tpmicrobiologia.blogspot.mx/2008/03/tincin-de-gram.html>
21. Orlando, Franklin, Pseudomonas aeruginosa, [En línea], 2008, 26/06/2009 formato html disponible en internet:  
<http://hospitalbacaortizresidentes.blogspot.mx/2009/06/pseudomona-aeruginosa.html>

22. Correa, Vinicius, Genero Pseudomonas, [En línea], 2010, formato html disponible en internet:  
[http://www.ebah.com.br/content/ABAAA0\\_gAB/pseudomonas](http://www.ebah.com.br/content/ABAAA0_gAB/pseudomonas)
23. Media Vida, Bacterias multirresistentes, [En línea], 1999, 2013 formato html disponible en internet: <http://www.mediavida.com/foro/off-topic/bacterias-multirresistentes-418811>
24. Ordenadores y ratones no promueven la transmisión de superbacterias hospitalarias, [en línea], 2009, 01/10/2009, Madrid, Consultado 10/10/12, 5:17pm, Formato html disponible en internet:  
<http://noticias.hispavista.com/sociedad/sanidad/20091001120245/ordenadores-y-ratones-no-promueven-la-transmision-de-superbacterias-hospitalarias>
25. Milagros, Oliva, La rebelión de las bacterias se cobra vidas, [En línea], 2008,26/11/2008, formato html disponible en internet:  
[http://elpais.com/diario/2008/11/26/sociedad/1227654001\\_850215.html](http://elpais.com/diario/2008/11/26/sociedad/1227654001_850215.html)
26. Afione Cristina, Della Alejandra y Frank Laura, Manifestaciones pulmonares en pacientes con sida, [en línea], Argentina, Revista argentina de Radiología, 2008,Rev. Argent. Radiol. Vol. 72 no. 1, Formato html disponible en internet:  
[http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1852-99922008000100015](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1852-99922008000100015), ISSN 1852-9992.
27. Vázquez, Alicia, Infección por Pseudomonas aeruginosa en un paciente fibroquístico. Presentación de un caso, [en línea], Cuba, Revista ciencias, 2005, 13/04/2005, Formato html disponible en internet:  
<http://www.revistaciencias.com/publicaciones/EEEFuEppuEFhOyLppc.php> , ISBN EEEFUEPPUEFHoyLPPC.
28. Maraví A, Enrique, Oído Externo, [en línea], Consultado 11/10/12, 7:42 pm, Formato html disponible en internet:  
[http://otorrinopamplona.com/?page\\_id=305](http://otorrinopamplona.com/?page_id=305)
29. Niegra, Ovis, La salud visual en México ¿En manos de quien está?, [en línea], México, Apuntes de oftalmología, 13/02/2011, 2013, Formato html disponible en internet: <http://oftalmologiamex.blogspot.mx/2011/02/la-salud-visual-en-mexico-en-manos-de.html>.
30. PuttyMuraly, Pseudomonas aeruginosa, [En línea], Environmental microbiology laboratory, Vol 5, No. 3, 2010, [citado 03/11/12]. Consultado 03/11/12, 11:37pm, Formato html disponible en internet:  
<http://www.emlab.com/s/sampling/env-report-03-2007.html>
31. Agar Tech para Pseudomonas aeruginosa, [en línea], Thermo scientific, 2013, [citado 03/11/12] Consultado 03/11/13, 11:49pm, Formato html disponible en internet:  
<http://www.thermoscientific.com/en/product/remel-acetamide-agar.html>

32. HiFluoroPseudomonas Agar, [en línea], Sigma-Aldrich, 2013, [citado 03/11/12], Formato html disponible en internet: <http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/microbiology/product-lines/pseudomonas-agar.html>.
33. Identificación de Enterobacteriaceae mediante BBL Enterotube II, [en línea], Laboratorio de Tecnología. Departamento de Microbiología y Genética, [citado 10/11/12], Consultado 10/11/12, 12:08pm, Formato html disponible en internet: [http://virus.usal.es/Web/demo\\_mr/Enterotube/Enterotubell.htm](http://virus.usal.es/Web/demo_mr/Enterotube/Enterotubell.htm).
34. BioMérieux, API Microbial Identification Kits, [en línea], Fisher Scientific, [citado 10/11/12], Consultado 10/11/12. 14:26pm, Formato html disponible en internet: [http://www.fishersci.com/ecomm/servlet/fsproductdetail\\_10652\\_1327569\\_1\\_0](http://www.fishersci.com/ecomm/servlet/fsproductdetail_10652_1327569_1_0).
35. Galería API20E, [en línea], Sistemas de identificación multipruebas, [citado 5/02-12], Consultado 5/02-12, 6:20 pm, Formato html disponible en internet: <http://perso.wanadoo.es/microdominguez/API.htm>.
36. API mesa de lectura y algunos códigos de las cepas bacterianas identificadas con un 90% de probabilidad, [en línea], Regnum Prokaryotae, [citado 05-02-13], Consultado 05-02-13, 6:15pm, Formato html disponible en internet: <http://www.tgw1916.net/Tests/api.html>.
37. Oxoid, Proporciona Laboratorios de análisis de alimentos con simple intervalo Remel rápido de paneles identificación bioquímica, [En línea], new food, 28/05/2010, 2013, [citado 08-02-13]. Consultado 08-02-13, 6:20pm, Formato html disponible en internet: <http://www.newfoodmagazine.com/162/news/featured-news/oxoid-provides-food-testing-labs-with-simple-remel-rapid-range-of-biochemical-identification-panels/>.
38. Biolog MicroStation BI 62401a, [en línea], 2002, 2003, [citado 08-02-13], Consultado 08-02-13. 7:33pm, Formato html disponible en internet: <http://www.advmex.com/MicroStation.htm>.
39. Vitek 2: Salud, [en línea], Biomerieux Advancing diagnostic to improve public health, 2009, [citado 11-02-13], Consultado 11-02-13, 6:05pm, Formato html disponible en internet: [http://www.biomerieux-usa.com/servlet/srt/bio/usa/dynPage?doc=USA\\_PRD\\_LST\\_G\\_PRD\\_USA\\_4](http://www.biomerieux-usa.com/servlet/srt/bio/usa/dynPage?doc=USA_PRD_LST_G_PRD_USA_4)

## Referencias Libros

1. Romero CR, Microbiología y Parasitología Humana. 3ra. ed. México: Médica Panamericana; 2007.
2. Brooks, Geo F, Carro LL, Karen C, et.al Microbiología Medica. 19ª ed. México: El manual moderno;2008
3. Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, et.al. Tratado de Microbiología. 4ta ed. Barcelona España: Salvat;1996
4. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007
5. Zinsser, Joklik, Amos, et.al. Microbiología. 20a ed. Mexico: Panamericana.
6. Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997.
7. Valdez S, Lopez G, Microbiología y Parasitología. México: Facultad de medicina UNAM; 2010
8. Michael M, John M, Jack Parker, Brock biología de los microorganismos. 10ª ed. Pearson Educación; 2003
9. Hans G, Schlegel, Microbiología General,1ª ed. Omega; 1996
10. Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995.
11. Pumarola A, Rodriguez AT, Garcia JR, Piedrola GA. Microbiología y parasitología médica. 2ª ed. Elsevier España: Salvat; 1999.
12. Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
13. Bailey RW, Scoott GE, Forbes AB, Sahm FD, Weissfeld SA. Diagnóstico microbiológico.12ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
14. Levison, Microbiología y parasitología humana. 8va ed. Mexico: El manual moderno:
15. Sherris, KennethJ, George C. Microbiología Medica. 8va ed. Mexico: Mc Gran Hill: 2005
16. Prescott L, Harley J,Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008
17. Roitt, Wakelin, Williams, Microbiología Médica. 2da ed. España: Mosby;



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES ZARAGOZA

QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA

“Introducción a las bacterias del género  
*Pseudomonas*”

## TABLA DE CONTENIDO

### CAPITULO 1 INTRODUCCIÓN A LAS BACTERIAS

Generalidades sobre las bacterias .....	2
Anatomía y fisiología bacteriana .....	6
Tamaño Forma y Agrupación .....	6
Estructura de las bacterias .....	12
Envoltura y Apéndices .....	14
Cápsula .....	14
Pared .....	14
Membrana citoplasmática .....	24
Fimbrias y Pili.....	26
Flagelos .....	27
Esporas.....	31
Citoplasma .....	34
Nucleoide.....	35
Clasificación bacteriana .....	36
Criterios de clasificación bacteriana .....	36
Guía de Estudio .....	42
Referencias .....	43
Referencias Figuras .....	44
Referencias tablas .....	47

## CAPITULO 2 CULTIVO DE MICROORGANISMOS

Cultivo de microorganismos .....	2
Requerimientos nutritivos esenciales .....	3
Fuentes de energía metabólica .....	5
Metabolismo de las bacterias .....	5
Fermentación .....	6
Respiración .....	7
Fotosíntesis .....	7
Requerimientos nutricionales .....	10
Requerimientos de Carbono, Hidrógeno y Oxígeno .....	10
Carbono .....	10
Oxígeno .....	11
Necesidades de Nitrógeno, Fósforo y Azufre .....	13
Factores de Crecimiento .....	15
Curva de crecimiento bacteriano .....	16
Metabolismo microbiano .....	19
Metabolismo de los no fermentadores .....	20
Metabolismo fermentativo y oxidativo .....	21
Embder- Meyerhof-Parnas .....	21
Hexosa monofosfato .....	26
Entner-Doudoroff .....	31
Guía de Estudio .....	34
Referencias .....	35
Referencias de figuras .....	36
Referencias de tablas .....	37

## CAPITULO 3 BACILOS NO FERMENTADORES

Bacilos no fermentadores .....	2
Indicios tempranos de que un aislamiento desconocido es un no fermentador .....	8
Falta de evidencia de fermentación de la glucosa .....	9
Reacción positiva de citocromo oxidasa .....	10
Falta de desarrollo en agar MacConkey .....	11
Pruebas utilizadas para la identificación de los no fermentadores .....	13
Utilización de la glucosa .....	13
Motilidad .....	15
Producción de pigmento .....	16
Hidrolisis de la urea .....	19
Reducción de nitratos .....	20
Desnitrificación de nitratos y nitritos .....	21
Producción de indol .....	22
Dexcarboxilación .....	23
Hidrólisis de la Esculina .....	25
Coloración de Flagelos .....	26
Método de Leifson .....	26
Método de Ryu .....	27
Técnica de preparación en fresco .....	29
Morfología de Flagelos .....	29
Guía de Estudio .....	30
Referencias .....	31
Referencias Figuras .....	32
Referencias Tablas .....	34

## CAPITULO 4 FAMILIA PSEUDOMONADACEAE

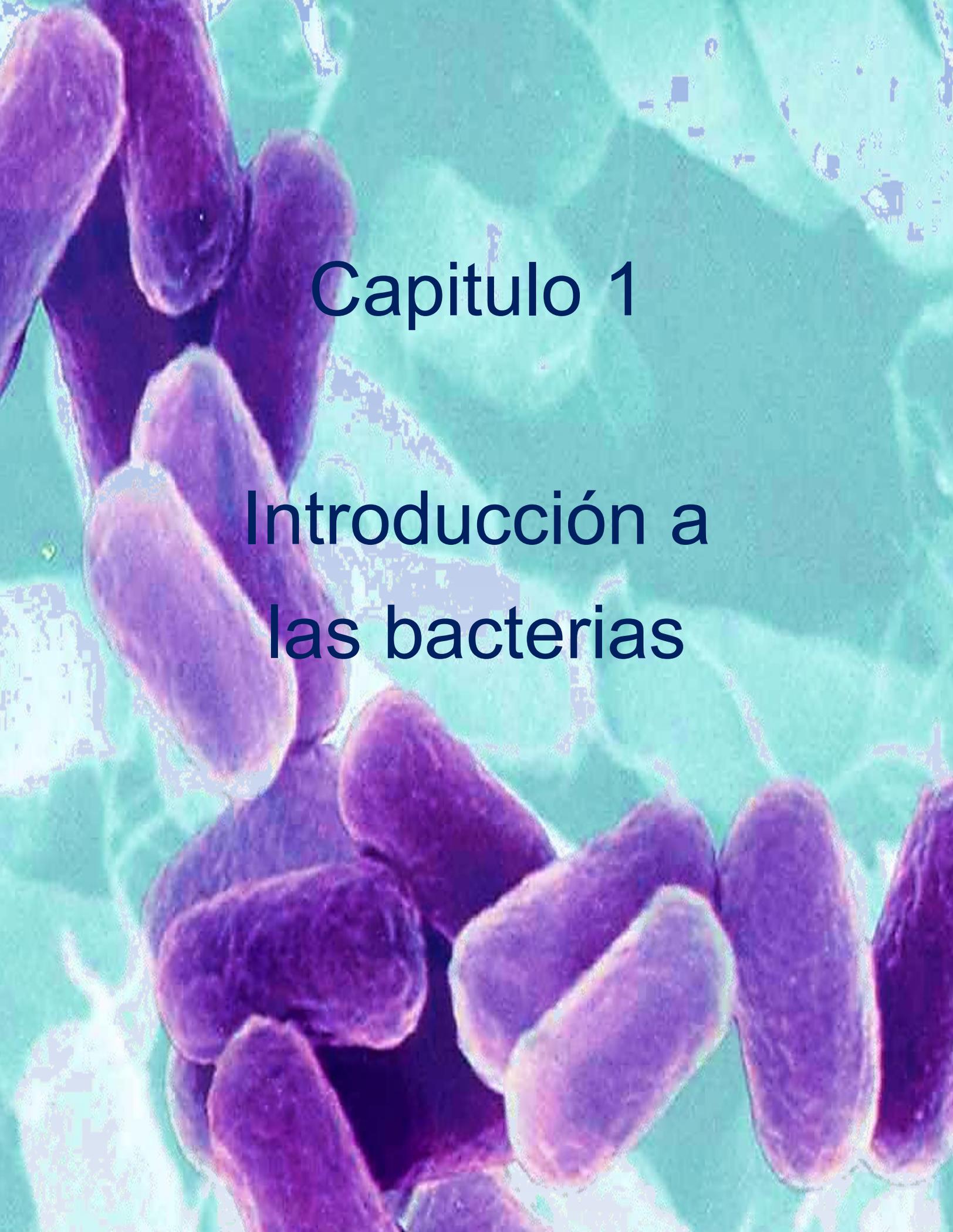
<i>Pseudomonas</i> .....	2
Fisiología y Estructura .....	3
Grupo Fluorescente <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	5
Fisiología y estructura .....	5
Estructura Antigénica .....	7
Factores de patogenicidad .....	8
Factores de virulencia .....	9
Inmunidad .....	12
Resistencia a antibióticos .....	13
Epidemiología .....	15
Enfermedades Clínicas .....	17
Grupo no fluorescente .....	25
<i>P. stutzeri</i> .....	25
<i>P. mendocita</i> .....	27
Pruebas diagnósticas del laboratorio .....	28
Tratamiento, Prevención y Control.....	34
Guía de Estudio .....	36
Referencias .....	37
Referencias Figuras .....	38
Referencias Tablas .....	40

## CAPITULO 5 IDENTIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS NO FERMENTADORAS

Pruebas diagnósticas de laboratorio .....	2
Muestra .....	2
Microscopia .....	2
Cultivo .....	3
Identificación .....	5
Identificación de las especies más frecuentes .....	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	8
Métodos de identificación que utilizan pruebas convencionales .....	15
Enfoque práctico para la identificación de los no fermentadores .....	16
Tratamiento, Prevención y Control .....	36
Guía de Estudio .....	37
Referencias .....	31
Referencias Figuras .....	38
Referencias Tablas .....	41

## CAPITULO 6 EQUIPOS CONVENCIONALES PARA IDENTIFICACIÓN DE LOS NO FERMENTADORES

Equipos comerciales .....	2
Tubo Oxi/Ferm .....	4
API 20E .....	9
Sistema API 20NE .....	11
Sistema Remel N/F .....	12
Sistema Crystal Enteric/Nonfermenter .....	14
Sistema RapID NF Plusa .....	15
Sistema Biolog .....	16
Sistema de identificación automáticos .....	18
Sistema Vitek Legacy .....	18
Sistema Microscan Walokaway-96, Walkaway-40 y Autoscan-4 .....	20
Guía de Estudio .....	21
Referencias .....	22
Referencias Figuras .....	23
Referencias Tablas .....	24

A scanning electron micrograph (SEM) showing numerous purple, rod-shaped bacteria. The bacteria are arranged in various orientations, some in chains and others individually. The background is a light blue, textured surface, likely a biological or synthetic material. The lighting highlights the three-dimensional structure of the bacteria, showing their rounded ends and slightly irregular shapes.

# Capitulo 1

## Introducción a las bacterias



## GENERALIDADES SOBRE LAS BACTERIAS

En la escala biológica universal, los organismos unicelulares han sido agrupados en dos tipos, considerando las características del núcleo; los procariotas con núcleo primitivo, y los eucariotas con núcleo más evolucionado que semeja en todas las características del núcleo de los organismos pluricelulares.<sup>1</sup>

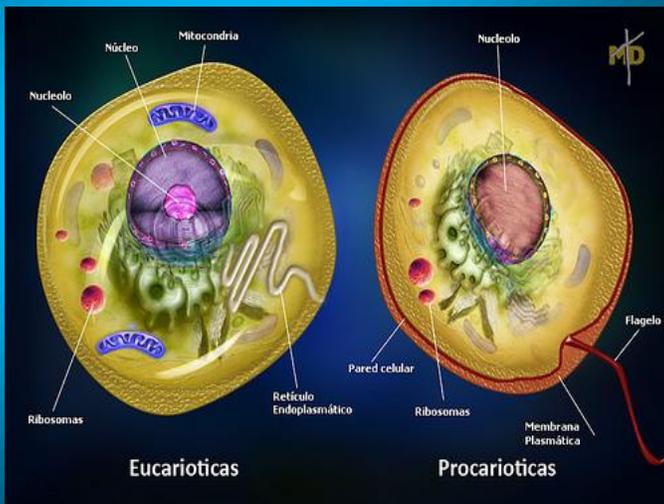


Fig.1.1 Célula Eucariota y Procariota.

En 1968, las bacterias fueron incluidas en un nuevo reino llamado procariota o monera debido principalmente a Murray, Stanier y VanNiel. En este reino se incluyen los organismos unicelulares que tienen un genoma que no está envuelto por una membrana nuclear, no tiene nucleolo, y no tiene organelos diferenciados para realizar funciones dentro del citoplasma como el retículo endoplasmico, el aparato de Golgi, etcétera.<sup>1</sup>

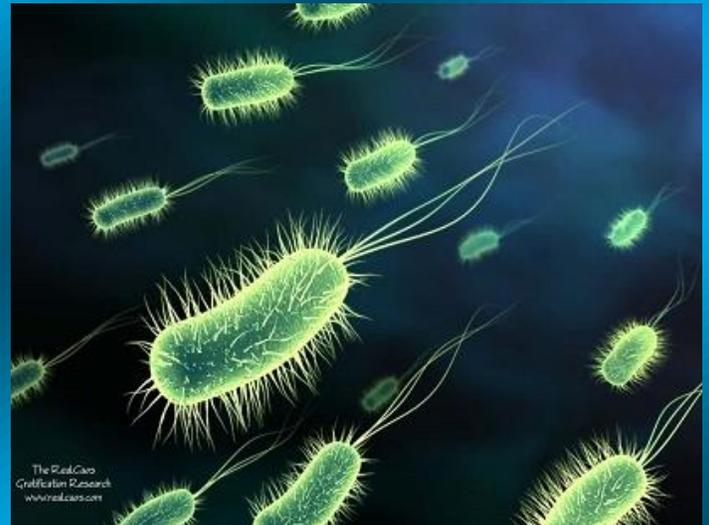


Fig.1.2 Organismo unicelular.

La gran mayoría de los organismos de este reino tiene una vida libre, ya que poseen la información genética que les permiten producir un sistema metabólico completo para la biosíntesis de moléculas energéticas y productos necesarios para sus estructuras y crecimiento. Algunos de ellos tienen un equipo metabólico menos completo y deben parasitar organismos superiores.<sup>1</sup>

Las bacterias son las células independientes más pequeñas y versátiles capaces de vivir en forma independiente poseen una estructura relativamente simple. Son microorganismos procariotas, es decir, unos microorganismos unicelulares sencillos, la mayoría de las bacterias esféricas tienen diámetros de 0.5 a 2 micras y las células con forma de bastón miden por lo general de 0.2 a 2 micras y de 1 a 10 micras de largo.

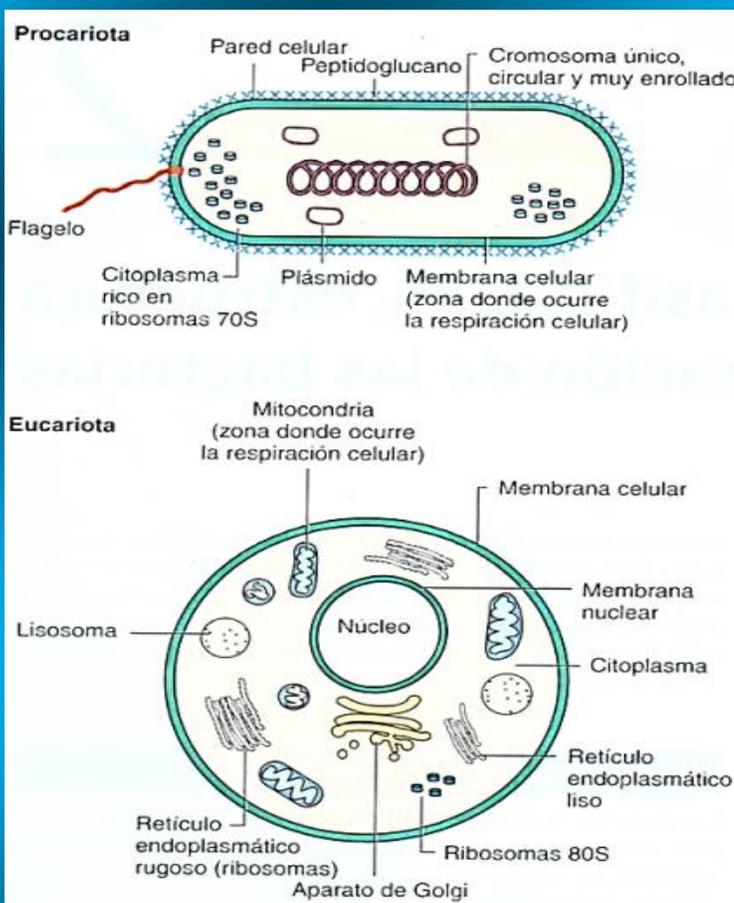


Figura 1.3 Principales características de los procariotas y los eucariotas.<sup>4</sup>

**TABLA 1.1 PROPIEDADES DE LAS CÉLULAS PROCARIOTAS Y EUCARIOTAS.<sup>6</sup>**

<b>Características</b>	<b>Células procariotas</b>	<b>Células eucariotas</b>
<b>Grupos mayores</b>	Bacterias, algas verde-azuladas.	Algas, hongos, protozoos, plantas, animales
<b>Pared celular</b>	Contiene: peptidoglucanos, lípidos, proteínas.	Ausente: cuando esta presente contiene quitina o celulosa (plantas verdes)
<b>Estructura nuclear</b>	Membrana nuclear ausente. Cromosomas único, cerrado, circular, DNA de doble cadena. Haploide, transcripción y traducción continua, con RNAm de vida corta y formación de polirribosomas (polisomas). Histonas ausentes.	Membrana nuclear presente. Cromosomas múltiples, lineal. Diploide, haploide (hongos). Traducción y traducción discontinua, RNAm de vida larga transcripto en el núcleo y traducido en el citoplasma. Histonas presentes.
<b>Citoplasma</b>	-Ribosomas 70s (50s + 30s). -Membrana citoplasmática presente, fosfolípidos, sin esteroides excepto en especies de <i>Mycoplasma</i> .	-Ribosomas 80s (60s + 40s) -Mitocondrias -Complejos de Golgi -Retículo endoplasmico -Membrana citoplasmática presente fosfolípidos y esteroides (colesterol, ergosterol). Triglicéridos.
<b>Movilidad</b>	Flagelos (simple)	Flagelos (complejos), pseudópodos; otros órganos locomotores complejos.
<b>Generación de energía</b>	Asociada a la membrana citoplasmática.	Mitocondrias
<b>Reproducción sexual</b>	Ausente (innecesaria)	Presente (puede alternar un ciclo reproductivo asexual)

El organismo humano esta habitado por miles de especies bacterianas distintas; mientras algunas mantienen una relación parasitaria temporal, otras habitan en el ser humano de manera permanente.<sup>16</sup>

También se encuentran bacterias en el ambiente, como el aire que se respira, el agua que se bebe y los alimentos que se comen; aunque muchas de ellas son relativamente avirulentas, otras son capaces de provocar enfermedades potencialmente mortales. Las enfermedades puede deberse a los efectos tóxicos de los productos bacterianos (toxinas) o bien a la invasión de regiones corporales que acostumbran a ser estériles.<sup>16</sup>

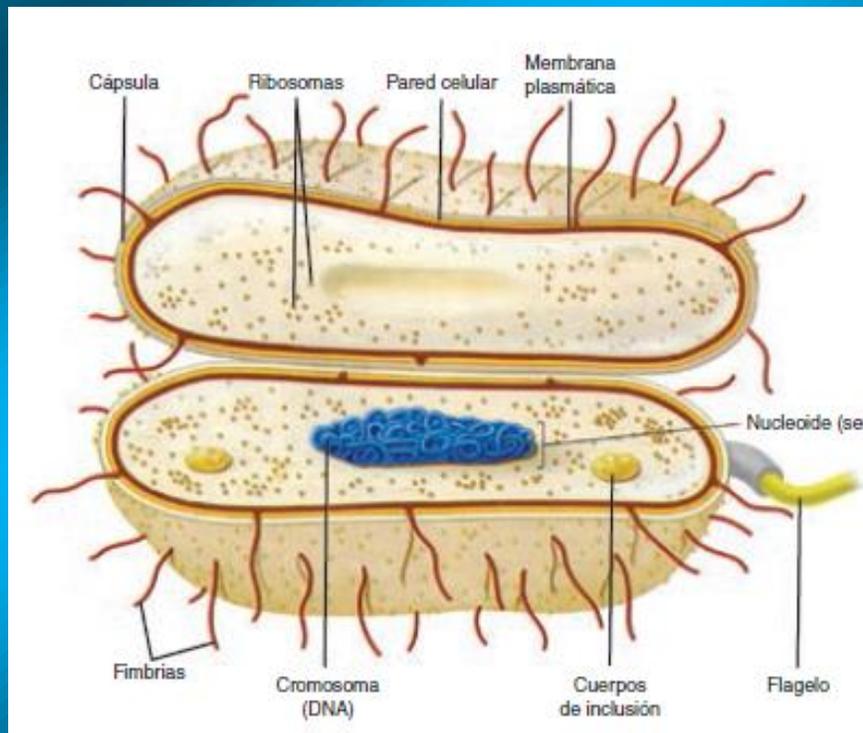


Figura 1. 4 Célula bacteriana procariota.<sup>15</sup>

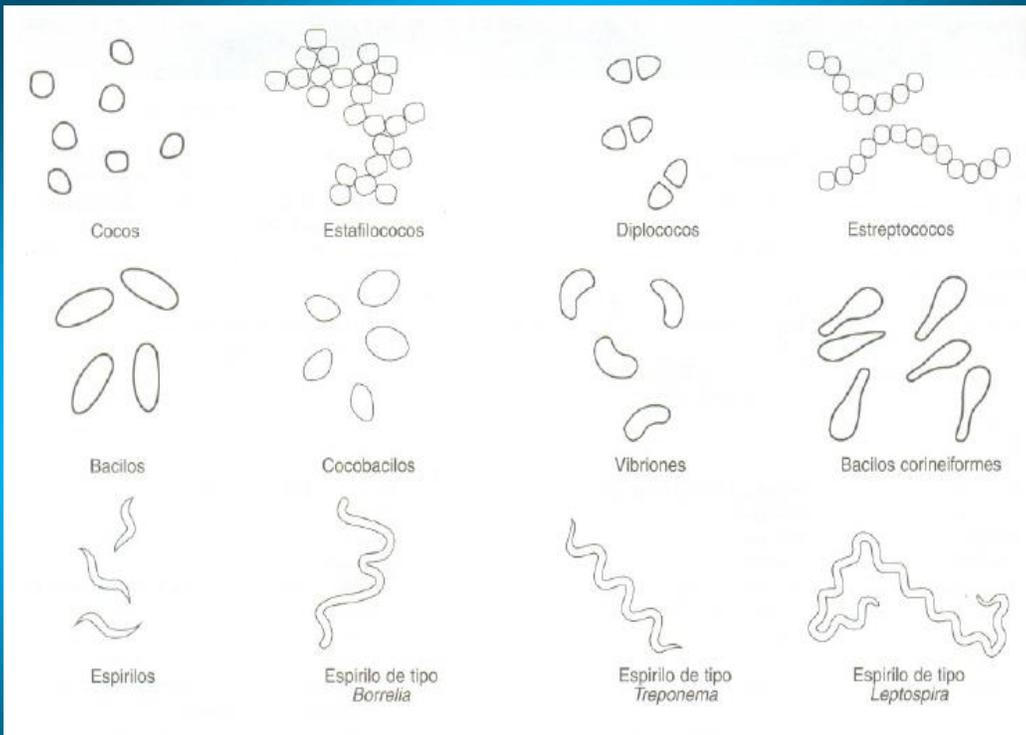
# ANATOMIA Y FISIOLÓGÍA BACTERIANA

## TAMAÑO, FORMA Y AGRUPACIÓN

Se podría esperar que los organismos pequeños, relativamente simples como las bacterias, fuesen uniformes en cuanto a forma y tamaño. Aunque es cierto que muchas bacterias tienen una morfología similar, existen importantes variaciones.<sup>16</sup>

Las células bacterianas tienen una gran variedad de formas y tamaños. Por lo general, tienen 0,2 micrómetros de diámetro y 1 a 6 micrómetros de largo. Existen cuatro morfologías básicas para la bacteria<sup>6</sup>:

- ✓ Células esféricas o cocos
- ✓ Células con forma de bastón o bacilos
- ✓ Células en forma de espiral o espirilos (rigidos) o espiroquetas (flexibles).
- ✓ Células con forma de vibriones



**Figura 1. 5 Morfología básica de distintas bacterias.<sup>6</sup>**

Algunas bacterias son de forma esférica y se les llama Cocos (significa grano) estas formas pueden agruparse en:

- Pares y se les llama diplococos.
- Pueden agruparse en cuatro se les llama tétradas.
- Dos tétradas pueden permanecer unidas y se les llama sarcinas.
- También pueden formar cadenas y se les llama estreptococos
- Finalmente, pueden permanecer en forma de racimos y se les llama estafilococos.<sup>1</sup>

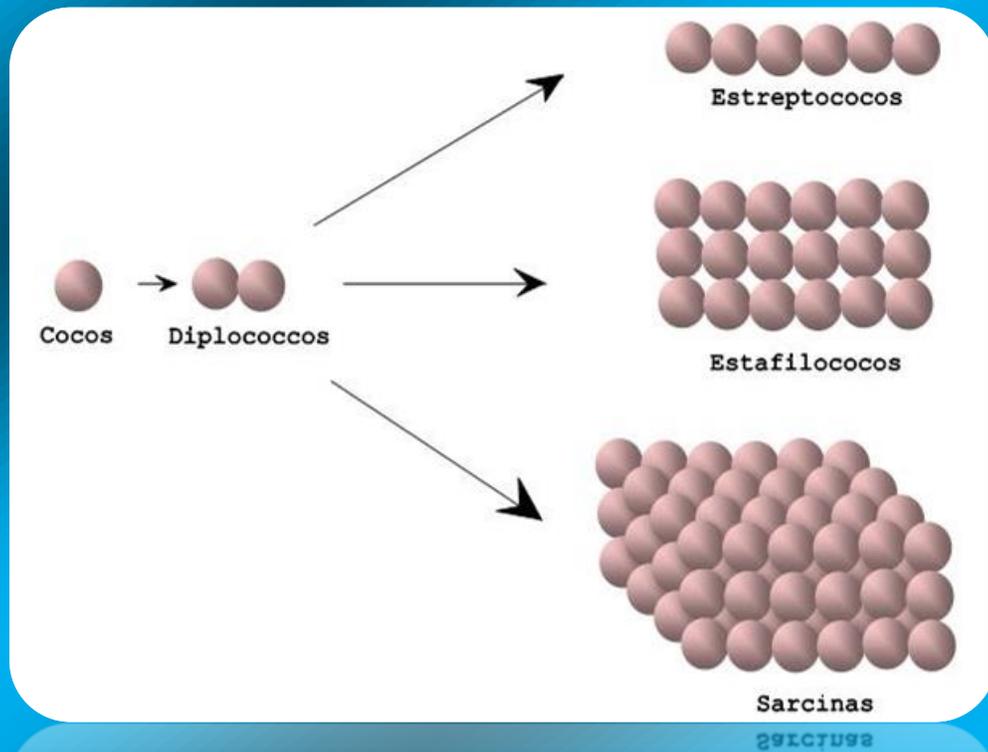


Figura 1. 6 Morfología de los Cocos.<sup>6</sup>

Esta forma de agrupación se debe al plano de división;

- ✓ Si el plano de división se forma en un solo sentido en cada generación, tendremos los estreptococos,
- ✓ Si el plano de división se altera en cada generación tendremos las tétradas y las sarcinas,
- ✓ Si el plano de división se forma en varios sentidos en cada generación tendremos los racimos.<sup>1</sup>

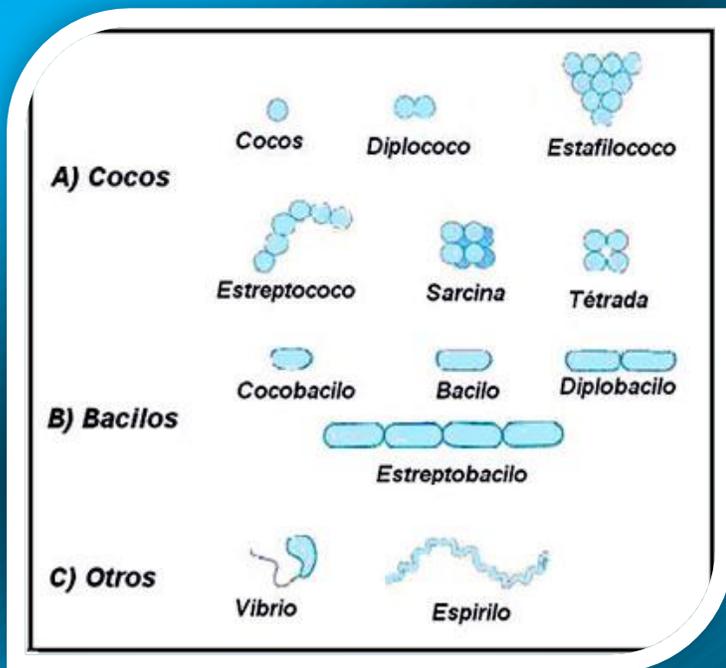


Figura 1. 7 Agrupación de acuerdo al plano de división.

Algunas bacterias tienen forma de:

- Bastón y se les llama bacilos.
- Cuando 2 bacilos permanecen juntos se les llama diplococos.
- En caso de estar unidos 3 o más, se les llama estreptobacilos.
- Cuando giran sobre la célula madre pueden dar la apariencia de caracteres chinos.
- por formar ángulos de diferente abertura, o bien, pueden formar empalizada.<sup>1</sup>

- Los microorganismos en forma de bastón pueden ser de morfología regular, más cortos (cocobacilares) o tener uno de sus extremos ensanchados (coliformes).<sup>6</sup>
- Las células con forma de coma definen una característica básica de ciertas especies (p. ej. Especies de *Vibrio*).<sup>6</sup>
- Lo mismo es válido para ciertas bacterias con forma de espiral (p.ej. especies de *Campylobacter*, *Borrelia* y *Treponema*), en las que la forma espiralada puede ser laxa (alrededor de cuatro vueltas por microorganismo).<sup>6</sup>

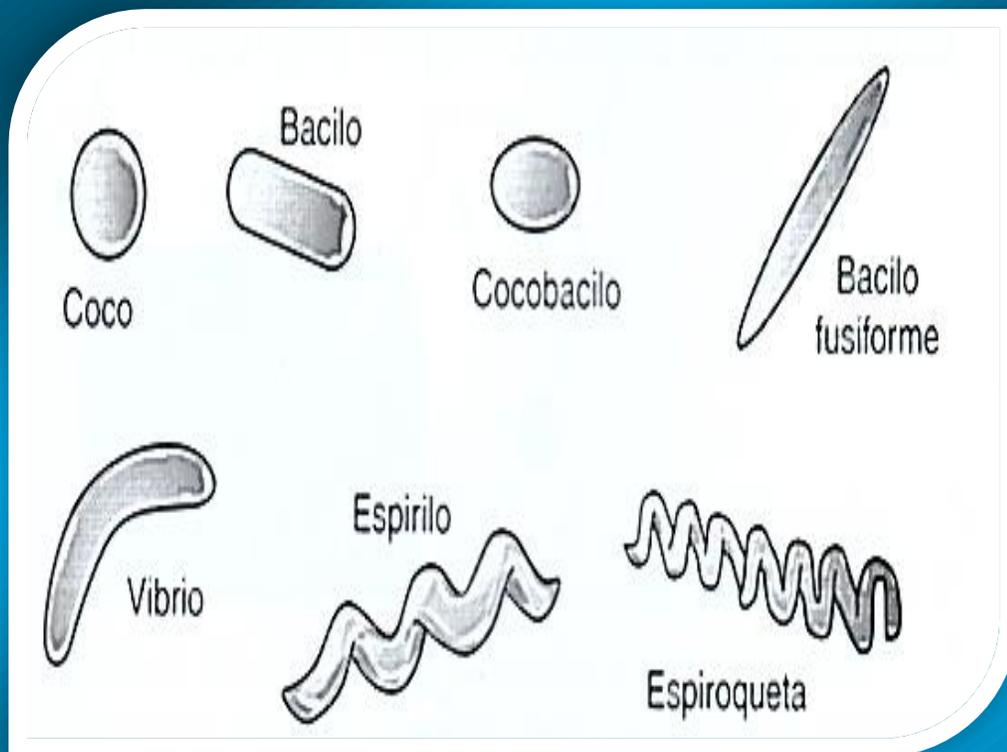


Figura 1.8 Morfología bacteriana.<sup>4</sup>

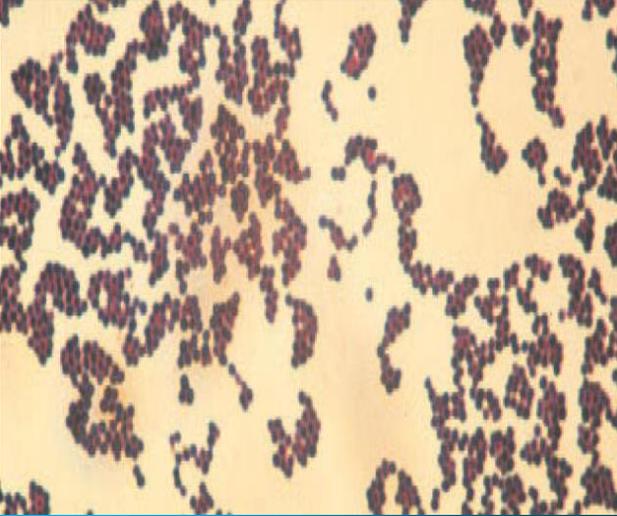


Figura 1.9 *Staphylococcus aureus*; obsérvense las células esféricas Gram positivas en racimos irregulares.<sup>16</sup>

Figura 1.10 *Enterococcus faecalis*; obsérvense las cadenas de cocos.<sup>16</sup>

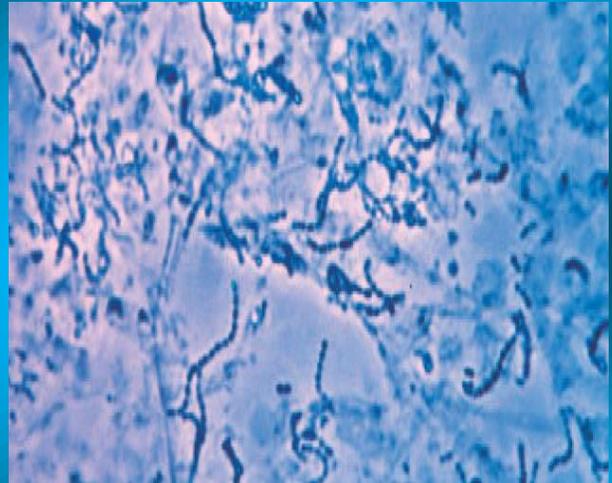


Figura 1.11 *Bacillus megaterium*, bacterias en forma de bacilo formando cadenas.<sup>16</sup>

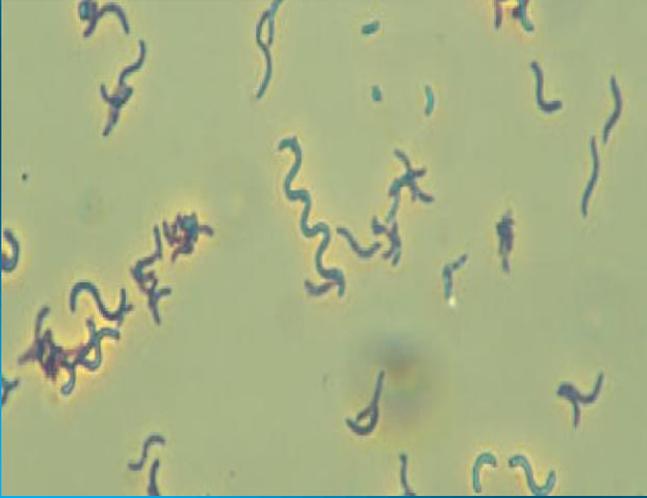


Figura 1.12 *Rhodospirillum rubrum*.<sup>16</sup>

Figura 1.13 *Vibrio cholerae*. Bacilos curvos con flagelos polares.<sup>16</sup>

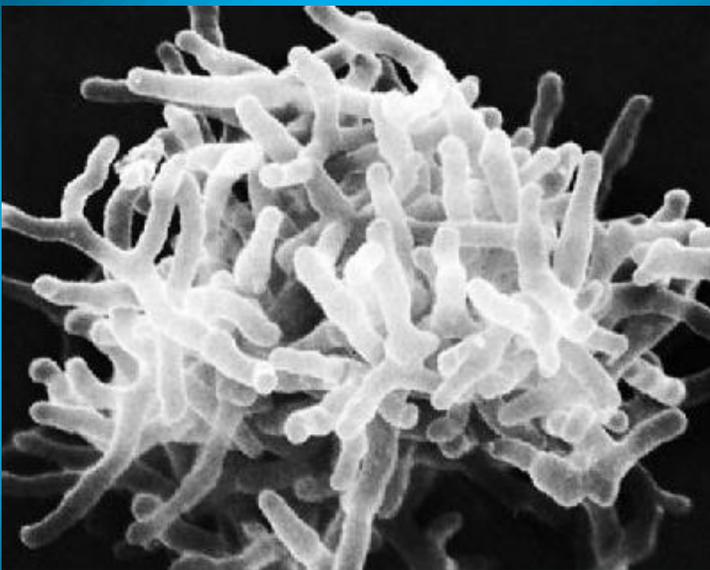
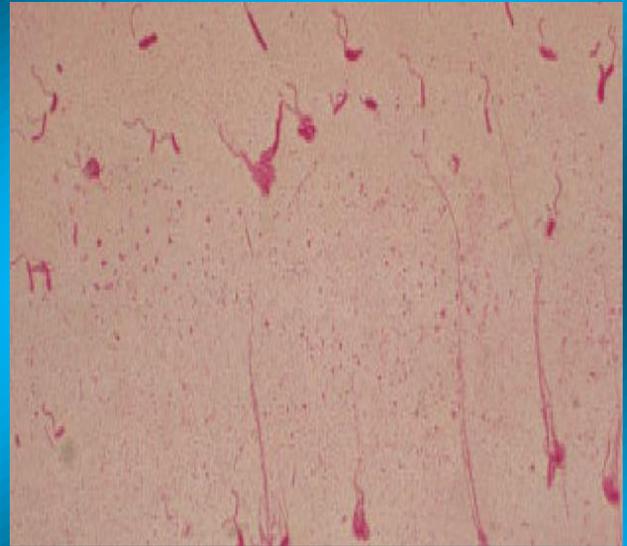


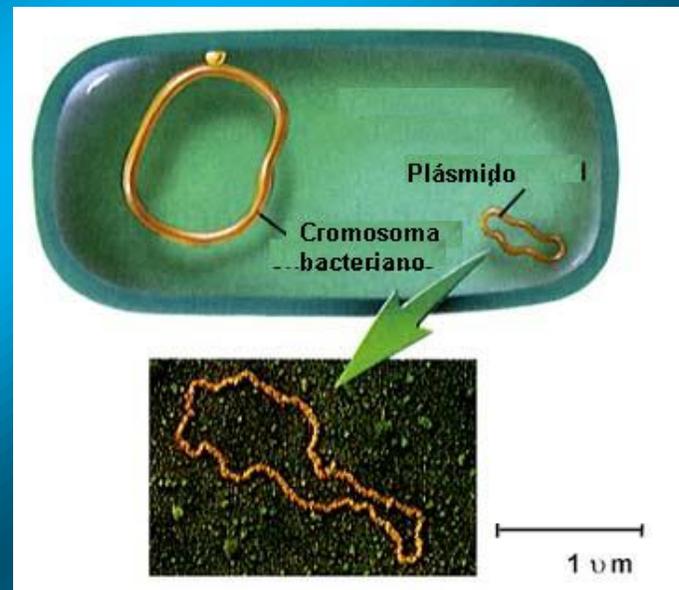
Figura 1.14 *Actinomyces*. Bacteria con forma diferente a los tipos de bacilo y cocos.<sup>16</sup>

## ESTRUCTURA DE LAS BACTERIAS

Sin importar la forma general de las células, el tamaño de una micra no es suficiente para acomodar la mitocondria, núcleo, aparato de golgi, lisosomas y retículo endoplásmico en una célula que en si misma solo llega al tamaño de una mitocondria promedio. La solución es el diseño único de la célula bacteriana procariota.<sup>16</sup>

Las principales estructuras de la célula pertenecen ya sea a la envoltura de múltiples capas y sus apéndices o al núcleo bacteriano interior que consiste en el Nucleoide (o cuerpo nuclear) y citosol. La naturaleza química general del diseño de las bacterias incluye las macromoléculas familiares de la vida.<sup>16</sup>

- ✓ ADN cromosómico
- ✓ ARNm
- ✓ Proteínas
- ✓ Carbohidratos
- ✓ Fosfolípidos



**Figura 1.15 Cromosoma bacteriano.**

El tamaño pequeño y la sencillez del diseño de las bacterias contribuye a la capacidad del citosol para crecer por lo menos a una velocidad que es mayor en un orden de magnitud con respecto a las células eucariotas, característica importante para la producción de enfermedades.<sup>15</sup>

Como cualquier procarionta, la célula bacteriana puede estudiarse desde el punto de vista anatómico para conocer sus estructuras y la función que éstas desempeñan en todas las actividades de la célula. Para seguir un orden en la descripción vamos a empezar de afuera hacia adentro en la siguiente forma<sup>1</sup>:

- Envoltura y apéndices
- Capsula
- Pared celular
- Membrana Citoplásmica
- Ribosomas
- Nucleoide
- Flagelos
- Fimbrias y Pilis
- Citoplasma
- Esporas
- Plásmido

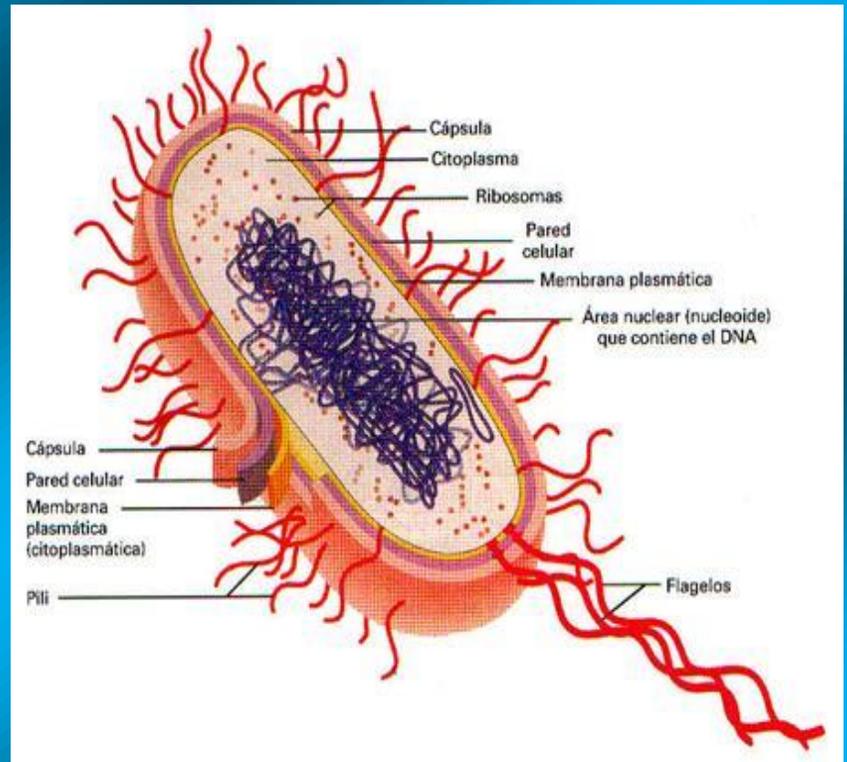


Figura 1.16 Célula Procariota.

- ✓ Es importante mencionar que algunas de estas estructuras no se encuentran en todas las bacterias y otras son de naturaleza vital. La cápsula, los flagelos, los pilis y las esporas son producidos por algunas especies *Streptococos*, *Enterococcus* y *Neisseria*.
- ✓ La pared es una estructura que se encuentra en casi todas las bacterias como una regla general que tiene su excepción en los micoplasmas.<sup>1</sup>

## ✓ ENVOLTURA Y APÉNDICES

- Las bacterias tienen un interior muy simple y un exterior muy complejo. Esto se puede entender mejor con facilidad al apreciar que la envoltura no solo protege a la célula contra amenazas químicas y biológicas de su ambiente, sino que también es responsable de muchos procesos metabólicos que son característicos de los organelos internos de las células eucariotas.<sup>15</sup>
- La estructura de la envoltura y ciertos apéndices también median la unión de las superficies de las células humanas, lo cual es el primer paso en la enfermedad. Por lo que más de una quinta parte de las proteínas específicas de las bacterias bien estudiadas se localizan en la envoltura.<sup>15</sup>

## ✓ CÁPSULA

Muchas Células bacterianas se rodean con uno u otro tipo de gel hidrófilo. Con frecuencia esta capa es gruesa; comúnmente es más gruesa que el diámetro de la célula debido a que es transparente y no se tiñe con facilidad, en general esta capa no se aprecia a menos que se pueda hacer visible debido a su capacidad de excluir sustancias particulares, como tinta china o tinciones capsulares tinción negativa.<sup>15</sup>

- ❖ Cuando una capa esta bien organizada y no se elimina fácilmente se denomina Cápsula.<sup>16</sup>
- ❖ Si es una capa de materia difusa, no organizado que se puede eliminar fácilmente.<sup>15</sup>
- ❖ El Glicocálix es una red de polisacáridos que se extiende desde la superficie de las bacterias y otras células.<sup>16</sup>

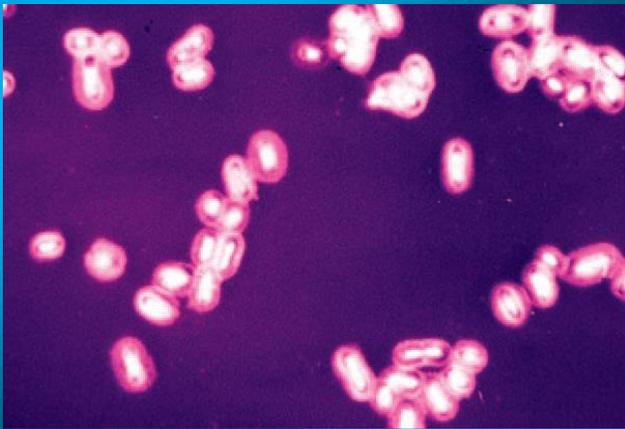
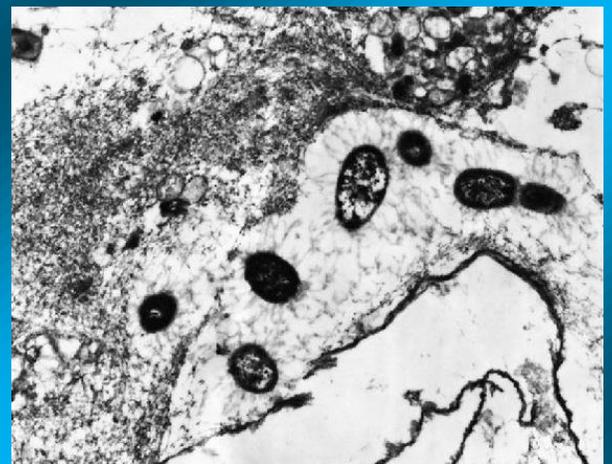


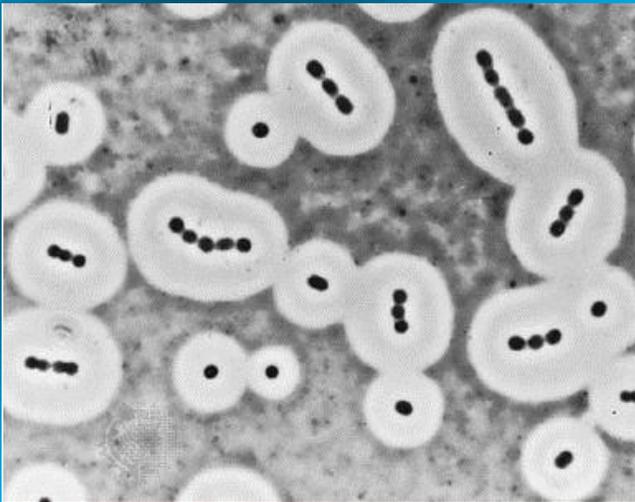
Figura 1.17 *Klebsiella pneumoniae* con su capsula teñida para poder observar con el microscopio óptico.<sup>12</sup>

Figura 1.18 glicicálix bacteriano. Las bacterias se conentan entre si y con la pared intestinal por sus glicocálices, redes de fibras que se extienden desde las células.<sup>15</sup>



Las capsulas proporcionan cierta protección general a las bacterias, pero por su función principal en las bacterias patógenas es protegerlas del sistema inmunológico del huésped. La capsula no contribuyen al crecimiento y multiplicación y no son esenciales para la supervivencia de célula en un cultivo artificial. Pero confiere varias ventajas a las bacterias cuando estas crecen en su habitat normal. Les ayudan a resistir la fagocitosis por células fagocíticas.<sup>16</sup>

La capsula contiene una gran cantidad de agua y puede proteger a las bacterias frente a la desecación. Evitan los virus bacterianos y la mayoría de los materiales tóxicos hidrofóbicos, como detergentes. El glicocálix ayuda también a las bacterias a fijarse a objetos sólidos en medios acuáticos, o a superficies tisulares en huéspedes vegetales y animales.<sup>16</sup>



**Figura 1.19 Demostración de capsula de *Acinetobacter calcoaceticus* (*Bacterium anitratum*) en células suspendidas en tinta china y observadas por microscopio de contraste de fases.<sup>5</sup>**

Observadas con microscopio aparecen como un halo luminoso que rodea una célula suspendida en tinta china, también se las puede teñir con colorantes especiales. Si las células producen una cápsula que no se pueden demostrar visualmente pero reaccionan por serología con sueros anticapsulares, se dice que producen microcápsulas.<sup>5</sup>

- Desde el punto de vista estructural se conocen 3 tipos de cápsula:<sup>1</sup>
  - **Macrocápsula:** es de gran espesor y en algunos casos de mayor tamaño que el cuerpo de la bacteria.
  - **Microcápsula:** es una delgada película poco visible que cubre la superficie de la pared y la capa mucilaginosa (algunos autores no le llaman cápsula a este estrato), que es un estrato gelatinoso, semisólido adherido en forma floja a la pared.
  - **Glicocalix:** es la parte más externa y participa en la adherencia.
  
- Desde el punto de vista químico la gran mayoría de las cápsulas están formadas por polisacáridos en los que la glucosa y la glucosamina se repiten en diferentes arreglos en la molécula para conformar determinantes antigénicos distintos. En otras ocasiones, la cápsula está conformada de polipéptidos en los que el ácido glutámico se polimeriza con otros aminoácidos.<sup>1</sup>

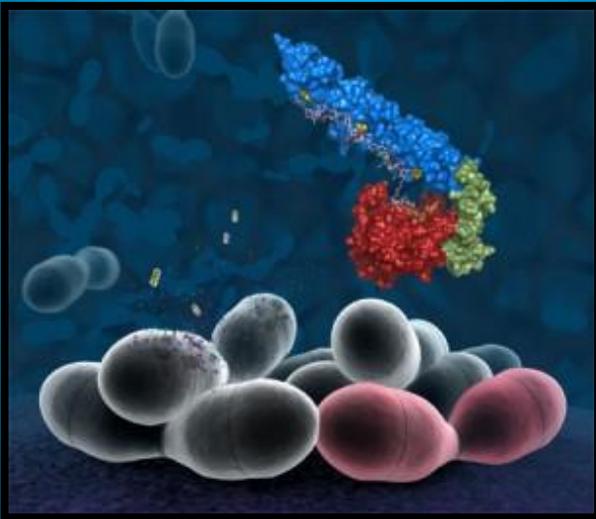


Figura 1.20 Cápsula de Neumococo.<sup>10</sup>

- Desde el punto de vista funcional se considera que la cápsula le confiere protección a la bacteria de la fagocitosis y por ser un factor antifagocitario, es un factor de virulencia que para algunas bacterias como el neumococo es el único que posee, de no ser así esta bacteria no sería virulencia.
- También debemos mencionar que la capa mucilaginosa, es una adhesina que le permite fijarse a los tejidos.<sup>1</sup>
- Muchas bacterias Gram positivas y Gram negativas tienen una capa regularmente estructural, denominada capa S, sobre su superficie. La capa S tiene un modelo estructural similar a la distribución de baldosas en el suelo y está compuesta por proteínas y glicoproteínas.
- En las bacterias gram negativas, la capa S se adhiere directamente a la membrana externa; en las gram positivas, está asociada a la superficie del peptidoglicano.
- La capa S ayuda también a mantener la forma y rigidez de la envoltura en, al menos, algunas células bacterianas. Puede facilitar la adhesión a superficies. Finalmente esta capa parece que protege a algunos agentes patológicos frente al ataque del complemento y la fagocitosis, contribuyendo con ello a su virulencia.

## ➤ PARED CELULAR

Dentro de la capsula (si existe una), pero aun fuera de la célula en si, una pared celular rígida rodea las células eubacterianas, excepto aquellas que carecen de pared, como las *Micoplasmas* y *Chlamydia*. La estructura y función de la pared bacteriana es un sello distintivo de las procariotas.<sup>16</sup>

Esta pared protege a la célula de las alteraciones mecánicas y evita que estalle a causa de la presión de turgencia producida por la hipertonicidad del interior de la célula con relación al ambiente. También proporciona una barrera contra ciertos agentes químicos y biológicos tóxicos; su forma es responsable de la apariencia de la célula.<sup>16</sup>

En general una pared bien construida protege a estas células diminutas y frágil contra las agresiones químicas y físicas, al mismo tiempo que permite el intercambio expedito de nutrientes y subproductos metabólicos requeridos para el rápido crecimiento.<sup>16</sup>

Se le ha llamado también membrana externa, es el estrato rígido que le confiere forma a la bacteria, se le considera el esqueleto de la célula, es el sostén de la membrana citoplásmica y por ser de consistencia dura, le protege contra efectos mecánicos.<sup>1</sup>

Cuando una bacteria tiene en su medio ambiente algún factor que le impida la síntesis de pared. Llegado el momento de la reproducción muere; no se conoce con precisión la mecánica de este fenómeno, pero se sabe que es un mecanismo de actividad de algunos antibióticos.<sup>1</sup>

La evolución de las bacterias ha conducido a dos soluciones importantes para la estructura de la pared celular. Aunque actualmente se conoce bien la base estructural detallada de ambas, la separación deriva de su reacción a un procedimiento específico de tinción diseñado hace más de un siglo.<sup>16</sup>

Después de que Christian Gram desarrollase la tinción que lleva su nombre, en 1884, se comprobó que las bacterias podían clasificarse en dos grupos principales según su respuesta a este método de tinción.<sup>15</sup> La reacción a la tinción depende de la capacidad de las células teñidas con ciertos tintes para resistir la extracción del tinte con mezclas de etanol acetona.

- Gram negativas: son bacterias que adquieren un color rosa a rojo y se extraen con facilidad esos complejos.
- Gram positivas: son bacterias que se tiñen de color morado y retienen estos complejos.

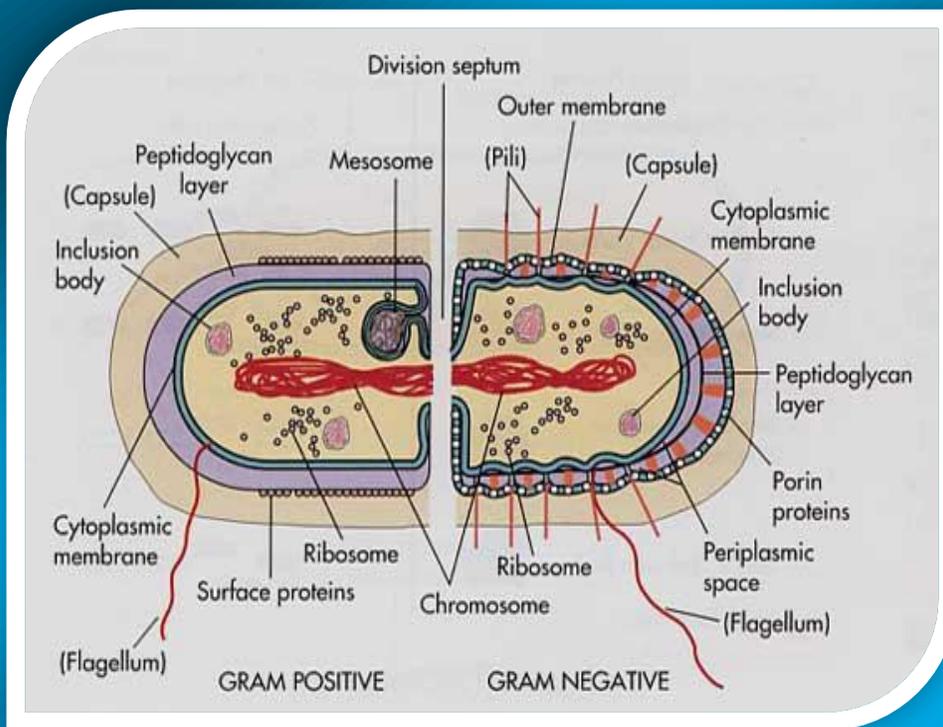


Figura 1.21 Bacterias grampositivas y gramnegativas.<sup>4</sup>

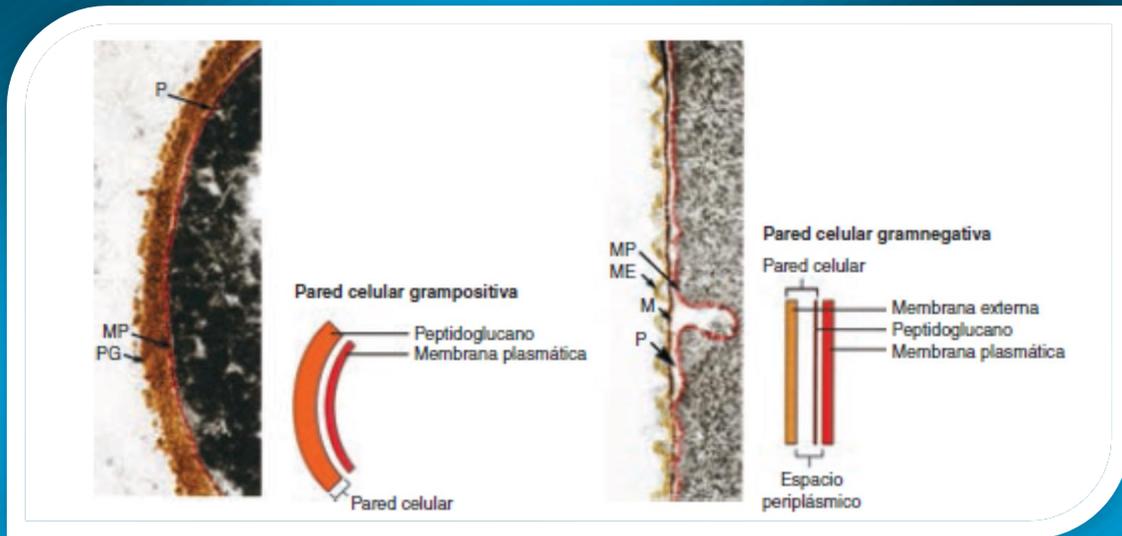


Figura 1.22 Pared celular de bacterias grampositivas y gramnegativas.<sup>10</sup>

- ❖ Una bacteria grampositiva posee dos componentes principales:
  - Una gruesa capa de peptidoglucano que contiene ácidos teicoico y lipoteicoico. además de carbohidratos y proteínas adicionales, dependiendo la especie.

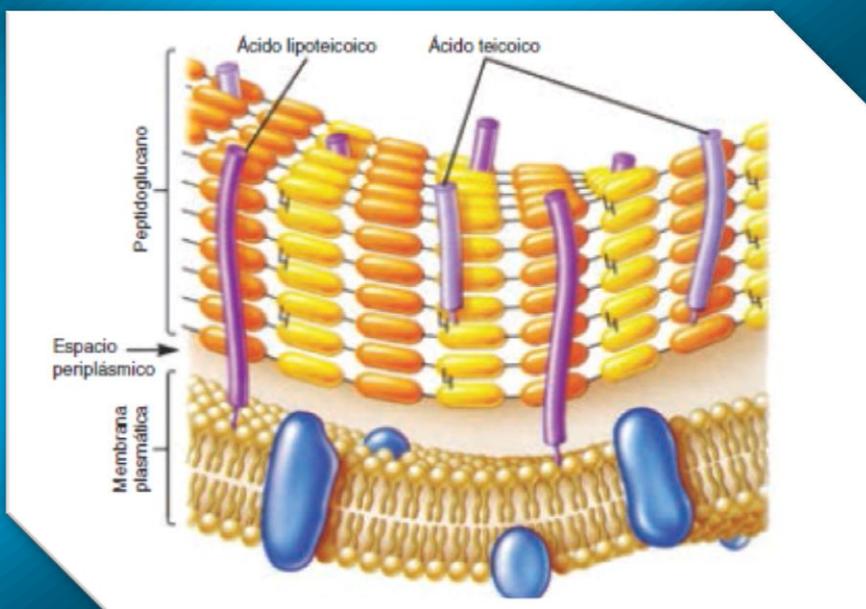


Figura 1.23 Envoltura gram positiva.<sup>15</sup>

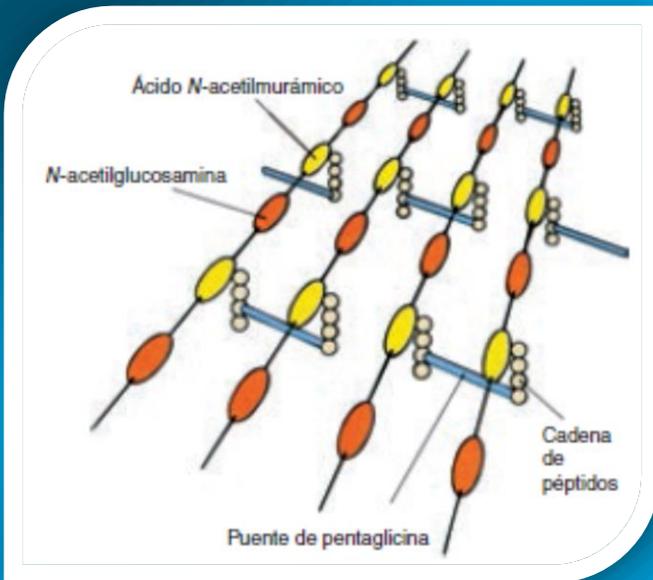


Figura 1.24 Estructura de peptidoglucano. Se muestran las cadenas de polisacáridos, cadenas laterales de tetrapéptidos y puentes de péptidos.<sup>15</sup>

- ❖ En las células gram negativas, la cantidad de peptidoglucanos es muy reducida y parte de ella forma una vaina de una sola capa alrededor de las células, mientras que el resto forma una sustancia gelatinosa, el gel periplásmico, con pocos enlaces cruzados. Fuera de este periplasma se encuentra una elaborada membrana externa.<sup>15</sup>

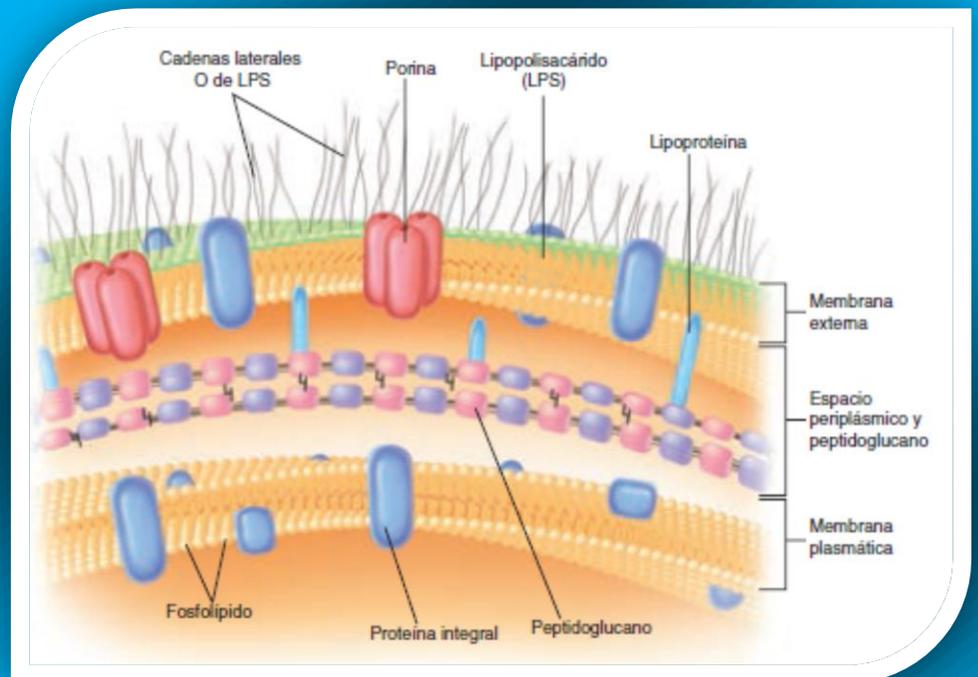


Figura 1.25 Envoltura gram negativas.<sup>15</sup>

El espacio periplásmico existente entre la membrana citoplásmica y la membrana externa contiene las proteínas de transporte, degradación y síntesis de la pared celular. La membrana externa esta unida a la membrana citoplasmática en unos puntos de adhesión; asimismo, está fijada peptidoglucano por enlace de lipoproteínas.<sup>1</sup>

El periplasma es una estructura intermembranosa que se encuentra en la membrana celular y una membrana espacial que es única de las bacterias gramnegativas, la membrana externa. Esta ultima tiene una estructura general parecida a la mayoría de las membranas biológicas con dos hojuelas opuestas de fosfolípidos y proteínas.

La presencia de la membrana externa produce que las bacterias gramnegativas estén cubiertas por una barrera formidable contra la permeabilidad. Proteínas estructurales especiales, donominadas porinas, forman poros a través de la membrana externa que posibilitan que las moléculas hidrofílicas de soluto se difundan a través de ella y lleguen al periplasma. La impermeabilidad de la membrana externa se neutraliza con las porinas.

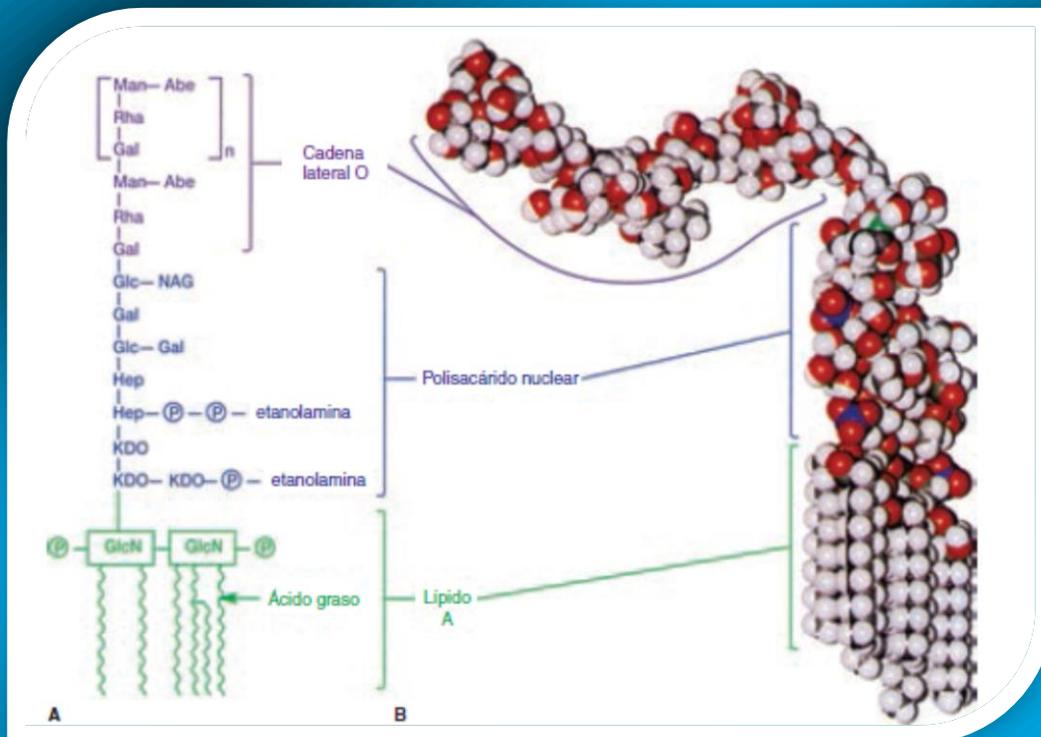


Figura 1.26 Estructura del polisacárido.<sup>15</sup>

## ✓ MEMBRANA CELULAR

La membrana de la célula bacteriana es excepcional rica en proteínas y no contiene esteroides (excepto micoplasmas).

El cromosoma bacteriano está adherido a la membrana celular, el cual representa una función en la segregación de los cromosomas hijos en la división celular, análoga a la función del aparato mitótico de las eucariotas.<sup>15</sup>

Es una delgada película formada por dos capas de lipoproteínas que en conjunto miden aproximadamente 5 nanómetros de espesor, se encuentran íntimamente adosada a la superficie interna de la pared, es la barrera osmótica de la célula, es el sitio de sistemas enzimáticos particularmente de los citocromos y los citocromo-oxidasas, catalasa, peroxidasa, deshidrogenasas, síntesis de proteínas y de transporte de nutrientes al interior de la célula y de excreción de productos de desecho.<sup>1</sup>

En las etapas anteriores a la reproducción de la bacteria, se observan repliegues de membrana particularmente notorios a nivel del eje de la división celular que reciben el nombre de **mesosomas**. Estas estructuras parecen tener la función de separar el citoplasma y su contenido, una vez que se ha realizado la división del genoma.<sup>1</sup>

Las membranas son responsables de alrededor del 30% o mas del pesó celular.<sup>5</sup>

- 60 al 70 % de proteínas.<sup>5</sup>
- 30 a 40 % de lípidos y pequeñas cantidades de hidratos de carbono.<sup>5</sup>

Entre los constituyentes principales se encuentra:<sup>5</sup>

- Fosfatidiletanolaminas (75%)
- Fosfatidilglicerol (20%)
- Glicolípidos

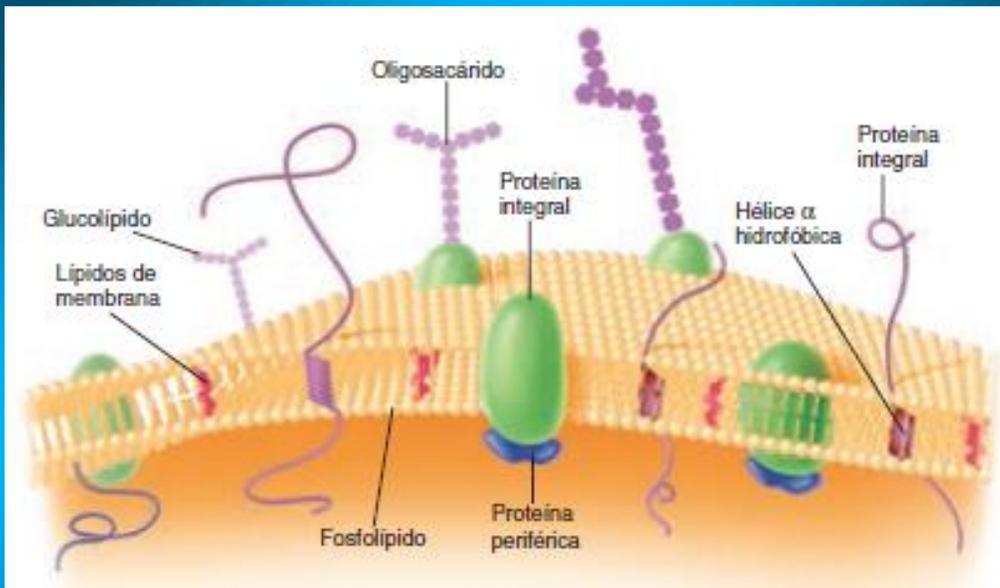


Figura 1.27 Estructura de la membrana citoplasmática.<sup>15</sup>

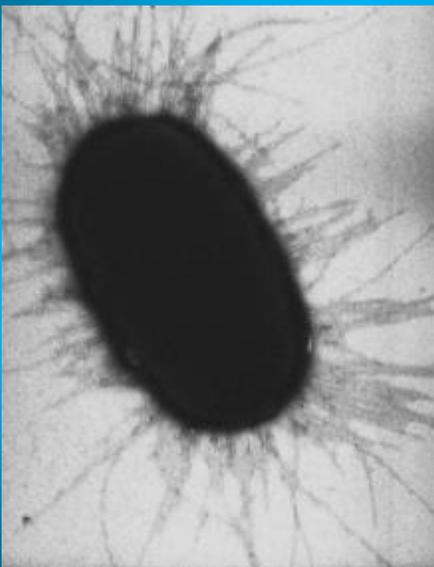
## ✓ FIMBRIAS Y PILIS

Muchas bacterias gram negativas poseen apéndices cortos, finos similares a pelos, más delgados que los flagelos y que normalmente, no participan en la movilidad de la célula. Se denomina fimbriae (fimbria). Aunque una célula puede estar cubierta por un número de hasta 1000 fimbriae, solo son visibles en el microscopio óptico electrónico debido a su pequeño tamaño.<sup>15</sup>

Aparecen como tubos delgados, compuestos por subunidades de proteínas organizadas helicoidalmente, de 3 a 10 nm de diámetro aproximadamente, pudiendo alcanzar varios micrómetros de longitud. Algunos tipo de fimbriae fijan las bacterias a superficies solidas como rocas en riachuelos y a los tejidos del huésped.<sup>15</sup>

Los pilis son apéndices similares, aproximadamente 1 a 10 por célula, que se diferencian de las fimbriae por lo siguiente. Los pilis son mas anchos que las fimbriae (aproximadamente de 9 a 10 nm de diámetro) están determinados genéticamente por factores sexuales o plasmidos conjugativos, y son necesarios para la conjugación bacterian.<sup>15</sup>

Actualmente existe una tendencia general a restringir el término de fimbrias a las estructuras que realizan la adherencia de la bacteria a las células de los tejidos y *pilis* a las estructuras que son los puentes para la conjugación bacteriana. Las fimbrias como adhesinas son un factor de patogenicidad, se encuentran en gran número en cada bacteria y los *pilis* se observan en pequeño número en las células donadora.<sup>1</sup>



**Figura 1.28** *Escherichia coli* presenta unas 100-200 fimbrias que utiliza para adherirse a las células epiteliales.

## ✓ FLAGELOS

Los flagelos son órganos moleculares de motilidad encontrados en muchas especies de bacterias, tanto grampositivas como gramnegativas. Son filamentos muy largos, pueden llegar a medir hasta 20 micras de longitud por aproximadamente 5 a 10 nanómetros de espesor; están formados por una proteína contráctil llamada flagelina, se originan en la membrana citoplasmática en un gránulo que se llama cuerpo basal, son organelos de locomoción de las bacterias.<sup>1</sup>

Los flagelos son filamentos proteicos helicoidales de longitud y diámetro uniforme responsables de la libre movilidad natatoria rápida que poseen muchas bacterias patógenas. El flagelo está constituido por tres partes:<sup>5</sup>

- El filamento
- El gancho
- El cuerpo basal.

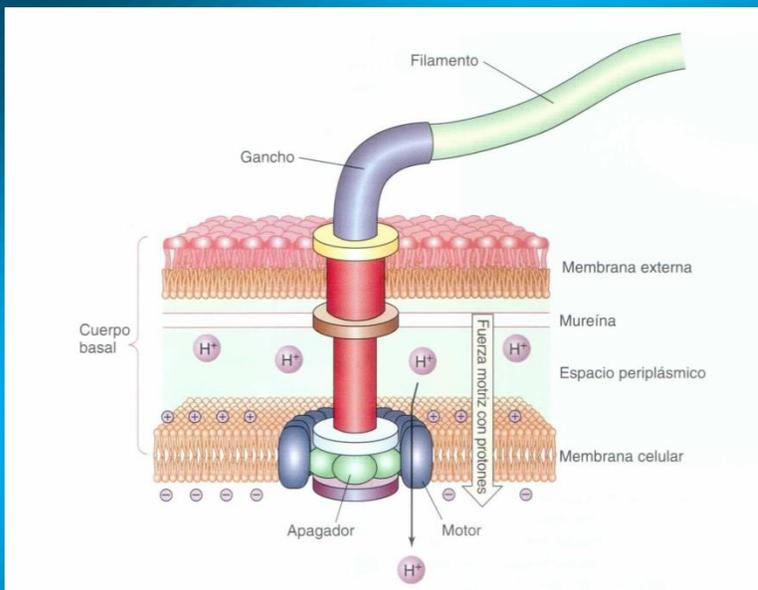
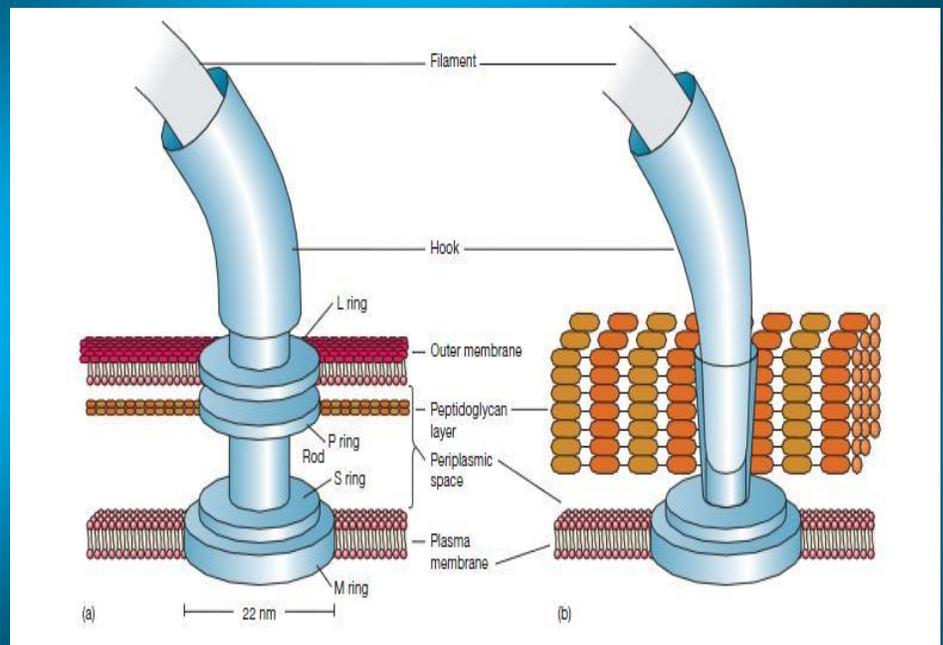


Figura 1.29 Ultra estructura de un flagelo de una bacteria gramnegativa.<sup>10</sup>

El aparato flagelar es complejo, pero consiste por completo en proteínas unidas a la célula por un cuerpo basal que consiste en diversas proteínas organizadas como anillos alrededor de un eje central. Otras estructuras incluyen un gancho que actúa como conexión universal y cojinetes en forma de anillo.<sup>15</sup>

Todas estas impulsan el largo filamento, que consiste en moléculas polimerizadas de una sola proteína llamada flagelina. La flagelina tiene diversas secuencias de aminoácidos de una cadena a otra. Esto hace que los flagelos sean antígenos superficiales útiles para la diferenciación de las cepa, en particular la enterobacterias.<sup>15</sup>

**Figura 1.30 Comparación de la Ultra estructura de un flagelo de una bacteria gramnegativa (a) y una bacteria grampositiva (b).**



Considerando la posición y el número de flagelos en la célula bacteriana se conocen 5 grupos:<sup>1</sup>

1. **Monotricas**, son las que poseen un solo flagelo, generalmente situado en un polo de la bacteria.
2. **Lofotricas**, son aquellas que tienen un mechón de flagelos en un polo.
3. **Anfitricas**, las que tienen un mechón de flagelos en cada uno de sus polos.
4. **Peritricas**, las que tienen flagelos alrededor de la célula.
5. **Atricas**, las que no tiene flagelo.

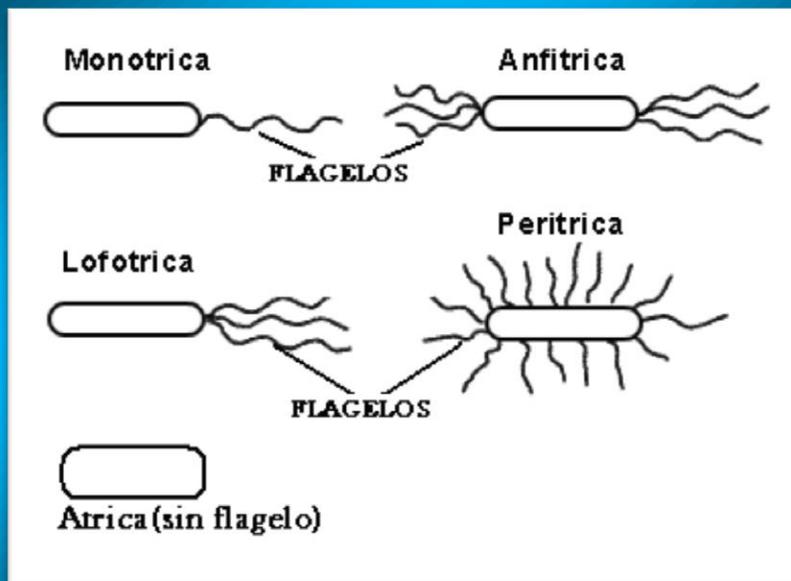


Figura 1.31 Diferentes tipos de flagelo.

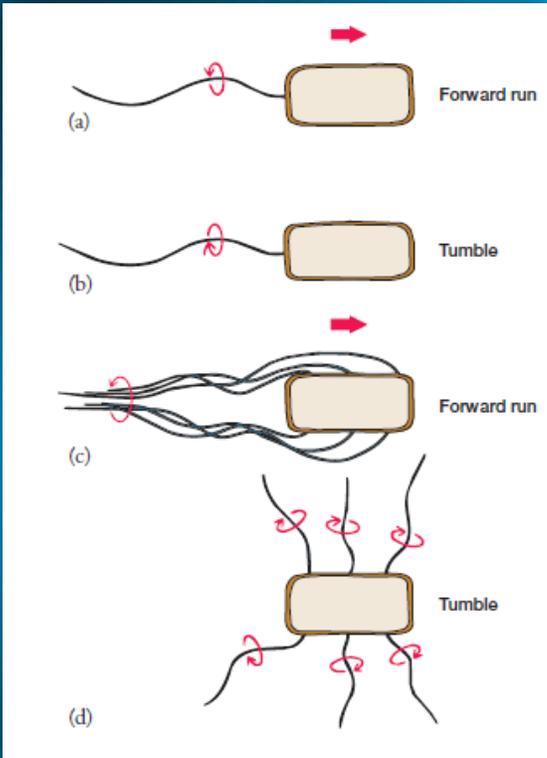


Figura 1.32 Movilidad flagelar. Las partes a y b describen el movimiento de bacterias monotricas polares. Las partes c y d ilustran el movimiento de organismos Peritricos.<sup>16</sup>

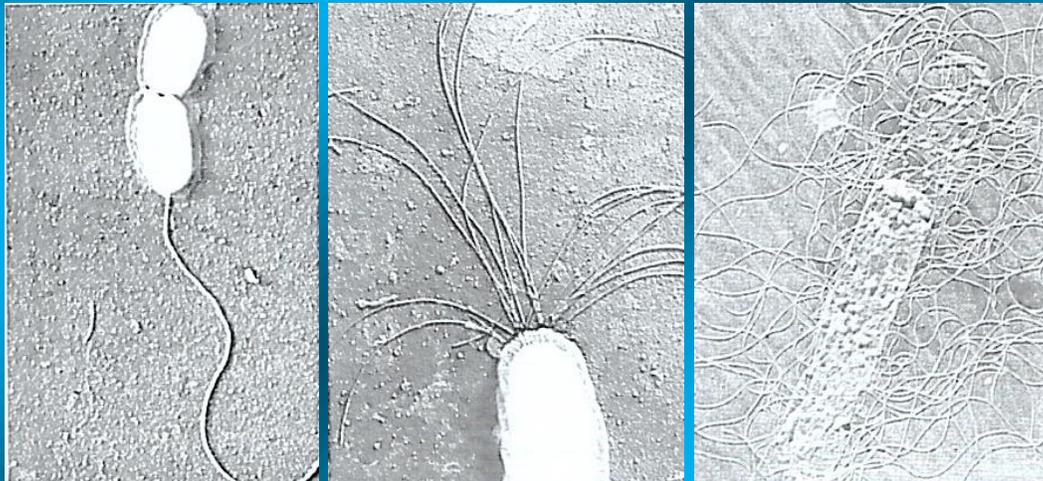


Figura 1.33 Flagelos bacterianos.<sup>10</sup>

## ✓ ESPORAS

Diversas bacterias Gram positivas pueden formar una estructura latente, de especial resistencia, denominada endoespora.<sup>16</sup> Las endoesporas son formas pequeñas, deshidratadas y metabólicamente inactivas que producen algunas bacterias en respuesta a la limitación de nutrientes o a una señal relacionada de dificultades futuras. Muy pocas especies producen esporas ( el término se emplea en general como equivalente de endoesporas), pero éstas son particularmente comunes en el ambiente. Algunas bacterias formadoras de esporas tienen gran importancia en la medicina, causando enfermedades tales como el carbunco, gangrena gaseosa, tétanos y botulismo.<sup>15</sup>

La endoespora bacteriana no es una estructura reproductiva. Una célula forma una espora en condiciones adversas (proceso que se denomina esporulación). La espora puede persistir largo tiempo (siglos) y entonces, al momento de ocurrir estimulación apropiada, dan lugar a una sola célula bacteriana (germinación). En consecuencia, las esporas son dispositivos de supervivencia más que reproductivos.<sup>15</sup>

Algunas bacterias pueden producir esporas cuando se encuentran en condiciones desfavorables para su sobrevivencia. La esporulación es una verdadera metamorfosis que sufre la bacteria, algunos la ha considerado como un fenómeno de rejuvenecimiento, no es una forma de reproducción; por la falta de agua, por los cambios de pH en el medio ambiente de crecimiento, por los cambios en la temperatura y por otros factores nocivos para la vida de la célula.<sup>1</sup>

Estas estructuras son extraordinariamente resistentes a situaciones estresantes ambientales, como calor, radiación ultravioleta, desinfectantes químicos y desecación. De hecho algunas endoesporas han permanecido viables durante unos 100000 años. Debido a su resistencia y al hecho de que varias especies de bacterias formadoras de endoesporas son agentes patógenos peligrosos, las endoesporas tienen una gran importancia en microbiología alimentaria, industrial y médica.<sup>16</sup>

En todos los casos se produce una sola espora dentro de la célula (endospora) y por su ubicación se les llama<sup>1</sup>:

- ✓ Estas estructuras son muy resistentes al calor y varios agentes antimicrobianos, por ello se les considera formas de protección.
- ✓ Están formadas por un cuerpo central que contiene el genoma y por varias capas que lo cubren.
- ✓ En el estudio químico se ha encontrado el ácido dipicolínico en concentraciones de 10 a 15%, lo que no se ha encontrado en la célula vegetativa.<sup>1</sup>



Figura 1.34 Estructura de una espora.<sup>4</sup>

- ✓ Terminal: si están situadas en un polo de la bacteria
- ✓ Central: si están en el centro del citoplasma
- ✓ Subterminal: si están en una posición intermedia

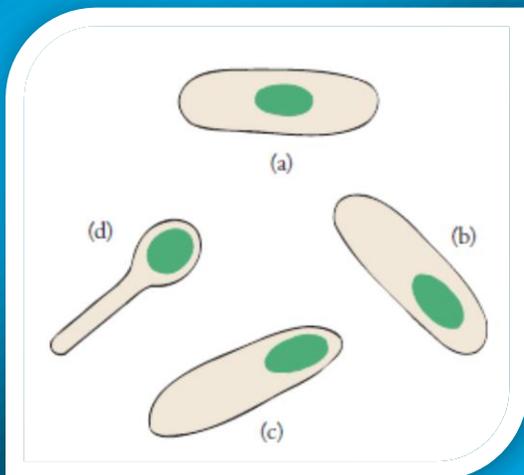
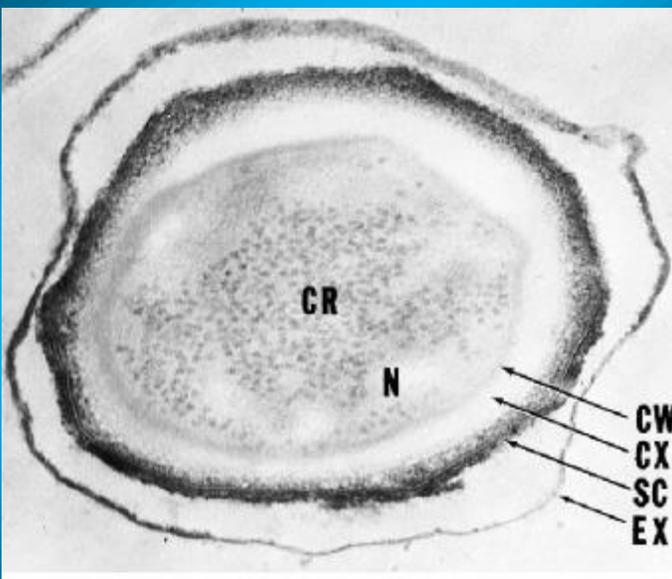


Figura 1.35 Ejemplos de localización y tamaño de endoesporas. A) endoespora central, b) endoespora subterminal, c) endoespora terminal y endoespora terminal con esporangio hinchado.<sup>16</sup>

Microfotografías electrónicas muestran que la estructura de la endoespora es compleja.

- ✓ La endoespora está a menudo rodeada por una capa delicada y delgada denominada exosporio.
- ✓ La cubierta de la endoespora se encuentra debajo del exosporio, es responsable de la birrefringencia característica en observaciones microscópicas, ya que esta compuesta por varias capas de proteínas hidrófobas, pudiendo ser bastante gruesa.
- ✓ El cortex que puede ocupar tanto como la mitad del volumen celular, descansa debajo de la cubierta de la endoespora. Esta constituida por un peptidoglicano modificado, con menos enlaces que en las células vegetativas.
- ✓ La pared celular de la endoespora se encuentr dentro del córtex y rodea al protoplasto.
- ✓ El protoplasto contiene estructuras celulares normales como ribosomas y nucleoide pero es metabólicamente inerte.



**Figura 1.36 Estructura de una endoespora.**  
Endoespora de *Bacillus anthracis*. EX: exosporio, CE: cubierta de la endoespora, CX: córtex, PP pared del protoplasto, N: protoplasto con su nucleide y R: ribosomas.<sup>16</sup>

## ✓ CITOPLASMA

Es todo el material proteico contenido por la membrana citoplásmica y que forma el lecho del genoma de la bacteria, en el se encuentran todos los sistemas enzimáticos del metabolismo de las bacterias, los ribosomas formados por dos subunidades 50's y 30's que funcionan en la síntesis de proteínas es el sitio donde encontramos los gránulos de volutina que están formados por metafosfato inorgánico polimerizado, en general, podríamos decir que es la gran fábrica de todos los componentes de la estructura bacteriana.<sup>1</sup>

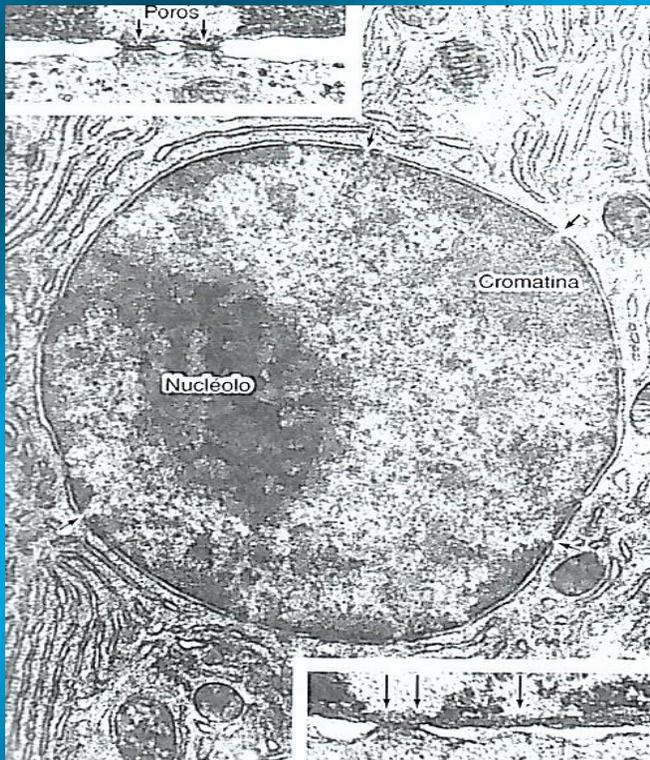


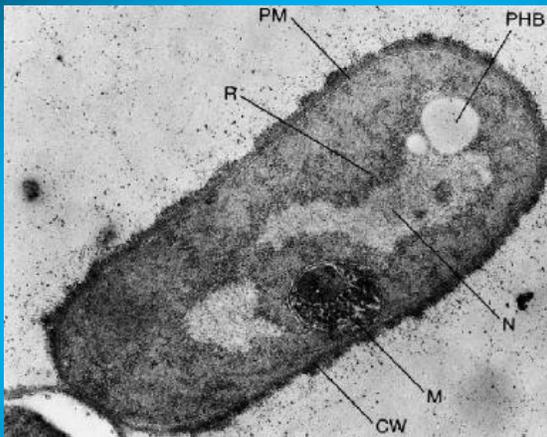
Figura 1.37 Citoplasma y núcleo.<sup>10</sup>

## ✓ NUCLEOIDE

El genoma bacteriano reside en un solo cromosoma y consiste típicamente en cerca de 4000 genes codificados en una molécula circular grande de DNA de doble cadena, que contiene cerca de 5 millones de pares de bases de nucleótidos. Esta molécula mide mas de 1mm de longitud y, en consecuencia, supera la longitud de la célula en aproximadamente 1000 veces.<sup>16</sup>

El ajustado empaquetamiento desplaza los ribosomas y otros componentes del citosol, creando regiones que contienen un cromosoma, cubierto en general por poliaminas y ciertas proteínas especializadas de enlaces de DNA. La cadena de DNA de doble hélice presenta superdesarrollamiento y se adhiere a la membrana celular, a alguna estructura central, o ambas, en una gran cantidad de puntos<sup>16</sup>.

Esto crea dobleces de DNA, cada uno de los cuales está enrollado de manera independiente en un ceñido haz. Cada cuerpo nuclear corresponde a una molécula de DNA. El numero de cuerpo nucleares varía en función de la tasa de crecimiento; las células en reposo tienen uno y las células en rápido crecimiento llegan a tener hasta cuatro.<sup>16</sup>



**Figura 1.38 Estructura de una célula Gram positiva. Observese la gruesa pared celular PC; el mesosoma M; el nucleoide N; el cuerpo de inclusión de poli-beta-hidroxibutirato PHB; la membrana plasmática MP; y los ribosomas R.**

## CLASIFICACIÓN BACTERIANA

### CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN BACTERIANA

- Por su forma
- Por su agrupamiento
- Por su afinidad tintorial
- Por su respiración
- Por sus características metabólicas
- Por análisis antigénico
- Por susceptibilidad a bacteriófagos
- Por análisis del ácido desoxirribonucleico
- Por porcentaje de secuencia de nucleótidos
- Por grado de hibridación

Desde que se empezaron a describir las primeras formas de las bacterias en 1676 por Anton Van Leuwenhoeck, se inicio el agrupamiento de estas, considerando su similitud morfológica. Con estas características en común se formaron cuatro grupos<sub>1</sub>:

1. Cocos son de forma esférica
2. Bacilos son en forma de pequeños bastones
3. Espirilos son en forma de tirabuzón con un eje helicoidal
4. Vibrios ligeramente curvados y generalmente de gran movilidad

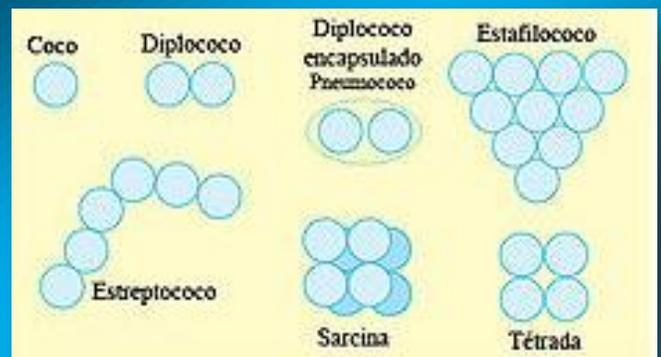


Figura 1.39 Agrupación de los cocos.

Una vez conocida la forma de las bacterias, se empezó a observar que se agrupaban en forma muy característica y así se formaron otros grupos como:

- a) Streptococos son en forma de cadenas
- b) Diplococos son en pares
- c) Tétradas son en grupos de cuatro
- d) Sarcinas son en forma cubos
- e) Estafilococos son en forma de racimos

Los bacilos también se agrupan en forma característica:

- a) Diplobacilos son en pares
- b) Streptobacilos son en forma de cadenas
- c) Empalizadas, o formación de letras, porque los bacilos giran sobre las células dando este aspecto

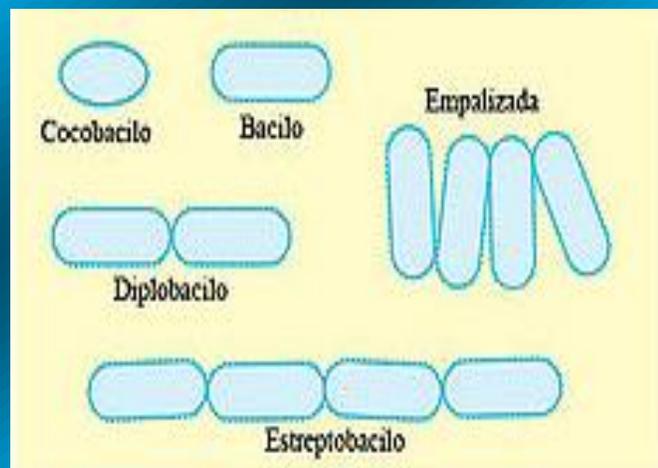


Figura 1.40 Agrupación de los bacilos.

Cuando se descubrió que las bacterias se teñían con colorantes surgió otro criterio de agrupación, su afinidad tintorial. Así, la tinción de Gram formo dos grandes grupos bacterianos.<sup>1</sup>

- Grampositivos se tiñen de color violeta
- Gramnegativos se tiñen de color rojo

Figura 1.41 Morfología de las bacterias según la tinción de Gram.<sup>4</sup>

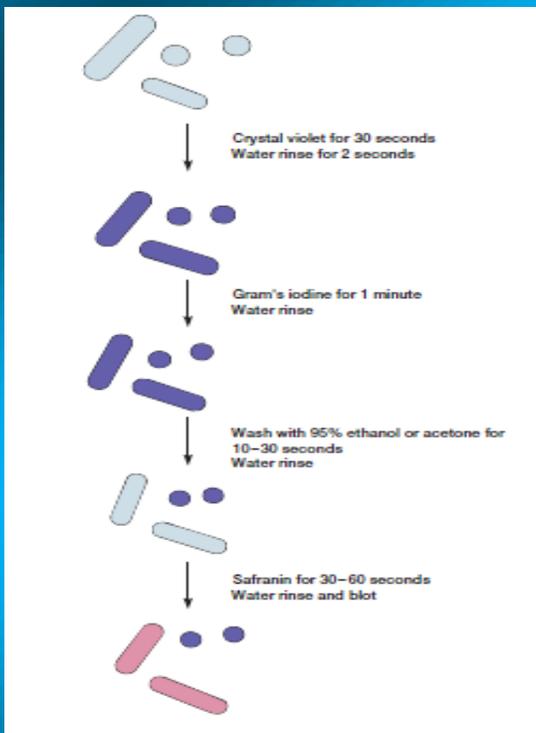
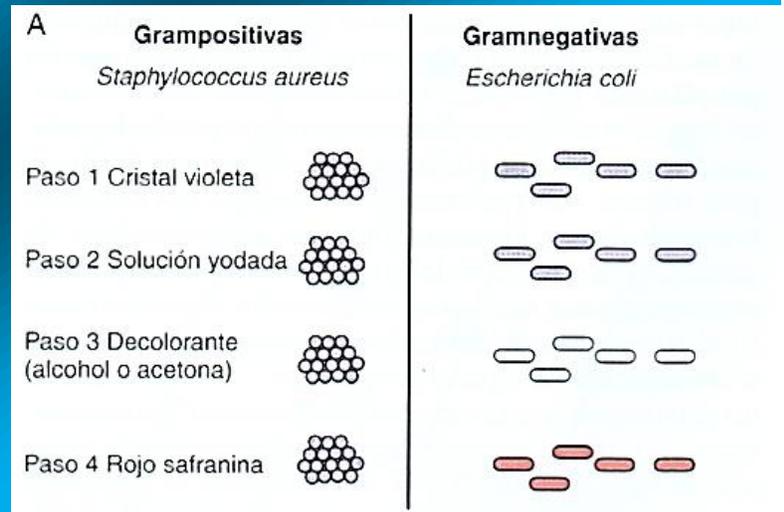


Figura 1.42 Metodo de tinción de Gram. Observese la importancia de la decoloración con etanol-acetona que elimina el cristal violeta de las células Gram negativas, pero no de las Gram positivas. Las primeras adquieren un color rosa a rojo tras la última tinción con safranina.<sup>4</sup>

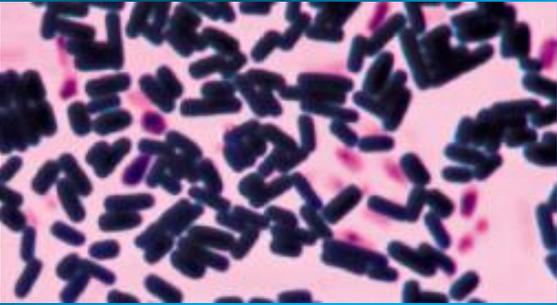


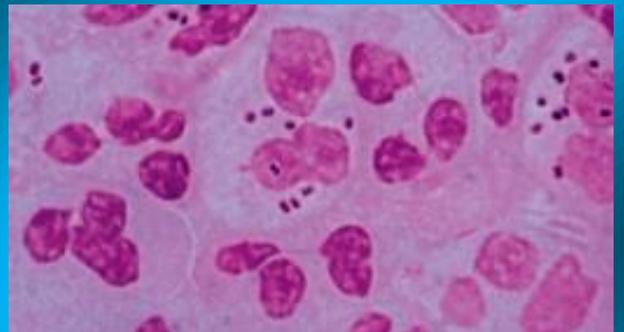
Figura 1.43 *Clostridium perfringens* Gram positivo.<sup>16</sup>

Figura 1.44 *Staphylococcus aureus* tinción de Gram. los cocos Gram positivos se asocian en racimos semejantes a los de las uvas.<sup>16</sup>



Figura 1.45 *Escherichia coli*. Tinción de gram.<sup>16</sup>

Figura 1.46 *Neisseria gonorrhoeae*. Los diplococos se encuentran a menudo dentro de los leucocitos.<sup>16</sup>



También la tinción de Ziehl-Neelsen formo dos grandes grupos:

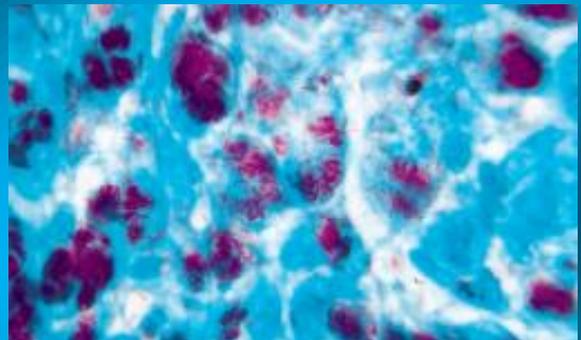
- Las bacterias acido- alcohol resistentes (BAAR) se tiñen de color rojo
- Las No acido- alcohol resistentes (NAAR) se tiñen de color azul



Figura 1.47 Tinción de Ziehl-Neelsen.

- Una vez que la fucsina básica ha penetrado en la célula con ayuda del calor y el fenol, las células ácido-alcohol resistentes no se decoloran fácilmente con una solución acidoalcohólica, permaneciendo en color rojo.<sup>16</sup>
- Esto se debe al elevado contenido de lípidos de las paredes de estas células ; en particular, los ácidos micólicos -un grupo de lípidos hidroxilicos de cadena ramificada- parecen ser los responsables de la propiedad ácido-alcohol resistencia.<sup>16</sup>
- Las bacterias no ácido-alcoholresistentes se decoloran con la solución acidoalcohólica, por lo que se tiñen de azul con azul de metileno (tinción de contraste). Este método se emplea para identificar *Mycobacterium tuberculosis* y *M. leprae* agentes patógenos responsables de la tuberculosis y la lepra, respectivamente.<sup>16</sup>

Figura 1.48 *Mycobacterium leprae*. Tinción de ácido-alcohol resistencia. Observese las masas de bacterias rojas dentro de las células huésped.<sup>16</sup>



Cuando se descubrió la forma de respiración de las bacterias surgió otro criterio de clasificación que las agrupo en cuatro tipos<sub>1</sub>:

- a) Bacterias aerobias estrictas son aquellas que requieren del oxígeno como último aceptor de electrones.
- b) Bacterias anaerobias estrictas utilizan sales inorgánicas en lugar de oxígeno para transferir electrones y además la presencia de oxígeno es nociva para formar compuestos tóxicos para la bacteria.
- c) Bacterias aerobias y anaerobias facultativas que pueden respirar en presencia y en ausencia del oxígeno ya que cuentan con sistemas enzimáticos que pueden activarse en cualquiera de estas situaciones
- d) Bacterias Microaerofílicas requieren de menor concentración de oxígeno en el medio para realizar mejor la respiración

✓ Cuando se descubrió que las bacterias estimulaban la formación de anticuerpos específicos contra cada tipo diferente, se pensó que podría ser un buen criterio de clasificación y más fino en la identificación, por lo cual se fueron identificando los inmunógenos de superficie de las bacterias que han sido de gran utilidad en la clasificación.<sub>1</sub>

✓ Uno de los criterios que ha sido de gran utilidad en la taxonomía bacteriana es el metabolismo.

✓ Las características metabólicas has sido por muchos años el pilar de la identificación y agrupamiento de las bacterias; con base en este criterio y la identificación de antígenos bacterianos se hicieron las especies, los géneros, las tribus, las familias, los órdenes, las clases y el reino.<sub>1</sub>

## GUÍA DE ESTUDIO

- ✓ ¿Cómo se clasifican las bacterias?
- ✓ ¿Qué características tienen las bacterias procariontas?
- ✓ ¿Qué propiedades tienen las bacterias eucariotas?
- ✓ ¿Cuáles son las 4 morfologías básicas de las bacterias?
- ✓ ¿En qué forma se pueden agrupar las bacterias esféricas (cocos)?
- ✓ ¿Cuáles son las características de los bacilos?
- ✓ ¿Cuál es la estructura de las bacterias?
- ✓ ¿El citoplasma de la célula bacteriana que contiene?
- ✓ Desde el punto de vista anatómico. ¿Cuáles son las estructuras vitales de las bacterias?
- ✓ Desde el punto de vista estructural. ¿Cuáles son los 3 tipos de capsula que existen?
- ✓ Desde el punto de vista químico. ¿Cómo están formadas?
- ✓ Desde el punto de vista funcional. ¿Qué protección le confiere a las bacterias?
- ✓ ¿Qué es la membrana citoplasmática y qué importancia tiene?
- ✓ ¿Cómo está conformada la membrana citoplasmática y cuáles son sus constituyentes principales?
- ✓ ¿Qué es el citoplasma y qué importancia tiene?
- ✓ ¿En qué estructura se encuentra la información genética de la bacteria?
- ✓ ¿Cuáles son los criterios de clasificación de las bacterias?
- ✓ ¿Cómo se clasifican las bacterias de acuerdo a su respiración?

## REFERENCIAS

1. Romero CR, Microbiología y Parasitología Humana. 3ra. ed. México: Médica Panamericana; 2007.
2. Brooks, Geo F, Carro LL, Karen C, et.al Microbiología Médica. 19ª ed. México: El manual moderno;2008
3. Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, et.al. Tratado de Microbiología. 4ta ed. Barcelona España: Salvat;1996
4. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007
5. Zinsser, Joklik, Amos, et al. Microbiología. 20a ed. México: Panamericana.
6. Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997.
7. Valdez S, Lopez G, Microbiología y Parasitología. México: Facultad de medicina UNAM; 2010
8. Michael M, John M, Jack Parker, Brock biología de los microorganismos. 10ª ed. Pearson Educación; 2003
9. Hans G, Schlegel, Microbiología General,1ª ed. Omega; 1996
10. Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995.
11. Pumarola A, Rodriguez AT, Garcia JR, Piedrola GA. Microbiología y parasitología médica. 2ª ed. Elsevier España: Salvat; 1999.
12. Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
13. Bailey RW, Scott GE, Forbes AB, Sahn FD, Weissfeld SA. Diagnóstico microbiológico.12ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
14. Levison, Microbiología y parasitología humana. 8va ed. México: El manual moderno:
15. Sherris, KennethJ, George C. Microbiología Médica. 8va ed. México: Mc Gran Hill: 2005
16. Prescott L, Harley J,Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008
17. Roitt, Wakelin, Williams, Microbiología Médica. 2da ed. España: Mosby;

## REFERENCIAS DE FIGURAS

- FIGURA 1.1 Montiel, rosario, Genética Escolar [en línea], México, Blog educativo de biología para adolescentes, 2012, 08/02/2012, Consultado 14/09/12, 6:50 pm. Formato html disponible en internet: <http://geneticaescolar.blogspot.mx/2012/02/para-cuantas-celulas-existen.html>
- FIGURA 1.2 Organismos de los seres vivos, [En línea], Consultado 14/09/12 7:50pm. Formato html disponible en internet: <http://www.tarima.net/posts/ciencia-educacion/9920040/Organismos-de-los-seres-vivos.html>
- FIGURA 1.3 Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007.
- FIGURA 1.4 Sherris, KennethJ, George C. Microbiología Medica. 8va ed. Mexico: Mc Gran Hill: 2005.
- FIGURA 1.5 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997.
- FIGURA 1.6 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997.
- FIGURA 1.7 Molina López, José y Uribarren Berrueta, Teresa, generalidades de bacterias [en línea], Mexico, departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM, 2011, 28/04/2011, Consultado 18/12/12, 5:20 pm, Formato html disponible en internet: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/generalidades.html>
- FIGURA 1.8 Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007.
- FIGURA 1.9 Prescott L, Harley J,Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008.
- FIGURA 1.10 Prescott L, Harley J,Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008.
- FIGURA 1.11 Prescott L, Harley J,Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008.
- FIGURA 1.12 Prescott L, Harley J,Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008.
- FIGURA 1.13 Prescott L, Harley J,Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008.
- FIGURA 1.14 Prescott L, Harley J,Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008.
- FIGURA 1.15 Raisman, Jorge. Núcleo Bacteriano [en línea], 2000, consultado 18/12/12 5:55pm, Formato html disponible en internet: <http://www.biblioteca.org.ar/libros/hipertextos%20de%20biologia/micro2.htm>

- FIGURA 1.16 Célula procariota [en línea], Consultado 19/09/12 11:47am, Formato html disponible en internet: <http://thegreatestwallpapers.blogspot.mx/2011/03/celula-procariota-wallpapers.html>
- FIGURA 1.17 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- FIGURA 1.18 Sherris, KennethJ, George C. Microbiología Medica. 8va ed. Mexico: Mc Gran Hill: 2005
- FIGURA 1.19 Zinsser, Joklik, Amos, et.al. Microbiología. 20a ed. Mexico: Panamericana.
- FIGURA 1.20 Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995.
- FIGURA 1.21 Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007.
- FIGURA 1.22 Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995.
- FIGURA 1.23 Sherris, KennethJ, George C. Microbiología Medica. 8va ed. Mexico: Mc Gran Hill: 2005
- FIGURA 1.24 Sherris, KennethJ, George C. Microbiología Medica. 8va ed. Mexico: Mc Gran Hill: 2005
- FIGURA 1.25 Sherris, KennethJ, George C. Microbiología Medica. 8va ed. Mexico: Mc Gran Hill: 2005
- FIGURA 1.26 Sherris, KennethJ, George C. Microbiología Medica. 8va ed. Mexico: Mc Gran Hill: 2005
- FIGURA 1.27 Sherris, KennethJ, George C. Microbiología Medica. 8va ed. Mexico: Mc Gran Hill: 2005
- FIGURA 1.28 Fimbria [en línea] Consultado 19/09/12 1:40 pm, Formato html disponible en internet: <http://es.wikipedia.org/wiki/Fimbria>
- FIGURA 1.29 Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995.
- FIGURA 1.30 Flagelo bacteriano, [en línea], consultado 20/12/12, 10:59pm, Formato html disponible en internet : <http://artigoo.com/el-flagelo-bacteriano>
- FIGURA 1.31 Las bacterias, [en línea], consultado 19/09/12 2:37pm, Formato html disponible en internet: <http://www.mediavida.com/foro/off-topic/las-bacterias-433122>
- FIGURA 1.32 Prescott L, Harley J,Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008
- FIGURA 1.33 Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995.
- FIGURA 1.34 Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007
- FIGURA 1.35 Prescott L, Harley J,Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008
- FIGURA 1.36 Prescott L, Harley J,Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008

- FIGURA 1.37 Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995
- FIGURA 1.38 Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995
- FIGURA 1.39 Bacteria, [en línea], Consultado 19/09/12 7:03pm, Formato html disponible en internet:  
<http://es.wikipedia.org/wiki/Bacteria>
- FIGURA 1.40 Bacteria, [en línea], Consultado 19/09/12 7:03pm, Formato html disponible en internet:  
<http://es.wikipedia.org/wiki/Bacteria>
- FIGURA 1.41 Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007
- FIGURA 1.42 Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007
- FIGURA 1.43 Prescott L, Harley J, Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008
- FIGURA 1.44 Prescott L, Harley J, Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008
- FIGURA 1.45 Prescott L, Harley J, Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008
- FIGURA 1.46 Prescott L, Harley J, Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008
- FIGURA 1.47 Tinciones diferenciales [En línea], 2010, 21/04/2010, Consultado 19/09/12 7:35pm, Formato html disponible en internet:  
[http://bacterias.blogspot.mx/2010/04/tinciones-diferenciales\\_21.html](http://bacterias.blogspot.mx/2010/04/tinciones-diferenciales_21.html)
- FIGURA 1.48 Prescott L, Harley J, Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008

## REFERENCIAS TABLAS

TABLA 1.1 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997.



The background of the slide is a composite of various microorganisms. There are several spherical cells covered in fine, radiating spines, resembling radiolarians or certain types of algae. Interspersed among these are elongated, rod-shaped cells, some of which are smooth and others that appear to have a textured or striated surface. The overall color palette is a range of greens, from light lime to dark forest green, set against a black background.

## Capítulo 2

# CULTIVO DE MICROORGANISMOS

## CULTIVO DE MICROORGANISMOS

Se le llama cultivo al proceso de multiplicar microorganismos mediante las condiciones ambientales adecuadas. Los microorganismos en crecimiento realizan copias de sí mismos y requieren los elementos que se encuentran en su composición química; los nutrientes deben proporcionar estos elementos de manera metabólicamente accesible.<sup>2</sup>

Además dichos microorganismos requieren energía metabólica para sintetizar macromoléculas y conservar los gradientes químicos esenciales a través de sus membranas. Los factores que se deben controlar durante el crecimiento son nutrimentos, pH, temperatura, aireación, concentración de sales y potencial iónico del medio.<sup>2</sup>

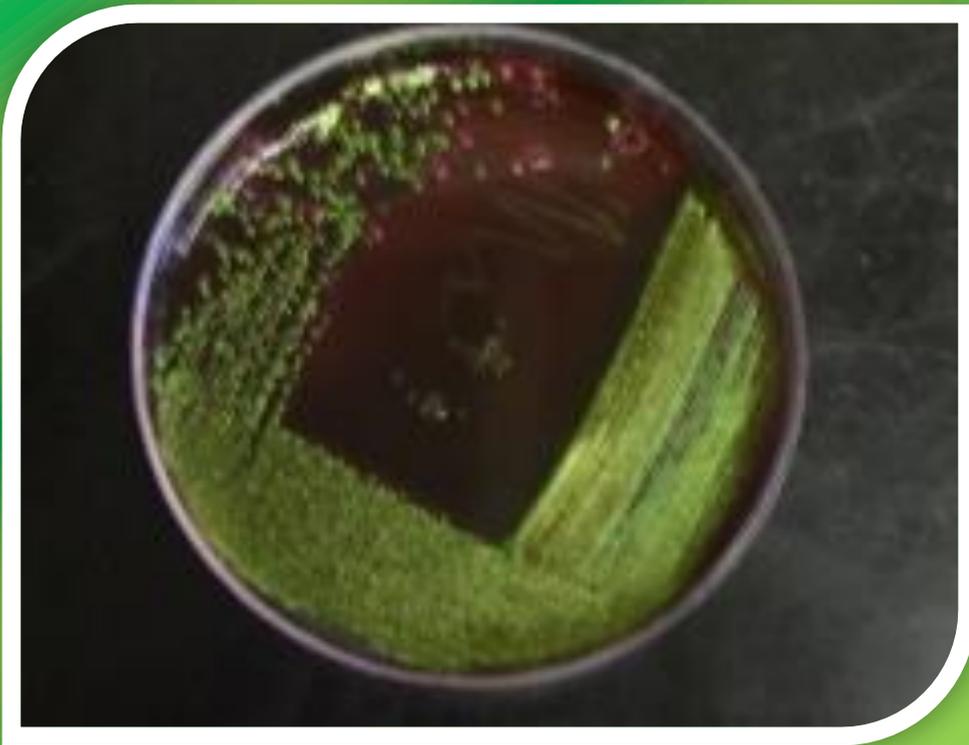


Figura 2.1 Color verde metálico en las colonias característicos de *Escherichia coli* en medio de cultivo EMB.

## REQUERIMIENTOS NUTRITIVOS ESENCIALES

El análisis de la composición de la célula microbiana revela que el 95% del peso seco de la célula está constituido de material orgánico que contiene:

Tabla. 2.1 Material de los microorganismos. <sup>12</sup>	
Orgánicos	Inorgánicos
• Carbono	• Potasio
• Hidrógeno	• Sodio
• Nitrógeno	• Hierro
• Oxígeno	• Magnesio
• Fosforo	• Calcio
• Azufre	• Cloruros

Estos se denominan macroelementos o macronutrientes porque los microorganismos los captan en cantidades relativamente grandes. Los seis primeros (C, O, H, N, S y P) son componentes de los hidratos de carbono, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Los cuatro macroelementos restantes se encuentran en la célula en forma de cationes y desempeñan diversos papeles<sup>15</sup>:

- Potasio: es necesario para la actividad de varias enzimas, incluyendo algunas que participan en la síntesis de proteínas
- Calcio: contribuye entre otras funciones, a la temperatura de las endospora.
- Magnesio: actúa como cofactor de muchas enzimas, forma complejos con el ATP y estabiliza los ribosomas y las membranas celulares.
- Hierro: forman parte de los citocromos y es cofactor de enzimas y de proteínas transportadoras de electrones.

Todos los organismos, incluyendo los microorganismos, requieren diversos micronutrientes o elementos traza, además de los macroelementos. La mayoría de las células necesitan los micronutrientes: magnesio, cinc, cobalto, molibdeno, níquel y cobre.<sup>15</sup>

Sin embargo, las células precisan de unas cantidades tan pequeñas, que contaminantes presentes en el agua, recipientes y en los componentes habituales del medio son a menudo suficientes para el crecimiento.<sup>15</sup>

Estos micronutrientes son normalmente parte de enzimas y cofactores y facilitan el catálismo de reacciones y el mantenimiento de la estructura de proteínas.<sup>15</sup>

Además de los macroelementos comunes y elementos traza, los microorganismos pueden tener necesidades especiales que reflejen la naturaleza especial de la morfología o de su habidad natural.<sup>15</sup>

Aunque la mayoría de las bacterias no requieren grandes cantidades de sodio, muchas bacterias que crecen en lagos salinos y océanos depende de la presencia de concentraciones elevadas de ion sodio.<sup>15</sup>

Por último, debe aclararse que los microorganismos requieren una mezcla compensada de nutrientes. Si un nutriente esencial no se encuentra disponible, el crecimiento microbiano se verá limitado independientemente de la concentración de otros nutrientes.<sup>15</sup>

**Tabla. 2.2 fuentes de carbono, energía y electrones.**<sup>12</sup>

<b>Fuentes de carbono</b>	
• Autótrofos	CO <sub>2</sub> como única o principal fuente de carbono.
• Heterótrofos	Moléculas orgánicas preformadas reducida, procedentes de otro organismo.
<b>Fuentes de energía</b>	
• Fototrofos	Luz
• Quimiotrofos	Oxidación de compuestos orgánicos o inorgánicos.
<b>Fuentes de electrones</b>	
• Litotrofos	Moléculas inorgánicas reducidas
• Organotrofos	Moléculas orgánicas.

## FUENTES DE ENERGÍA METABÓLICA

### -METABOLISMO DE LAS BACTERIAS

Muchos de los principios del metabolismo son universales. Esta sección se enfoca en los aspectos únicos del metabolismo bacteriano que son importantes en medicina. La necesidad de comparar las rutas seguidas por bacterias y mamíferos se reduce por el hecho de que gran parte de lo que sabemos sobre el metabolismo humano se deriva del trabajo con *Escherichia coli*.<sup>15</sup>

Las amplias diferencias entre las bacterias y las células eucariotas humanas pueden resumirse de la siguiente manera:<sup>15</sup>

- ✓ Velocidad: las bacterias metabolizan a una tasa de 10 a 100 veces mayor.<sup>15</sup>
- ✓ Versatilidad: las bacterias utilizan compuestos más diversos como fuente de energía y son requerimientos nutricionales<sup>15</sup>.
- ✓ Sencillez: la organización de la célula procariota posibilita que las bacterias sintetizen macromoléculas eficientemente.<sup>15</sup>
- ✓ Naturaleza única: algunos procesos de biosíntesis, como los que producen peptidoglucano, liposacáridos y toxinas, son específicos de las bacterias<sup>15</sup>.

El metabolismo bacteriano es sumamente complejo. La célula bacteriana se sintetiza a sí misma y genera energía por medio de hasta 2000 reacciones químicas. Estas reacciones se pueden clasificar según su función en los procesos metabólicos de producción de producción de energía, biosíntesis, polimerización y ensamblaje.<sup>15</sup>

Los tres mecanismos principales para general energía metabólica son fermentación, respiración y fotosíntesis, para poder crecer, el microorganismo debe utilizar por lo menos uno de estos mecanismos.<sup>2</sup>

## • FERMENTACIÓN

Es la transferencia de electrones y protones por medio de DNA<sup>+</sup> directamente a un aceptor orgánico. El piruvato ocupa un papel central en la fermentación, la fermentación es una manera ineficiente de generar ATP y, en consecuencia, deben fermentarse grandes cantidades de azúcar para satisfacer en forma anaerobia los requerimientos de las bacterias. En la fermentación se producen grandes cantidades de ácidos orgánicos y alcoholes. Los compuestos que se producen dependen de la vía particular de fermentación que emplea una especie determinada y, por ende, el perfil de productos de la fermentación en un auxiliar diagnóstico en el laboratorio clínico.<sup>15</sup>



Figura 2.2 Productos finales de las vías de fermentación.<sup>15</sup>

- **RESPIRACIÓN**

La respiración implica vías energéticas en las que la oxidación del sustrato se conjunta con el transporte de electrones a través de una cadena de portadores hasta algún aceptador final, que con frecuencia, aunque no siempre, es el oxígeno molecular.<sup>15</sup>

Otros compuesto inorgánico al igual que orgánicos pueden servir como el aceptador final de electrones y, por ende, muchos organismos que no tienen capacidad fermentativa pueden vivir en ausencia de oxígeno.<sup>15</sup>

La respiración es un generador eficiente de ATP. La respiración en procariontas, al igual que en las células eucariontas, ocurre por medio de enzimas asociadas con la membrana, pero en las procariontas, la membrana celular en lugar de las membranas mitocondriales es la que proporciona el sitio físico.<sup>15</sup>

- **FOTOSÍNTESIS**

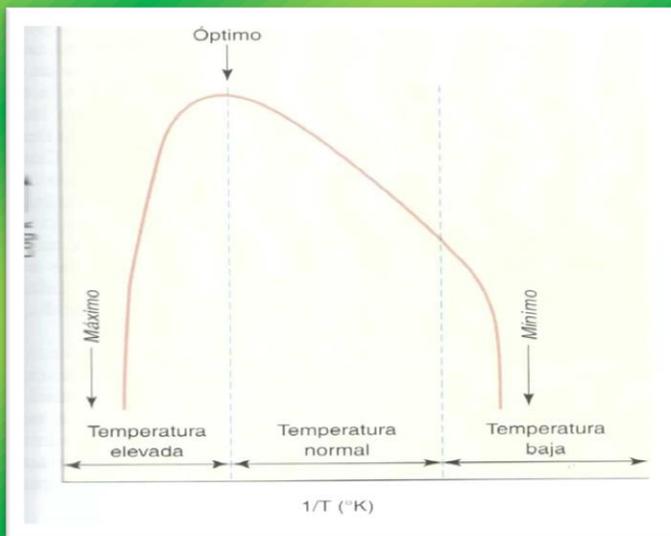
La fotosíntesis es similar a la respiración en que la reducción de un oxidante por medio de una serie de portadores de electrones es lo que establece la fuerza motriz protónica<sup>2</sup>.

La diferencia entre ambos procesos consiste en que, en la fotosíntesis, tanto el reductor como el oxidante se crean foto químicamente por medio de la energía luminosa absorbida por pigmentos en la membrana; en consecuencia, la fotosíntesis puede proseguir sólo en tanto haya una fuente de energía lumínica.<sup>2</sup>

Para poder crecer un microorganismo se requiere todos los elementos contenidos en su materia orgánica y el complemento total de iones necesarios para la producción de energía y la catálisis. Además, debe haber una fuente de energía que establezca la fuerza motriz protónica y que permita la síntesis macromolecular. Los microorganismos varían ampliamente en cuanto a sus demandas nutricionales y sus fuentes de energía metabólicas.<sup>2</sup>

**Tabla 2.3 Requerimientos físicos.<sup>10</sup>**

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Temperatura.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Psicrófilos (15 a 20°C)</li> <li>○ Mesófilos (30 a 37 °C)</li> <li>○ Termófilos (50 a 60 °C)</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Concentración de iones hidrógeno.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Neutrófilos pH 6.0 a 8.0</li> <li>○ Acidófilos pH 3.0</li> <li>○ Alcalófilos pH 10.5</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Concentración iónica y presión osmótica.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Halófilos elevadas sales</li> <li>○ Osmófilos elevada presión osmótica.</li> </ul>



**Figura 2.3 Forma general del gráfico de Arrhenius de la proliferación bacteriana.<sup>10</sup>**

**Tabla 2.4 Requerimientos nutricionales<sup>1</sup>**

• Carbono	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Autótrofas</li> <li>○ Heterótrofas</li> </ul>
• Nitrógeno	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Iones inorgánicos</li> <li>○ Azufre</li> <li>○ Fósforo</li> <li>○ Potasio</li> <li>○ Magnesio</li> <li>○ Calcio</li> <li>○ Hierro</li> <li>○ Manganeso</li> <li>○ Zinc</li> <li>○ Cobre</li> <li>○ Cobalto</li> <li>○ Selenio</li> <li>○ Molibdeno</li> </ul>
• Oxígeno	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Anaerobias estrictas</li> <li>○ Anaerobias autotolerantes</li> <li>○ Anaerobias facultativas</li> <li>○ Microaerofílicas</li> <li>○ Aerobias estrictas</li> </ul>
○ Factores de crecimiento	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Vitaminas</li> <li>○ Aminoácidos</li> <li>○ Purinas</li> <li>○ Pirimidinas</li> </ul>

## REQUERIMIENTOS NUTRITIVOS

### Requerimientos de Carbono, Hidrógeno y Oxígeno

Las necesidades de carbono, hidrógeno y oxígeno suelen cubrirse al mismo tiempo. El carbono es necesario para construir el esqueleto de todas las moléculas orgánicas y, además, las moléculas que sirven como fuente de carbono aportan también normalmente, átomos de oxígeno e hidrógeno.<sup>16</sup>

Por otra parte, ya que estos compuestos orgánicos se encuentran casi siempre reducidos y pueden donar esos electrones a otras moléculas, pueden servir como fuentes de energía, así cuando más reducidos estén, mayor contenido energético tendrán. En definitiva, las fuentes de carbono frecuentemente se utilizan además como fuentes de energía, aunque ésta no fuera su utilidad inicial.<sup>16</sup>

- **Carbono**

- a) Bacterias autótrofas o litótrofas que requieren de agua, sales inorgánicas y  $\text{CO}_2$  para su metabolismo, son bacterias que tienen un equipo metabólico muy completo para la síntesis de compuestos orgánicos a partir de sales inorgánicas. La mayoría de estos son fotosintéticos y utilizan la luz como fuente de energía. Estas bacterias no necesitan parasitar organismos superiores, generalmente se encuentran en el suelo, en el agua, son de vida libre.<sup>1</sup>

- b) Las bacterias heterótrofas u organótrofas, requieren de compuestos orgánicos como fuentes de carbono para su crecimiento, esto significa que el equipo metabólico es diferente al de las bacterias autótrofas, generalmente estas bacterias se encuentran sobre organismo superiores de donde obtienen los compuestos orgánicos, o bien, se encuentran en lugares donde existen materiales orgánicos en descomposición.<sup>1</sup>

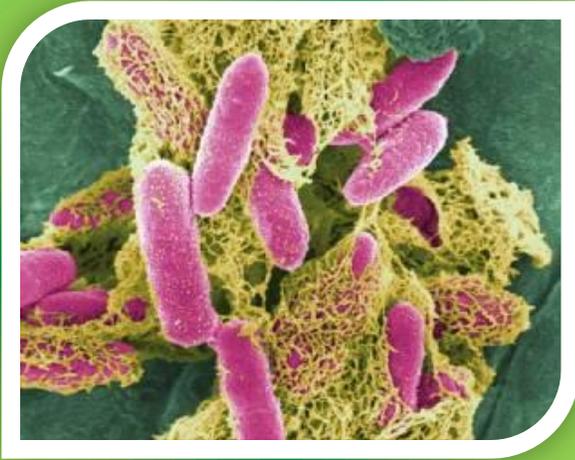


Figura 2.4 *Escherichia coli* bacteria heterótrofa.

- **Oxígeno**

es un elemento que juega un papel muy importante en el crecimiento bacteriano, a tal grado que su presencia puede inhibir el crecimiento de unas bacterias o también su ausencia puede inhibir el crecimiento de otras. En función de la necesidad del oxígeno existen 5 grupos:<sup>1</sup>

a) Anaerobias estrictas: son aquellas que no pueden sobrevivir en presencia de oxígeno debido a que se forman compuestos tóxicos que no pueden degradar como  $H_2O_2$ .<sup>1</sup>

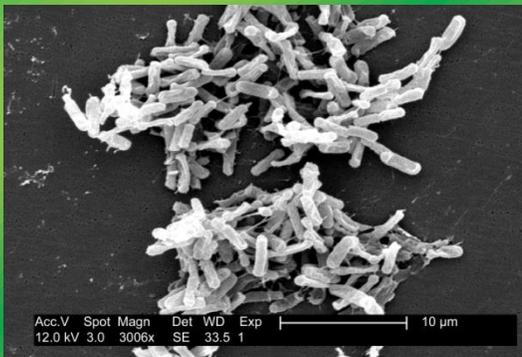


Figura 2.5 Ejemplo de Bacteria Anaerobia estricta *Clostridium*.

b) Anaerobias aerotolerantes: son aquellas que viven en ausencia de oxígeno, pero que pueden adaptarse a la presencia de éste. En estos dos grupos, el metabolismo es esencialmente fermentativo.<sup>1</sup>

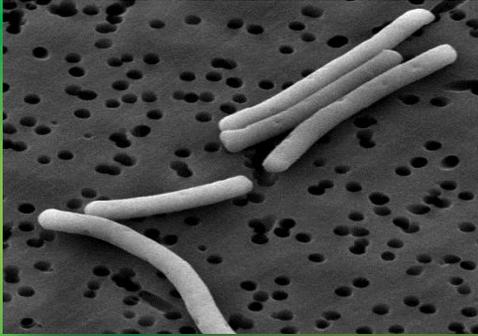


Figura 2.6 *Lactobacillus* ejemplo de bacteria anaerobia aerotolerantes.

c) Anaerobias facultativas: son aquellas que pueden crecer en presencia y ausencia de oxígeno.<sup>1</sup>

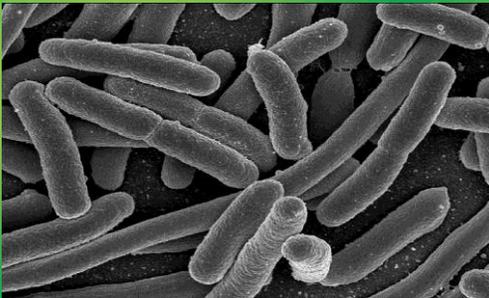


Figura 2.7 Micrografía Electrónica de barrido de *Escherichia coli*.

d) Aerobias estrictas: son aquellas que solo pueden utilizar el oxígeno como último aceptor de electrones (hidrogeniones).<sup>1</sup>



Figura 2.8 Micrografía Electrónica de barrido de *Mycobacterium tuberculosis*.

- e) Microaerofilicas: son las que necesitan tensiones bajas de oxígeno, generalmente estas requieren de concentraciones mayores de  $\text{CO}_2$  de los que se encuentran en la atmósfera (0.03%); la mayoría necesita entre 5 y 10 % en el medio ambiente ya que sus enzimas tienen baja afinidad por el  $\text{CO}_2$ .<sup>1</sup>



Figura 2.9 Monografía electrónica de barrido (SEM) de *Campylobacter fetus*.

## Necesidades de nitrógeno, fósforo y azufre.

Para crecer, un microorganismo debe ser capaz de incorporar grandes cantidades de nitrógeno, fósforo y azufre. Aunque estos elementos pueden adquirirse a partir de los mismos nutrientes que aportan carbono, los microorganismos suelen emplear también fuentes inorgánicas.

- Nitrógeno: la gran mayoría de las bacterias toman nitrógeno de la atmósfera y lo combinan con hidrógeno para formar  $\text{NH}^+$  el cual se utiliza para transferir N a los aminoácidos por la vía glutamato-glutamina, que es la forma básica del aprovechamiento del nitrógeno.<sup>1</sup>

El nitrógeno es necesario para sintetizar aminoácidos, purinas, pirimidinas, algunos hidratos de carbono y lípidos, cofactores de enzimas y otras sustancias. La mayoría de los microorganismos Fototrofos y muchos no fotosintéticos reducen nitrato a amonio, incorporándolo mediante la reducción asimilatoria de nitrato.<sup>16</sup>

- Fosforo: El fosforo está presente en los ácidos nucleicos, fosfolípidos, nucleótidos como ATP; varios cofactores, algunas proteínas y otros componentes de la célula. Casi todos los microorganismos usan fosfato inorgánico como fuente de fósforo y lo incorporan directamente. Niveles bajos de fósforo limitan el crecimiento microbiano en numerosos entornos acuáticos.<sup>16</sup>

Otros organofosfatados deben ser hidrolizados en el periplasma por fosfatasas alcalinas para producir fosfato inorgánico, que será entonces transportado a través de la membrana citoplasmática. Cuando el fosfato inorgánico se encuentra fuera de la célula, ésta cruza la membrana externa a través de una porina. Posteriormente un sistema de transporte la lleva a través de la membrana citoplasmática.<sup>16</sup>

- Azufre: el azufre es necesario para la síntesis de sustancias como los aminoácidos cisteína y metionina, algunos hidratos de carbono, biotina y tiamina. La mayoría de los microorganismos utilizan sulfato como fuente de azufre y lo reducen mediante la reducción asimilatoria de sulfato. Unos pocos precisan de una forma reducida de azufre, como cisteína.<sup>16</sup>
- Iones inorgánicos: los elementos necesarios para el metabolismo de las bacterias son : azufre, fósforo, potasio, magnesio, calcio, hierro, manganeso, zinc, cobre, cobalto, selenio y molibdeno, otros elementos pueden ser requeridos en forma particular por alguna especie o cepa bacteriana.<sup>1</sup>

## Factores de crecimiento.

Normalmente, los microorganismos podrán crecer y multiplicarse cuando dispongan de fuentes de energía, carbono, nitrógeno, fósforo y azufre. Estos organismos tienen las enzimas y vías necesarias para sintetizar todos los componentes celulares que precisan para su mantenimiento adecuado; sin embargo, muchos microorganismos carecen de una o más enzimas esenciales. Por ello, no pueden elaborar todos los constituyentes indispensables, sino que deben obtenerlos, o a sus precursores, del ambiente.<sup>16</sup>

Un factor de crecimiento orgánico que debe contener la célula a fin de desarrollarse, pero es incapaz de sintetizar.<sup>10</sup> Se les ha llamado así a un grupo de sustancias que se encuentran íntimamente ligadas a las funciones de multiplicación bacteriana como son: las vitaminas del complejo B, los aminoácidos, las purinas y las pirimidinas.<sup>1</sup>

Existen tres clases principales de factores de crecimiento:

- ✓ Aminoácidos: los aminoácidos se necesitan para la síntesis de proteínas y las purinas y pirimidinas. Para la síntesis de ácidos nucleicos.<sup>16</sup>
- ✓ Purinas y pirimidinas.
- ✓ Vitaminas: las vitaminas son moléculas orgánicas pequeñas que normalmente forman la totalidad o parte de los cofactores enzimáticos y solo se requieren cantidades pequeñas para el crecimiento. Algunos microorganismos necesitan muchas vitaminas.<sup>16</sup>

El conocimiento de las necesidades de factores de crecimiento específicos permite realizar bioensayos de crecimiento-respuesta frente a numerosas sustancias. La observación de numerosos microorganismos que pueden sintetizar grandes cantidades de vitaminas ha permitido su empleo en la industria. Diversas vitaminas hidrofílicas o hidrofóbicas se producen parcial o totalmente en grandes incubadoras industriales.<sup>16</sup>

## CURVA DE CRECIMIENTO BACTERIANO.

- ✓ El crecimiento puede definirse como un incremento en los constituyentes celulares; este crecimiento ocasiona un aumento del número de células en el caso de los microorganismos que se multiplican por procesos como gemación y fisión binaria.<sup>16</sup>
- ✓ Si el microorganismo es cenocítico esto es, multinucleado, en el que las divisiones nucleares no se acompañan de divisiones celulares, el crecimiento produce un incremento de tamaño, pero no del número de células.<sup>16</sup>
- ✓ En consecuencia los microbiólogos, cuando estudian el crecimiento, señalan normalmente los cambios observados en el número total de la población.<sup>16</sup>
- ✓ El crecimiento de una población microbiana se estudia analizando la curva de crecimiento de un cultivo microbiano.<sup>16</sup>
- ✓ Cuando un volumen fijo de medio líquido es inoculado con células microbianas obtenidas a partir de un cultivo que fue colonizado hasta la saturación y se mide periódicamente el número de células viables por mililitro para obtener una gráfica.<sup>10</sup>
- ✓ Las etapas de la curva de proliferación bacteriana reflejan los acontecimientos en una población de células, no en cada célula. Este tipo de cultivo se denomina cultivo semicontinuo. La curva típica de proliferación se puede describir en términos de cuatro etapas.<sup>10</sup>

### ❖ Etapa latente

La etapa latente es el periodo durante el cual las células, ya sin metabolitos ni enzimas a causa del ambiente poco favorable al final de su historia previa en cultivo, se adaptan a su ambiente nuevo. Se forman y acumulan enzimas y sustancias intermediarias hasta que su concentración es tal que permite la reanudación del desarrollo. Cuando las células se obtienen a partir de un medio completamente distinto, a menudo son genéricamente incapaces de crecer en el medio nuevo.<sup>10</sup>

### ❖ Etapa exponencial

Durante la etapa exponencial, las células se encuentran en estado constante. Sintetizan material celular nuevo a una velocidad constante, pero este material nuevo es catalítico y la masa aumenta en forma exponencial. Esto persiste hasta que sucede una de dos cosas:

- ✓ Se agota una o más nutrientes en el medio
- ✓ Se acumulan productos metabólicos nocivos que inhiben la proliferación.

Para los organismos aerobios, el nutriente que se elimina es casi siempre oxígeno.<sup>10</sup>

### ❖ Etapa estacionaria máxima

Finalmente, el agotamiento de nutrientes o la acumulación de productos nocivos provocan que la proliferación se detenga por completo. Sin embargo en la mayor parte de los casos, durante esta etapa se lleva a cabo un recambio celular: se pierden lentamente células que mueren pero esto se contrarresta por la formación de células nuevas a través de desarrollo y división. Cuando esto ocurre, la cuenta celular total aumenta lentamente aunque la cuenta viable permanece constante.<sup>10</sup>

### ❖ Etapa de declinación: Etapa de muerte

Después de un tiempo en etapa estacionaria, que varía según el microorganismo y las circunstancias del cultivo, el índice de muerte se eleva hasta alcanzar un nivel estable. En la mayor parte de los casos, la tasa de muerte celular es mucho más lenta que la proliferación exponencial.

Con frecuencia, una vez que muere la mayor parte de la célula la tasa disminuye en forma espectacular, de manera que persiste un pequeño número de supervivientes durante varios meses o incluso años.<sup>10</sup>

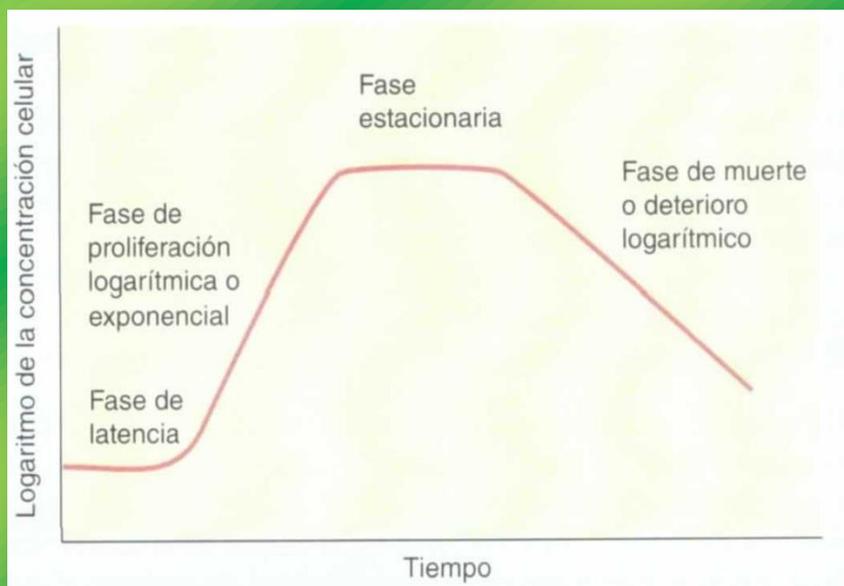


Figura 2.10 Curva de proliferación bacteriana.<sup>10</sup>

## METABOLISMO MICROBIANO

- Los bacilos gramnegativos no fermentadores son un grupo de microorganismos aerobios, no esporulados, que o bien no utilizan hidratos de carbono como fuente de energía o los degradan a través de vías metabólicas diferentes de la fermentación.
- Dentro de este grupo, se encuentran varios géneros de bacterias con requerimientos especiales de cultivo.
- La línea divisoria entre los que se considera un “no fermentador” y los que se designan como bacterias gramnegativo no fermentador de la glucosa “con requerimientos especiales de cultivo”, “poco habituales” o “misceláneo”.
- El término bacilo gramnegativo no fermentador se utiliza para designar a todos los bacilos gramnegativos que muestran abundante desarrollo en 24 horas en la superficie de agar hierro de kligler (KIA) o agar triple azúcar-hierro TSI, pero que no se desarrollan ni acidifican la profundidad de estos medios.



Figura 2.11 Agar triple azúcar hierro (TSI).<sup>14</sup>

## METABOLISMO DE LOS NO FERMENTADORES

- ✓ Las bacterias que obtienen su energía de compuestos orgánicos se conocen como quimioorganotróficas.
- ✓ La mayoría de las bacterias que se encuentran en la clínica obtienen la energía de la utilización de hidratos de carbono, por medio de una o de varias vías metabólicas.<sup>6</sup>
- ✓ Para identificar las especies bacterianas que pueden ser causantes de enfermedades infecciosas, es necesaria la detección y medición de los diferentes productos metabólicos<sup>6</sup>.
- ✓ Algunas bacterias de vida libre, como los grupos fijadores de nitrógeno o aquellas capaces de oxidar el azufre o el hierro, pueden obtener la energía a partir de compuestos químicos simples<sup>6</sup>.
- ✓ Las denominadas quimiolitotróficas casi no están implicadas como causa de enfermedad humana.<sup>6</sup>

Estos procesos metabólicos no sólo definen la ubicación taxonómica de las bacterias, sino que determinan las pruebas y procedimientos utilizados en la identificación de laboratorio de los microorganismos.<sup>6</sup>

## **METABOLISMO FERMENTATIVO Y OXIDATIVO**

Los microorganismos emplean diversas vías metabólicas para catabolizar la glucosa y otros azúcares. Debido a esta diversidad metabólica, su metabolismo puede resultar confuso. Para evitar en lo posible esta confusión, nos centraremos sólo en tres vías mediante las que los microorganismos degradan los azúcares a piruvato y otros productos intermedios:

- 1) Vía glucolítica o Embden-Meyerhof-Parnas
- 2) Vía de las pentosas fosfato o de las hexosas monofosfato ( Warburg-Dickens)
- 3) Entner-Doudoroff

Las bacterias utilizan una o más de esas vías para el metabolismo de la glucosa, dependiendo de su composición enzimática y de la presencia o ausencia de oxígeno.<sup>6</sup>

### **1) Vía glucolítica o Embden-Meyerhof-Parnas**

La vía de Embden-Meyerhof vía glucolítica es indudablemente la vía más común de la degradación de la glucosa a piruvato segunda etapa del catabolismo. Está presente en todos los principales grupos de microorganismos y actúa en presencia o ausencia de O<sub>2</sub>. La glucólisis [del griego glyco, dulce y lysis, disolución] tiene lugar en la matriz citoplasmática de procariotas y eucariotas.<sup>16</sup>

La vía en conjunto puede dividirse en dos partes. En la etapa inicial de seis carbonos, la glucosa es fosforilada dos veces y finalmente convertida en fructosa 1,6-bisfosfato. A menudo, se incorpora a la vía otros azúcares mediante su conversión en glucosa 6-fosfato o fructosa 6-fosfato. Esta etapa preliminar no produce energía; de hecho, se consumen dos moléculas de glucosa. Estos pasos iniciales “ceban” el sistema al añadir fosfatos a cada extremo del azúcar. Los fosfatos se utilizarán después para sintetizar ATP.<sup>16</sup>

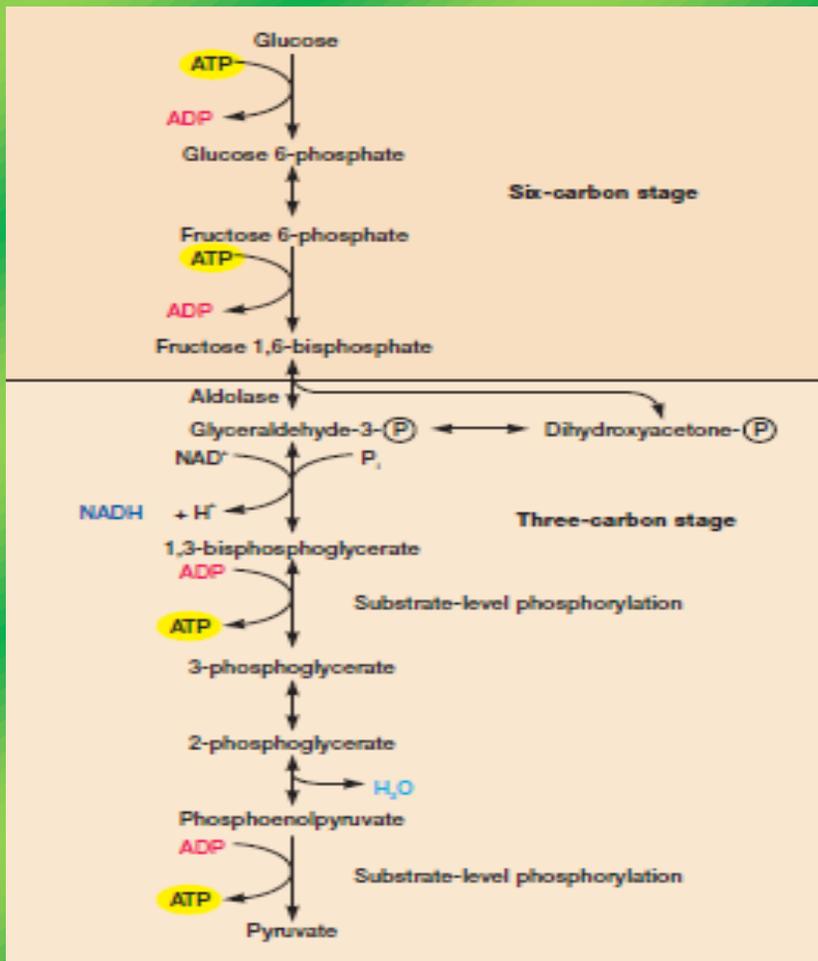


Figura 2.12 Glucólisis. Vía glucolítica para la degradación de la glucosa a piruvato. Se indican las dos etapas de la vía y sus productos.<sup>16</sup>

La etapa de tres carbonos de la glucólisis comienza cuando la enzima fructosa 1,6-bisfosfato adolasa cataliza la escisión de la fructuosa 1,6-bisfosfato en dos mitades, cada una de ellas con un grupo fosfato.

Uno de los productos, el gliceraldehído 3-fosfato, se convierte directamente en piruvato en un proceso de cinco pasos.

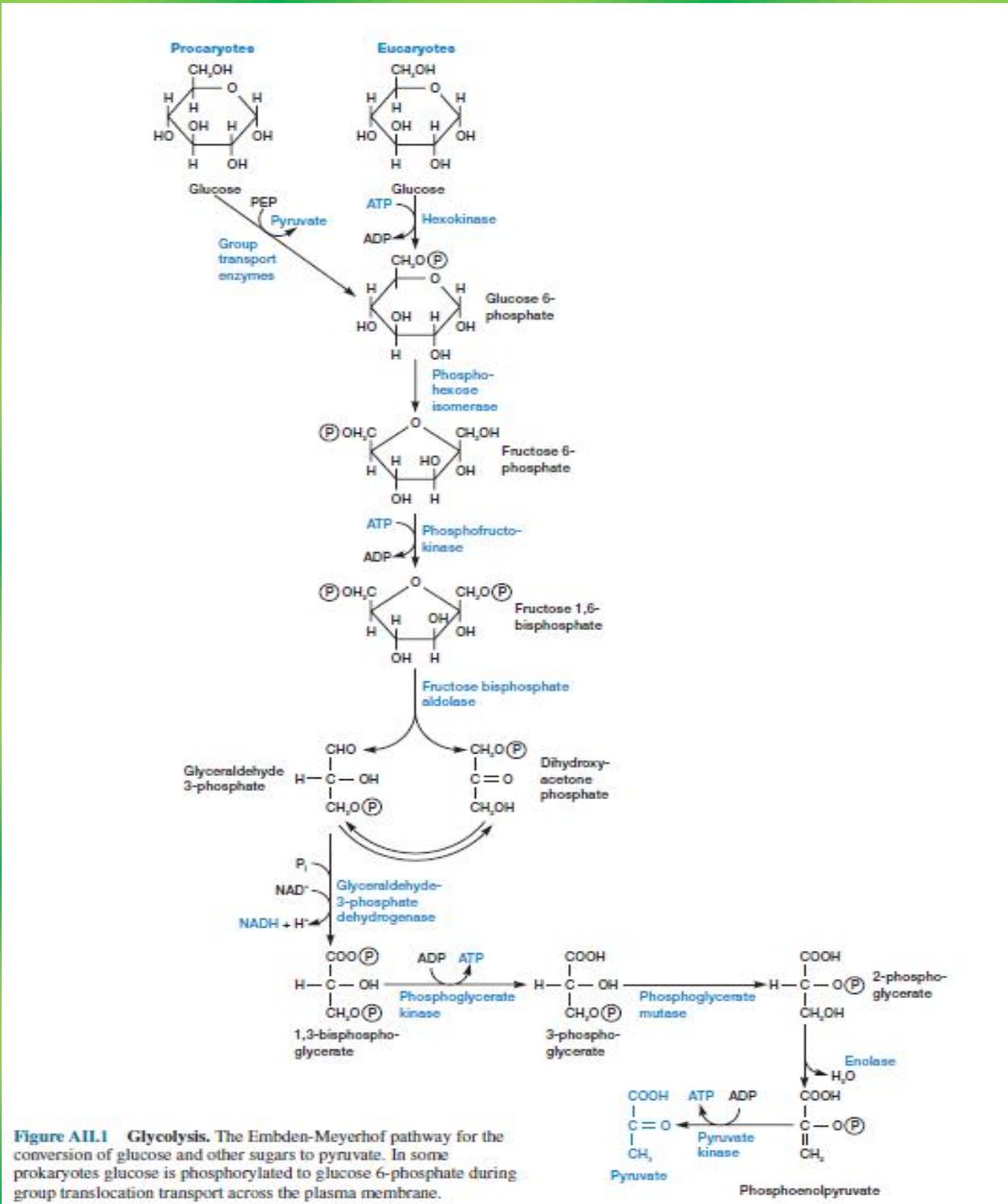
Debido a que el otro producto dihidroxiacetona fosfato, puede transformarse fácilmente en gliceraldehído 3-fosfato, ambas mitades de la fructosa 1,6-bisfosfato se utiliza en la etapa de tres carbonos.

En primer lugar, el gliceraldehído 3-fosfato se oxida con  $\text{NAD}^+$  como aceptador de electrones, incorporándose al mismo tiempo al grupo fosfato para formar una molécula de alta energía denominada 1,3-bisfosfoglicerato.

El grupo fosfato de alta energía unido al carbono 1 es cedido posteriormente al ADP para formar ATP.

En este caso, la síntesis de ATP recibe el nombre de fosforilación a nivel de sustrato, debido a que la fosforilación del ADP está acoplada a la degradación exergónica de una molécula de sustrato de alta energía.

En conjunto la vía glucolítica degrada una molécula de glucosa en dos moléculas de piruvato mediante la secuencia de reacciones anteriormente descritas. También se produce ATP y NADH. Esta producción puede calcularse las dos etapas de separación.



**Figure A11.1 Glycolysis.** The Embden-Meyerhof pathway for the conversion of glucose and other sugars to pyruvate. In some prokaryotes glucose is phosphorylated to glucose 6-phosphate during group translocation transport across the plasma membrane.

Figura 2.13 Glucolisis. Vía de Embden-Meyerhof para la conversión de la glucosa y otros azúcares en piruvato. En algunos procariontes, la glucosa se fosforila a glucosa 6-fosfato durante el transporte del tipo translocación de grupo a través de la membrana plasmática.<sup>16</sup>

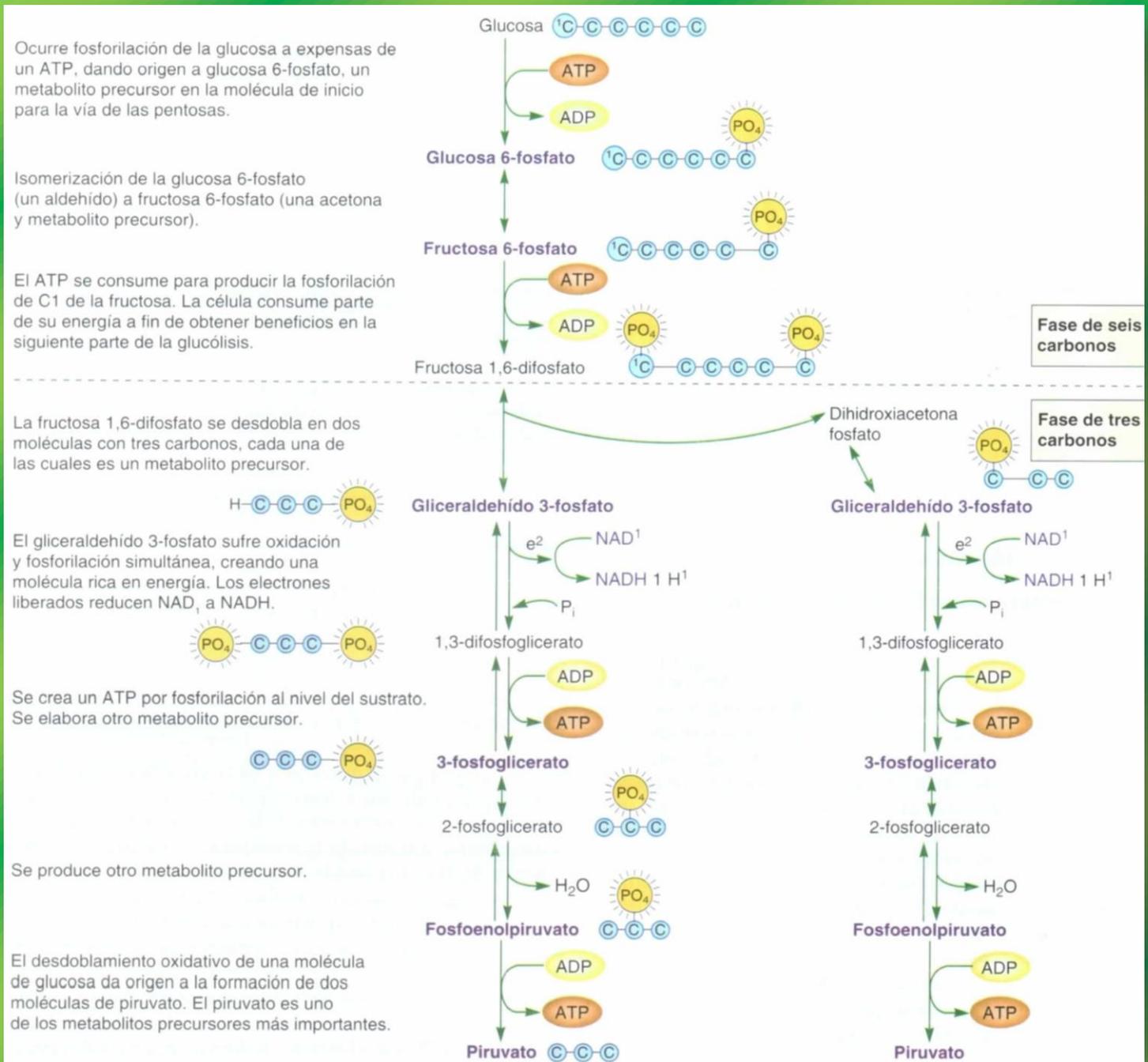


Figura 2.14 Vía de Embden- Meyerhof. Esta es una de las tres vías glucolíticas que se utiliza para catabolizar la glucosa a piruvato y puede funcionar durante la respiración aerobia y la fermentación. <sup>10</sup>

Los productos glucolíticos formados por fermentación tienen una acidez relativamente fuerte, que es detectada con facilidad por los indicadores de pH y pueden producirse grandes cantidades de gas esto no es válido para la vía de Entner-Doudoroff.<sup>6</sup>

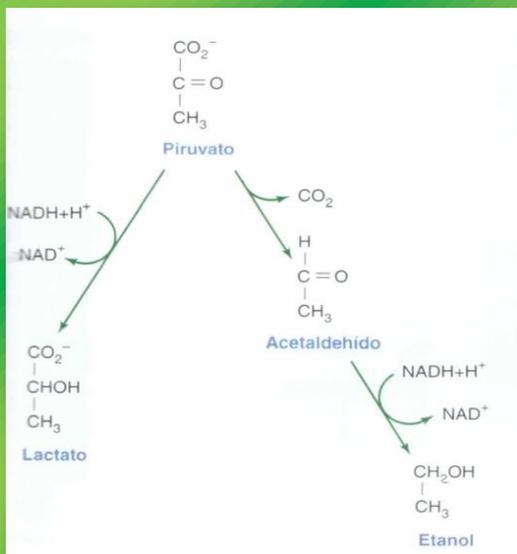


Figura 2.15 Dos mecanismos bioquímicos por los cuales el piruvato puede producir oxidación de NADH. Izquierda formación de lactato, lo que da origen a la producción neta de ácido láctico a partir de la glucosa. Derecha formación de productos neutrales como dióxido de carbono y etanol.<sup>10</sup>

## 2) Vía de las pentosas fosfato o de las hexosas monofosfato ( Warburg-Dickens)

Una segunda vía, la vía de las pentosas fosfato o vía de las hexosas monofosfato puede utilizarse al mismo tiempo que la vía glucolítica o la secuencia de Entner-Doudoroff. Esta puede operar de forma aerobia o anaerobia y es importante tanto en la biosíntesis como en el catabolismo.<sup>16</sup>

Las bacterias anaerobias facultativas son capaces de desarrollarse en la superficie de una placa de agar en presencia de oxígeno o en un medio anaerobio. Que un microorganismo pueda desarrollarse en un medio aerobio no significa necesariamente que utilice el oxígeno para sus procesos metabólicos.<sup>6</sup>

Es decir, no todos los aerobios son oxidativos. El término aerotolerantes es más apropiado para las bacterias no oxidativas que son capaces de desarrollarse en presencia de oxígeno pero que crecen mejor en un medio ambiente anaerobio.<sup>6</sup>

Muchos de los anaerobios facultativos pueden utilizar la vía EMP o la ED indistintamente dependiendo de las condiciones ambientales en las que se desarrolla la vía de la hexosa monofosfato (HPM) es en realidad un híbrido de las vías EMP y ED.<sup>6</sup>

La vía de las pentosas comienza con la oxidación de la glucosa 6-fosfato a 6-fosfogluconato, seguida de la oxidación de ésta a ribulosa 5-fosfato (pentosa) y  $\text{CO}_2$ .<sup>10</sup>

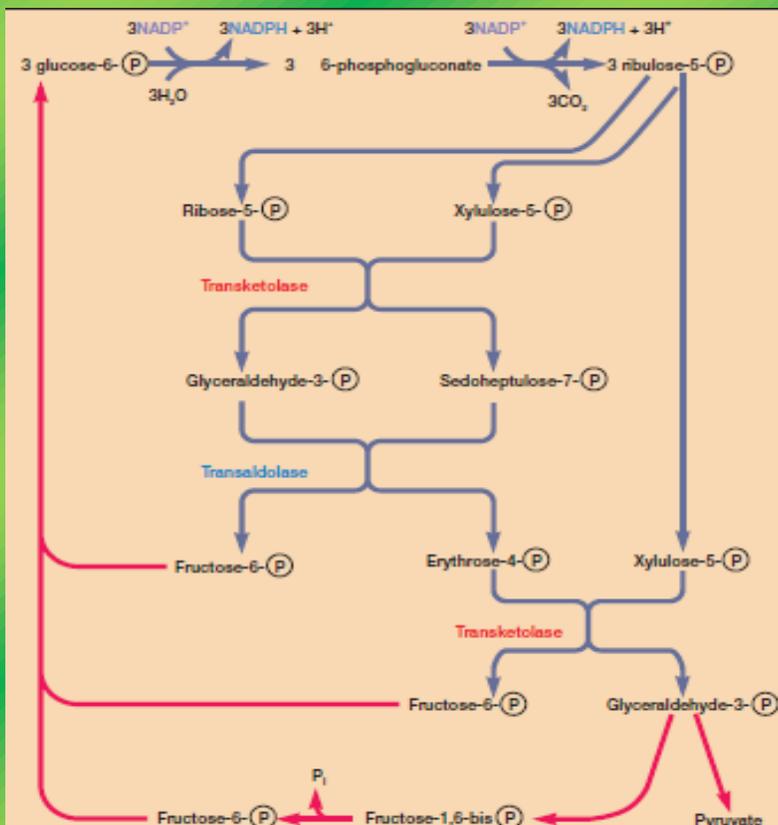


Figura 2.16 vía de las pentosas fosfato. Se representa la conversión de tres moléculas de glucosa 6-fosfato en dos moléculas de fructosa 3-fosfato. La fructosa 3-fosfato se convierte de nuevo en glucosa 6-fosfato. El gliceraldehído 3-fosfato puede convertirse en piruvato o combinarse con una molécula de dihidroxiacetona fosfato (a partir de gliceraldehído 3-fosfato formado en una segunda vuelta de la vía) para producir fructosa 6-fosfato.

Durante estas oxidaciones se produce NADPH. A continuación la ribulosa 5-fosfato se convierte en una mezcla de azúcares fosfato de tres a siete carbonos. Dos enzimas específicas de esta vía desempeñan un papel fundamental<sup>16</sup>:

1. La transcetolasa cataliza la transferencia del grupo cetol de dos carbonos
2. La transaldolasa transfiere un grupo de tres carbonos de la sedoheptulosa 7-fosfato al gliceraldehído 3-fosfato.

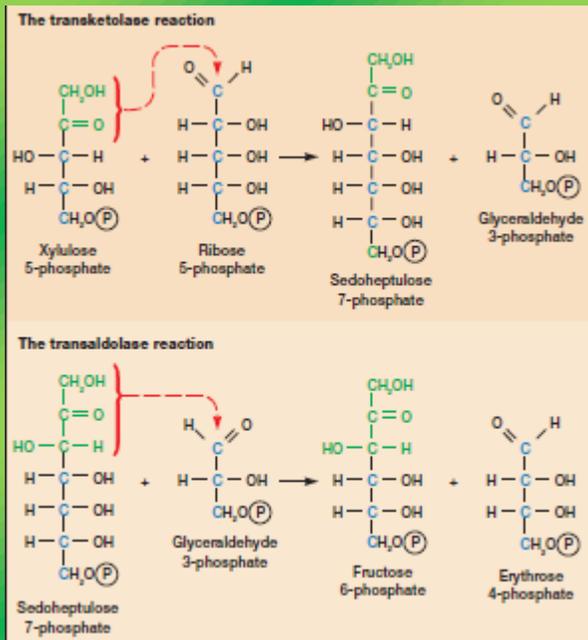
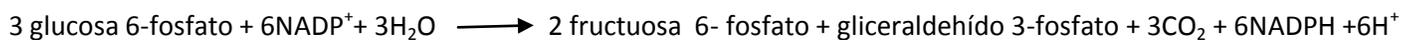


Figura 2.17 transcetolasa y transaldolasa. Ejemplos de las reacciones transcetolasa y transaldolasa de la vía de las pentosas los grupos transferidos de estas reacciones se muestran en color.<sup>16</sup>

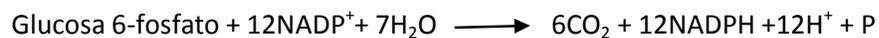
El resultado global es que 3-glucosa 6-fosfato se convierten en 2 fructuosas 6-fosfato, gliceraldehído 3-fosfato y 3 moléculas de CO<sub>2</sub>.



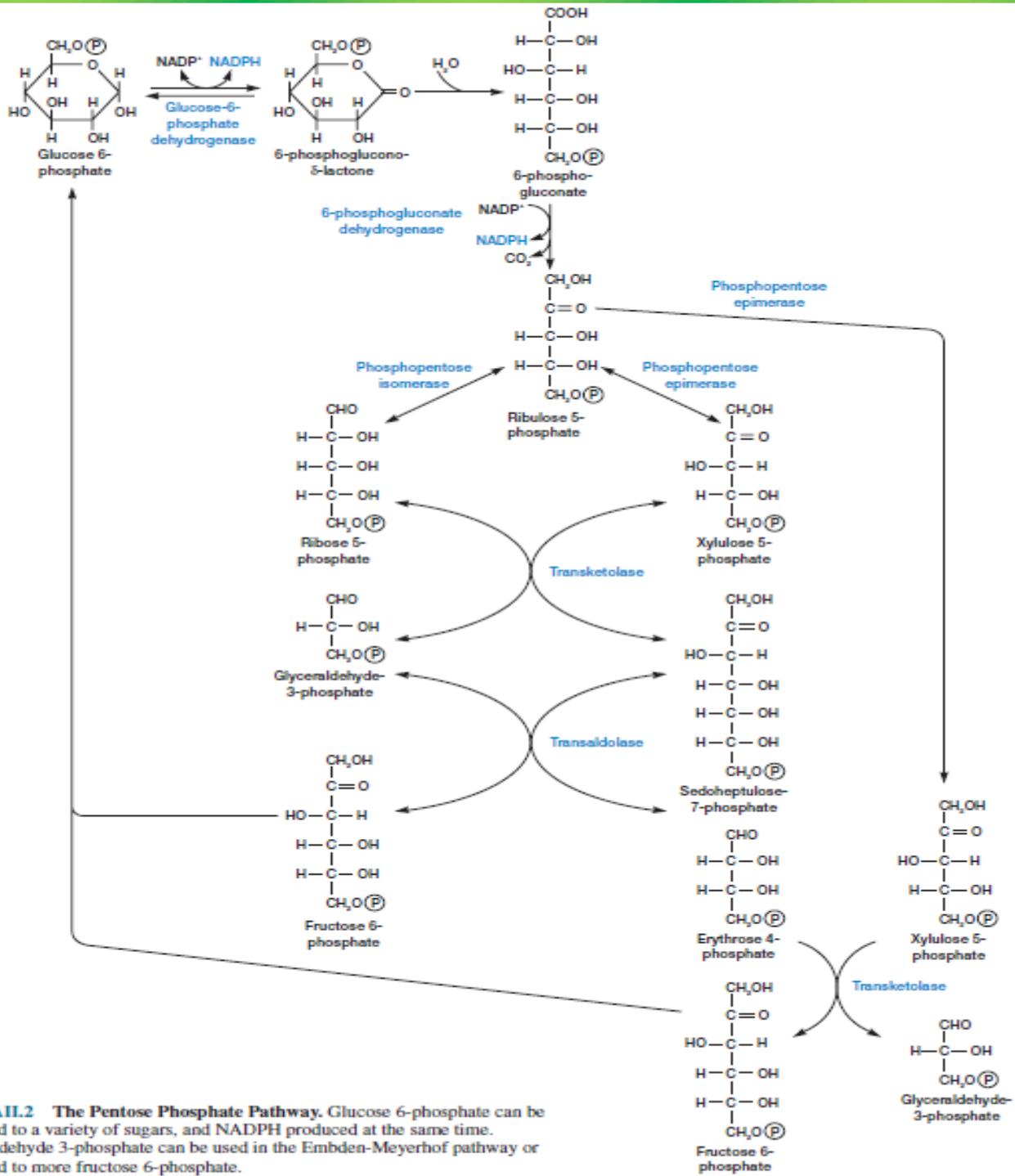
Estos productos intermedios se utilizan de dos formas. La fructuosa 6-fosfato puede convertirse de nuevo en glucosa 6-fosfato, mientras que el gliceraldehído 3-fosfato es convertido en piruvato por enzimas glucolíticas.

El gliceraldehído 3- fosfato también puede volver a la vía de las pentosas fosfato mediante la formación de glucosa 6-fosfato.

Esto da lugar a la degradación completa de la glucosa 6-fosfato a  $\text{CO}_2$  y la producción de una gran cantidad de NADPH.<sup>16</sup>



Aunque la vía de las pentosas fosfato puede ser una fuente de energía de muchos microorganismos, con mayor frecuencia es importante en la biosíntesis.



**Figure A11.2 The Pentose Phosphate Pathway.** Glucose 6-phosphate can be converted to a variety of sugars, and NADPH produced at the same time. Glyceraldehyde 3-phosphate can be used in the Embden-Meyerhof pathway or converted to more fructose 6-phosphate.

Figura 2.18 Vía de las pentosas fosfato. La glucosa 6-fosfato puede convertirse en diversos azúcares, produciendo NADPH. El gliceraldehído 3-fosfato puede emplearse en la vía de Embden-Meyerhof o convertirse en más fructuosa 6-fosfato.<sup>16</sup>

### 3) Entner-Doudoroff

Aunque la vía glucolítica es la ruta más común para la conversión de hexosas en piruvato, se ha descubierto otra vía con un papel similar. La vía de Entner-Doudoroff comienza con las mismas reacciones que la vía de las pentosas fosfato, la formación de la glucosa 6-fosfato y 6-fosfogluconato.<sup>16</sup>

En lugar de oxidarse de nuevo, el 6-fosfogluconato se deshidrata para formar 2-ceto-3-desoxi-6-fosfogluconato o KDPG, el producto intermedio clave de esta vía. El KDPG es incidado por la KDPG aldolasa en piruvato y gliceraldehído 3-fosfato. Este se convierte en piruvato en la segunda parte de la vía glucolítica. Si la vía de Entner-Doudoroff degrada la glucosa a piruvato de esta forma, produce 1 AEP, 1 NADPH y 1 NADH por molécula de glucosa metabolizada.<sup>16</sup>

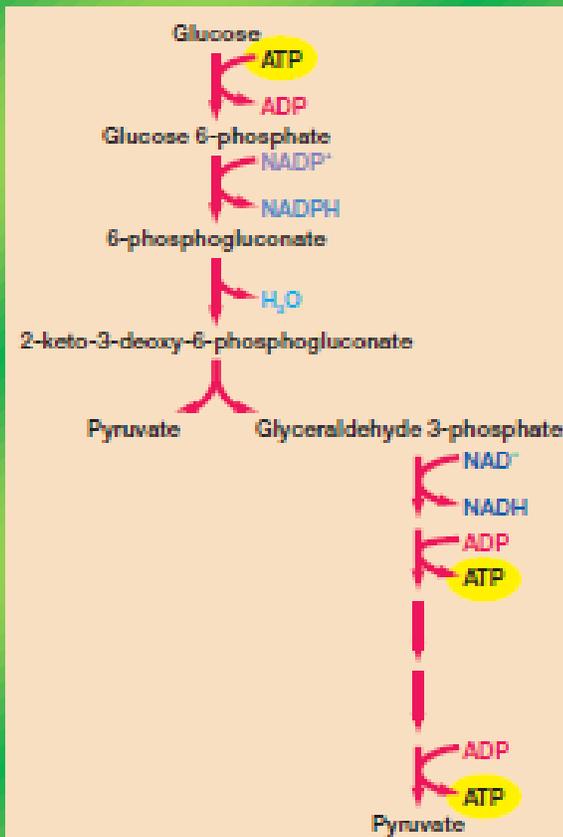


Figura 2.19 Vía de Entner-Doudoroff. La secuencia que conduce desde el gliceraldehído 3-fosfato al piruvato está catalizada por enzimas comunes con la vía glucolítica.<sup>16</sup>

- ✓ La vía de Entner-Doudoroff (ED) también se denomina vía aerobia debido a que se necesita oxígeno para que haya glucólisis.<sup>6</sup>
- ✓ La fermentación heteroláctica y algunas otras vías fermentadoras depende de una reacción de fosfoacetolasa que rompe la fosforilación a un cetosafosfato para producir acetilfosfato y fosfato de triosa. El ácido anhídrido acetilfosfato puede utilizarse para la síntesis de ATP o puede permitir la oxidación de dos moléculas de NADH a NAD<sup>+</sup> conforme se reduce a etanol.<sup>2</sup>
- ✓ Las vías producen una sola molécula de fosfato de triosa a partir de glucosa y la producción correspondiente de energía es baja.<sup>2</sup>
- ✓ La diferencia de la vía de Embden-Meyerhof, las vías de Entner-Doudoroff y la del heterolactato producen solamente una fosforilación neta de sustrato de ADP por cada molécula de glucosa fermentada.<sup>2</sup>
- ✓ la fermentación de heterolactato y algunas otras vías de fermentación dependen de la reacción de fosfoacetolasa que produce el desdoblamiento fosforolítico de cetosafosfato para producir acetil fosfato y triosa-fosfato.<sup>2</sup>
- ✓ El anhídrido ácido de acetil fosfato puede utilizarse para la síntesis de ATP o puede permitir la oxidación de dos moléculas de NADH a NAD<sup>+</sup> como ocurre en la reacción de etanol.<sup>2</sup>

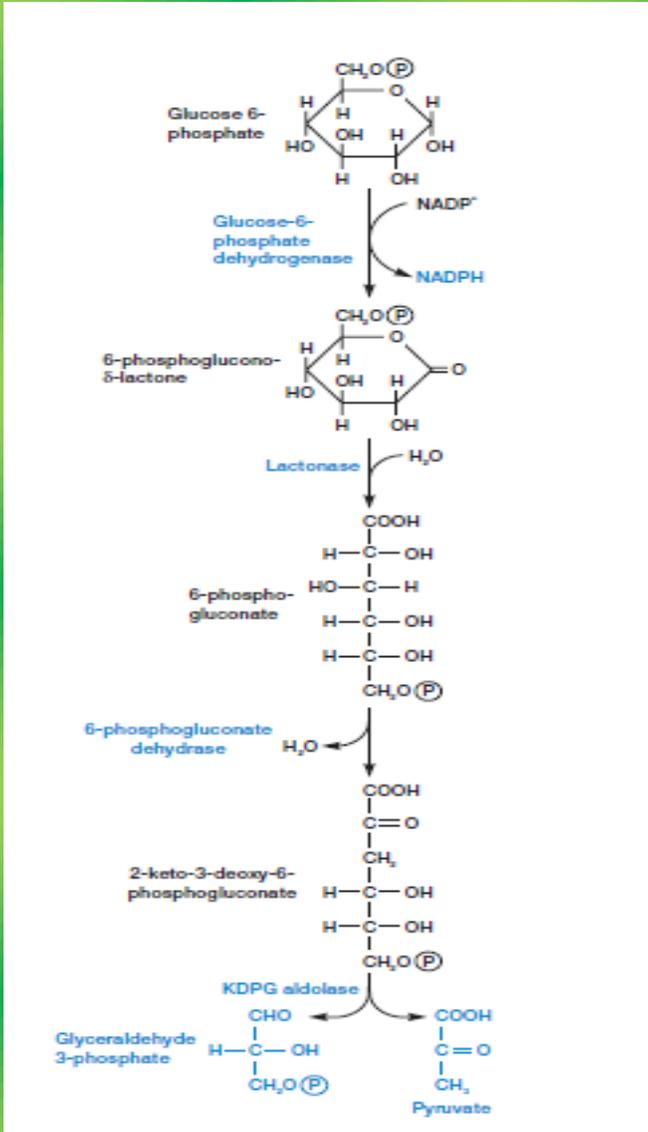


Figura 2.20 Vía de Entner – Doudoroff.

La mayoría de las bacterias tienen las vías glucolíticas y de las pentosas fosfato, pero algunas sustituyen la glucolisis por la vía de Entner-Doudoroff. Esta vía está presente generalmente en *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Agrobacterium* y algunos otros géneros de microorganismos Gram negativos.<sup>16</sup>

## Guía de estudio

- ✓ ¿A qué se le llama Cultivo?
- ✓ ¿Cuáles son los requerimientos para el crecimiento de las bacterias?
- ✓ ¿Cuáles son los tres mecanismos principales para generar energía metabólica?
- ✓ ¿En qué consiste la fermentación?
- ✓ ¿En qué consiste la respiración?
- ✓ ¿En qué consiste la fotosíntesis?
- ✓ ¿Cuáles son los requerimientos físicos que necesitan las bacterias para su crecimiento?
- ✓ ¿Cuáles son los requerimientos nutricionales o nutritivos que necesitan las bacterias para su crecimiento?
- ✓ ¿Cuáles son los factores de crecimiento?
- ✓ ¿En cuántas etapas se divide la curva de crecimiento bacteriano?
- ✓ El metabolismo microbiano se divide en 4 categorías. ¿Cuáles son y en qué consisten?
- ✓ ¿Cuál es el metabolismo de los no fermentadores?
- ✓ ¿En qué consiste el metabolismo fermentativo y oxidativo y cuáles son sus vías?
- ✓ ¿En qué consiste la vía de Embden- Meyerhof?

## REFERENCIAS

1. Romero CR, Microbiología y Parasitología Humana. 3ra. ed. México: Médica Panamericana; 2007.
2. Brooks, Geo F, Carro LL, Karen C, et.al Microbiología Médica. 19ª ed. México: El manual moderno; 2008
3. Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, et.al. Tratado de Microbiología. 4ta ed. Barcelona España: Salvat; 1996
4. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007
5. Zinsser, Joklik, Amos, et.al. Microbiología. 20a ed. México: Panamericana.
6. Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997.
7. Valdez S, Lopez G, Microbiología y Parasitología. México: Facultad de medicina UNAM; 2010
8. Michael M, John M, Jack Parker, Brock biología de los microorganismos. 10ª ed. Pearson Educación; 2003
9. Hans G, Schlegel, Microbiología General, 1ª ed. Omega; 1996
10. Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995.
11. Pumarola A, Rodriguez AT, Garcia JR, Piedrola GA. Microbiología y parasitología médica. 2ª ed. Elsevier España: Salvat; 1999.
12. Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
13. Bailey RW, Scott GE, Forbes AB, Sahn FD, Weissfeld SA. Diagnóstico microbiológico. 12ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
14. Levison, Microbiología y parasitología humana. 8va ed. México: El manual moderno:
15. Sherris, Kenneth J, George C. Microbiología Médica. 8va ed. México: Mc Gran Hill: 2005
16. Prescott L, Harley J, Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008
17. Roitt, Wakelin, Williams, Microbiología Médica. 2da ed. España: Mosby;

## REFERENCIAS DE FIGURAS

- FIGURA 2.1 Morfología Colonial Bacteriana, [en línea], 2010, 14/jun/2010, Consultado 22/09/12 1:15pm. Formato html disponible en internet: <http://microbitos.wordpress.com/2010/06/14/morfologia-colonial-bacteriana/>
- FIGURA 2.2 Sherris, KennethJ, George C. Microbiología Medica. 8va ed. Mexico: Mc Gran Hill: 2005
- FIGURA 2.3 Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995.
- FIGURA 2.4 El dominio bacteriano [En línea], 2010, 24/01/2011, formato html disponible en internet: [http://www.geonomia.org/dokuwiki/doku.php?do=show&id=el\\_dominio\\_bacteria](http://www.geonomia.org/dokuwiki/doku.php?do=show&id=el_dominio_bacteria)
- FIGURA 2.5 Clostridium difficile , [en línea], 2007, 02/09/2007, Consultado 21/01/13, Formato html disponible en internet: [http://en.wikipedia.org/wiki/File:Clostridium\\_difficile\\_01.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Clostridium_difficile_01.jpg)
- FIGURA 2.6 Lactobacillus bulgaricus , [en línea] 2011, 06/05/2011, Consultado 21/01/13, Formato html disponible en internet: <http://lacienciaysusdemonios.com/2011/05/06/viernes-procariota-lactobacillus-bulgaricus/>
- FIGURA 2.7 Escherichia coli; Micrografía electrónica de barrido de Escherichia coli [en línea], 2005, 10/04/200, consultado 21/01/2013, Formato html disponible en internet: [http://en.wikipedia.org/wiki/File:EscherichiaColi\\_NIAID.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:EscherichiaColi_NIAID.jpg)
- FIGURA 2.8 McTaggart, Megan y Chelsea, Tabellion, Micobarterias y tuberculosis, [En línea], 2010, formato html disponible en internet: <http://microbiologyspring2010.wikispaces.com/Watch+Out+Mycobacterium+tuberculosis>
- FIGURA 2.9 Campylobacter fetus, Micrografía electrónica de barrido de Campylobacter fetus [en línea], Consultado 21/01/13, Formato html disponible en internet: <http://science.howstuffworks.com/life/evolution/natural-selection1.htm>
- FIGURA 2.10 Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995.
- FIGURA 2.11 Levison, Microbiología y parasitología humana. 8va ed. Mexico: El manual moderno:
- FIGURA 2.12 Prescott L, Harley J,Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008
- FIGURA 2.13 Prescott L, Harley J,Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008

- FIGURA 2.14 Jawets, Melnick, Adelberg. 20<sup>a</sup> ed. México: El manual moderno: 1995.
- FIGURA 2.15 Jawets, Melnick, Adelberg. 20<sup>a</sup> ed. México: El manual moderno: 1995.
- FIGURA 2.16 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3<sup>a</sup> ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997.
- FIGURA 2.17 Prescott L, Harley J, Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008
- FIGURA 2.18 Prescott L, Harley J, Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008
- FIGURA 2.19 Prescott L, Harley J, Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008
- FIGURA 2.20 Prescott L, Harley J, Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008

## REFERENCIAS DE TABLAS

- TABLA 2.1 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006
- TABALA 2.2 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006
- TABLA 2.3 Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995.
- TABLA 2.4 Romero CR, Microbiología y Parasitología Humana. 3ra. ed. México: Medica Panamericana; 2007.

A dense field of purple, rod-shaped bacteria (bacilli) is shown against a dark background. The bacteria are oriented in various directions, creating a complex, textured pattern. The lighting highlights the individual cells, giving them a three-dimensional appearance.

## Capitulo 3

# BACILOS NO FERMENTADORES

## BACILOS NO FERMENTADORES

El heterogéneo grupo de bacilos gramnegativos no fermentadores es incapaz de fermentar diversos azúcares en contraste con *Enterobacteriaceae*, cuyos miembros se aíslan frecuentemente de la misma fuente.<sup>3</sup>

La mayoría de las especies son aerobios estrictos y solo unos pocos fermentar diversos compuestos, a excepción de los azúcares. Estos organismos abundan en reservorios naturales, como el suelo, el agua y biota normal del hombre. Algunos pueden producir infecciones graves en el hombre, sobre todo en pacientes inmunodeprimidos.<sup>3</sup>

Los más importantes desde el punto de vista clínico (más del 70 % de los aislamientos en los laboratorios clínicos) son miembros del género *Pseudomonas* seguido por un pequeño grupo de patógenos oportunistas, entre los que se incluyen *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* y *Achromobacterium*.<sup>3</sup>

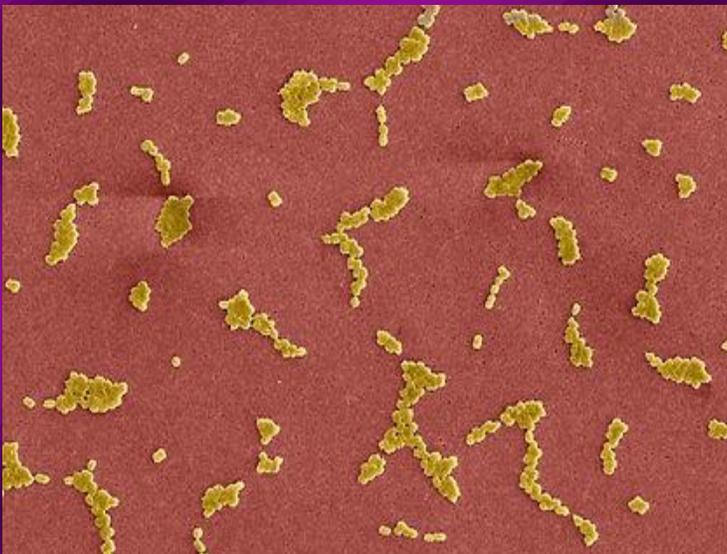


Figura 3.1 *Acinetobacter baumannii*.

Todos pueden ser patógenos nosocomiales, por lo que una rápida identificación y caracterización epidemiológica resultan de gran importancia en la investigación de los brotes hospitalarios. *Rhizobium* y *Agrobacterium* tienen importancia en agricultura, pero no son patógenos para el hombre.<sup>3</sup>

Los bacilos Gram negativos no fermentadores (BNF) no se puede clasificar convenientemente en una única familia y la ubicación taxonómica correcta de muchos de ellos permanece sin resolverse. Los principales géneros de bacilos Gram negativos no fermentadores han sido clasificados dentro de las cinco familias (*Alcaligenaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Methylococcaceae*, *Pseudomonadaceae* y *Rhizobiaceae*).<sup>6</sup>

Los géneros restantes de no fermentadores clínicamente importantes aún no han sido asignados a una familia y se agrupan bajo el título “microorganismos cuya posición taxonómica es dudosa”.<sup>6</sup>

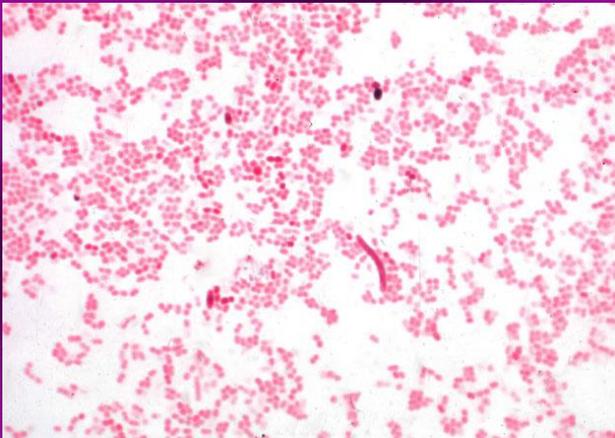


Figura 3.2 *Moraxella osloensis*.

Tabla 3.1 Nomenclatura de los bacilos gramnegativos no fermentadores.<sup>6</sup>

USO ACTUAL	COMENTARIOS
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Produce ácido a partir de la glucosa (genoespecie 2). La mayoría de las cepas de <i>Acinetobacter</i> aisladas a partir de muestras clínicas humanas pertenecen a esta especie.
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	Cepa no oxidante de la glucosa encontrada en muestras clínicas humanas (genoespecie 8).
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	<i>Agrobacterium radiobacter</i> y <i>A. tumefaciens</i> son la misma especie; son fuertemente positivas para ureasa y fenilalanina (desaminasa).
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Alcaligenes odorans</i> fue propuesto como nombre, en fecha posterior, para un microorganismo que es una cepa del anticoagulante denominado <i>Alcaligenes faecalis</i> .
<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Nueva especie, aislada fundamentalmente de muestras clínicas humanas, aunque algunas se han aislado del medio ambiente. La importancia clínica se desconoce. Existe una comunicación de otitis media producida por este microorganismo.
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i> Subesp. <i>xylosoxidans</i>	Acidificación de la glucosa y la xilosa.
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i> Subesp. <i>denitrificans</i>	Raramente aislada a partir de muestras clínicas. Desnitrifica nitritos.
<i>Bergeyella zoohelcum</i>	Rápidamente urea positiva. Asociada a mordeduras de perros y gatos.
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Rápidamente urea positiva

**Tabla 3.1 Nomenclatura de los bacilos gramnegativos no fermentadores.<sup>6</sup>  
(continuación)**

USO ACTUAL	COMENTARIOS
<i>Bordetella hinzii</i>	Nueva especie aislada del tracto respiratorio de pollos y pavos. Se han comunicado aislamientos humanos a partir del tracto respiratorio, exudados óticos y heces.
<i>Bordetella holmesii</i>	Nueva especie aislada a partir de hemocultivos. Todas las cepas producen un pigmento marrón soluble en agar infusión de corazón tirosina.
<i>Brevundimonas diminuta</i>	El nombre proviene de la corta longitud de las especies del flagelo.
<i>Brevundimonas versicularis</i>	De lento desarrollo y produce un pigmento amarillo oscuro a naranja. Fuerte hidrolisis de la esculina.
<i>Burkholderia cepacia</i>	Pigmento amarillo; recuperada a partir de numerosas fuentes de agua y superficies húmedas. Patógeno respiratorio en pacientes con enfermedad fibroquística.
<i>Burkholderia pickettii</i>	De lento desarrollo, colonias en punta de alfiler después de 24 horas en agar sangre (BAP). Raramente asociada con infecciones. Existe la propuesta de ubicarla la especie de un nuevo género <i>Ralstonia</i> .
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	Produce melioidosis en el hombre.
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	El aislamiento más frecuente del género en muestras humanas. Colonias de color amarillo oscuro.
<i>Chryseobacterium luteola</i>	Pigmento amarillo, oxidasa negativa, esculina positiva.
<i>Chryseobacterium acidovorans</i>	Reacción de indol color naranja, debido a la producción del ácido antranílico a partir de la triptona.

**Tabla 3.1 Nomenclatura de los bacilos gramnegativos no fermentadores.<sup>6</sup>(continuación)**

<b>USO ACTUAL</b>	<b>COMENTARIOS</b>
<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	Altamente patógena para niños pretérmino.
<i>Comamonas terrigena</i>	No se considera patógena para el hombre.
<i>Comamonas testosteroni</i>	Aislamiento no frecuente. Ha sido asociada con apendicitis perforada.
<i>Empedobacter brevis</i>	Aislamiento humano raro, de importancia desconocida.
<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	Aislamientos clínicos asociados con septicemia y endocarditis de prótesis valvulares. Pigmento amarillo, oxidasa negativa, esculina negativa.
<i>Methylobacterium mesophilicum</i>	De desarrollo lento, bacilos de color rosa; no se tiñen bien; aparecen amorfos y con muchas vacuolas que no se colorean. Las colonias absorben la luz UV Produce melioidosis en el hombre.
<i>Moraxella atlantae</i>	Forma colonias diseminadas después de 48 horas.
<i>Moraxella lacunata</i>	Produce perforaciones en el agar. Agente de conjuntivitis.
<i>Moraxella nonliquefaciens</i>	Requiere suplemento de suero para el desarrollo óptimo.
<i>Moraxella osloensis</i>	El aislamiento más frecuente de este género. Altamente sensible a la penicilina.
<i>Moraxella phenylpyruvica</i>	Fenilalanina desaminasa positiva.
<i>Neisseria weaveri</i>	Aislamientos clínicos asociados con mordeduras de perro.
<i>Neisseria elongata</i> <i>Subsp. nitroreducens</i>	Catalasa negativa. Aislamientos clínicos asociados con endocarditis.

**Tabla 3.1 Nomenclatura de los bacilos gramnegativos no fermentadores.<sup>6</sup>(continuación)**

<b>USO ACTUAL</b>	<b>COMENTARIOS</b>
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	Los únicos aislamientos se han hecho a partir de muestras clínicas humanas. Urea y esculina positivo. ONPG negativo
<i>Oligella ureolytica</i>	Rápidamente ureasa positiva y fenilalanina desaminasa positivo.
<i>Oligella urethralis</i>	Se han efectuado aislamientos a partir de infecciones óticas y del tracto urinario.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pertenece al grupo fluorescente, se desarrolla a 42°C. Es el aislamiento clínico más frecuente.
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Pertenece al grupo fluorescente, gelatinas negativo.
<i>Pseudomonas mendocina</i>	Aislamiento raro. Colonias lisas de consistencia mantecosa.
<i>Pseudomonas putida</i>	Pertenece al grupo fluorescente, gelatina negativo.
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Colonias plegadas. De amplia distribución en el suelo y agua. Raramente se le asocia con infección.
Especies de <i>Roseomonas</i>	Incluye tres especies ( <i>R. gilardii</i> , <i>R. cervicalis</i> , <i>R. fauriae</i> ) y tres genoma especies innominadas. Colonias rosadas, frecuentemente mucoides de bacilos cocoides gruesos que son débilmente gramnegativos.
<i>Shewanella putrefaciens</i>	Único no fermentar que produce H <sub>2</sub> S en medio KIA y TSI.
<i>Sphingobacterium multivorum</i>	Pigmento amarillo, oxidasa positiva, esculina positiva, manitol negativo, raramente asociada a infecciones.
<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>	Pigmento amarillo, oxidasa positiva, esculina positiva, manitol positivo. Las fuentes de aislamiento más frecuentes han sido sangre y orina.

**Tabla 3.1 Nomenclatura de los bacilos gramnegativos no fermentadores.<sup>6</sup>(continuación)**

<b>USO ACTUAL</b>	<b>COMENTARIOS</b>
<b>Sphingobacterium paucimobilis</b>	<b>Pigmento amarillo, oxidasa positiva, esculina positivo, de lento desarrollo. Se encuentra en una variedad de muestras clínicas.</b>
<b><i>Stenotrophomonas maltophilia</i></b>	<b>Oxidasa negativo, lisina y DNasa positivo; puede ser recuperado de prácticamente cualquier localización. Puede producir infecciones oportunistas.</b>
<b><i>Weeksella virosa</i></b>	<b>Mucoide y pegajosa. Difícil de extraer del agar. Los aislamientos clínicos se han asociado a infecciones urinarias y vaginales.</b>

## **INDICIOS TEMPRANOS DE QUE UN AISLAMIENTO DESCONOCIDO ES UN FERMENTADOR**

El microbiólogo puede sospechar que un bacilo gramnegativo desconocido es miembro del grupo de no fermentadores si observa una o más de las siguientes características:<sup>6</sup>

1. Falta de evidencias de fermentación de la glucosa
2. Reacción positiva de citocromo oxidasa
3. Falta de desarrollo en agar de MacConkey.<sup>6</sup>

- **Falta de evidencia de fermentación de la glucosa**

- ✓ Los ácidos producidos por los no fermentadores son considerablemente más débiles que los ácidos mixtos derivados de las bacterias fermentadoras; por lo tanto, el pH de un medio para bacterias fermentadoras en el cual se desarrolla un no fermentador puede no caer lo suficiente como para hacer virar el indicador de pH.<sup>6</sup>
- ✓ El indicio inicial de que un microorganismo desconocido es un no fermentador por lo general es la falta de producción de ácido en medio KIA O TSI, que se manifiesta en ambos casos como un pico de flauta alcalino (rojo) y una siembra en profundidad alcalina.<sup>6</sup>
- ✓ Al comienzo, es importante que un microorganismo desconocido sea clasificado según el modo en que utilice la glucosa para poder elegir el conjunto correcto de pruebas para su caracterización bioquímica y realizar luego una identificación definitiva.<sup>6</sup>
- ✓ Los microbiólogos que utilizan equipos comerciales y omiten la siembra en KIA o TSI pueden no saber si tienen que elegir un sistema fermentativo u oxidativo. Por lo tanto, antes de poner en marcha sistemas diferenciales, se recomienda determinar las características oxidativas-fermentativas (OF) de todos los aislamientos desconocidos sembrando un pico de flauta de TSI o de KIA.<sup>6</sup>

- **Reacción positiva de citocromo oxidasa**

- ✓ Puede sospecharse que toda colonia de un bacilo gramnegativo que se desarrolla en agar sangre u otro medio primario de aislamiento que sea citocromo oxidasa positivo pertenece al grupo no fermentadores.<sup>6</sup>
- ✓ Para probar la actividad oxidasa de los no fermentadores, los CDC recomiendan utilizar una solución acuosa al 0.5% de clorhidrato de tetrametil-p-fenilendiamina.<sup>6</sup>
- ✓ Pueden utilizarse pocas gotas de reactivo para cubrir la superficie del medio sólido en el que se encuentra el desarrollo bacteriano.<sup>6</sup>
- ✓ El desarrollo de color azul en el término de unos pocos segundos indica una reacción positiva. Las negativas pueden confirmarse utilizando el método de Kovacs, más sensible en el cual una asada de microorganismos se mezcla con unas gotas de reactivo sobre un trozo de papel filtro.<sup>6</sup>
- ✓ El desarrollo de un color azul oscuro dentro de diez segundos es un resultado positivo a la prueba<sup>6</sup>

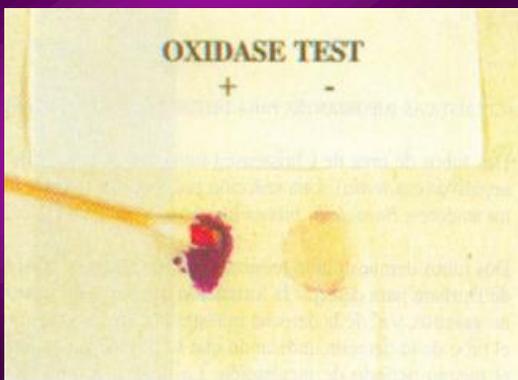


Figura 3.3 Prueba de citocromo oxidasa.<sup>6</sup>

- **Falta de desarrollo en agar MacConkey**

- ✓ Puede sospecharse de un bacilo gramnegativo que se desarrolla en un agar sangre pero poco o nada en agar MacConkey pertenece al grupo de no fermentadores.
- ✓ Sin embargo, esta característica está lejos de ser absoluta, debido a que muchos de los bacilos gramnegativos con requerimientos especiales de cultivo tampoco se desarrollan en agar MacConkey.<sup>6</sup>
- ✓ La capacidad de las bacterias para crecer en agar de MacConkey se determina por la inspección de la luz reflejada de la superficie de las placas sembradas e inoculadas durante 24 a 48 horas.<sup>6</sup>
- ✓ Los microorganismos que se desarrollan bien producen colonias de 3 mm o más de diámetro, fácilmente visibles.
- ✓ Las cepas de poco desarrollo producen colonias dispersas, pequeñas, en punta de alfiler o no muestran desarrollo en absoluto.<sup>6</sup>

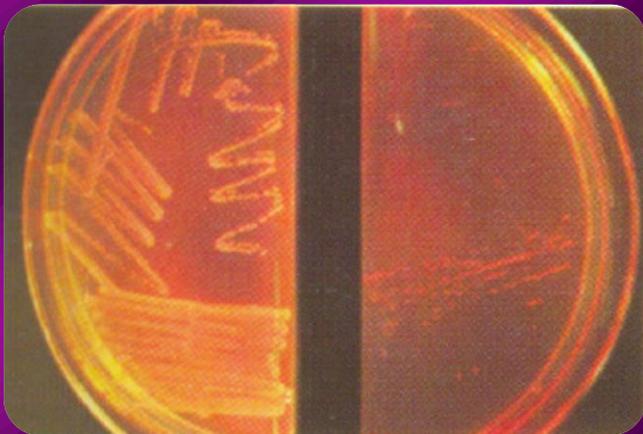


Figura 3.4 La imposibilidad de agar MacConkey, o una inhibición del crecimiento es una pista que indica que un bacilo gramnegativo puede ser no fermentador.<sup>6</sup>

Tabla 3.2 Bacilos Gram negativos no fermentadores relevantes

Microorganismo	Origen histórico
<i>Acinetobacter</i>	<i>akinetos</i> , incapaz de desplazarse; <i>bactrum</i> , varilla (bacilos inmóviles)
<i>A. baumannii</i>	<i>baumanni</i> , recibe su nombre del microbiólogo Baumann
<i>A. lwoffii</i>	<i>lwoffii</i> , recibe su nombre del microbiólogo Lwoff
<i>Burkholderia</i>	<i>Burkholderia</i> , recibe su nombre del microbiólogo <i>Burkholderia</i>
<i>B. cepacia</i>	<i>Cepacia</i> , semejante a una cebolla (las cepas iniciales se aislaron a partir de cebollas podridas).
<i>A. Mallei</i>	<i>mallei</i> , derivado de "malleus", nombre latino para la enfermedad equina muermo
<i>B. pseudomallei</i>	<i>pseudes</i> , falso: <i>mallei</i> (en referente a la gran semejanza de esta especie <i>B. mallei</i> )
Microorganismo	<i>Moraxella</i> , recibe su nombre del oftalmólogo suizo <i>Morax</i> , quien reconoció la especie por primera vez
<i>M. catarrhalis</i>	<i>catarrhus</i> , catarro (en referencia a la inflamación de las membranas mucosas de las vías respiratorias)
<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudes</i> , falso; <i>nomas</i> , una unidad; (alude al aspecto con técnica de Gram de parejas de organismos que se parecen a una célula suelta).
<i>P. aeruginosa</i>	<i>aeruginosa</i> , repleto de óxido de cobre o verde (se refiere al pigmento verde sintetizado por esta especie)
<i>Stenotrophomonas</i>	<i>Stenos</i> , estrecho; <i>trophos</i> , el que se alimenta; <i>monas</i> , unidad (en referencia la observación de que estas delgadas bacterias requieren pocos sustratos para crecer)
<i>S. maltophilia</i>	<i>malt</i> , malta; <i>philia</i> , amigo (amigo de la malta)

## PRUEBAS UTILIZADAS PARA LA IDENTIFICACION DE NO FERMENTADORES

### Utilización de la glucosa

Hugh y Leifson fueron los primeros en diseñar un medio OF que se adapta a las propiedades de los bacilos no fermentadores. El medio OF contiene peptona al 0.2% y 1.0% de hidratos de carbono, de tal forma que la relación entre peptonas e hidratos de carbono es 1:5, a diferencia de la relación 2:1 que existe en los medios utilizados para fermentación de hidratos de carbono.<sup>6</sup>

La disminución de la peptona minimiza la formación de productos de oxidación a partir de los aminoácidos, que tienden a elevar el pH del medio y pueden neutralizar los ácidos débiles producidos por los bacilos no fermentadores.<sup>6</sup>

Por otro lado, el aumento de la concentración de hidratos de carbono incrementan la producción de ácido por parte del microorganismo.<sup>6</sup>

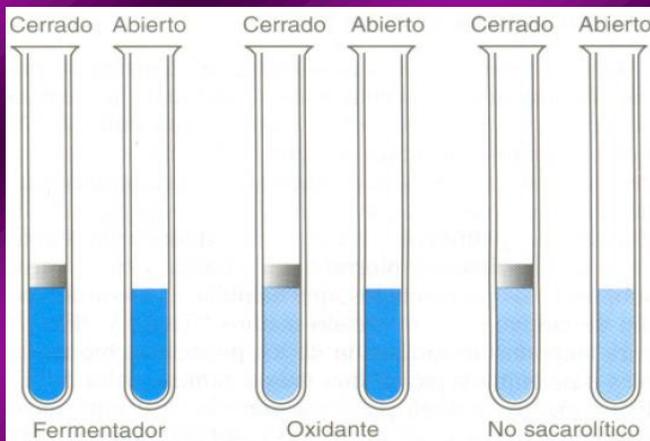


Figura 3.5 Prueba de oxidación-fermentación (OF). Los microorganismos fermentadores producen ácido tanto en los tubos cerrados como en los abiertos los microorganismos oxidantes producen ácido sólo en el tubo abierto. Los microorganismos asacarolíticos que no utilizan hidratos de carbono no producen cambios en ningún tubo.<sup>6</sup>

La consistencia semisólida del agar, el uso de azul de bromotimol como indicador de pH y la inclusión de una pequeña cantidad de buffer de difosfato están designados a aumentar la detección de ácidos<sup>6</sup>.

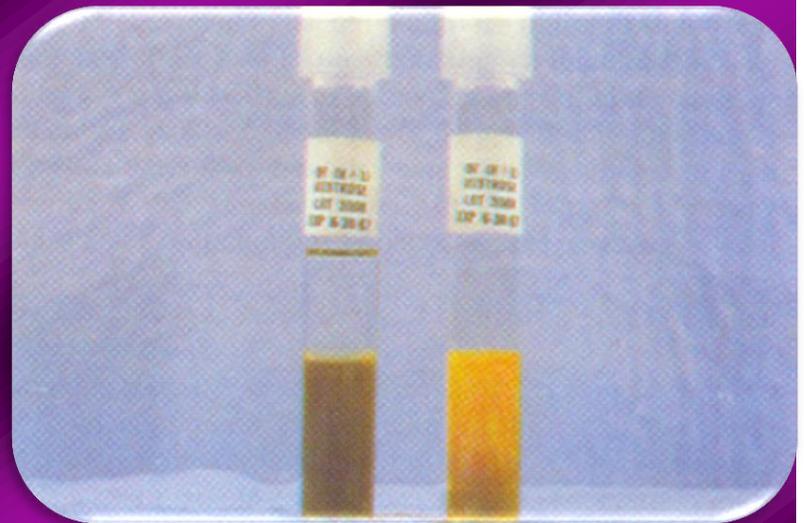
Se necesitan dos tubos de cada hidrato de carbono para la prueba, el medio de uno de los tubos queda expuesto al aire y el otro se cubre con vaselina estéril o parafina líquida.<sup>6</sup>

**Tabla 3.3 interpretación de la prueba de OF.<sup>6</sup>**

tubo abierto	Tubos cubiertos	Metabolismo
Ácido (amarillo)	Alcalino (verde)	Oxidativo
Acido (amarillo)	Acido(amarillo)	Fermentativo
Alcalino (verde)	Alcalino (verde)	No sacarolítico

La prueba OF tiene sus limitaciones. Los bacilos no fermentadores de desarrollo lento pueden no producir cambios de colores durante varios días, y las especies que producen amidas a partir de los aminoácidos suelen hacer que las reacciones débilmente ácidas se reviertan con el tiempo, lo que produce la interpretación final.<sup>6</sup>

Figura 3.6 Reacción OF de un no fermentador oxidativo, que solo muestra el color amarillo de producción de ácido de un tubo abierto.<sup>6</sup>



## Motilidad

Los medios semi sólidos para la detección de la motilidad de microorganismos fermentadores pueden no ser adecuados para las especies no fermentadoras que sólo se desarrollan en la superficie del agar. Si se utiliza un medio semisolido con agar para bacilos no fermentadores, se debe sembrar por punción sólo los 4 mm superiores del medio y hacer la lectura inicial a las 4 a 6 horas. Muchas cepas móviles de bacilos no fermentadores muestra sólo un desplazamiento débil y precoz, cercano a la superficie del agar, que tiende a desaparecer con una incubación prologada. Las lecturas deben repetirse a las 24 y 48 horas, para detectar la motilidad de los microorganismos de crecimiento lento. La incubación a 25°C aumenta la motilidad de algunas cepas.<sup>6</sup>

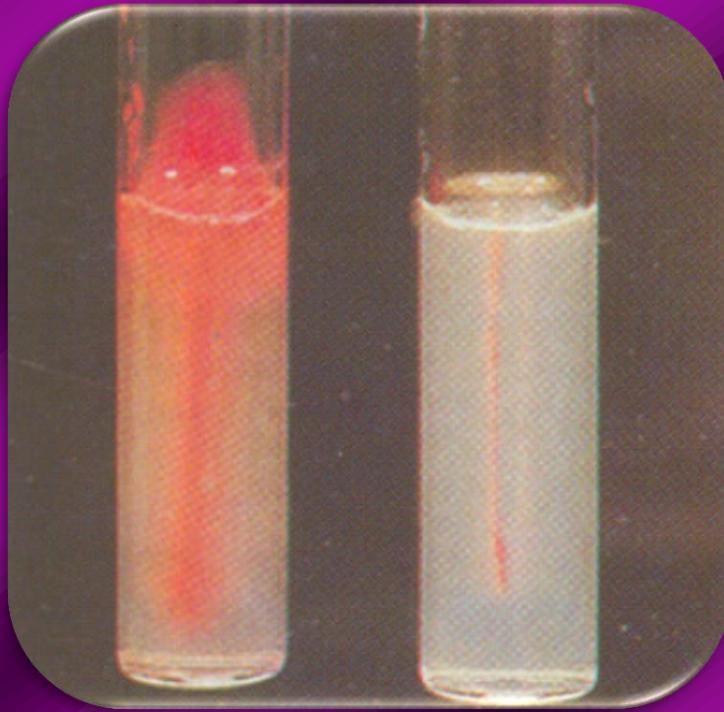


Figura 3.7 Motilidad de los bacilos no fermentadores.<sup>6</sup>

## Producción de pigmento

Los no fermentadores producen una cantidad de pigmentos, algunos de los cuales son de utilidad para realizar la identificación de especie<sup>6</sup>.

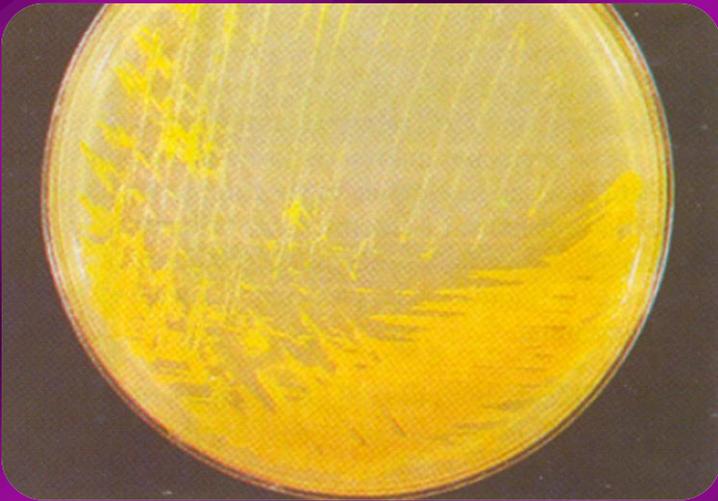


Figura 3.8 La producción de pigmentos es una importante característica diferencial para identificar bacilos gramnegativos no fermentadores. *Brevundimonas versicularis*<sup>6</sup>

- Los pigmentos insolubles con agua incluyen los carotenoides (amarillo-naranja), la violaceína (violeta o púrpura) y las fenazinas (rojo, castaño, amarillo)<sup>6</sup>.
- Los pigmentos hidrosolubles y difusibles incluyen las fluoresceínas (pioverdina), piocianinas, piorubina, melalina y otros varios subproductos pigmentados, que cambian el color del medio de cultivo<sup>6</sup>.

Se han creado medios tech y flo para aumentar la formación de los pigmentos hidrosolubles piocianina y pioverdina.<sup>6</sup>



Figura 3.9 Tubos de agar Flo y Tech inoculados con *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>6</sup>

Estos medios poseen peptonas especiales y una mayor concentración de iones magnesio y sulfato, para aumentar la producción de pigmentos.<sup>6</sup>

- ✓ La bactopectona es superior para la producción de piocina, pero tiene un efecto inhibitorio sobre la elaboración de fluoresceína.
- ✓ La proteasa peptona 3 aumenta la producción de fluoresceína e inhibe la formación de piocianina.
- ✓ Un aumento de la concentración de fosfatos produce otro en la producción de fluoresceína pero disminuye la piocianina.

La producción de pigmento también puede aumentar haciendo desarrollar los microorganismos en medios que contengan gelatina papa o leche e incubándolos entre 25° y 30 °C.<sup>6</sup>

La pioverdina puede demostrarse en agar FLO por observación de fluorescencia bajo luz ultra violeta (lámpara de Wood) o por la aparición de un pigmento amarillo en el medio bajo luz visible.<sup>6</sup>

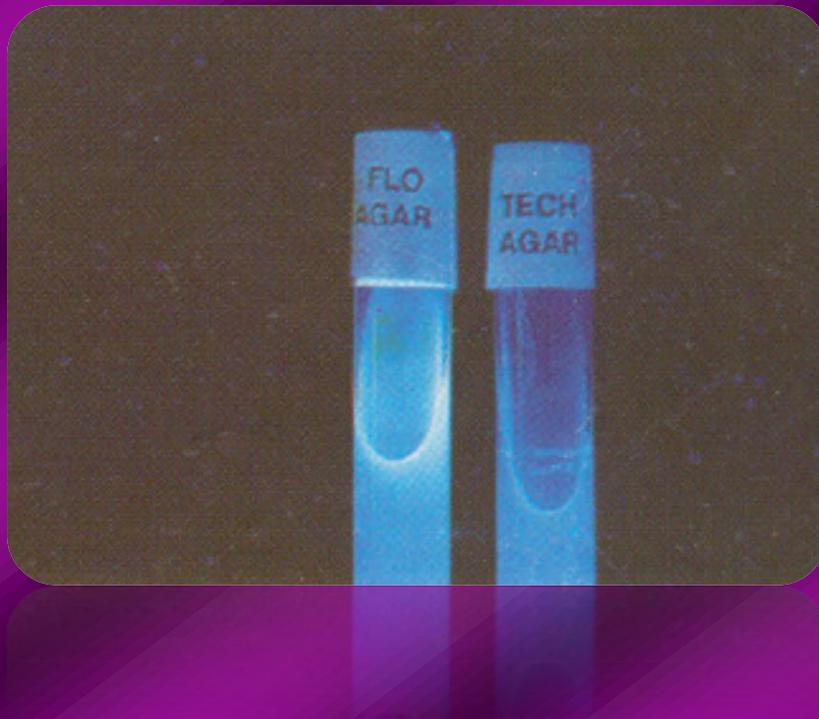


Figura 3.10 Tubos de agar Flo y Tech incubados con *Pseudomonas aeruginosa* observados bajo luz ultravioleta.<sup>6</sup>

## Hidrolisis de la urea

Debido a que muchos de los no fermentadores que degradan la urea requieren medios enriquecidos para su desarrollo, se utilizan picos de flauta de agar urea de Christensen<sup>6</sup>.

Se puede obtener resultados positivos con más rapidez utilizando un inóculo denso. Las especies bacterianas que degradan con acidez la urea, como *Bordetella bronchiseptica*, pueden producir un cambio de color al rojo dentro de las 4 horas; los microorganismos de reacción más débil pueden necesitar hasta 48 horas antes de que se visualice una reacción positiva.<sup>6</sup>

La aparición tardía de un tinte rosa pálido, en posición superior del pico de flauta puede indicar degradación inespecífica de aminoácidos y debe considerarse negativa.<sup>6</sup>



Figura 3.11 Tubos de urea de Chistensen muestra el color rojo fucsia de una prueba positiva, comparado con un control negativo.<sup>6</sup>

## Reducción de nitratos.

La reducción de nitratos a nitritos es sólo el primer paso de un proceso bioquímico utilizado por algunos microorganismos para liberar oxígeno, un aceptante final de hidrógeno al final del metabolismo oxidativo.<sup>6</sup>

La prueba de reducción de nitratos para no fermentadores se realiza en forma similar a la de otros microorganismos y el punto final es la aparición de color rojo por el agregado de ácido sulfanílico y alfa-naftilamina de una noche en medio de nitratos.<sup>6</sup>

Si no aparece color rojo, significa que o bien los nitratos no han sido reducidos o que la reducción ha progresado, más allá de la producción de nitritos, hacia la formación de otros compuestos o de nitrógeno gaseoso (desnitrificación).<sup>6</sup>

La aparición de un color rojo por el agregado de una pequeña cantidad de polvo de cinc indica una presencia residual de nitratos y por lo tanto, una prueba negativa; la ausencia de color indica que los nitritos (habitualmente nitrógeno gaseoso), lo que indica que la prueba original es positiva.<sup>6</sup>



Figura 3.12 Reducción de Nitritos A, positivo, sin cambio de color después del agregado de polvo de cinc y gas en el tubo de Durham (flecha). B. negativo.<sup>13</sup>

## Ddesnitrificación de Nitratos y Nitritos

Ciertos no fermentadores son capaces de reducir los nitratos en nitritos (o ambos) a nitrógeno gaseoso.<sup>6</sup>

Puede utilizarse caldo con nitratos-nitritos, con un tubo de Durham invertido o un agar en pico de flauta. Debido a que el medio no contiene hidratos de carbon, cualquier gas que produzca es derivado de los nitratos o nitritos, lo que indica desnitrificación positiva.<sup>6</sup>

La prueba en caldo es más fácil de interpretar, debido a que la colección del gas dentro del tubo de Durham invertido es fácil de ver. En los picos de flauta, la formación de burbujas de gas, generalmente en las profundidades de la siembra por punción, indica un resultado positivo de la prueba.<sup>6</sup>

La mayoría de los medios desnitrificantes contienen tanta nitratos como nitritos. Es raras ocasiones [p.ej. para la identificación de *Alcaligenes faecalis (odrans)*, que desnitrifica nitritos pero no nitratos], pueden ser adecuadas las pruebas por separado.<sup>6</sup>

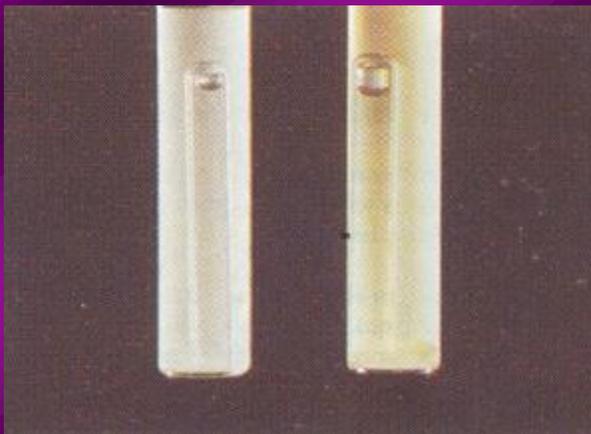


Figura 3.13 el tubo de la izquierda muestra la reducción de nitrato a nitrógeno no gaseoso y el de la derecha muestra la reducción de nitrito a nitrógeno gaseoso.<sup>6</sup>

## Producción de indol

Pueden necesitarse modificaciones menores cuando se detecta la producción de indol por parte ciertos no fermentadores de reacción débil. También suelen reducirse el uso de medios que contengan triptófano, por lo general caldo infusión de corazón. Debido a que algunos no fermentadores sólo producen pequeñas cantidades de indol, puede ser útil la extracción del indol por medio de una cepa de xileno o cloroformo, sobre la superficie del medio.<sup>6</sup>

Debe de tenerse cuidado de agregar sólo una pequeña cantidad de extractor, debido a que incluso la más mínima dilución puede disminuir la concentración de indol por debajo de la sensibilidad de detección de los reactivos de Ehrlich o de Kovac.<sup>6</sup>

La aparición de un color rojo fucsia en la interfase del medio (o del extractor) con el reactivo indica la formación de indol y constituye un resultado positivo de la prueba.<sup>6</sup>



**Figura 3.14 *Comamonas acidovorans*, produce una reacción de indol característica de color “naranja zapallo”, debido a la formación de ácido antranílico, en lugar de indol a partir del triptófano.<sup>6</sup>**

## Descarboxilación

El método de Moeller para detectar la descarboxilación de un aminoácido se basa en el cambio de pH. El desarrollo de un color púrpura alcalino en el medio de prueba, después de la siembra con el microorganismo a probar e incubación a 35°C durante 24 a 48 horas, constituye un resultado positivo de la prueba<sup>6</sup>.

Muchos no fermentadores sólo muestran una actividad descarboxilasa muy débil y pueden producir una cantidad de aminas insuficiente para hacer virar el sistema indicador de pH.<sup>6</sup>

Este posible inconveniente del método de Moeller se evita utilizando sólo pequeñas cantidades de sustratos (1 a 2 mL) y un inóculo denso de microorganismos desarrollados previamente, en los cuales ya se haya alcanzado una alta concentración de enzima.<sup>6</sup>

La sensibilidad de detección también se aumenta cubriendo el medio con 4mL de vaselina. En esencial que se unen controles sin sembrar sin sustrato de aminoácidos, para comparar las reacciones de color.<sup>6</sup>

La conversión inicial del medio al amarillo, a medida que los ácidos provenientes de la pequeña cantidad de glucosa se acumulan en el medio, no se observa con los no fermentadores; en lugar de ello, las reacciones de punto final se leen por comparación con el tono ligeramente azul-verdoso de los controles.<sup>6</sup>



**Figura 3.15. Tubos de medio descarboxilasa de Moeller cubiertos con una capa de aceite mineral. De izquierda a derecha: lisina, arginina, ornitina, tubo control de aminoácidos. Con los no fermentadores, las pruebas negativas permanecen del mismo color que los tubos originales.<sup>6</sup>**

Los tubos deben incubarse a 35°C hasta 5 días antes de considerar un resultado como negativo. Otros sistemas que utilizan reactivo de ninhidrina como indicador pueden ser más sensibles para detectar actividad descarboxilasa, debido a que el compuesto reacciona directamente con las aminas para dar un color púrpura.<sup>6</sup>

## Hidrólisis de la Esculina

La hidrólisis de la esculina se utiliza fundamentalmente como características diferenciales para distinguir entre dos especies de *Brevundimonas* y algunos de los pseudomonadales con pigmento amarillo. Para probar no fermentadores se recomienda un medio con esculina sin bilis, debido a que algunas especies de no fermentadores son inhibidas por la bilis.<sup>6</sup>

- ✓ Se siembran picos de flauta de agar esculina con el aislamiento desconocido y se incuban a 35°C durante 24 a 48 horas.<sup>6</sup>
- ✓ La esculina presente en el medio fluoresce cuando se observa con una lámpara de Wood.<sup>6</sup>
- ✓ Cuando la esculina es hidrolizada, el medio toma un aspecto negro rojizo y se pierde la fluorescencia, lo que indica un resultado positivo a la prueba.<sup>6</sup>

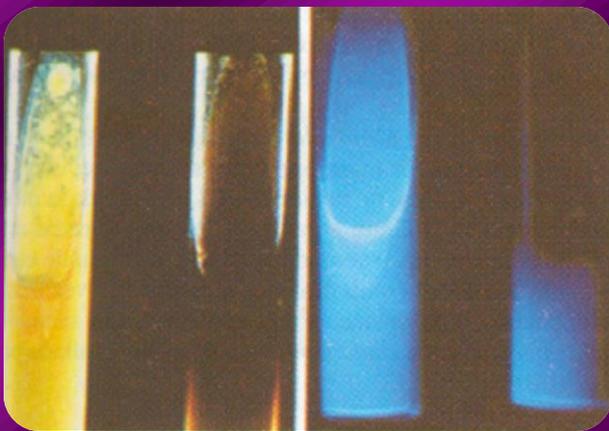


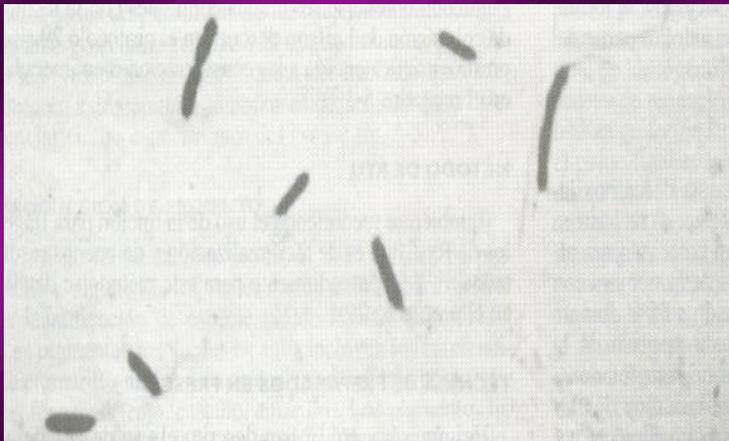
Figura 3.16 Tubos de agar esculina observados bajo luz visible y los mismos tubos observados bajo luz ultravioleta de una lámpara de Wood.<sup>6</sup>

## COLORACIONES PARA FLAGELOS

Aunque habitualmente no son necesarias, las coloraciones para flagelos en ocasiones son útiles para identificar ciertos bacilos no fermentadores móviles en particular cuando las reacciones bioquímicas son débiles o equívocas.<sup>6</sup>

### ➤ Método de Leifson

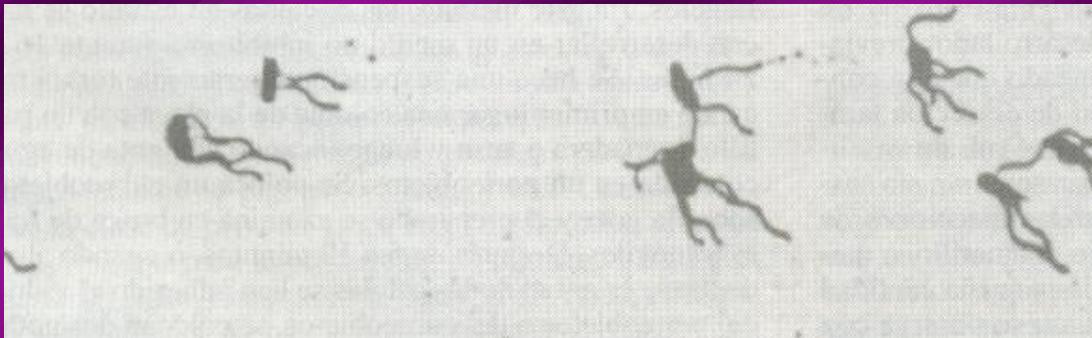
- Preparar una suspensión poco densa a partir de un cultivo joven de un medio sólido apropiado.
- Colocar dos gotas de la suspensión bacteriana en un extremo del portaobjetos limpio con ácido. Con un lápiz de cera dibujar una línea perpendicular en la superficie del vidrio en el extremo opuesto a la suspensión seca.
- Colocar el portaobjetos en un soporte inclinado y cubrir la suspensión bacteriana seca con una fina película de colorante.
- Colorear durante 5 a 15 minutos, dejándolo que se forme un precipitado a medida que se evapora el alcohol.
- Cuando se forma un precipitado, enjuagar el portaobjetos suavemente con agua destilada, eliminando el exceso de agua y dejar secar al aire.<sup>6</sup>



**Figura 3.17 Bacterias teñidas con coloraciones para flagelos. Tinción flagelar positiva de bacilos con flagelos polares.<sup>6</sup>**

## ➤ Método de Ryu

- Preparar el frotis tomando bacterias de un cultivo joven de un medio de cultivo libre de hidratos de carbono con una aguja de inoculación y tocando levemente el centro de cada una de las dos gotas de agua destilada colocadas en un portaobjetos.
- Dejar que las gotas se sequen al aire a temperatura ambiente.
- Cubrir los frotis secando al aire con abundante solución colorante durante 1 a 5 minutos.
- Lavar la solución colorante con agua de la canilla.
- Después de secar los frotis, observarlos al microscopio con objetivo de inmersión.
- Los cuerpos celulares y los flagelos se tiñen de violeta.<sup>6</sup>



**Figura 3.18 Bacterias teñidas con coloraciones para flagelos. Tinción flagelar positiva de bacilos con flagelos periticos.<sup>6</sup>**

**Tabla 3.4 Precauciones a tomar cuando se presenta una coloración de Leifson.<sup>6</sup>**

- **Los porta objetos deben de estar limpio. Deben sumergirse en solución de bicromato ácido-alcohol (ácido clorhídrico concentrado al 3% en alcohol etílico al 95%) durante 3 a 4 días.**
- **Las bacterias deben hacerse crecer en medios sin hidratos de carbono. Un pH bajo suele inhibir la formación de flagelos y cualquier traza de ácido en el medio puede resultar inconveniente. El pH de la solución de teñido debe mantenerse en 5.0 o mas.**
- **Las bacterias deben teñirse durante la fase de desarrollo logarítmico, por lo general, dentro de las 24 a 48 horas, para estimular el total desarrollo de los flagelos en alguans especies.**
- **Debe tenerse cuidado de no arrastrar agar al portaobjetos, debido a que éste puede interferir con la reacción de coloración. El lavado de las bacterias a teñir, dos o tres veces con agua (centrifugando a baja velocidad entre lavado), antes de hacer los frotis, puede servir para eliminar inhibidores de superficie de la coloración**

## ➤ Técnica de preparados en fresco

- ✓ Las bacterias en estudio se hacen desarrollar en un medio no inhibitorio durante 16 a 24 horas.
- ✓ Se hace una suspensión ligeramente turbia tocando en primer lugar una colonia de la placa con una ansa y luego tocando una gota de agua colocada en un portaobjetos.
- ✓ Se coloca un cubreobjetos sobre la gota y el preparado se examina en busca de formas móviles.
- ✓ Después de 5 a 10 minutos, o cuando alrededor de la mitad de las células se han adherido al vidrio del portaobjetos o del cubreobjetos, se colocan dos gotas de colorante de Ryu en el borde del cubreobjetos y se deja penetrar por debajo de él por capilaridad.
- ✓ Las células se observan en busca de flagelos después de 5 a 15 minutos a temperatura ambiente.<sup>6</sup>

## MORFOLOGIA DE FLAGELOS

La cantidad y disposición de los flagelos en la célula bacteriana puede servir para identificar las especies. Se observan los siguientes tipos de posición flagelar<sup>6</sup>:

- POLAR
  - Monótricos: un solo flagelo en uno u otro polo
  - Multítricos: dos o más flagelos en uno o ambos polos
- SUBPOLAR: flagelos cerca de uno de los polos, con la base del flagelo en ángulo recto con el eje mayor.
- LATERAL: flagelos que se proyectan desde el centro a la célula bacteriana.
- PERÍTRICOS: flagelos dispuestos al azar alrededor de toda célula bacteriana.

## Guía de estudio

- ✓ ¿Cuál es su importancia de los bacilos no fermentadores desde el punto de vista clínico?
- ✓ ¿Cuáles son las 5 familias en que se han clasificado?
- ✓ Mencione 5 bacilos gramnegativos no fermentadores relevantes.
- ✓ ¿Cuáles son las características de laboratorio que hacen sospechar que se trata de un bacilo gramnegativo del grupo de los fermentadores?
- ✓ ¿A qué se refiere la falta de evidencia de la fermentación de la glucosa?
- ✓ ¿Qué es la reacción positiva del citocromo oxidasa?
- ✓ ¿Qué es la falta de desarrollo en agra MacConkey?
- ✓ ¿Cuáles son las pruebas utilizadas para la identificación de los no fermentadores y explique al menos tres?
- ✓ ¿Cuál es la técnica de preparados en fresco y en qué se aplica?
- ✓ ¿Cuáles son los tipos de posición flagelar?

## REFERENCIAS

1. Romero CR, Microbiología y Parasitología Humana. 3ra. ed. México: Medica Panamericana; 2007.
2. Brooks, Geo F, Carro LL, Karen C, et.al Microbiología Medica. 19ª ed. México: El manual moderno;2008
3. Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, et.al. Tratado de Microbiología. 4ta ed. Barcelona España: Salvat;1996
4. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007
5. Zinsser, Joklik, Amos, et.al. Microbiología. 20a ed. Mexico: Panamericana.
6. Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997.
7. Valdez S, Lopez G, Microbiología y Parasitología. México: Facultad de medicina UNAM; 2010
8. Michael M, John M, Jack Parker, Brock biología de los microorganismos. 10ª ed. Pearson Educación; 2003
9. Hans G, Schlegel, Microbiología General,1ª ed. Omega; 1996
10. Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995.
11. Pumarola A, Rodriguez AT, Garcia JR, Piedrola GA. Microbiología y parasitología médica. 2ª ed. Elsevier España: Salvat; 1999.
12. Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
13. Bailey RW, Scott GE, Forbes AB, Sahn FD, Weissfeld SA. Diagnóstico microbiológico.12ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
14. Levison, Microbiología y parasitología humana. 8va ed. Mexico: El manual moderno:
15. Sherris, KennethJ, George C. Microbiología Medica. 8va ed. Mexico: Mc Gran Hill: 2005
16. Prescott L, Harley J,Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008
17. Roitt, Wakelin, Williams, Microbiología Médica. 2da ed. España: Mosby;

## REFERENCIAS FIGURAS

- FIGURA 3.1 Sociedad Americana de Microbiología, Las bacterias gramnegativas,[En línea], 1997, formato html disponible en internet:  
<http://www.sciencephoto.com/media/96193/enlarge>
- FIGURA 3.2 Bacterias gram negativas: Moraxella osloensis, [en línea], 1997, Consultado 06/10/12,Formato html disponible en internet:  
<http://www.asm.org/division/c/gramneg.htm>
- FIGURA 3.3 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997.
- FIGURA 3.4 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997
- FIGURA 3.5 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997
- FIGURA 3.6 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997
- FIGURA 3.7 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997
- FIGURA 3.8 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997
- FIGURA 3.9 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997

- FIGURA 3.10 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997
- FIGURA 3.11 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997
- FIGURA 3.12 Bailey RW, Scott GE, Forbes AB, Sahm FD, Weissfeld SA. Diagnóstico microbiológico. 12ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
- FIGURA 3.13 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997
- FIGURA 3.14 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997
- FIGURA 3.15 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997
- FIGURA 3.16 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997
- FIGURA 3.17 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997
- FIGURA 3.18 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997

## REFERENCIAS TABALAS

- TABLA 3.1 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3<sup>a</sup> ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997
- TABLA 3.2 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3<sup>a</sup> ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997
- TABLA 3.3 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3<sup>a</sup> ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997
- TABLA 3.4 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3<sup>a</sup> ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997

A scanning electron micrograph (SEM) showing numerous rod-shaped bacteria, likely from the family Pseudomonadaceae. The bacteria are distributed across the field of view, with some appearing in pairs and others as single rods. They have a textured, slightly irregular surface. The background is a dark, granular material.

**Capitulo 4**

**FAMILIA  
PSEUDOMONADACEAE**

## *Pseudomonas*

El género *Pseudomonas* estaba constituido inicialmente por una gran colección heterogénea de bacterias sin capacidad de fermentación que se agruparon por sus parecidos morfológicos. Constituyen un complejo de patógenos oportunistas de plantas, animales y el ser humano. Se denomina *Pseudomonas* porque se solían disponer en parejas de células que recordaban a una célula única. El 1992 este género se subdividió en una serie de géneros nuevos (incluidas *Burkholderia* y *Stenotrophomonas*); sin embargo, *Pseudomonas* sigue incluyendo casi 200 especies. La más importante es *P.aeruginosa*.<sup>4</sup>

Las especies pertenecientes al género *Pseudomonas* son microorganismos ubicuos que se encuentran en la tierra, en la materia orgánica en descomposición, en la vegetación y en el agua. Por desgracia se haya también en el ambiente hospitalario en ambientes húmedos, como la comida, las flores de los jarrones, los lavabos, los baños, los respiradores y los equipos de diálisis, e incluso las soluciones desinfectantes. Es infrecuente que forme parte de forma persistente de la flora microbiana normal del ser humano, excepto en los pacientes hospitalizados y en los pacientes ambulatorios inmunodeprimidos.<sup>4</sup>

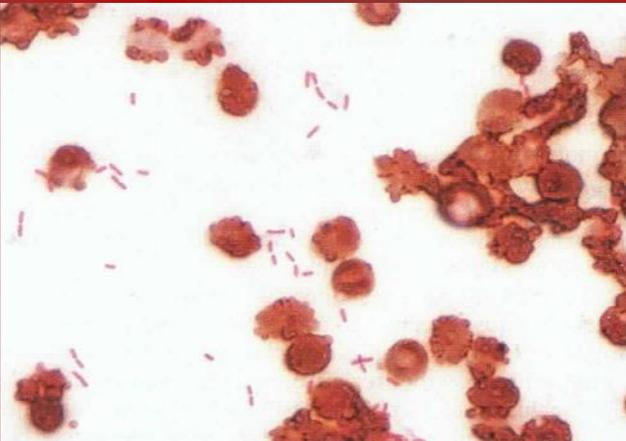


Figura 4.1 Tinción de Gram de *Pseudomonas aeruginosa* con células dispuestas de forma individual y en parejas.<sup>4</sup>

Son capaces de utilizar un gran número de compuestos orgánicos como fuentes de carbono y nitrógeno, y algunas cepas crecen incluso en agua destilada al degradar los restos de los nutrientes. Las especies de *Pseudomonas* poseen muchos factores estructurales, enzimas y toxinas que aumentan su virulencia, a la vez que hacen resistentes a los antibióticos que se usan con una frecuencia mayor.<sup>4</sup>

En efecto, es sorprendente el hecho de que estos microorganismos no sean unos patógenos más frecuentes, teniendo en cuenta su ubicuidad, su capacidad de proliferar en prácticamente cualquier ambiente, sus propiedades de virulencia y su resistencia a diversos antibióticos. Por el contrario las infecciones por *Pseudomonas* son fundamentalmente oportunistas (es decir, restringidas a los pacientes con alteraciones de los mecanismos de defensa). Esta característica destaca la importancia de la capacidad del anfitrión para prevenir la colonización y evitar una posterior invasión por las *Pseudomonas*.<sup>4</sup>

## FISIOLOGÍA Y ESTRUCTURA

Las *Pseudomonas* son bacilos gramnegativos móviles rectos o ligeramente curvados (0,5 a 1,5 a 5), que suelen disponerse en pares. Estos microorganismos no son fermentadores y utilizan los hidratos de carbono a través del metabolismo respiratorio en el que actúa como aceptor terminal de electrones. Aunque se definen como aerobios estrictos, pueden crecer de forma anaerobia utilizando nitrato o arginina como aceptor terminal de electrones. La presencia del citocromo oxidasa en las especies de *Pseudomonas* se utiliza para distinguirlas de las enterobacterias.<sup>4</sup>

Algunas *Pseudomonas* adquieren un aspecto mucoso como consecuencia de la abundancia de polisacáridos capsulares estas cepas son especialmente frecuentes en los pacientes con fibrosis quística. Algunas especies producen pigmentos difundibles (p.ej., Píocianina [azul], Píoverdina [verde-amarillento] y Píorrubina [pardo-rojizo]), que explica su aspecto característico en cultivo.<sup>4</sup>



Figura 4.2 Tinción de Gram de *Pseudomonas aeruginosa* rodeada de material capsular en un paciente aquejado de fibrosis quística.<sup>4</sup>

**Tabla 4.1 Clasificación de algunas *Pseudomonas* de importancia médica.<sup>2</sup>**

Homología rRNA de grupo y subgrupo	Género y especie
<b>I. Grupo fluorescente</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Pseudomonas putida</i>
<b>Grupo no fluorescente</b>	<i>Pseudomonas stutzeri</i> <i>Pseudomonas mendocina</i>
<b>II.</b>	<i>Burkholderia pseudomallei</i> <i>Burkholderia mallai</i> <i>Burkholderia cepacia</i> <i>Ralstonia picketti</i>
<b>III.</b>	Especies de comamonas Especies de acidovorax
<b>IV.</b>	Especies de brevundimonas
<b>V.</b>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>

## GRUPO FLUORESCENTE

### *Pseudomonas aeruginosa*

#### Fisiología y estructura

- Bacilos gramnegativos aerobios rectos o ligeramente curvados en general móviles que se disponen típicamente en parejas.<sup>15</sup>
- En agar sangre produce una zona de hemólisis beta.
- Móvil mediante un flagelo polar.<sup>15</sup>
- Capaz de utilizar una amplia variedad de fuente de carbono y energía y crecer a temperaturas muy diferentes.<sup>15</sup>
- No crece en condiciones anaeróbicas (excepto cuando se proporciona nitrato como aceptador terminal de electrones).<sup>15</sup>
- Positivo para oxidasa.<sup>15</sup>
- Capsula mucoide de expopolisacárido.<sup>15</sup>
- Produce un pigmento azulado conocido como Píocianina y fluoresceína es un pigmento amarillento que adquiere un color fluorescente bajo la luz ultravioleta. Estas se combinan producen un color verde brillante que difunde a través del medio de cultivo.<sup>15</sup>
- Utiliza la vía metabólica de Entner Doudoroff.<sup>15</sup>

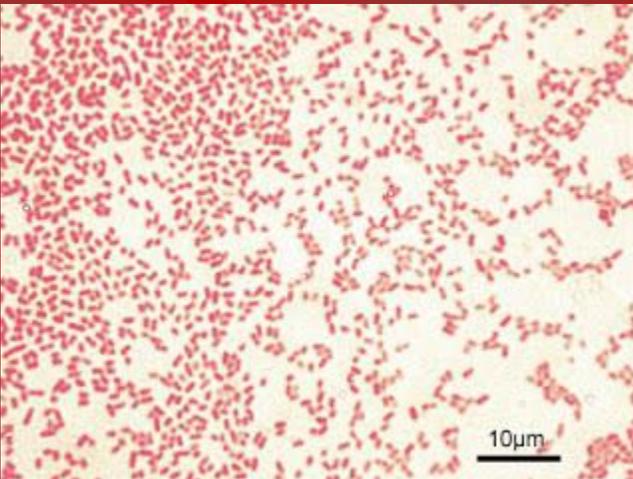


Figura 4.3 *Pseudomonas aeruginosa* Tinción de Gram.

Las infecciones *P.aeruginosa* observan frecuentemente en personas:

- Con inmunidad deprimida.
- En los pacientes que sufren quemaduras.
- En pacientes con alteraciones metabólicas como la diabetes
- En pacientes con neoplasias malignas.
- En pacientes que han sido sometidos a instrumentación o cateterismo.
- Con frecuencia se manifiestan infecciones urinarias en personas de edad avanzada
- Debe cuidarse a los pacientes sometidos en drogas inmunosupresoras de las infecciones por este agente.<sup>1</sup>

*P.aeruginosa* puede instalarse en cualquier órgano o tejido:

- ✓ Desde una simple herida o quemadura
- ✓ Invadir el oído externo
- ✓ Colonizar las vías urinarias
- ✓ Los pulmones
- ✓ El endocardio, la córnea y los huesos.
- ✓ De una infección localizada en alguno de esos tejidos
- ✓ Puede diseminarse por el torrente circulatorio
- ✓ Producir septicemias de alta gravedad e instalarse en otros tejidos dando lugar a procesos supurativos.<sup>1</sup>

Estas formas clínicas diseminadas generalmente son de una alta tasa de mortalidad.<sup>1</sup>

## ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

- Para agrupar a las diversas cepas con propósitos epidemiológicos se han empleado los antígenos O o somáticos.
- La tipificación serológica de los antígenos O es un sistema de caracterización de las cepas aisladas durante las epidemias.
- Con los tipos O habitualmente aislados se han desarrollado diversas vacunas para la prevención de las infecciones por *Pseudomonas*.<sup>5</sup>

- ✓ Antígeno somático O
- ✓ Antígeno flagelar H
- ✓ Antígeno Mucoide.<sup>7</sup>

Además los antígenos O, la mayor parte de las cepas de *P.aeruginosa* si no todas, poseen un antígeno poliaglutinable (PA). La capa de moco de la *P.aeruginosa* también es inmunogénica y puede desempeñar un papel en la protección del microorganismo contra la fagocitosis.<sup>5</sup>

La inmunización activa y pasiva contra la capa de moco protege a los animales contra los efectos tóxicos y letales de la estimulación con los microorganismos vivos.<sup>5</sup>

Los anticuerpos contra antígenos O, H y los pili permiten tipar las cepas con fines epidemiológicos.<sup>7</sup>

## PATOGENIA E INMUNIDAD

Varios componentes de la superficie celular desempeñan un importante papel en la patogenia. La endotoxina *P. aeruginosa* puede obtener respuestas similares a las de las enterobacterias, pero es varias veces menos tóxica. Se ha observado que las fimbrias encontradas en la mayoría de las cepas de *P. aeruginosa* sirven como factores de unión y colonización al igual que en *Neisseria gonorrhoeae*. Existen muchos serotipos diferentes de fimbrias sin reacción cruzada entre ellas.<sup>3</sup>

Considerando el efecto de los factores de patogenicidad, podemos agruparlos en tres tipos:

1. Factores de colonización
2. Endotoxina de pared
3. Sustancias extracelulares

### 1) Factores de colonización

Incluyen a las fimbrias que se encuentran en todas las cepas y una capa mucosa que se encuentra en la superficie de la pared contribuye al anclaje de la bacteria en las células de los tejidos.<sup>1</sup>

### 2) Endotoxina de pared

Que, como en otros bacilos gramnegativos, es un lipopolisacárido que causa necrosis focal en el sitio de colonización.<sup>1</sup>

### 3) Sustancias extracelulares

Incluyen dos hemolisinas S, una es un glucolípidio y la otra es una fosfolipasa, ambas producen destrucción total de los eritrocitos de varias especies.<sup>1</sup>

## FACTORES DE VIRULENCIA

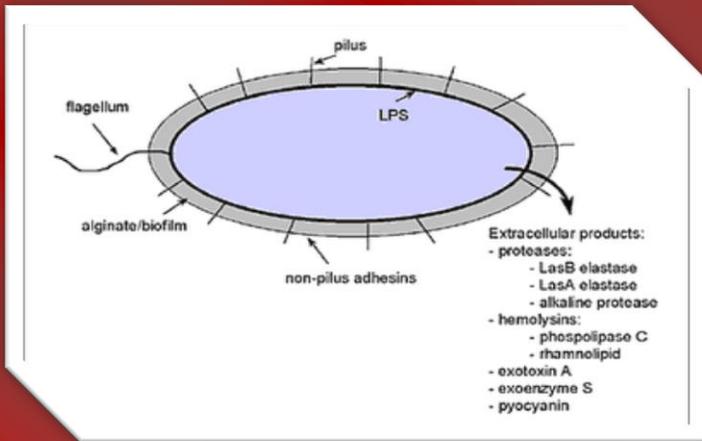


Figura 4.4 Factores de virulencia de la *Pseudomonas aeruginosa*.

## ADHESINAS

La adherencia a las células anfitrionas resulta esencial para ocasionar la infección. La adherencia de *P. aeruginosa* a las células del organismo anfitrión está mediada por los pili y por adhesinas de estructura diferente. *P. aeruginosa* produce también neuraminidasa, que elimina los residuos de ácido siálico del receptor de los pili, aumentando así la adherencia de las bacterias a las células epiteliales. Al menos cuatro componentes estructurales en la superficie de *P.aeruginosa* facilitan esta adherencia:

1. Flagelos
2. Pili
3. Lipopolisacáridos (LPS)
4. Alginato

**Tabla 4.2 Factores de virulencia de *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>6</sup>**

Factor de virulencia	Actividad biológica
✓ <b>Alginato</b>	Polisacárido capsular que permite que las bacterias infectantes se adhieran a las superficies epiteliales pulmonares y formen películas biológicas. A su vez éstas protegen a las bacterias contra los antibióticos y el sistema inmune del organismo.
✓ <b>Pili</b>	Apéndices superficiales que permiten la adhesión del microorganismo a los receptores del gangliósido GM-1 presentes en la superficie de las células epiteliales del huésped.
✓ <b>Neuraminidasa</b>	Elimina ácido siálico y residuos de los receptores de gangliósido GM-1, lo que facilita la unión de los pili.
✓ <b>Lipopolisacárido</b>	Produce endotoxinas y es la causa del síndrome séptico: fiebre, shock, oliguria, leucopenia o leucocitosis, coagulación intravascular diseminada, anomalías metabólicas.
✓ <b>Exotoxina A</b>	Destrucción tisular, inhibición de la síntesis proteica; interrumpe la actividad celular y la respuesta macrofágica.
✓ <b>Enterotoxina</b>	Interrumpe la actividad gastrointestinal normal, lo que produce diarrea.
✓ <b>Exotoxina S</b>	Inhibe la síntesis proteica.

**Tabla 4.2 Factores de virulencia de Pseudomonas aeruginosa.(Continuación)<sup>6</sup>**

Factor de virulencia	Actividad biológica
✓ <b>Fosfolipasa C</b>	Hemolisis termolábil; media en el daño tisular y estimula la respuesta inmune.
✓ <b>Elastasa</b>	Degrada las inmunoglobulinas y los componentes del complemento, destruye la actividad de los neutrófilos.
✓ <b>Leucocidina</b>	Inhibe la función de los neutrófilos y linfocitos
✓ <b>Piocianinas</b>	Un pigmento azul cataliza la producción de superóxido y peróxido de hidrógeno. Suprime el desarrollo de otras bacterias y elimina la actividad de las ciliias respiratorias: produce daños oxidativos en los tejidos, en particular en los tejidos oxigenados, como el pulmón.
✓ <b>Pioverdina</b>	Un pigmento verde amarillento, es un sideróforo que se liga al hierro para usarlo en el metabolismo. Este pigmento regula también la secreción de otros factores de virulencia, incluida la toxina A. <sup>6</sup>
✓ <b>LasA (serina proteasa) LasB (metaloproteasa de cinc)</b>	Actúan de manera sinérgica para degradar la elastina, lo que ocasiona daños en los tejidos que contiene elastina y el parénquima pulmonar. <sup>4</sup>



Figura 4.5 *Pseudomonas aeruginosa* rodeada de material capsular mucoso en un paciente aquejado de fibrosis quística.<sup>4</sup>

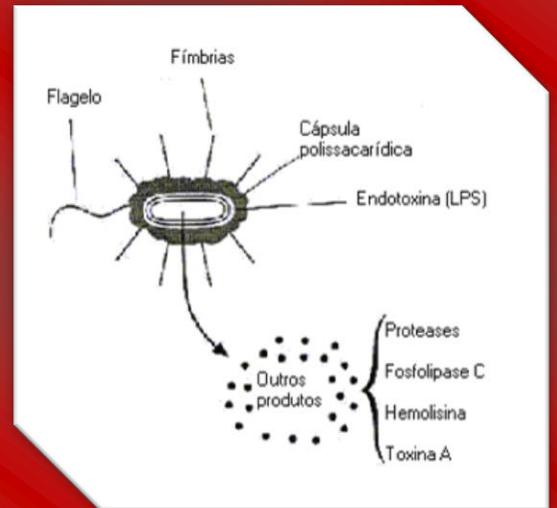


Figura 4.6 Principales factores de virulencia de la *Pseudomonas aeruginosa*.

## Inmunidad

La inmunidad humana a la infección por *Pseudomonas* no es bien comprendida. Inferencias obtenidas de estudios en animales y observaciones clínicas sugieren que la inmunidad humoral y celular es importante. La fuerte propensión de *P. aeruginosa* para infectar a aquellos con inmunidad defectuosa indica que estas respuestas son de particular importancia.<sup>15</sup>

## RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

- *P. aeruginosa* son patógenos oportunistas presentes en una gran variedad de ambientes. La capacidad para aislar a estos microorganismos de las superficies húmedas puede verse limitada solamente por los esfuerzos para detectar los microorganismos.<sup>4</sup>
- *Pseudomonas* tiene unos requerimientos nutricionales mínimos, puede tolerar un amplio intervalo de temperaturas (4-42°C) y son resistentes a muchos antibióticos y desinfectantes.<sup>4</sup>

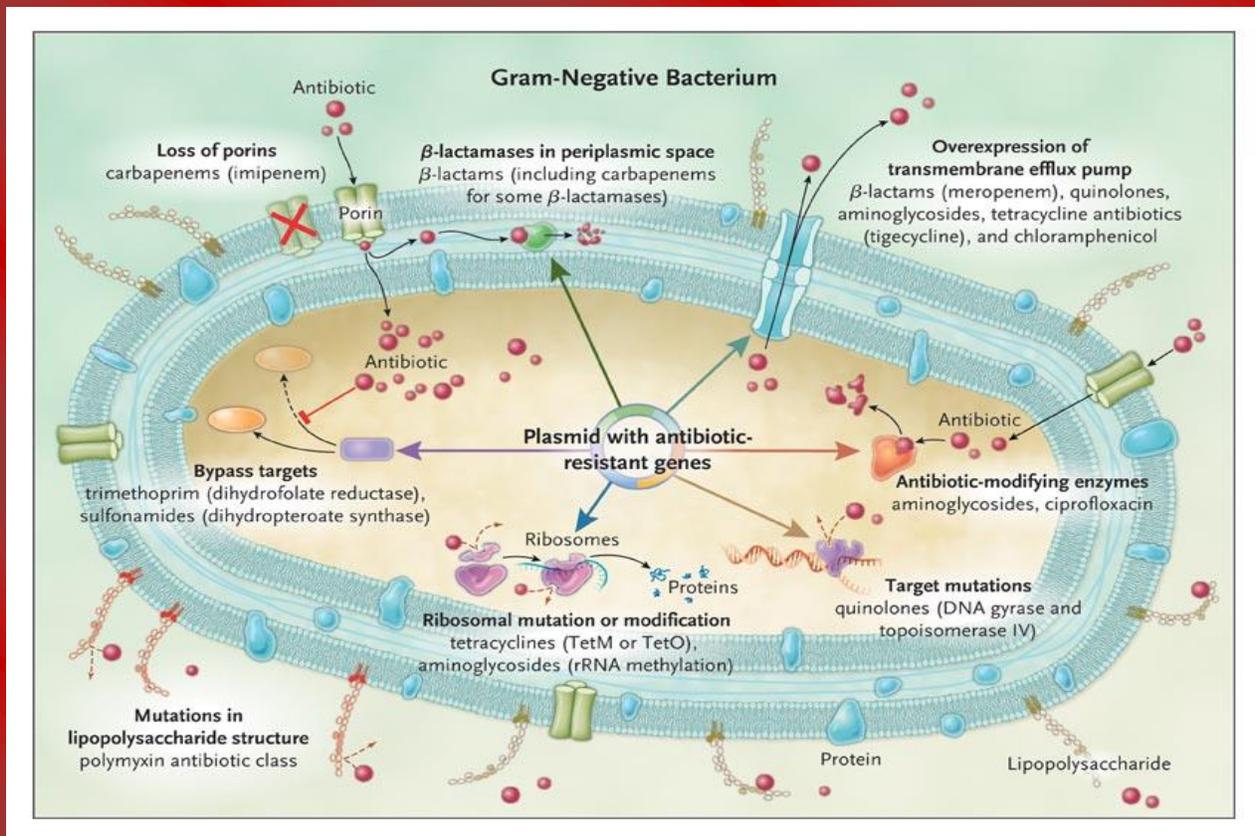


Figura 4.7 Métodos bacterianos para hacerse resistencia a los antibióticos.

- *P. aeruginosa* posee una resistencia inherente a muchos antibióticos y puede mutar a cepas aún más resistentes durante el tratamiento. Aunque se ha identificado numerosos mecanismos de resistencia, la mutación de las porinas constituye el principal mecanismo de resistencia.
- La penetración de los antibióticos en la célula seudomónica tiene lugar principalmente a través de los poros de la membrana externa. La alteración de las proteínas que configuran la pared celular de estos poros con el fin de restringir el flujo al interior de la célula conlleva la aparición de la resistencia a numerosos grupos de antibióticos de manera simultánea.
- De hecho, la recuperación de *Pseudomonas* a partir del ambiente (p.ej., un lavamanos o el suelo de un hospital) tiene un escaso significado a no ser que existan indicios epidemiológicos de que el lugar contaminado sea un reservorio de la infección.<sup>4</sup>
- La recuperación de *Pseudomonas*, particularmente de especies diferentes a *P.aeruginosa*, a partir de una muestra clínica puede representar una mera colonización ambiental de la muestra durante su obtención o procesamiento en el laboratorio.<sup>4</sup>



Figura 4.8 Lavamanos de hospitales escaso significado.

## EPIDEMIOLOGIA

- Las *Pseudomonas* son patógenos oportunistas presentes en una gran variedad de ambientes. La capacidad para aislar a estos microorganismos de las superficies húmedas puede verse limitada solamente por los esfuerzos para detectar los microorganismos. *Pseudomonas* tienen unos requerimientos nutricionales mínimos, pueden tolerar un amplio intervalo de temperaturas (4°C – 42°C) y son resistentes a muchos antibióticos y desinfectantes.<sup>4</sup>
- De hecho, la recuperación de *Pseudomonas* a partir del ambiente (p. ej., un lavamanos o el suelo de un hospital) tiene un escaso significado a no ser que existan indicios epidemiológicos de que el lugar contaminado sea un reservorio de la infección.<sup>4</sup>
- Además, el aislamiento de *Pseudomonas* en un paciente hospitalizado constituye un motivo de preocupación, pero normalmente no justifica la intervención terapéutica, a no ser que existan indicios de enfermedad.<sup>4</sup>
- La recuperación de *Pseudomonas*, particularmente de especies diferentes a *P.aeruginosa*, a partir de una muestra clínica pueden representar una mera colonización del paciente o bien suponer una contaminación ambiental de la muestra durante su obtención o procedimiento en el laboratorio.<sup>4</sup>
- Las investigaciones epidemiológicas han demostrado que la *P.aeruginosa* es responsable del:
  - ✓ 10% de todas las infecciones nosocomiales.
  - ✓ 11% de todos los microorganismos aislados de la sangre.
  - ✓ 4% de las epidemias que ocurren en los hospitales.

- En las unidades especializadas, como los centros de atención de quemados o pacientes con cáncer, la *P.aeruginosa* es el primer microorganismo gramnegativo aislado puede causar:<sup>5</sup>
  - ✓ 30 % de todas las infecciones.
- Los individuos no internados también adquieren infecciones por *Pseudomonas*. Se produce foliculitis en los pacientes expuestos a bañeras y piscinas mantenidas de forma inapropiada.<sup>5</sup>
- Esta población también está predispuesta a desarrollar una otitis externa conocida como el oído del nadador. Las infecciones de la córnea han sido atribuidas a la contaminación del líquido para los lentes de contacto, a los cosméticos y a los traumatismos oculares.<sup>5</sup>
- La naturaleza ubicua de la *P.aeruginosa* incrementa su diseminación. Está presente no solo en el suelo y el agua sino también en la piel de algunos individuos normales y aproximadamente el 10 % de las heces normales.
- En un estudio el 19 % de los pacientes internados en una unidad de terapia intensiva provenientes de la comunidad se hallan colonizados, mientras que los pacientes internados en la unidad y provenientes de otros sitios del hospital lo estaba el 34%.
- Hacia el séptimo día de la estadía de la unidad el 90% de los pacientes se hallaba colonizado.
- La pérdida de la flora normal por el empleo de antibióticos de amplio espectro incrementa la tasa de colonización. El equipo para cuidados respiratorios, los catéteres y las sondas, los líquidos intravenosos e incluso los jabones contaminados han sido los vehículos para la transmisión del microorganismo.

- La presencia de *Pseudomonas* en la lechuga ha llevado a algunos expertos a prohibir este alimento en las unidades de oncología y de trasplante de médula ósea para disminuir las posibilidades de la colonización del tracto gastrointestinal de los pacientes en estos servicios. <sup>5</sup>



Figura 4.9 Pacientes en terapia intensiva con mayor colonización por *Pseudomonas aeruginosa*.

## ENFERMEDADES CLÍNICAS

### Infecciones pulmonares

Las infecciones de las vías respiratorias inferiores por *P.aeruginosa* pueden variar en gravedad desde<sup>4</sup>:

1. Una colonización asintomática
2. Una tranqueo bronquitis benigna
3. Una bronconeumonía necrosante grave.



Figura 4.10 Rx simple en neumonía por *Pseudomonas*. Infiltrado parenquimatoso en LSD, con imágenes cavitadas y bronquios en paredes engrosadas.

- ✓ Las infecciones en los primeros se han asociado a la exacerbación de la entidad de base, así como con procesos pulmonares invasivos.<sup>4</sup>
- ✓ Las cepas mucoides son las que se suelen aislar en las muestras de estos pacientes, y son difíciles de erradicar con tratamiento antibiótico.<sup>4</sup>

La colonización se da en pacientes con<sup>4</sup>:

- ✓ Fibrosis quística
- ✓ Los aquejados de otras enfermedades pulmonares crónicas
- ✓ En neutropénicos

La infección en los primeros se ha asociado a la exacerbación de la entidad de la base, así como con procesos pulmonares invasivos. Las cepas mucoides son las que se suelen aislar en las muestra de estos pacientes, y son difíciles de erradicar con tratamiento antibiótico.<sup>4</sup>

Las circunstancias que predisponen a los pacientes inmunodeprimidos a contraer infecciones por *Pseudomonas* son:

1. El tratamiento previo con antibióticos de amplio espectro que alteran la población bacteriana protectora normal.
2. El uso de respiradores, que puede introducir el microorganismo en las vías respiratorias inferiores.<sup>4</sup>

La enfermedad invasiva en esta población se caracteriza por una bronconeumonía bilateral difusa con la formación de microabscesos y la necrosis de los tejidos. La tasa de mortalidad es tan elevada como el 70 %.<sup>4</sup>

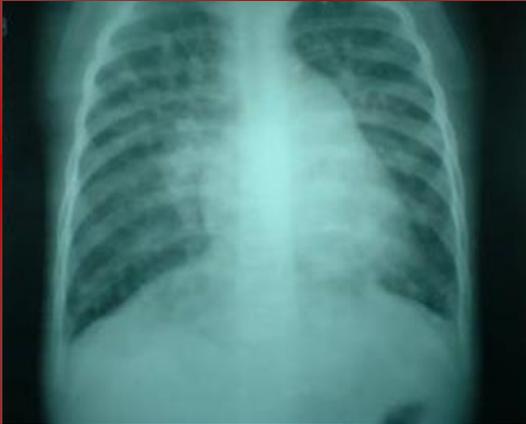


Figura 4.11 infección por *Pseudomonas aeruginosa* en un paciente fibroquístico.

## Infecciones cutáneas primarias

*P.aeruginosa* pueden producir varias infecciones cutáneas. Las infecciones mejor conocidas son las infecciones de las quemaduras. La colonización de una quemadura, seguida de un daño vascular localizado, necrosis tisular y finalmente bacteriemia, es frecuentemente en los pacientes con quemaduras graves.<sup>4</sup>

La superficie húmeda de la quemadura y la falta de respuesta de los neutrófilos a la invasión tisular predisponen a los pacientes a adquirir estas infecciones. El tratamiento de las heridas con cremas de antibióticos tópicos sólo ha obtenido un éxito limitado en el control de estas infecciones.<sup>4</sup>



}  
Figura 4.12 Infección por *Pseudomonas* de una quemadura.<sup>4</sup>

La foliculitis es otra infección frecuente producidas por *Pseudomonas*, que se produce por la inmersión en agua contaminada (p. ej., baños calientes, remolinos, piscinas). Las infecciones secundarias por *Pseudomonas* pueden ocurrir también en los individuos que tiene acné o que se depilan las piernas.

Por último *P.aeruginosa* puede producir infecciones cutáneas en los individuos que exponen las manos de manera frecuente al agua o que acuden con frecuencia a los salones de manicura. *P.aeruginosa* es la causa más frecuente de osteocondritis (inflamación del hueso y el cartílago) del pie tras una herida penetrante (p. ej., la producida al pisar un clavo).<sup>5</sup>



Figura 4.13 Foliculitis por *Pseudomonas*.<sup>4</sup>

## Infecciones del aparato urinario

Las infecciones del aparato urinario aparecen principalmente en los pacientes con sondas urinarias de larga duración. Generalmente estos pacientes reciben múltiples pautas de antibióticos, lo que tiende a seleccionar cepas más resistentes de bacterias como *Pseudomonas*.<sup>4</sup>

## Infecciones del oído

- ✓ Con frecuencia, la otitis externa se debe a la infección por *P.aeruginosa*, siendo la natación un importante factor de riesgo (oído del nadador). Esta infección localizada se puede tratar con antibióticos tópicos y con agentes que favorezcan la desecación.<sup>4</sup>



Figura 4.14 Otitis externa por *Pseudomonas*.

- ✓ La otitis externa maligna es una forma de enfermedad que se observa fundamentalmente en los diabéticos y los ancianos. Puede invadir los tejidos subyacentes, producir daño en los pares craneales y en los huesos y poner en riesgo la vida. Estos últimos pacientes requieren un tratamiento agresivo antimicrobiano y quirúrgico. *P.aeruginosa* se asocia también a la otitis media crónica.<sup>4</sup>

## Infecciones oculares

Las infecciones oculares tienen lugar con posterioridad a un traumatismo inicial en la córnea (p.ej., abrasión por lentes de contacto, arañazo de la superficie ocular) y la posterior exposición a *P.aeruginosa* en el agua contaminada. Se producen úlceras corneales que pueden progresar a una enfermedad con riesgo de pérdida del ojo a no ser que se instale un tratamiento precoz.<sup>4</sup>



Figura 4.15 Queratitis por *Pseudomonas*.

## Bacteriemia y endocarditis

La bacteriemia por *P.aeruginosa* es clínicamente indistinguible de la que producen otras bacterias gramnegativas. Sin embargo, la tasa de mortalidad de los pacientes afectados es mayor en la bacteriemia por *P.aeruginosa* debido a lo siguiente:<sup>4</sup>

- La predilección de este microorganismo por los pacientes inmunodeprimidos
- La virulencia inherente de *P.aeruginosa*.

La bacteriemia afecta con una frecuencia mayor a pacientes con neutropenia, diabetes mellitus, quemaduras externas y neoplasias hematológicas.<sup>4</sup>

- ✓ Aunque únicamente se observan en una minoría de pacientes aquejados de bacteriemia, se puede producir unas lesiones cutáneas características (ectima gangrenosa).
- ✓ Las lesiones se manifiestan con vesículas eritematosas que se tornan hemorrágicas, necróticas y ulceradas.
- ✓ El examen microscópico de estas lesiones revela la presencia de numerosos microorganismos y de estas lesiones revela la presencia de numerosos microorganismos y de destrucción vascular (lo que explica la naturaleza hemorrágica de las lesiones).
- ✓ Así como ausencias de neutrófilos, como se esperaría en los pacientes neutropénicos.<sup>4</sup>
- ✓ La endocarditis por *Pseudomonas* se registra principalmente en adictos a drogas por vía parenteral. Estos pacientes adquieren la infección a través de los instrumentos empleados para preparar la droga, los cuales están contaminados con microorganismos que se transmiten a través del agua.<sup>4</sup>
- ✓ La válvula tricúspide se ve a menudo afectada, y la infección se asocia a una evolución crónica, si bien su pronóstico es más favorable que en los pacientes que tienen infección de las válvulas aórtica o mitral.<sup>4</sup>

## Otras infecciones

*P.aeruginosa* produce también otras infecciones, como son aquellas que se localizan en el aparato digestivo, en el sistema nervioso central y en el sistema musculoesquelético. Las condiciones de base necesarias para la mayoría de estas infecciones son<sup>4</sup>:

1. La presencia del microorganismo en el reservorio húmedo.<sup>4</sup>
2. La elusión o eliminación de las defensas del organismo anfitrión. (p. ej., traumatismo cutáneo, eliminación de la flora microbiana normal como consecuencia de la administración de antibióticos, neutropenia).<sup>4</sup>

## ***Pseudomonas fluorencens* y *Pseudomonas putida*.**

- ✓ Se encuentran en el agua y suelos y pueden existir en los suministros de agua hospitalarios. Ambas pueden encontrarse como parte de la flora normal de la faringe y son patógenos oportunistas raros para el hombre.<sup>6</sup>
- ✓ Se ha comunicado que *P. putida* produce sepsis relacionada con catéteres en pacientes cancerosos y artritis séptica. Ambas especies han sido relacionadas con bacteremia producida por transfusiones de sangre.<sup>6</sup>

**Tabla 4.3 Características claves del grupo fluorescente.<sup>6</sup>**

Prueba	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. putida</i>
Piocianina	+	-	-
Pioverdina	+	+	-
Reducción de NO <sub>3</sub>	V (74)	V (19)	-
Desarrollo a 42°C	+	-	-
Hidrólisis de la gelatina	V (46)	+	-
Kanamicina	R	S	S
Carbenicilina	S	R	R

- +, 90% o más de las cepas son positivas
- -, 90% o más de las cepas son negativas
- V, 11-89% de las cepas positivas (los numeros entre parentesis indican el porcentaje de cepas que dan reacción positiva)
- R, resistente; S, sensible

## GRUPO NO FLUORESCENTE

### *Stutzeri*

Todos los microorganismos del grupo *Stutzeri* son desnitrificantes del suelo y pueden desarrollar en condiciones anaeróbicas en medios que contengan nitratos, con producción de nitrógeno gaseoso.<sup>6</sup>

Las cepas son móviles, por medio de flagelos polares monótricos. Pueden desarrollarse con nitrato como única fuente de nitrógeno y con acetato como única fuente de carbono para obtener energía.<sup>6</sup>

## *Pseudomonas stutzeri*

- Se encuentra ampliamente distribuido en el suelo y el agua.<sup>6</sup>
- Ha sido recuperado de humos, estiércol, paja, aguas estancadas, alimentos preparados para bebé, equipos hospitalario, cosméticos para los ojos, y diversos materiales clínicos.<sup>6</sup>



Figura 4.16 *Pseudomonas stutzeri* en medio agar sangre, colonias característica secas y arrugadas.<sup>6</sup>

- Se a asociado sólo en raras ocasiones con infecciones como otitis media, conjuntivitis, neumonía, artritis séptica, endocarditis, meningitis en pacientes HIV positivo, infecciones de ingertos vasculares sintéticos, e infecciones de heridas traumáticas.<sup>6</sup>
- Es sensible a la mayoría de los antibióticos.<sup>6</sup>
- Las colonias recién aisladas son adherentes y poseen un aspecto plegado típico que puede desaparecer después de repetidos subcultivos.<sup>6</sup>

***Pseudomonas mendocina***.<sup>6</sup>

- ✓ Raramente se aislan de muestra clínicas.<sup>6</sup>
- ✓ Las colonias son lisas y tienen el aspecto y la consistencia de la manteca.<sup>6</sup>
- ✓ Se ha publicado un caso de endocarditis infecciosa en un paciente después de un remplazo valvular aórtico y uno de septicemia en un paciente con mieloma múltiple.<sup>6</sup>
- ✓ Son arginina positivos.<sup>6</sup>

**Tabla 4.4 Características claves del grupo Stutzeri.**<sup>6</sup>

Prueba	<i>P. stutzeri</i>	<i>P. mendocina</i>
Oxidasa	+	+
OF con glucosa	A	A
OF con maltosa	A	-
OF con lactosa	-	-
OF con manitol	V (70)	
Reducción con NO <sub>3</sub>	+	+
NO <sub>3</sub> a gas	+	+
Arginina	-	+
Lisina	-	-
Hidrólisis de almidón	+	-
Polimixina B	S	S
Colonias arrugadas	+	-

## PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO

*P. aeruginosa* crece con rapidez en medios de cultivo. La combinación de las colonias características con producción de pirocianina y positivas para oxidasa y la capacidad de crecer a 42°C es suficiente para diferenciar *P. aeruginosa* de otras especies de *Pseudomonas*. Las pruebas bioquímicas pueden identificar otras especies, pero por lo común no se utilizan a menos que existan fuerte evidencia clínica de infección.<sup>15</sup>

- Muestras

- Se deben obtener muestras de lesiones de la piel, pus, orina, sangre, líquido cefalorraquídeo, esputo y otras secreciones, según lo determine el tipo de infección.<sup>10</sup>

- Microscopia

- La observación de bacilos gramnegativos delgados dispuestos sueltos o formados en parejas.<sup>4</sup>
- *Burkholderia*, *Stenotrophomonas* y otros microorganismos parecidos a *Pseudomonas* comparten una morfología similar.<sup>4</sup>
- Sin embargo, la observación de estas bacterias en un contexto clínico adecuado permite orientar el tratamiento empírico.<sup>4</sup>

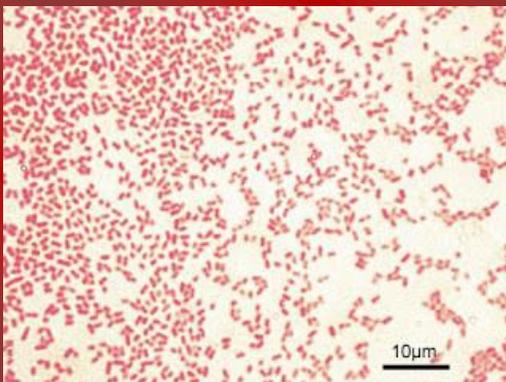


Figura 4.17 *Pseudomonas aeruginosa* tinción de Gram.

## • Cultivo

- Las especies de *Pseudomonas*, *Brevundimonas*, *Burkholderia*, crecen bien en medio de cultivos comunes como agar sangre de carnero al 5% y agar chocolate.<sup>11</sup>
- Salvo *Brevundimonas versicularis*, todos crecen en agar MacConkey.<sup>11</sup>
- Estos generos también crecen bien en los caldos de los sistemas de hemocultivo y en los caldos nutritivos comunes, como el tioglicolato y la infusión de cerebro corazón.<sup>11</sup>
- Necesitan una incubación aerobia (a no ser que se disponga de nitrato), por lo que su crecimiento en el caldo se restringe generalmente a la interfase caldo-aire, en el que la concentración oxigénica es máxima.<sup>4</sup>
- *P. aeruginosa* crece rápidamente y forma colonias planas con bordes que se van extendiendo.<sup>4</sup>
- Olor dulce característico semejante al de las uvas.<sup>4</sup>
- La mayor parte de las cepas producen un pigmento azul verdoso (piocianina) solo en *P. aeruginosa*, fluoresceína amarilla y un pigmento amarillo-verdoso (pioverdina).<sup>17</sup>
- Oxidasa positivo y oxidativo en la prueba de Hugh y Liefson.



Figura 4.18 *Burkholderia cepacia* en agar chocolate. Nótese el pigmento verde.<sup>11</sup>

- Los medios de cultivo selectivos específicos, como el agar *Pseudomonas cepacia* (PC) o el agar base para oxidación y fermentación con polimixina B, bacitracina y lactosa (OFPBL), pueden usarse para aislar *Burkholderia cepacia* de secreciones respiratorias de pacientes con fibrosis quística.<sup>11</sup>
- El medio Ashdown se usa para aislar *Burkholderia pseudomallei* cuando se sospechan infecciones por esta especie.
- Necesitan incubación aerobia (salvo que se disponga de nitrato), de forma que su crecimiento en medio de cultivo se suele limitar a la superficie de contacto entre el cultivo y el aire, lugar en el cual la concentración de oxígeno es máxima.<sup>4</sup>



Figura 4.19 Variación en la morfología de la colonia de *Pseudomonas aeruginosa* colonias de color gris verdoso de 6 a 8 mm de diámetro en una placa de agar sangre de 10 cm; la sangre en el agar alrededor de las colonias muestra hemólisis.<sup>10</sup>

- **Identificación**

- La morfología de las colonias (p. ej., tamaño de la colonia, actividad hemolítica, pigmentación, olor).<sup>4</sup>
- Y los resultados de una selección de pruebas bioquímicas rápida (p. ej., reacción positiva a la oxidasa) bastan para la identificación preliminar de las cepas.<sup>4</sup>
- *P. aeruginosa* crece rápidamente y forma colonias planas con bordes que se van extendiendo.
- Beta hemólisis.<sup>4</sup>
- Pigmentación verde relacionada con la producción de los pigmentos azul (piocianina) y amarillo-verdoso (pioverdina).<sup>4</sup>
- Olor dulce característico semejante al de las uvas o a la tortilla de maíz.<sup>10</sup>

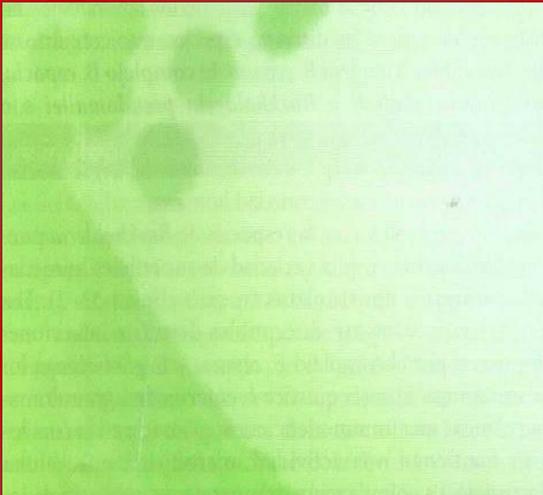


Figura 4.20 Morfología de las colonias de *Pseudomonas aeruginosa*; obsérvese la pigmentación verdosa asociada a la producción de dos colorantes hidrosolubles: piocianina azul y fluoresceína amarilla.<sup>4</sup>



Figura 4.21 Variación en la morfología de la colonia de *Pseudomonas aeruginosa* colonias secas de tono plateado no se observa hemólisis.<sup>10</sup>

Figura 4.22 *Pseudomonas aeruginosa* en una placa de Mueller-Hilton de 10 cm. Las colonias individuales tienen un diámetro de 3 a 4 mm. El microorganismo produce pirocianina, que es azul, y Piovordina, que es verde.<sup>10</sup>



Figura 4.23 *Pseudomonas aeruginosa* en agar de MacConkey. Esta cepa produce pigmento rojo.<sup>11</sup>



Figura 4.24 Cepa mucoide de *Pseudomonas aeruginosa* en agar de MacConkey.<sup>11</sup>

Figura 4.25 *Pseudomonas aeruginosa* en agar tripticasa soja (B). Nótese el color azul verdoso. Se muestra un tubo sin sembrar (A) con fines comparativos.<sup>11</sup>



## TRATAMIENTO, PREVENCIÓN Y CONTROL

El tratamiento antimicrobiano de las infecciones por *Pseudomonas* es frustrante, debido a:

1. Las bacterias suelen presentar resistencia a la mayoría de los antibióticos.
2. El paciente infectado, con las defensas alteradas, es incapaz de potenciar la actividad antibiótica.

Incluso los microorganismos sensibles se pueden volver resistentes durante el tratamiento al inducir la formación de enzimas que inactivan los antibióticos (p.ej., beta-lactamasas) o las mutaciones de genes que codifican las porinas de la membrana externa (de forma que los antibióticos no pueden penetrar en la célula), o bien a través de transferencia de la resistencia mediada por plásmidos de una bacteria resistente a otro sensible.<sup>4</sup>

Las cepas de las *P. aeruginosa* por lo común son resistentes a penicilina, ampicilina, cefalotina, tetraciclina, cloranfenicol, sulfonamidas y a los primeros aminoglucósidos (estreptomicina, kanamicina).<sup>15</sup>

Se necesitan generalmente una combinación de antibióticos activos para el éxito del tratamiento de los pacientes con infecciones graves.<sup>4</sup>

Se han dirigido grandes esfuerzos al desarrollo de antimicrobianos con actividad contra la *Pseudomonas*. Los aminoglucósidos más nuevos (gentamicina, tobramicina, amikacina) muestran actividad contra la mayor parte de las cepas pese a la presencia de resistencia mediada por plásmidos y por mutaciones.<sup>15</sup>

La carbenicilina y ticarcilina presentan actividad y puede administrarse en dosis elevadas, pero las mutaciones de permeabilidad ocurren más a menudo que con los aminoglucósidos. La característica más notable de algunas de las cefalosporinas de tercera generación (ceftazida, cefepima, cefoperazona), carbapenémicos (imipenem, meropenem) y monobactámicos (aztreonam) radica en su actividad contra *Pseudomonas*.<sup>15</sup>

## PREVENCIÓN

Se han desarrollado vacunas que incorporan antígenos somáticos para diversos serotipos de *P. aeruginosa* y has demostrado ser inmunógenas en humanos. Las personas elegibles en forma primaria para tales preparaciones son pacientes con lesiones por quemaduras, fibrosis quística o inmunodepresión. Si bien se ha demostrado cierta protección, estas preparaciones aún son experimentales.<sup>15</sup>

Los intentos para eliminar las *Pseudomonas* de los hospitales son inútiles en la práctica, dada la presencia ubicua de los microorganismos en los depósitos de agua.<sup>4</sup>

Las prácticas eficaces para el control de la infección se deben centrar en prevenir la contaminación de los equipos estériles, como los de terapia respiratoria o las máquinas de diálisis, la contaminación cruzada de los pacientes por el personal sanitario.<sup>4</sup>

También se debe evitar el uso inadecuado de los antibióticos de amplio espectro, debido a que este uso puede suprimir la flora microbiana normal y permitir el crecimiento excesivo de *Pseudomonas*.<sup>4</sup>

## Guía de estudio

- ✓ ¿Por qué se les llama *Pseudomonas*?
- ✓ ¿Qué tipo de género son las *Pseudomonas* y que características tienen?
- ✓ ¿Cuál es la clasificación fenotípica de las *Pseudomonas*?
- ✓ ¿Cuál es el subgrupo más importante de las *Pseudomonas* y porque?
- ✓ ¿En qué tipo de personas se observan las infecciones por *P.aeruginosa*?
- ✓ ¿Qué órganos o tejidos infecta?
- ✓ ¿Cuál es su estructura antigénica de las *Pseudomonas*?
- ✓ ¿Cómo se agrupan de acuerdo a su patogenicidad?
- ✓ ¿Cuáles son los factores de virulencia de las *Pseudomonas*?
- ✓ ¿Qué enfermedades clínicas produce?
- ✓ ¿Cuáles son las características clave para las *Pseudomonas* con pigmento amarillo?

## REFERENCIAS

1. Romero CR, Microbiología y Parasitología Humana. 3ra. ed. México: Médica Panamericana; 2007.
2. Brooks, Geo F, Carro LL, Karen C, et.al Microbiología Médica. 19ª ed. México: El manual moderno; 2008
3. Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, et.al. Tratado de Microbiología. 4ta ed. Barcelona España: Salvat; 1996
4. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007
5. Zinsser, Joklik, Amos, et.al. Microbiología. 20a ed. México: Panamericana.
6. Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997.
7. Valdez S, Lopez G, Microbiología y Parasitología. México: Facultad de medicina UNAM; 2010
8. Michael M, John M, Jack Parker, Brock biología de los microorganismos. 10ª ed. Pearson Educación; 2003
9. Hans G, Schlegel, Microbiología General, 1ª ed. Omega; 1996
10. Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995.
11. Pumarola A, Rodriguez AT, Garcia JR, Piedrola GA. Microbiología y parasitología médica. 2ª ed. Elsevier España: Salvat; 1999.
12. Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
13. Bailey RW, Scott GE, Forbes AB, Sahm FD, Weissfeld SA. Diagnóstico microbiológico. 12ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
14. Levison, Microbiología y parasitología humana. 8va ed. México: El manual moderno:
15. Sherris, Kenneth J, George C. Microbiología Médica. 8va ed. México: Mc Gran Hill: 2005
16. Prescott L, Harley J, Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008
17. Roitt, Wakelin, Williams, Microbiología Médica. 2da ed. España: Mosby;

## REFERENCIAS FIGURAS

- FIGURA 4.1 Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007
- FIGURA 4.2 Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007
- FIGURA 4.3 TP Microbiología, Tinción de Gram, [En línea], 2007, 20/03/2008, Consultado ,formato html disponible en internet: <http://tpmicrobiologia.blogspot.mx/2008/03/tincin-de-gram.html>
- FIGURA 4.4 Orlando, Franklin, *Pseudomonas aeruginosa*, [En línea], 2008, 26/06/2009, Consultado 10/10/12, 1:44pm, Formato html disponible en internet: <http://hospitalbacaortizresidentes.blogspot.mx/2009/06/pseudomona-aeruginosa.html>
- FIGURA 4.5 Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007
- FIGURA 4.6 Correa, Vinicius, Genero *Pseudomonas*, [En línea], 2010, Consultado 10/10/12, 1:59 pm, formato html disponible en internet: [http://www.ebah.com.br/content/ABAAAA0\\_gAB/pseudomonas](http://www.ebah.com.br/content/ABAAAA0_gAB/pseudomonas)
- FIGURA 4.7 Media Vida, Bacterias multirresistentes, [En línea], 1999, 2013, Consultado 10/10/12, 5:06 pm, Formato html disponible en internet: <http://www.mediavida.com/foro/off-topic/bacterias-multirresistentes-418811>
- FIGURA 4.8 Ordenadores y ratones no promueven la transmisión de superbacterias hospitalarias, [en línea], 2009, 01/10/2009, Madrid, Consultado 10/10/12, 5:17pm, Formato html disponible en internet: <http://noticias.hispavista.com/sociedad/sanidad/20091001120245/ordenadores-y-ratones-no-promueven-la-transmision-de-superbacterias-hospitalarias>
- FIGURA 4.9 Milagros, Oliva, La rebelión de las bacterias se cobra vidas, [En línea], 2008, 26/11/2008, Consultado 10/10/12, 5:47pm, Formato html disponible en internet: [http://elpais.com/diario/2008/11/26/sociedad/1227654001\\_850215.html](http://elpais.com/diario/2008/11/26/sociedad/1227654001_850215.html)
- FIGURA 4.10 Afione Cristina, Della Alejandra y Frank Laura, Manifestaciones pulmonares en pacientes con sida, [en línea], Argentina, Revista argentina de Radiología, 2008, Rev. Argent. Radiol. Vol. 72 no. 1, Consultado (10/10/12. 6:08 pm), Formato html disponible en internet: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1852-99922008000100015](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1852-99922008000100015), ISSN 1852-9992.

- FIGURA 4.11 Vázquez, Alicia, Infección por Pseudomona Aeruginosa en un paciente fibroquístico. Presentación de un caso, [en línea], Cuba, Revista ciencias, 2005, 13/04/2005, Consultado 10/10/12, 6:27pm, Formato html disponible en internet :<http://www.revistaciencias.com/publicaciones/EEEFuEppuEFhOyLppc.php><http://www.revistaciencias.com/publicaciones/EEEFuEppuEFhOyLppc.php>
- FIGURA 4.12 Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007
- FIGURA 4.13 Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007
- FIGURA 4.14 Maraví A, Enrique, Oído Externo, [en línea], Consultado 11/10/12, 7:42 pm, Formato html disponible en internet: [http://otorrinopamplona.com/?page\\_id=305](http://otorrinopamplona.com/?page_id=305)
- FIGURA 4.15 Niegra, Ovis, La salud visual en México ¿En manos de quien está?, [en línea], México, Apuntes de oftalmología, 13/02/2011, 2013, Consultado 11/10/12, 7:55pm, Formato html disponible en internet: <http://oftalmologiamex.blogspot.mx/2011/02/la-salud-visual-en-mexico-en-manos-de.html>
- FIGURA 4.16 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997.
- FIGURA 4.17 TP Microbiología, Tinción de Gram, [En línea], 2007, 20/03/2008, Consultado ,formato html disponible en internet: <http://tpmicrobiologia.blogspot.mx/2008/03/tincin-de-gram.html>
- FIGURA 4.18 Pumarola A, Rodriguez AT, Garcia JR, Piedrola GA. Microbiología y parasitología médica. 2ª ed. Elsevier España: Salvat; 1999.
- FIGURA 4.19 Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995.
- FIGURA 4.20 Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007

- FIGURA 4.21 Jawets, Melnick, Adelberg. 20<sup>a</sup> ed. México: El manual moderno: 1995.
- FIGURA 4.22 Jawets, Melnick, Adelberg. 20<sup>a</sup> ed. México: El manual moderno: 1995.
- FIGURA 4.23 Pumarola A, Rodriguez AT, Garcia JR, Piedrola GA. Microbiología y parasitología médica. 2<sup>a</sup> ed. Elsevier España:
- FIGURA 4.24 Pumarola A, Rodriguez AT, Garcia JR, Piedrola GA. Microbiología y parasitología médica. 2<sup>a</sup> ed. Elsevier España:
- FIGURA 4.25 Pumarola A, Rodriguez AT, Garcia JR, Piedrola GA. Microbiología y parasitología médica. 2<sup>a</sup> ed. Elsevier España:

## REFERENCIAS TABLAS

- Tabla 4.1 Brooks, Geo F, Carro LL, Karen C, et.al Microbiología Medica. 19<sup>a</sup> ed. México: El manual moderno;2008
- Tabla 4.2 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3<sup>a</sup> ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997.
- Tabla 4.3 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3<sup>a</sup> ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997.
- Tabla 4.4 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3<sup>a</sup> ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997.



# Capitulo 5

# Identificación de las bacterias no fermentadoras



# Pruebas diagnosticas de laboratorio



## PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO

- **Muestras**

- Se deben obtener muestras de lesiones de la piel, pus, orina, sangre, líquido cefalorraquídeo, esputo y otras secreciones, según lo determine el tipo de infección.<sup>10</sup>

- **Microscopía**

- La observación de bacilos gramnegativos delgados dispuestos sueltos o formados en parejas.<sup>4</sup>
- *Burkholderia*, *Stenotrophomonas* y otros microorganismos parecidos a *Pseudomonas* comparten una morfología similar.<sup>4</sup>
- Sin embargo, la observación de estas bacterias en un contexto clínico adecuado permite orientar el tratamiento empírico.<sup>4</sup>

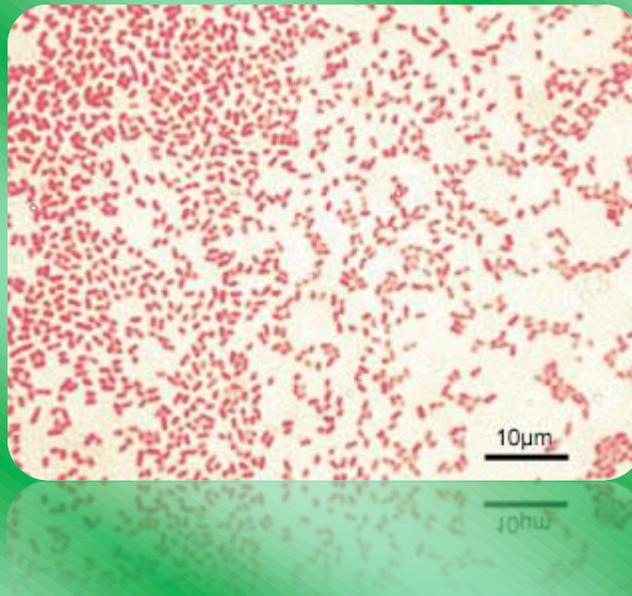


Figura 5.1 *Pseudomonas aeruginosa* tinción de Gram.

- **Cultivo**

- Las especies de *Pseudomonas*, *Brevundimonas*, *Burkholderia*, crecen bien en medio de cultivos comunes como agar sangre de carnero al 5% y agar chocolate.<sup>11</sup>
- Salvo *Brevundimonas versicularis*, todos crecen en agar MacConke.<sup>11</sup>
- Estos géneros también crecen bien en los caldos de los sistemas de hemocultivos y en los caldos nutritivos comunes, como el tioglicolato y la infusión de cerebro corazón.<sup>11</sup>

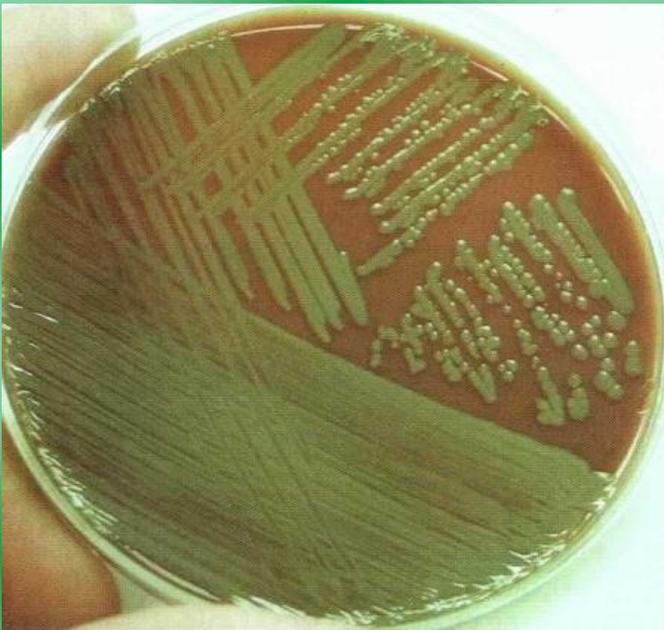


Figura 5.2 *Burkholderia cepacia* en agar chocolate.  
Nótese el pigmento verde.<sup>11</sup>

- Los medios de cultivo selectivos específicos, como el agar *Pseudomonas cepacia* (PC) o el agar base para oxidación y fermentación con polimixina B, bacitracina y lactosa (OFPBL), pueden usarse para aislar *Burkholderia cepacia* de secreciones respiratorias de pacientes con fibrosis quística.<sup>11</sup>
- El medio Ashdown se usa para aislar *Burkholderia pseudomallei* cuando se sospechan infecciones por esta especie.
- Necesitan incubación aerobia (salvo que se disponga de nitrato), de forma que su crecimiento en medio de cultivo se suele limitar a la superficie de contacto entre el cultivo y el aire, lugar en el cual la concentración de oxígeno es máxima.<sup>4</sup>

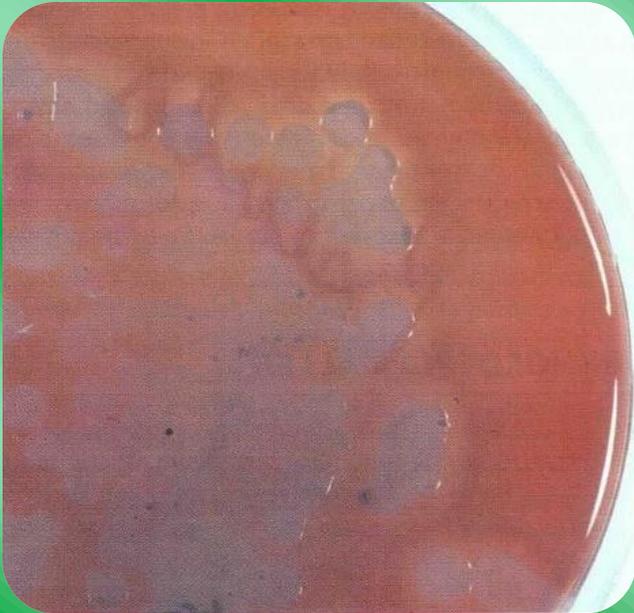


Figura 5.3 Variación en la morfología de la colonia de *Pseudomonas aeruginosa* colonias de color gris verdoso de 6 a 8 mm de diámetro en una placa de agar sangre de 10 cm; la sangre en el agar alrededor de las colonias muestra hemólisis.<sup>10</sup>

- **Identificación**

- La morfología de la colonias (p. ej., tamaño de la colonia, actividad hemolítica, pigmentación, olor).<sup>4</sup>
- Y los resultados de una selección de pruebas bioquímicas rápida (p. ej., reacción positiva a la oxidasa) bastan para la identificación preliminar de las cepas.<sup>4</sup>
- *P. aeruginosa* crece rápidamente y forma colonias planas con bordes que se van extendiendo.
- Beta hemólisis.<sup>4</sup>
- Pigmentación verde relacionada con la producción de los pigmentos azul (piocianina) y amarillo-verdoso (pioverdina).<sup>4</sup>
- Olor dulce característico semejante al de las uvas o a la tortilla de maíz.<sup>10</sup>



Figura 5.4 Morfología de las colonias de *Pseudomonas aeruginosa*; obsérvese la pigmentación verdosa asociada a la producción de dos colorantes hidrosolubles: piocianina azul y fluoresceína amarilla.<sup>4</sup>

Figura 5.5 Variación en la morfología de la colonia de *Pseudomonas aeruginosa* colonias secas de tono plateado no se observa hemólisis.<sup>10</sup>

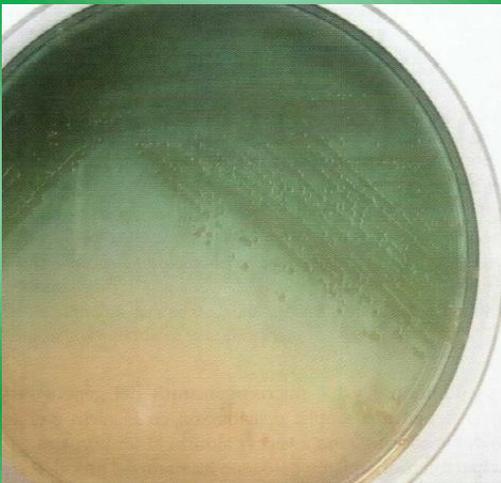


Figura 5.6 *Pseudomonas aeruginosa* en una placa de Mueller-Hilton de 10 cm. Las colonias individuales tienen un diámetro de 3 a 4 mm. El microorganismo produce piocianina, que es azul, y Pioverdina, que es verde.<sup>10</sup>

Figura 5.7 *Pseudomonas aeruginosa* en agar de MacConkey. Esta cepa produce pigmento rojo.<sup>11</sup>





Figura 5.8 Cepa mucoide de *Pseudomonas aeruginosa* en agar de MacConkey.<sup>11</sup>

Figura 5.9 *Pseudomonas aeruginosa* en agar tripticasa soja (B). Nótese el color azul verdoso. Se muestra un tubo sin sembrar (A) con fines comparativos.<sup>11</sup>



## Identificación de las especies más frecuentes.

La mayoría de las especies pueden identificarse con facilidad sólo sobre la base de algunas observaciones y pruebas químicas. No sólo la identificación rápida de estos microorganismos comunes proporciona al médico información inmediata, sino que también evita al laboratorio la realización de pruebas secundarias prolongadas y costosas.<sup>12</sup>

### *Pseudomonas aeruginosa*

Más del 95% de las cepas de *P.aeruginosa* aisladas de muestras clínicas pueden identificarse observando la presencia de las siguientes características primarias<sup>12</sup>:

- ✓ Colonias grandes olor similar a las uvas
- ✓ Se produce piocianina
- ✓ Las colonias son oxidasa positivas (dentro de los 10 segundos)



Figura 5.10 Colonias de *Pseudomonas aeruginosa* en agar sangre después de 24 horas de incubación.<sup>12</sup>

La mayoría de las cepas producen piocianina, un pigmento fenazínico verde hidrosoluble que imparte un color verdoso al medio de cultivo. De hecho la presencia de piocianina puede ser la única característica para identificar a *P.aeruginosa* porque ningún otro no fermentador sintetiza este pigmento.<sup>12</sup>

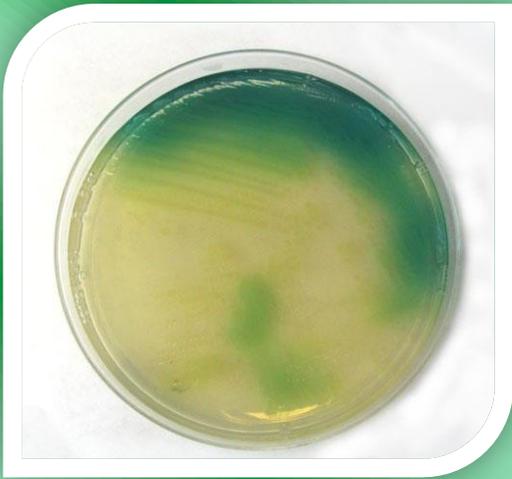


Figura 5.11 Color característico de la *Pseudomonas aeruginosa*.

Reyes y cols mostraron que el 98% de las cepas de *P.aeruginosa* aisladas en su laboratorio producían piocianina en agar Tech en 48 horas.



Figura 5.12 Agar Tech para *Pseudomonas aeruginosa*.

Estos autores señalan que algunas cepas mucoides de *P.aeruginosa* de pacientes con fibrosis quística es posible que no produzcan pigmento y, por lo tanto, pueden ser mal interpretadas si la producción de pigmento es el único criterio utilizado para la identificación de estas cepas.

- La determinación de un olor similar al de las uvas también es un indicio útil cuando se examina el crecimiento en placas de agar.<sup>12</sup>
- Las colonias son grandes, pueden ser mucoides o secas y a menudo se propagan<sup>12</sup>

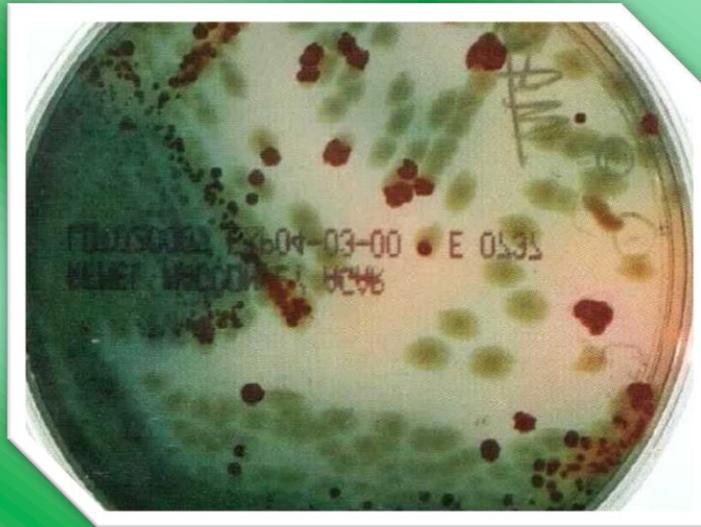


Figura 5.13 Placa de agar MacConkey que muestra el crecimiento de tipos de colonias. Las colonias violetas oscuras son lactosa positiva y tiene aspecto típico de *E. coli*. Las colonias lactosa negativas están produciendo un pigmento difusible azul turquesa que se observan mejor en el área de mayor crecimiento. Este es el aspecto típico de las colonias de *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>12</sup>

- Algunas cepas de *P.aeruginosa* pueden producir pigmentos con otros colores<sup>12</sup>:
  - Piorrubina (rojo)
  - Piomelanina (pardo o negro)
  - Pioverdina (amarillo)
  
- Se puede visualizar pigmento de fluorescencia observando el crecimiento en ciertos medios que utilizan una fuente de luz ultravioleta de longitud de onda larga.<sup>12</sup>
  
- Los medios que contienen proteasa peptona 3 (Difco laboratorios, Detroit MI) y cationes como magnesio o manganeso, aumentan la síntesis de fluoresceína.<sup>12</sup>
  
- El medio de King B, el medio de Sellers y el agar de Mueller-Hinton también son apropiados para demostrar fluoresceína.<sup>12</sup>



Figura 5.14 placa de agar MacConkey que demuestra el crecimiento de una variedad mucóide de *Pseudomonas aeruginosa* típica de las cepas aisladas del esputo de pacientes con fibrosis quística.<sup>12</sup>

Figura 5.15 HiFluro Base de agar *Pseudomonas* se utiliza como medio selectivo para el aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* de muestras diversas. Está formulado en base a la fórmula descrita por King.



- El tubo estrangulado para fermentar gramnegativos (Remel, Lenexa, KS) permite una observación visual del pigmento amarillo y es posible que no sea necesaria la luz ultravioleta.<sup>12</sup>
- Los medios combinados fluoresceína-lactosa-desnitrificación (NF o FNL) son menos sensibles para la determinación ultravioleta del pigmento fluoresceína.<sup>12</sup>
- La fluoresceína puede aumentar si se incuban los cultivos a 20 a 30 °C en lugar de hacerlos a 35 a 37°C.<sup>12</sup>

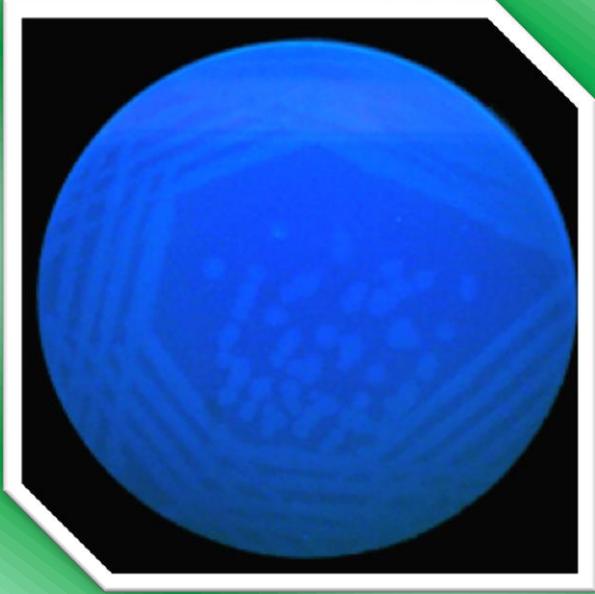


Figura 5.16 *Pseudomonas aeruginosa* en HiFluro Base de agar *Pseudomonas* bajo luz UV.

- Las siguientes características adicionales son útiles para identificar cepas de *P.aeruginosa* que no producen pigmento<sup>12</sup>:
  - Crecimiento a 42°C
  - Alcalinización de acetamida
  - Desnitrificación de nitratos y nitritos
  - Móviles con flagelo polar y monotrico.
  
- Aunque no es necesaria una tinción para flagelos para identificar a la mayoría de las cepas, en estos casos puede ser útil evaluar la morfología flagelar.<sup>12</sup>

- La mayoría de las cepas de *P.aeruginosa* pueden identificarse con facilidad observando las colonias grandes típicas, con un cambio de color verde azulado en los medios de aislamiento primario y confirmarse, además, detectando un olor típico similar a uvas.<sup>12</sup>
- La demostración de pigmento de fluoresceína y actividad de citocromo oxidasa ayudan a la identificación final y no suelen ser necesarias otras pruebas.<sup>12</sup>

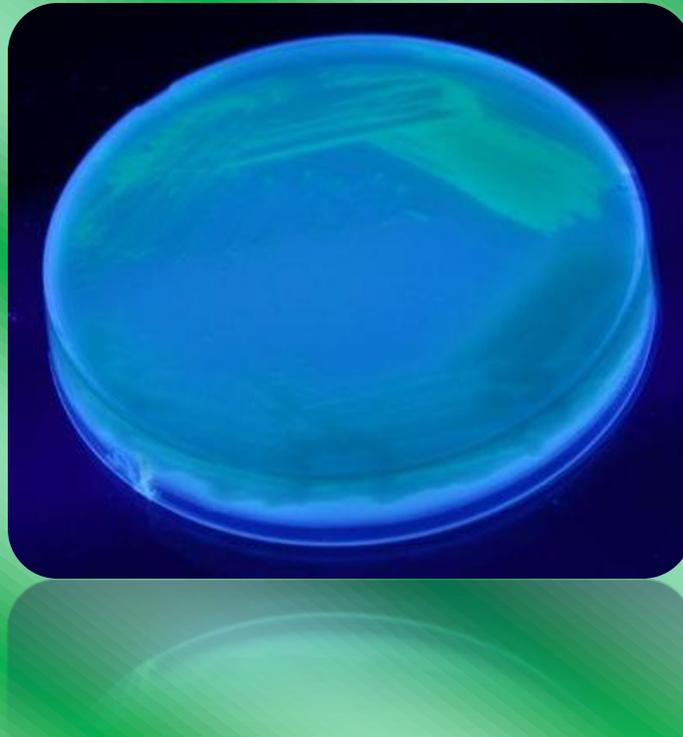


Figura 5.17 *Pseudomonas aeruginosa* visualización de fluorescencia bajo luz UV.

## Métodos de identificación que utilizan pruebas convencionales.

Si un bacilo no fermentador desconocido no es *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* o *Stenotrophomonas maltophilia*, deben determinarse otras características para la identificación de una especie.

En la actualidad se utilizan varios esquemas en los laboratorios clínicos. En muchos de ellos se utilizan híbridos de los procedimientos de prueba usados en los esquemas publicados.

### Tabla 5.1 Consideraciones para seleccionar una prueba convencional.<sup>12</sup>

1.- Los resultados de reacciones positivas y negativas delineados en el cuadro de identificación deben basarse sobre los procedimientos del laboratorio. Es decir, los medios y los procedimientos deben ser los mismos que los utilizados para generar los resultados en un cuadro de las reacciones utilizadas para la identificación.

2.- Todas las reacciones mencionadas en el cuadro de identificación deben estar en un nivel de confianza del 90% o mayor y deben derivar de una base de datos con una cantidad suficientemente grande de microorganismos para ser estadísticamente significativos.

3.- Todas las pruebas deben realizarse bajo vigilancia estándar de control de calidad para asegurar que los reactivos, las reacciones y los parámetros estén lo más próximo posible a aquellos sobre los que se basó originalmente el cuadro.

## Enfoque practico para la identificación de los no fermentadores

### ✓ Instrucciones para el uso de las tablas 5.2 a 5.15

- Este enfoque de la identificación de los no fermentadores está ideado para reducir la cantidad de pruebas bioquímicas necesarias para la identificación sobre la base de una evaluación preliminar de las reacciones de oxidasa y motilidad de los microorganismos por identificar.<sup>12</sup>
- Una vez conocida esta información, se realiza una serie de específica de pruebas para completar la identificación del microorganismo.<sup>12</sup>
- Para los microorganismos que son tanto oxidasa positivos como móviles, se utiliza un enfoque en dos pasos, basado sobre las reacciones obtenidas en una serie de pruebas primarias seguidas por pruebas complementarias que se especifican en los cuadros designados.<sup>12</sup>
- Según las necesidades y los recursos disponibles, el usuario de esta guía puede desear preparar todas las pruebas incluidas en las series primarias y secundarias siempre que se encuentre un no fermentador móvil y oxidasa positivo para obtener una identificación definitiva en el menor tiempo posible.<sup>12</sup>
- Como regla general cuando se trabaja con bacilos no fermentadores, se debe utilizar un inóculo importante y las reacciones deben mantenerse 48 horas antes de realizar la lectura final.

**Tabla 5.2 Enfoque practico de la identificación de los no fermentadores.<sup>12</sup>**

Oxidasa				
- Motilidad +		- Motilidad +		Preparación: primera prueba
		Cocobacilos	Bacilos	
Preparación	Preparación	Preparación	Preparación	
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Dextrosa OF</li> <li>✓ Caldo de nitrato</li> <li>✓ Urea (Christensen)</li> <li>✓ Crecimiento a 44°C</li> <li>✓ Hemolisis</li> <li>✓ Hidrólisis de gelatina</li> <li>✓ Arginina (MØller)</li> <li>✓ Malonato</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Lisina (MØller)</li> <li>✓ Maltosa</li> <li>✓ Esculina</li> <li>✓ Manitol OF</li> <li>✓ Polimixina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Dextrosa OF</li> <li>✓ DNasa</li> <li>✓ Urea (Christensen)</li> <li>✓ Fenilalanina desaminasa</li> <li>✓ Caldo de nitrato</li> <li>✓ Caldo de nitrito</li> <li>✓ Gelatina</li> <li>✓ Agar de MacConkey</li> <li>✓ Penicilina*</li> <li>✓ Catalasa* ( Opcional*)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Indol (Ehrlich)</li> <li>✓ Urea (Christensen)</li> <li>✓ Caldo de nitrato</li> <li>✓ Esculina</li> <li>✓ Almidón</li> <li>✓ Gelatina</li> <li>✓ DNasa</li> <li>✓ Agar MacConkey</li> <li>✓ Manitol OF*</li> <li>✓ Penicilina *</li> <li>✓ Polimixina *</li> <li>✓ Dextrosa OF*</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Seudo F</li> <li>✓ Lactosa</li> <li>✓ Lisina (MØller)</li> <li>✓ Caldo de nitrato</li> <li>✓ Dextrosa OF</li> <li>✓ Pigmento en BAP</li> </ul>
	↓			↓
	Véase la tabla 9.4			Véase tabla 9.7
				Preparación: pruebas secundarias
↓				<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Fructuosa OF</li> <li>✓ Maltosa OF</li> <li>✓ Manitol OF</li> <li>✓ Xilosa OF</li> <li>✓ KIA (para H<sub>2</sub>S)</li> <li>✓ ONPG</li> <li>✓ Arginina (MØller)</li> <li>✓ ONPG</li> <li>✓ Urea (Christensen)</li> <li>✓ Fenilalanina desaminasa</li> <li>✓ Hidrolisis de esculina</li> <li>✓ Hidrolisis de almidón</li> <li>✓ Hidrolisis de gelatina</li> <li>✓ NaCl al 6.5%</li> <li>✓ DNasa</li> <li>✓ Indol (Ehrlich)</li> <li>✓ Polimixina</li> <li>✓ Malonato</li> <li>✓ Crecimiento a 42°C</li> <li>✓ Caldo de nitrito</li> </ul>
↓		↓	↓	
Véase la tabla 9.3		Véase tabla 9.5	Véase tabla 9.6	

**Tabla 5.3 No fermentadores oxidasa negativos e inmóviles.<sup>12</sup>**

Prueba	CDC OE-5	<i>Bordetella parapertussis</i>	CDC NO-1	<i>B. Holmesii</i> ( O-2)	<i>A. johnsonii</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>A. haemolyticus</i>
Geno- especie					7	2	4
Pigmento amarillo	+	-	-	-	-	-	-
Ureasa	+	+	-	-	-	-	-
Nitrato reducido	-	-	+	-	-	-	-
Pigmento soluble pardo	-	-	-	+	-	-	
Crecimiento a 37°C	+	+	+	+	-	+	+
Crecimiento a 44°C	-	ND	ND	-	-	+	-
Hemólisis sangre de carnero	ND	+	-	-	-	-	+
Hidrólisis de gelatina	-	ND	-	-	-	-	+
Dextrosa	+	-	-	-	-	+	V(52)
Arginina	-	ND	-	-	V(35)	+	+
Malonato	ND	ND	ND	ND	V(13)	+	-

**Tabla 5.3 No fermentadores oxidasa negativos e inmóviles.<sup>12</sup> (continuación).**

Prueba	Especies de Acinetobacter	Especies de Acinetobacter	<i>A. calcoaceticus</i>	Especies de Acinetobacter	Especies de Acinetobacter	<i>A. junii</i>	<i>A. lwoffii</i>	Especies de Acinetobacter
Geno-especie	6	10	1	3	12	5	8/9	11
Pigmento amarillo	-	-	-	-	-	-	-	-
Ureasa	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrato reducido	-	-	-	-	-	-	-	-
Pigmento soluble pardo	-	-	-	-	-	-	-	-
Crecimiento a 37°C	+	+	+	+	+	+	+	+
Crecimiento a 44°C	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemólisis sangre de carnero	+	-	-	-	-	-	-	-
Hidrólisis de gelatina	+	-	-	-	-	-	-	-
Dextrosa	V(66)	+	+	+	V(33)	-	-	-
Arginina	+	-	+	+	+	+	-	-
Malonato	-	-	+	V(87)	+	-	-	-

**Tabla 5.4 No fermentadores oxidasa negativos e inmóviles.<sup>12</sup>**

Microorganismo	Lisina descarboxilasa	Maltosa OF	Manitol OF	Esculina	Polimixina	Pigmento
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	+	+	-	+	S	Lavanda amarillento
Complejo <i>Burkholderia cepacia</i>	+	+	+	V(67)	R	Amarillo
<i>Burkholderia gladioli</i>	-	-	+	-	R	Amarillo
<i>Bordetella trematum</i>	-	-	-	-	ND	Blanco grisáceo
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	-	+	-	+	V(89)	Amarillo profundo
<i>Pseudomonas luteola</i>	-	+	+	+	S	Amarillo mate
<i>Pseudomonas oryzae</i>	-	+	+	-	S	Amarillo mate

**Tabla 5.5 Identificación de cocobacilos oxidasa positivos e inmóviles.<sup>12</sup>**

Prueba	<i>P. immobilis</i>	EO-2 de los CDC	EO-3 de los CDC	EO-4 de los CDC	<i>M. canis</i>	<i>M. catarrhalis</i>	<i>Psychrobacter Phenylpyruvicus</i>
<b>Olor o aspecto característico</b>	Olor de agar PEA (rosas)	Células con forma de O	Colonias amarillas (100)	Colonias amarilla (83)			
<b>Dextrosa OF</b>	+	+	+	+	-	-	-
<b>DNasa</b>	-	-	-	ND	+	+	-
<b>Ureasa</b>	+	+	+	+	-	-	+
<b>Fenilalanina desaminasa</b>	+	ND	ND	ND	-	V	+
<b>Hidrólisis de gelatina</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Nitrato reducido</b>	V(86)	+	-	-	+	+	V(89)
<b>Crecimiento en agar de MacConkey</b>	V	V(82)	+	+	+	-	+
<b>Nitrito reducido</b>	ND	ND	ND	ND	V	+	-
<b>Catalasa</b>	+	+	+	+	+	+	Débil
<b>Crecimiento a 35°C</b>	-	+	+	+	+	+	+

**Tabla 5.5 Identificación de cocobacilos oxidasa positivos e inmóviles.<sup>12</sup> (Continuación).**

Prueba	<i>O. urethralis</i>	<i>M. lacunata</i>	<i>M. nonliquefaciens</i>	<i>M. osloensis</i>	<i>M. atlantae</i>	<i>M. lincolnii</i>
<b>Olor o aspecto característico</b>	Células cocoides pequeñas				Colonias que se dispersan o se deprimen	Bacilos similares a cocos pletóricos
<b>Dextrosa OF</b>	-	-	-	-	-	-
<b>DNasa</b>	-	-	-	-	-	-
<b>Ureasa</b>	-	-	-	-	-	-
<b>Fenilalanina desaminasa</b>	+	-	-	-	-	ND
<b>Hidrólisis de gelatina</b>	-	+	-	-	-	-
<b>Nitrato reducido</b>	-	+	+	V(26)	-	-
<b>Crecimiento en agar de MacConkey</b>	V(83)	-	V(17)	V(49)	+	-
<b>Nitrito reducido</b>	+	-	-	-	V(20)	V
<b>Catalasa</b>	+	Débil	-+	Débil	Débil o -	+
<b>Crecimiento a 35°C</b>	+	+	+	+	+	+

**Tabla 5.6 Identificación de cocobacilos oxidasa positivos e inmóviles.<sup>12</sup>**

Prueba	<i>Sphingobacterium multivorum</i>	<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	<i>Myroides odoratus</i>	<i>N. weaveri</i>	<i>N. elongata</i> Subespecie <i>nitroreducens</i>
<b>Olor o aspecto característico</b>	Amarillo pálido	Amarillo pálido	Amarillo brillante	Olor frutal verde amarillento	Colonias blancas grisácea, catalasa fuertemente +	Catalasa -
<b>Indol</b>	-	-	-	-	-	-
<b>Ureasa</b>	+	+	-	+	-	-
<b>Reducción de nitrato</b>	-	-	-	-	-	+
<b>Hidrolisis de esculina</b>	+	+	+	-	-	-
<b>Hidrólisis de gelatina</b>	-	-	-	+	-	-
<b>Hidrolisis de almidón</b>	V(79)	-	V(51)	-	-	ND
<b>Hidrolisis de DNASE</b>	-	+	-	+	-	-
<b>Crecimiento en agar de MacConkey</b>	V(17)	-	V(10)	V(78)	V(42)	V(20)
<b>Manitol OF</b>	-	+	-	-	-	-
<b>Dextrosa OF</b>	+	+	+	-	-	-
<b>Penicilina</b>	R	R	S(33)	S(19)	S	S
<b>Polimixina</b>	R	R	S(89)	R	S	S

**Tabla 5.6 Identificación de cocobacilos oxidasa positivos e inmóviles.<sup>12</sup>  
(Continuación)**

Prueba	Grupo 1 de bacilos de Gilardi	<i>Bergeyella zoohelcum</i>	Grupo Ilc de los CDC	<i>Weeksella virosa</i>	<i>Empedobacter brevis</i>	Grupo Ile de los CDC
<b>Olor o aspecto característico</b>	PDA + intensa	Sin pigmento	Sin pigmento	Colonias pegadas al agar	Amarillo pálido	Sin pigmento
<b>Indol</b>	-	+	+	+	+	+
<b>Ureasa</b>	-	++	-	-	-	-
<b>Reducción de nitrato</b>	-	-	+	-	-	-
<b>Hidrolisis de esculina</b>	-	-	+	-	-	-
<b>Hidrólisis de gelatina</b>	-	+	V	+	+	-
<b>Hidrolisis de almidón</b>	ND	-	ND	-	V(40)	+
<b>Hidrolisis de DNASE</b>	-	-	ND	V(13)	+	-
<b>Crecimiento en agar de MacConkey</b>	+	-	-	-	+	-
<b>Manitol OF</b>	-	-	-	-	-	-
<b>Dextrosa OF</b>	-	-	+	-	Tardío	Tardío
<b>Penicilina</b>	S	S	ND	S	R	S
<b>Polimixina</b>	S	S	ND	S	R	S

**Tabla 5.6 Identificación de cocobacilos oxidasa positivos e inmóviles.<sup>12</sup>  
(Continuación)**

Prueba	Grupo IIg de los CDC	Grupo IIh de los CDC	Grupo Ili de los CDC	Chryseobacterium meningosepticum	Chryseobacterium Indologenes
<b>Olor o aspecto característico</b>	Sin pigmento	Sin pigmento	ND	Amarillo pálido	Amarillo intenso
<b>Indol</b>	+	+	+	+	+
<b>Ureasa</b>	-	-	-	-	-
<b>Reducción de nitrato</b>	-	-	-	-	-
<b>Hidrolisis de esculina</b>	-	+	+	+	+
<b>Hidrolisis de gelatina</b>	-	-	-	+	+
<b>Hidrolisis de almidón</b>	ND	+	V(14)	-	+
<b>Hidrolisis de DNASE</b>	-	V(78)	-	+	-
<b>Crecimiento en agar de MacConkey</b>	+	-	-	V(26)	-
<b>Manitol OF</b>	-	-	-	Tardío	-
<b>Dextrosa OF</b>	-	Tardío	Tardío	Tardío	Tardío
<b>Penicilina</b>	ND	S(67)	S(57)	R	R
<b>Polimixina</b>	S	S(22)	R	R	R

**Tabla 5.7 Pruebas de cribado para la identificación de especies de no fermentadores oxidasa positivos y móviles.<sup>12</sup>**

						-	+	Fluorescencia(agar seudo F bajo luz UV)
						-	+	Lactosa al 10%
				-	+			Acetamida
			-	+				Lisina (Moller)
		-	+					Pigmento en agar sangre
	-	+						Gas a partir de nitrato o nitrato
-	+							Dextrosa OF
Véase cuadro 9.15	Véase cuadro 9.14	Véase cuadro 9.13	Véase cuadro 9.12	Véase cuadro 9.11	Véase cuadro 9.10	Véase cuadro 9.9	Véase cuadro 9.8	

**Tabla 5.8 Identificación de no fermentadores fluorescentes.<sup>12</sup>**

Microorganismo	Acetamida	Crecimiento a 42°C	Gelatina
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+
<i>P. fluorescens</i>	-	-	+
<i>P. putida</i>	-	-	-

**+**; 90 % o más de las cepas positivas; **-**; 90% o más de las cepas negativas.

**Tabla 5.9 identificación de no fermentadores lactosa positivos (oxidasa +, motilidad +, fluoresceína -).<sup>12</sup>**

Microorganismo	lisina	Manitol OF	Ureasa	ONPG	Polimixina B
<b>Complejo</b> <i>Burkholderia cepacia</i>	+	+	V(45)	V(79)	R
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	-	+	V(43)	-	R
<i>Rhizobium radiobacter</i>	-	+	+	+	S
<i>Ralstonia mannitolilytica</i> (Va-3)	-	+	+	-	R
<i>Ralstonia pickettii</i> (Va-1)	-	-	-	-	R
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	-	-		+	S (89)

**Tabla 5.10 Identificación de no fermentadores acetamida positivo (oxidasa+, fluoresceína -, lactosa al 10%).<sup>12</sup>**

Microorganismo	Arginina	Dextrosa OF	Fructuosa OF	Manitol OF	Nitrato reducido	Nitrato a gas	Malonato	Nitrito a gas	Indol naranja
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	V(89)	V(68)	V(74)	ND	ND	V(60)	-
Complejo <i>B. cepacia</i>	-	+	+	+	V(37)	ND	ND	-	-
<i>A. xylosoxidans</i>	-	+	V(9)	+	+	ND	ND	V(69)	-
<i>Delftia Acidovorans</i>	-	-	+	+(92)	+	ND	ND	-	+
<i>A. denitrificans</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	-
<i>A. piechaudii</i>	-	-	-	-	+	-	+	-	-
<i>O. ureolytica</i>	-	-	-	-	+	V(63)	-	V(58)	-
<i>A. faecalis</i>	-	-	-	-	-	+	+	-	-
<i>B. hinzii</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>B. avium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Tabla 5.11 Identificación de no fermentadores lisina positivos.<sup>12</sup>**

Microorganismo	Polimixina B	DNASA	MANITOL
Complejo <i>Burkholderia cepacia</i>	R	-	+
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	S	+	-

**Tabla 5.12 Identificación de no fermentadores acetamida positivo (oxidasa+, fluoresceína -, lactosa al 10%).<sup>12</sup>**

Microorganismo	Color	KIA/ H <sub>2</sub> S	Fructuosa OF	Gas a partir de nitrato	Indol	Manitol OF	Hidrólisis de esculina	Crecimiento en NaCl al 6.5%
Especies de <i>roseomonas</i>	Rosado	-	+	-	-	V	-	-
Especies de <i>Methylobacterium</i>	Rosado	-	V(50)	-	-	-	-	-
<i>Shewanella alga</i>	Ocre	+	-	ND	-	-	-	+
<i>Shewanella Putrefaciens</i>	Ocre	+	V	-	-	-	-	-
<i>Massilia timonae</i>	Amarillo pálido	-	-	-	-	-	+	-
<i>Brevundimonas versicularis</i>	Ocre / anaranjado	-	-	-	-	-	+	-
<i>P. stutzeri</i>	Amarillo	-	+	+	-	V(70)	-	+
<i>Balneatrix alpica</i>	Amarillo pálido	-	+	-	+	+	-	ND
<i>B. cepacia</i>	Amarillo	-	+	-	-	+	V(67)	-
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Amarillo	-	+	-	-	-	+	-

**Tabla 5.13 Identificación de no fermentadores desnitrificadores (oxidasa +, motilidad+, fluoresceína -, lactosa al 10% -, acetamida -, lisina -, pigmento -).<sup>12</sup>**

Microorganismo	Dextrosa OF	Polimixina B	ON PG	NaCl al 6.5%	Fenilalanina desaminasa	Arginina	Hidrólisis de almidón	Maltosa OF	Ureasa
<i>Oligella ureolytica</i>	-	S	-	-	+	-	-	-	++
Especies de <i>Pseudomonas</i> CDC grupo 1	-	S	-	-	-	V(50)	-	-	-
<i>A. denitrificans</i>	-	S(83)	-	-	-	-	-	-	V(31)
<i>R. pickettii</i> (Va-1)	+	R	-	-	-	-	V(48)	+	+
<i>R. pickettii</i> (Va-2)	+	R	-	-	V(40)	-	V(12)	-	+
<i>Rhizobium radiobacter</i>	+	S	+	-	+	-	V(16)	+	+
<i>P. stutzeri</i>	+	S	-	+	V(55)	-	+	+	V(17)
<i>P. mendocina</i> (Vb-2)	+	S	-	+	V(50)	+	-	-	V(50)
CDC Vb-3	+	S	-	+	V(56)	+	V(75)	V(88)	V(31)
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	+	S	-	-	+	V(36)	-	V(50)	+
<i>P. aeruginosa</i>	+	S	-	-	-	+	-	V(12)	V(66)
<i>A. xylosoxidans</i>	+	S	-	-	-	-	-	-	-

**Tabla 5.14 Identificación de no fermentadores dextrosa positivos (oxidasa +, motilidad+, fluoresceína -, lactosa al 10% -, acetamida -, lisina -, pigmento -, desnitrificación -).**

Prueba	<i>Methylobacterium</i>	<i>Shewanella putrefaciens</i>	<i>Balneatrix alpica</i>	<i>A. xylooxidans</i>	<i>Brevundimonas diminuta</i>
Pigmento de las colonias	Rosado	-	Amarillo pálido	-	-
KIA / H <sub>2</sub> S	-	+	-	-	-
Indol	-	-	+	-	-
Fructuosa OF	V	V	+	-	-
ONPG	-	-	-	-	-
Xilosa OF	V	-	ND	+	-
DNASA	-	+	-	-	V(12)
Crecimiento en NaCl al 6.5%	-	-	-	-	-
Fenilalanina Desaminasa	-	-	ND	-	V(16)
Arginina	-	-	+	-	-
Crecimiento a 42°C	-	V	+	V(86)	V(19)
Hidrólisis de gelatina	-	V	+ Débil	-	V(58)
Hidrólisis de esculina	-	-	-	-	-

**Tabla 5.14 Identificación de no fermentadores dextrosa positivos (oxidasa +, motilidad+, fluoresceína -, lactosa al 10% -, acetamida -, lisina -, pigmento -, desnitrificación -).<sup>12</sup> (Continuación)**

Prueba	<i>Rhizobium radiobacter</i>	Grupo similar a <i>Pseudomonas 2</i>	<i>P. pseudoalcaligenes</i>	<i>Acidovorax delafieldii</i>	CDC Vb-3
Pigmento de las colonias	-	-	-	-	-
KIA / H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-
Indol	-	-	-	-	-
Fructuosa OF	+	+	+	+	+
ONPG	+	+	-	-	-
Xilosa OF	+	+	-	+	+
DNASA	-	-	-	+	-
Crecimiento en NaCl al 6.5%	-	-	-	-	+
Fenilalanina Desaminasa	+	+	V(21)	-	V(56)
Arginina	-	-	V(36)	+	+
Crecimiento a 42°C	V(13)	-	V(75)	-	V(75)
Hidrólisis de gelatina	-	-	-	+	-
Hidrólisis de esculina	+	-	-	-	-

**Tabla 5.14 Identificación de no fermentadores dextrosa positivos (oxidasa +, motilidad+, fluoresceína -, lactosa al 10% -, acetamida -, lisina -, pigmento -, desnitrificación -).<sup>12</sup> (Continuación)**

Prueba	<i>O. anthropi</i>	R. pickettii (VA-1)	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. fluorescens</i>	P. putida
Pigmento de las colonias	-	-	-	-	-
KIA / H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-
Indol	-	-	-	-	-
Fructuosa OF	+	+	+	+	+
ONPG	-	-	-	-	-
Xilosa OF	+	+	V(85)	+	+
DNASA	-	-	-	-	-
Crecimiento en NaCl al 6.5%	-	-	-	-	-
Fenilalanina Desaminasa	+	-	-	-	-
Arginina	V(36)	-	+	+	+
Crecimiento a 42°C	V(10)	V(26)	+	-	-
Hidrólisis de gelatina	-	V(77)	V(46)	+	-
Hidrólisis de esculina	V (40)	-	-	-	-

**Tabla 5.15 Identificación de no fermentadores negativos dextrosa negativos (oxidasa +, motilidad+, fluoresceína -, lactosa al 10% -, acetamida -, lisina -, pigmento -, desnitrificación -, dextrosa -).**<sup>12</sup>

Prueba	<i>Methylobacterium</i>	<i>Roseomonas</i>	<i>Shewanella putrefaciens</i>	<i>P. pseudoalcaligenes</i>	<i>O. ureolytica</i>	<i>B. bronchiseptica</i>
Colonias con pigmento amarillo	+	+	-	-	-	-
KIA / H <sub>2</sub> S	-	-	+	-	-	-
Fructuosa OF	V	+	V	+	-	-
Ureasa	+	+	-	-	++	++
NO <sub>3</sub> a NO <sub>2</sub>	V	-	V	+	+	+
NO <sub>2</sub> a Gas	ND	ND	ND	ND	V(63)	-
Hidrolisis de almidón	+	+	-	-	-	-
Fenilalanina Desaminasa	-	V(17)	-	V(21)	+	V(25)
DNASA	-	-	+	-	-	-
Arginina	-	-	-	V(36)	-	-
Flagelos según su disposición	Monotricos polares	Variante	Polar, 1-2	Polar, 1-2	Peritricos	Peritricos

**Tabla 5.15 Identificación de no fermentadores negativos dextrosa negativos (oxidasa +, motilidad+, fluoresceína -, lactosa al 10% -, acetamida -, lisina -, pigmento -, desnitrificación -, dextrosa -).<sup>12</sup> (Continuación)**

Prueba	<i>Cupriavidus pauculos</i>	<i>Brevundimonas diminuta</i>	<i>B. hinzii</i>	<i>P. alcaligenes</i>	<i>C. testosteroni</i>	<i>A. piechaudii</i>
Colonias con pigmento amarillo	-	-	-	-	-	-
KIA / H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	-
Fructuosa OF	-	-	-	-	-	-
Ureasa	++	-	-	V(21)	-	-
NO <sub>3</sub> a NO <sub>2</sub>	-	-	-	V(61)	+	+
NO <sub>2</sub> a Gas	-	ND	-	V(10)	V(11)	-
Hidrolisis de almidón	V(16)	-	-	V(16)	-	-
Fenilalanina Desaminasa	-	V(16)	V(15)	V(20)	V(30)	-
DNASA	-	V(12)	-	-	-	-
Arginina	-	-	-	V(7)	-	-
Flagelos según su disposición	Perítricos	Monotricos polares	Perítricos	Monotricos Polares	Multitricos polares	Perítricos

## TRATAMIENTO, PREVENCIÓN Y CONTROL

El tratamiento antimicrobiano de las infecciones por *Pseudomonas* es frustrante, debido a:

1. Las bacterias suelen presentar resistencia a la mayoría de los antibióticos.
2. El paciente infectado, con las defensas alteradas, es incapaz de potenciar la actividad antibiótica.

Incluso los microorganismos sensibles se pueden volver resistentes durante el tratamiento al inducir la formación de enzimas que inactivan los antibióticos (p.ej., beta-lactamasas) o las mutaciones de genes que codifican las porinas de la membrana externa (de forma que los antibióticos no pueden penetrar en la célula), o bien a través de transferencia de la resistencia mediada por plásmidos de una bacteria resistente a otro sensible.<sup>4</sup>

Se necesitan generalmente una combinación de antibióticos activos para el éxito del tratamiento de los pacientes con infecciones graves.<sup>4</sup>

Los intentos para eliminar las *Pseudomonas* de los hospitales son inútiles en la práctica, dada la presencia ubicua de los microorganismos en los depósitos de agua.<sup>4</sup>

Las prácticas eficaces para el control de la infección se deben centrar en prevenir la contaminación de los equipos estériles, como los de terapia respiratoria o las máquinas de diálisis, la contaminación cruzada de los pacientes por el personal sanitario.<sup>4</sup>

También se debe evitar el uso inadecuado de los antibióticos de amplio espectro, debido a que este uso puede suprimir la biota microbiana normal y permitir el crecimiento excesivo de *Pseudomonas*.<sup>4</sup>

## Guía de estudio

- ✓ ¿Qué tipo de muestras se deben obtener para el diagnóstico de *P. aeruginosa*?
- ✓ ¿Cuáles son los agares en los que crecen las *Pseudomonas*?
- ✓ ¿En la prueba de oxidasa como debe de ser el resultado para la *P. aeruginosa*?
- ✓ ¿Cómo se observan las colonias de *P. aeruginosa* en agar sangre?
- ✓ ¿Cuál es el olor característico que tienen las *P. aeruginosa*?
- ✓ ¿Qué pigmento produce *P. aeruginosa*?
- ✓ ¿Cuál es la bacteria que produce más del 95% de las muestras clínicas?
- ✓ El medio Ashdown se utiliza para aislar ¿Qué tipo de bacterias?
- ✓ ¿En qué pacientes es posible que no produzca pigmento la *P. aeruginosa*?
- ✓ 10. ¿Qué agar se utiliza como medio selectivo para el aislamiento de *P.aeruginosa*?

## REFERENCIAS

1. Romero CR, Microbiología y Parasitología Humana. 3ra. ed. México: Médica Panamericana; 2007.
2. Brooks, Geo F, Carro LL, Karen C, et.al Microbiología Médica. 19ª ed. México: El manual moderno; 2008
3. Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, et.al. Tratado de Microbiología. 4ta ed. Barcelona España: Salvat; 1996
4. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007
5. Zinsser, Joklik, Amos, et.al. Microbiología. 20a ed. México: Panamericana.
6. Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997.
7. Valdez S, Lopez G, Microbiología y Parasitología. México: Facultad de medicina UNAM; 2010
8. Michael M, John M, Jack Parker, Brock biología de los microorganismos. 10ª ed. Pearson Educación; 2003
9. Hans G, Schlegel, Microbiología General, 1ª ed. Omega; 1996
10. Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995.
11. Pumarola A, Rodriguez AT, Garcia JR, Piedrola GA. Microbiología y parasitología médica. 2ª ed. Elsevier España: Salvat; 1999.
12. Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
13. Bailey RW, Scott GE, Forbes AB, Sahm FD, Weissfeld SA. Diagnóstico microbiológico. 12ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
14. Levison, Microbiología y parasitología humana. 8va ed. México: El manual moderno:
15. Sherris, Kenneth J, George C. Microbiología Médica. 8va ed. México: Mc Gran Hill: 2005
16. Prescott L, Harley J, Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008
17. Roitt, Wakelin, Williams, Microbiología Médica. 2da ed. España: Mosby;

## REFERENCIAS FIGURAS

- FIGURA 5.1 TP Microbiología, Tinción de Gram, [En línea], 2007, 20/03/2008, Consultado 12/10/12, 7:25pm, Formato html disponible en internet: <http://tpmicrobiologia.blogspot.mx/2008/03/tincin-de-gram.html>
- FIGURA 5.2 Pumarola A, Rodriguez AT, Garcia JR, Piedrola GA. Microbiología y parasitología médica. 2ª ed. Elsevier España: Salvat; 1999.
- FIGURA 5.3 Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995.
- FIGURA 5.4 Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007
- FIGURA 5.5 Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995.
- FIGURA 5.6 Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995.
- FIGURA 5.7 Pumarola A, Rodriguez AT, Garcia JR, Piedrola GA. Microbiología y parasitología médica. 2ª ed. Elsevier España: Salvat; 1999.
- FIGURA 5.8 Pumarola A, Rodriguez AT, Garcia JR, Piedrola GA. Microbiología y parasitología médica. 2ª ed. Elsevier España: Salvat; 1999.
- FIGURA 5.9 Pumarola A, Rodriguez AT, Garcia JR, Piedrola GA. Microbiología y parasitología médica. 2ª ed. Elsevier España: Salvat; 1999.
- FIGURA 5.10 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- FIGURA 5.11 Putty Muraly, Pseudomonas aeruginosa, [En línea], Environmental microbiology laboratory, Vol 5, No. 3, 2010, [citado 03/11/12]. Consultado 03/11/12, 11:37pm, Formato html disponible en internet: <http://www.emlab.com/s/sampling/env-report-03-2007.html>
- FIGURA 5.12 Agar Tech pata *Pseudomonas aeruginosa*, [en línea], Thermo scientific, 2013, [citado 03/11/12] Consultado 03/11/13, 11:49pm, Formato html disponible en internet: <http://www.thermoscientific.com/en/product/remel-acetamide-agar.html>

- FIGURA 5.13 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- FIGURA 5.14 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006
- FIGURA 5.15 HiFluoro Pseudomonas Agar, [en línea], Sigma-Aldrich, 2013, [citado03/11/12], Formato html disponible en internet: <http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/microbiology/product-lines/pseudomonas-agar.html>
- FIGURA 5.16 HiFluoro Pseudomonas Agar, [en línea], Sigma-Aldrich, 2013, [citado03/11/12], Formato html disponible en internet: <http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/microbiology/product-lines/pseudomonas-agar.html>
- FIGURA 5.17 HiFluoro Pseudomonas Agar, [en línea], Sigma-Aldrich, 2013, [citado03/11/12], Formato html disponible en internet: <http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/microbiology/product-lines/pseudomonas-agar.html>

## REFERENCIAS TABLAS

- TABLA 5.1 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- TABLA 5.2 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- TABLA 5.3 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- TABLA 5.4 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- TABLA 5.5 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- TABLA 5.6 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- TABLA 5.7 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- TABLA 5.8 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- TABLA 5.9 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- TABLA 5.10 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.

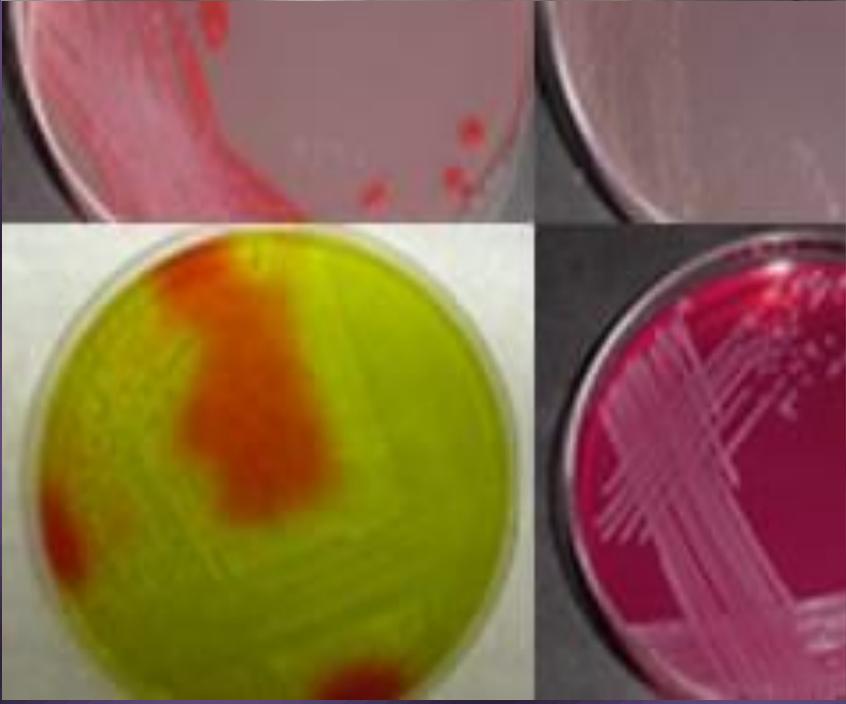
- TABLA 5.11 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- TABLA 5.12 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- TABLA 5.13 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- TABLA 5.14 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- TABLA 5.15 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.



# Capitulo 6



# Equipos comerciales para identificar a los bacilos no fermentadores



## Equipos comerciales

- Se han identificado equipos comerciales para la identificación de bacilos no fermentadores. Estos equipos comparten muchas características generales de los sistemas envasados; es decir, su uso es conveniente, tienen un tiempo de conservación muy largo y evita la necesidad de suministros frescos de medios y reactivos.<sup>12</sup>
- Los equipos comerciales también proporcionan técnicas estandarizadas precisas y brindan resultados reproducibles iguales o mejores que los procedimientos convencionales.<sup>12</sup>
- Los problemas intrínsecos al uso de muchos de los equipos comerciales actualmente disponibles para la identificación de no fermentadores son<sup>12</sup>:
  1. La tendencia de los microorganismos que muestran actividad bioquímica débil o tardía a producir reacciones falsas negativas.
  2. Un diseño menos que óptimo de muchos sistemas para el cultivo de ciertos no fermentadores.
  3. La inclusión de algunas pruebas diferenciales que es posible que no sean aplicables a la identificación de los no fermentadores.

- Aunque en general los miembros de las enterobacterias crecen rápidamente y muestran actividad enzimática activa sobre distintos sustratos que pueden detectarse con facilidad con los equipos, la mayoría de las especies de no fermentadores tienen un crecimiento lento y son relativamente inactivas desde el punto de vista enzimático.<sup>12</sup>
- El microbiólogo necesita una experiencia considerable para interpretar algunas reacciones incompletas o débiles que pueden hallarse en el uso de estos sistemas. Los siete equipos son<sup>12</sup>:
  - 1) Tubo Oxi/Ferm (Becton Dickinson Microbiology Systems Cockeysville MD)
  - 2) API 20E (BioMérieux, Hazelwood MO).
  - 3) API 20NE (BioMérieux)
  - 4) Remel Uni-N/F System (Remel, Lenexa, KS)
  - 5) Crystal Enteric/Nonfermenter System (Becton Dickinson Microbiology Systems)
  - 6) RapID NF plus (Remel)
  - 7) Biolog System (Biolog, Hayward CA)

## Tubo Oxi/Ferm

- Los estudios diseñados para evaluar el procedimiento del tubo Oxi/Ferm en la identificación de bacilos no fermentadores de importancia clínica han mostrado que las especies halladas con mayor frecuencia<sup>12</sup>:
  - *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* y especies de *Acinetobacter*
- Fueron identificadas con un grado bastante alto de precisión cuando se compararon con los métodos convencionales. Sin embargo la exactitud global cae en forma significativa cuando se consideran todos los no fermentadores.<sup>12</sup>



Figura 6.1 Tubos Oxi/ Ferm

- La exactitud global de la identificación de tubo Oxi/Ferm en estos estudios varió entre el 50% y el 95% según la especie evaluada, ya sea que las lecturas fueran tomadas después de 24 o de 48 horas de incubación y de que utilizaran pruebas complementarias para obtener las identificaciones correctas.<sup>12</sup>
- En estos estudios el mayor porcentaje de discrepancia ocurrió con las cepas de requerimientos nutricionales especiales o infrecuentes y más a menudo fue el resultado de reacciones falsas negativas del tubo Oxi/Ferm para citrato, sulfuro de hidrógeno, arginina deshidrolasa, reducción de nitrato, glucosa OF y ureasa.<sup>12</sup>



Figura 6.2 Tubo de plástico con compartimentos, formado por 12 medios de cultivo que permiten la determinación de 15 reacciones bioquímicas. Esta concebido para la inoculación simultanea de los 12 medios con una sola colonia.

- También se observaron problemas con la reducción de gas  $N_2$  bajo el revestimiento de cera en la cámara de desnitrificación.<sup>12</sup>
- El diseño del tubo Oxi/Ferm parece limitar su rendimiento con los microorganismos de crecimiento lento o débilmente reactivos.<sup>12</sup>
- La aguja inoculadora puede mantener solo una cantidad relativamente pequeña de inóculo y se ha demostrado que un inóculo importante es esencial para obtener productos bioquímicos detectables de muchos de los no fermentadores.<sup>12</sup>

Figura 6.3 Punta guía de inoculación.



- Gran parte de estos son aerobios estrictos y del medioambiente dentro de las cámaras confinadas del tubo Oxi/Ferm es posible que no favorezca un crecimiento óptimo.<sup>12</sup>
- Los microorganismos de prueba son colocados en profundidad en la parte central del medio en cada cámara, donde están mínimamente expuestos al oxígeno atmosférico.<sup>12</sup>
- Con la falta de crecimiento superficial, es difícil determinar si una reacción negativa refleja inactividad bioquímica o la inactividad del microorganismo para crecer en el medio.<sup>12</sup>

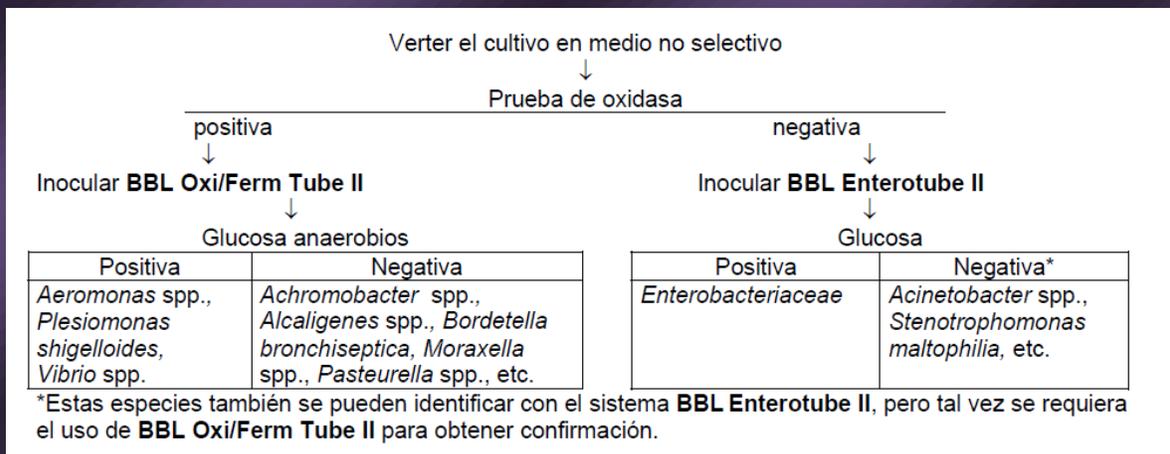


Figura 6.4 Diagrama de flujo que muestra cuando se debe utilizar BBL Enterotube II o BBL Oxi/Ferm tube I.

- Algunos de los medios en el tubo Oxi/Ferm son incapaces de sostener el crecimiento en las cerpas que tienen más requerimientos nutricionales especiales entre los no fermentadores (p. ej., el agar citrato no se encuentra en la mayoría de los sistemas de identificación para no fermentadores).<sup>12</sup>
- En cierta medida, estos inconvenientes han obstaculizado la aceptación del tubo Oxi/Ferm en muchos laboratorios clínicos.<sup>12</sup>

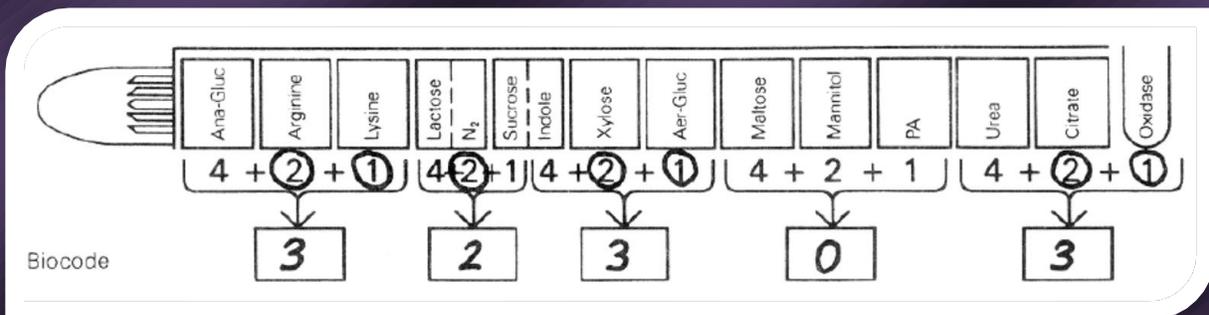


Figura 6.5 Bloc de resultados de BBL Oxi/Ferm tube II.

## API 20E

- El sistema API 20E, diseñado en su origen para la identificación de las enterobacterias, ha sido extendido para incluir también la identificación de bacilos no fermentadores comunes.<sup>12</sup>
- Para aumentar al máximo el uso de API 20E para los no fermentadores, se agregaron otras seis pruebas para generar un número de perfil de nueve dígitos.<sup>12</sup>
- Algunos estudios realizados con no fermentadores han mostrado que aunque el sistema API 20E identifica a *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* y especies de *Acinetobacter* con una exactitud de hasta un 99%, sobre todo después de 48 horas de incubación el rendimiento de otros no fermentadores poco frecuentes muchas veces fue menos aceptable.<sup>12</sup>



Figura 6.6 API 20E identificación kit.

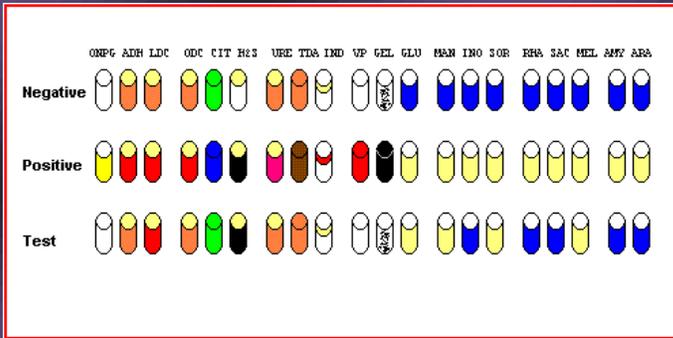


Figura 6.7 API 20E resultados.

- Las identificaciones incorrectas ocurrieron menos a menudo debido a reacciones falsas negativas para citrato, licuefacción de gelatina, motilidad, arginina dihidrolasa, ONPG, reducción de nitrato y pruebas de ureasa.<sup>12</sup>
- En el estudio específico de Hofherr y cols el 12.2% de 836 reacciones bioquímicas individuales difirió entre el sistema API y los métodos convencionales (53% involucró el uso de citrato y pruebas de licuefacción de gelatina).<sup>12</sup>
- En otros casos no fue posible realizar las identificaciones porque el número de biotipos derivan de la banda 20E no estaba enumerado en el índice de perfiles API.<sup>12</sup>



Figura 6.8 Bandas API 20E resultados que muestran el método de inoculación y la aparición de una banda luego de inoculación e incubación.<sup>12</sup>

## Sistema API 20NE

- El API 20NE fue una modificación de la banda API 20E.
- La construcción de la banda de plástico es la misma que en el sistema 20E, sin embargo, los sustratos han sido modificados para incluir 8 pruebas convencionales y 12 pruebas de asimilación que se basan sobre la observación del crecimiento microbiana en presencia de una fuente única de carbono.<sup>12</sup>
- Las reacciones positivas y negativas son convertidas en un número de biotipo de 7 dígitos y las identificaciones de los microorganismos se hacen a partir de la base de datos computarizada o de una lista de perfiles provista por el fabricante.<sup>12</sup>
- Los usuarios de este sistema deben observar que la base de datos está construida de acuerdo con las reacciones obtenidas a una temperatura de incubación de 30°C (en lugar de los 35°C a 37°C convencionales) se toman las lecturas finales después de 48 horas de incubación.<sup>12</sup>
- El rendimiento global del API 20NE ha demostrado que es uno de los equipos comerciales de mejor rendimiento para la identificación de no fermentadores.



Figura 6.9 API 20NE resultados. Resultados positivos fila superior resultados negativos fila inferior.

## Sistema Remel N/F

El sistema Remel N/F consta de tres componentes:

1. Un tubo GNF estrangulado que detecta fermentación de glucosa y  $N_2$  (por debajo del estrangulamiento) y producción de fluoresceína en la porción inclinada (por encima del estrangulamiento).<sup>12</sup>
2. Un tubo 42P no estrangulado que se utiliza para evaluar el crecimiento a 42°C y la producción de pigmento de pioquina.<sup>12</sup>
3. Una placa Uni-N/F Tek circular que consiste en 11 pozos periféricos sellados en forma independiente, que contienen agar convencional, con la cual se pueden determinar las siguientes características:
  - a. Utilización de la glucosa, xilosa, manitol, lactosa y maltosa.
  - b. Asimilación de acetamida
  - c. Hidrólisis de la esculina y urea.
  - d. Actividad de DNasa y de ONPG
4. Una de las celdas periféricas es un control de crecimiento de hidratos de carbono. Una celda del centro contiene un medio para detectar la producción de indol y sulfuro de hidrógeno.



Figura 6.10 Sistema Remel Uni-N/F.<sup>12</sup>

- La placa UNI-N/F está bien construida para evaluar a la mayoría de los no fermentadores; incluye medios que se asemejan estrechamente a las formulas convencionales y apoyan el crecimiento de muchas de las cepas que tienen mayores requerimientos nutricionales.<sup>12</sup>
- La suspensión de microorganismos se inocula en la superficie de los bordes del agar, donde no sólo los microorganismos están expuestos a oxígeno atmosférico, sino que también se puede visualizar directamente el crecimiento de las colonias.<sup>12</sup>
- Por lo tanto, es posible diferenciar las reacciones negativas en las pruebas debido a la falta de crecimiento de las debidas a la inactividad bioquímica y el usuario puede determinar directamente si otros microorganismos pueden estar contaminando el inóculo.<sup>12</sup>

## Sistema Crystal Enteric/Nonfermenter

- La base de datos de no fermentadores incluye 24 taxones de no fermentadores que representan 10 géneros diferentes.
- Otros 20 taxones están incluidos en un grupo denominado “Otros bacilos gramnegativos” que consiste en un grupo de especies oxidasa positivas que son relativamente inactivas e indistinguibles unas de otras con el sistema Crystal E/NF.
- Los investigadores destacaron que la ventaja de Crystal con respecto al sistema API consiste en que tanto los microorganismos fermentadores como los no fermentadores pueden probarse con el mismo panel.
- Además, API 20NE pueden requerir 48 horas de incubación, mientras que Crystal E/NF precisa sólo 18 horas de incubación.



Figura 6.11 Sistema Crystal Enteric/Nonfermenter. Contiene una tapa con 30 sustratos deshidratados sobre los extremos de las pinzas de plástico. Después de la inoculación los paneles se leen de arriba hacia abajo utilizando el transiluminador de BBL Crystal.<sup>12</sup>

## Sistema RapID NF Plus

- ✓ El sistema RapID Plus (Remel) es un micro método que utiliza sustratos convencionales y cromogénicos para la identificación clínica y otras bacterias gramnegativas fermentadoras de la glucosa seleccionadas no pertenecientes a la familia de enterobacterias.<sup>12</sup>
- ✓ Las pruebas utilizadas en este sistema se basan en la degradación microbiana de sustratos específicos detectados mediante distintos sistemas indicadores.<sup>12</sup>
- ✓ Las reacciones utilizadas son una combinación de pruebas convencionales y pruebas cromogénicas de sustrato único.<sup>12</sup>



Figura 6.12 Sistema Remel RapID NF.

## Sistema Biolog

- La base de datos para gramnegativos versión 4.01 contiene cerca de 275 especies y biogrupos de bacilos gramnegativos no fermentadores.<sup>12</sup>
- Holmes y cols. Evaluaron el sistema Biolog utilizando 214 cepas de no fermentadores que representan 14 especies. Estos autores comunicaron que después de 4 horas de incubación identificaron correctamente las especies en 20% de los no fermentadores utilizando el lector automático.<sup>12</sup>

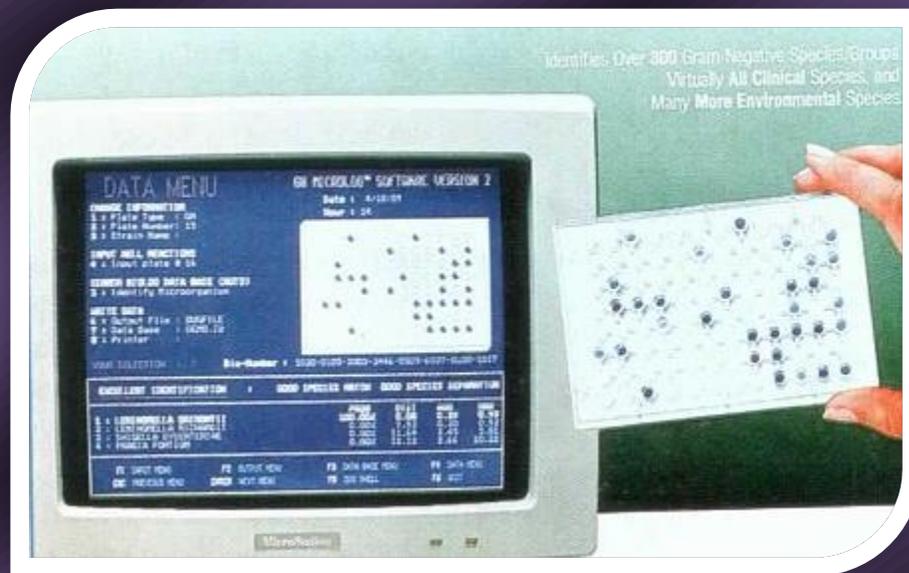


Figura 6.13 Sistema Biolog. Consiste en una placa de micro titulación de 96 pocillos que contiene 95 sustratos de carbono y un indicador rédox y colorante de tetrazolio. Si las bacterias inoculadas utilizan un sustrato de carbono, el colorante incoloro se reduce en forma irreversible y forma un color violeta. Con el uso de la pantalla de un ordenador, se codifican las celdas violetas como positivas y las celdas incoloras como negativas. El ordenador compara luego “la huella metabólica” del microorganismo inoculado con las de la base de datos y genera la identificación más probable.<sup>12</sup>

- Sin embargo, después de 24 horas de incubación la identificación de especies fue correcta en el 54% y el 66% de los no fermentadores mediante la lectura automática y manual, respectivamente, utilizando software versión 3.01A.<sup>12</sup>
- Los autores señalan que ningún otro sistema de identificación bacteriano comercial tiene tantos taxones en una base de datos única el proporcionado por Biolog.<sup>12</sup>



Figura 6.14 Sistema Biolog.

## Sistemas de identificación automáticos

### Sistema Vitek Legacy

- Fue introducido para realizar pruebas automáticas de sensibilidad a los antibióticos, con modificaciones posteriores para mejorar la precisión.
- En 1982 se introdujo la *Enterobacteriaceae*-plus Biochemical Card (EMB+), que proporcionan la identificación automática de las enterobacterias dentro de las 8 horas de la incubación.
- En 1996 se mejoró la tarjeta de identificación para gramnegativos. La nueva versión, denominada tarjeta GNI+, agregó 20 especies a la base de datos, mejoró el rendimiento y aumentó la velocidad de identificación de los microorganismos fermentadores de la glucosa en 2 a 8 horas y el 40.1% de los microorganismos evaluados son identificados en 3 horas.
- El sistema Vitek Legacy (BioMérieux), ha sido utilizado con éxito en la identificación de los no fermentadores hallados con mayor frecuencia en el laboratorio clínico.



Figura 6.15 Sistema Vitek 2.<sup>12</sup>

## Sistema Vitek Legacy

- La tarjeta Vitek 2 original para la identificación de gramnegativos ha sido rediseñada para mejorar la identificación de los bacilos fermentadores y no fermentadores.
- La nueva tarjeta contiene 47 pruebas (26 que han sido incluidas en la tarjeta previa y 21 pruebas nuevas), comparadas con las 41 en la tarjeta Vitek 2 IDx-GNB establecida.
- La base de datos para nueva tarjeta ha sido ampliada hasta 159 taxones comparada con solo 101 para la tarjeta Vitek 2 original.
- En un estudio realizado por Funke y cols. 133 de 144 (92.4%) bacilos no fermentadores fueron identificados correctamente con las nuevas tarjetas Vitek 2.



Figura 6.16 Sistema Vitek 2.

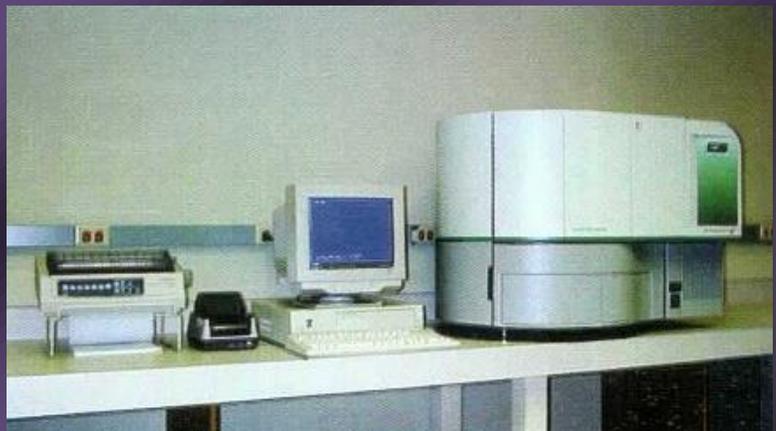
## Sistema Microscan Walkaway-96, Walkaway-40 y Autoscan-4

- El Walkaway es un instrumento completamente automático.
- Estos tres sistemas tienen una base de datos extensa que incluyen muchas especies de bacilos no fermentadores.



Figura 6.17 Panel para identificación de gramnegativos MicroScan.<sup>12</sup>

Figura 6.18 Los mismos paneles pueden utilizarse, además, con el WalkAway, System.<sup>12</sup>



## Guía de Estudio

- ✓ ¿Mencione algún problema intrínseco el uso de equipos comerciales?
- ✓ ¿Mencione dos equipos usados comúnmente?
- ✓ ¿Qué bacterias fueron identificadas con mayor frecuencia al utilizar el tubo Oxi/Ferm?
- ✓ ¿Cuál es una de las desventajas al utilizar el tubo Oxi/Ferm?
- ✓ ¿Qué diferencias hay entre el sistema api 20N y el API20NE?
- ✓ ¿Cuáles son los componentes del sistema Remel N7F?
- ✓ ¿En qué sistema es posible diferenciar las reacciones negativas debido a la falta de crecimiento?
- ✓ ¿El sistema Crystal Enteric/Norferment es posible identificar cuantos diferentes géneros?
- ✓ ¿Cuál es la ventaja de Crystal con respecto al sistema API?
- ✓ ¿En qué sistema las reacciones utilizadas son una combinación de pruebas convencionales y pruebas cromogénicas del sustrato?
- ✓ ¿En qué consiste el sistema Biolog?
- ✓ ¿Mencione cuáles son los sistemas de identificación automáticos?
- ✓ ¿ la tarjeta Vitek2 cuantas pruebas contiene?

## Referencias

1. Romero CR, Microbiología y Parasitología Humana. 3ra. ed. México: Médica Panamericana; 2007.
2. Brooks, Geo F, Carro LL, Karen C, et.al Microbiología Médica. 19ª ed. México: El manual moderno; 2008
3. Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, et.al. Tratado de Microbiología. 4ta ed. Barcelona España: Salvat; 1996
4. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5ª ed. St. Louis: Mosby; 2007
5. Zinsser, Joklik, Amos, et.al. Microbiología. 20a ed. México: Panamericana.
6. Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1997.
7. Valdez S, Lopez G, Microbiología y Parasitología. México: Facultad de medicina UNAM; 2010
8. Michael M, John M, Jack Parker, Brock biología de los microorganismos. 10ª ed. Pearson Educación; 2003
9. Hans G, Schlegel, Microbiología General, 1ª ed. Omega; 1996
10. Jawets, Melnick, Adelberg. 20ª ed. México: El manual moderno: 1995.
11. Pumarola A, Rodriguez AT, Garcia JR, Piedrola GA. Microbiología y parasitología médica. 2ª ed. Elsevier España: Salvat; 1999.
12. Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
13. Bailey RW, Scott GE, Forbes AB, Sahm FD, Weissfeld SA. Diagnóstico microbiológico. 12ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
14. Levison, Microbiología y parasitología humana. 8va ed. México: El manual moderno:
15. Sherris, Kenneth J, George C. Microbiología Médica. 8va ed. México: Mc Gran Hill: 2005
16. Prescott L, Harley J, Donald K, Microbiología. 5ta ed. México: Mc Gran Hill: 2008
17. Roitt, Wakelin, Williams, Microbiología Médica. 2da ed. España: Mosby;

## REFERENCIAS FIGURAS

- FIGURA 6.1 Identificación de Enterobacteriaceae mediante BBL Enterotube II, [en línea], Laboratorio de Tecnología. Departamento de Microbiología y Genética, [citado 10/11/12], Consultado 10/11/12, 12:08pm, Formato html disponible en internet: [http://virus.usal.es/Web/demo\\_mr/Enterotube/Enterotubell.htm](http://virus.usal.es/Web/demo_mr/Enterotube/Enterotubell.htm).
- FIGURA 6.2 Identificación de Enterobacteriaceae mediante BBL Enterotube II, [en línea], Laboratorio de Tecnología. Departamento de Microbiología y Genética, [citado 10/11/12], Consultado 10/11/12, 12:08pm, Formato html disponible en internet: [http://virus.usal.es/Web/demo\\_mr/Enterotube/Enterotubell.htm](http://virus.usal.es/Web/demo_mr/Enterotube/Enterotubell.htm).
- FIGURA 6.3 Identificación de Enterobacteriaceae mediante BBL Enterotube II, [en línea], Laboratorio de Tecnología. Departamento de Microbiología y Genética, [citado 10/11/12], Consultado 10/11/12, 12:08pm, Formato html disponible en internet: [http://virus.usal.es/Web/demo\\_mr/Enterotube/Enterotubell.htm](http://virus.usal.es/Web/demo_mr/Enterotube/Enterotubell.htm).
- FIGURA 6.4 Identificación de Enterobacteriaceae mediante BBL Enterotube II, [en línea], Laboratorio de Tecnología. Departamento de Microbiología y Genética, [citado 10/11/12], Consultado 10/11/12, 12:08pm, Formato html disponible en internet: [http://virus.usal.es/Web/demo\\_mr/Enterotube/Enterotubell.htm](http://virus.usal.es/Web/demo_mr/Enterotube/Enterotubell.htm).
- FIGURA 6.5 Identificación de Enterobacteriaceae mediante BBL Enterotube II, [en línea], Laboratorio de Tecnología. Departamento de Microbiología y Genética, [citado 10/11/12], Consultado 10/11/12, 12:08pm, Formato html disponible en internet: [http://virus.usal.es/Web/demo\\_mr/Enterotube/Enterotubell.htm](http://virus.usal.es/Web/demo_mr/Enterotube/Enterotubell.htm).
- FIGURA 6.6 BioMérieux, API Microbial Identification Kits, [en línea], Fisher Scientific, [citado 10/11/12], Consultado 10/11/12. 14:26pm, Formato html disponible en internet: [http://www.fishersci.com/ecomm/servlet/fsproductdetail\\_10652\\_1327569\\_-1\\_0](http://www.fishersci.com/ecomm/servlet/fsproductdetail_10652_1327569_-1_0)
- FIGURA 6.7 Galería API20E, [en línea], Sistemas de identificación multipuebas, [citado 5/02-12]. Consultado 5/02-12, 6:20 pm, Formato html disponible en internet: <http://perso.wanadoo.es/microdominguez/API.htm>
- FIGURA 6.8 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.

- FIGURA 6.9 API mesa de lectura y algunos códigos de las cepas bacterianas identificadas con as del 90% de probabilidad, [en línea], Regnum Prokaryotae, [citado 05-02-13], Consultado 05-02-13, 6:15pm, Formato html disponible en internet: <http://www.tgw1916.net/Tests/api.html>
- FIGURA 6.10 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- FIGURA 6.11 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- FIGURA 6.12 Oxoid, Proporciona Laboratorios de análisis de alimentos con simple intervalo Remel rápido de paneles identificación bioquímica, [En línea], new food, 28/05/2010, 2013, [citado 08-02-13]. Consultado 08-02-13, 6:20pm, Formato html disponible en internet: <http://www.newfoodmagazine.com/162/news/featured-news/oxoid-provides-food-testing-labs-with-simple-remel-rapid-range-of-biochemical-identification-panels/>
- FIGURA 6.13 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- FIGURA 6.14 Biolog MicroStation BI 62401a, [en línea], 2002, 2003, [citado 08-02-13], Consultado 08-02-13, 7:33pm, Formato html disponible en internet: <http://www.advmex.com/MicroStation.htm>.
- FIGURA 6.15 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- FIGURA 6.16 Vitek 2: Salud, [en línea], Biomerieux Advancing diagnostics to improve public health, 2009, [citado 11-02-13], Consultado 11-02-13, 6:05pm, Formato html disponible en internet: [http://www.biomerieux-usa.com/servlet/srt/bio/usa/dynPage?doc=USA\\_PRD\\_LST\\_G\\_PRD\\_USA\\_4](http://www.biomerieux-usa.com/servlet/srt/bio/usa/dynPage?doc=USA_PRD_LST_G_PRD_USA_4)
- FIGURA 6.17 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
- FIGURA 6.18 Koneman WE, Stephen A, Giovanniello O, Klajn D, Pertierra A, Preciado M, Rondione S. Diagnóstico microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.