

870127  
3  
2ej

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA**  
INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



INCIDENCIA DE CONJUNTIVITIS CAUSADA POR BACTERIAS  
GRAM POSITIVAS.

**TESIS PROFESIONAL**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLGO  
**P R E S E N T A**  
CECILIA GRACIELA ASCENCIO FIGUEROA  
**A S E S O R :**  
Q.F.B. MA. DEL SOCORRO PULIDO GARCIA  
GUADALAJARA, JALISCO. 1989

**FALLA DE ORIGEN**



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 está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

# INDICE

	PAG.
CAPITULO I	
Introducción.....	1
CAPITULO II	
Generalidades.....	3
CAPITULO III	
Material y Método.....	26
CAPITULO IV	
Resultados.....	30
CAPITULO V	
Conclusiones.....	34
GLOSARIO:	37
BIBLIOGRAFIA:	38

CAPITULO I

## INTRODUCCION.

La conjuntivitis es una enfermedad que se encuentra presente en la población mundial y que no respeta edad, sexo ó raza.

Numerosos factores protegen a la conjuntiva de las infecciones bacterianas, algunos de ellos son el mecanismo de arrastre de los párpados, que junto con la acción de las lágrimas, lavan la superficie ocular, además, en éstas se halla la enzima lisozima, con acción bacteriostática; sin embargo, ésto no es suficiente para preservar al globo ocular de infecciones externas, siendo la membrana conjuntival la principalmente afectada.

Además de los desagradables síntomas que su inflamación produce y que vienen a repercutir directamente en las actividades normales del individuo, se debe considerar la posibilidad de que el ojo se convierta en un punto de diseminación de gérmenes hacia otros sitios de la economía o del ojo mismo, con las consecuentes complicaciones que ésto originaría.

Por éste motivo, se vió la importancia de llevar a cabo un estudio que revele la frecuencia con la que se presenta la conjuntivitis provocada por la acción de bacterias, y más específicamente a la búsqueda de organismos Gram positivos, — pues es común que las áreas vecinales al ojo, como piel y fosas nasales, contengan gran cantidad de éste tipo de microorganismos y sean las fuentes contaminantes para el mismo.

También se pretende que el laboratorio sea un elemento útil al Oftalmólogo con miras de auxiliarse para un diagnóstico correcto y un tratamiento acertado.

CAPITULO II

## GENERALIDADES.

### EL SENTIDO DE LA VISTA:

Las ramificaciones nerviosas receptoras de los estímulos luminosos se encuentran en los ojos.

#### a) Partes Accesorias:

Las partes accesorias se encargan de proteger al ojo y le dan movimiento.

- 1.- Las Cejas: tienen como función proteger al globo ocular del sudor que pueda escurrir de la frente.
- 2.- Los Párpados: cubren parte de la superficie externa del globo ocular. El párpado superior móvil, regula la cantidad de luz que puede penetrar al ojo y favorece la distribución de las lágrimas.
- 3.- Los Músculos Rectos Superiores, Inferiores, Externos e Internos: mueven los ojos de arriba hacia abajo y de derecha a izquierda.
- 4.- Los Músculos Oblicuos Mayores y Menores: producen los movimientos de rotación de los ojos.
- 5.- Las Glándulas Lagrimales: secretan un líquido que actúa como lubricante y antiséptico.

#### b) Membranas y Medios Transparentes:

- 1.- Esclerótica: membrana externa, opaca, resistente y de color blanco que protege las estructuras internas y conserva la forma del globo ocular. En la parte anterior del ojo, se torna transparente formando la CORNEA que permite el paso de rayos luminosos al interior del ojo. La córnea es una membrana avascular.



2.- Coroides: membrana colocada sobre la cara interna de la esclerótica, de color oscuro, sumamente vascularizada. En la parte anterior del ojo, la coroides forma una membrana conocida como IRIS. En la parte central del Iris se encuentra un orificio conocido como PUPILA que controla la cantidad de luz que penetra al interior del ojo.

3.- Retina: membrana que proviene de la ramificación del nervio óptico, se halla en contacto con la cara interna de la coroides. Su función es captar las impresiones luminosas para transmitir al nervio óptico.

4.- Conjuntiva: delicada membrana que reviste la parte interna de los párpados y la superficie expuesta del globo ocular.

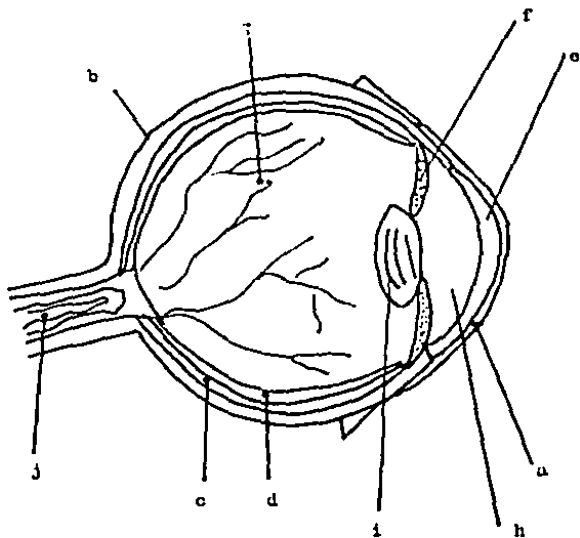
#### c) Medios Transparentes:

1.- Humor Acuoso: es un líquido incoloro, transparente y poco espeso, que se encuentra contenido entre la córnea y el cristalino.

2.- Cristalino: es un medio transparente situado detrás del Iris, tiene la forma de una lente biconvexa y está fijado por los ligamentos suspensorios. Su tejido es elástico, lo que permite cambiar su curvatura para hacer diferentes enfoques.

3.- Humor Vítreo: es un líquido de consistencia espesa y está contenido dentro de la delgada membrana hialoidea que está en contacto con la superficie interna de la retina.

DIAGRAMA: GLOBO OCULAR



Clave:

- a.- Conjuntiva.
- b.- Esclerótica
- c.- Coroides.
- d.- Retina.
- e.- Córnea.
- f.- Iris.
- g.- Humor Vítreo.
- h.- Humor Acuoso.
- i.- Cristalino.
- j.- Nervio Optico.

## FLORA NORMAL DE LA CONJUNTIVA:

La piel y las mucosas hospedan siempre a una gran variedad de microorganismos, los cuales pueden ser divididos en dos grupos:

- 1.- La Flora Residente: compuesta de tipos relativamente fijos de microorganismos, los cuales se encuentran constantemente en un sitio dado a una edad dada.
- 2.- La Flora Transitoria: formada de microorganismos no patógenos ó sólo potencialmente patógenos hospedados en la piel o mucosas durante horas, días o semanas, provienen del ambiente y no producen enfermedad.

Los miembros de la flora transitoria son generalmente de poca significancia, pero si la flora residente sufre alteraciones, los microorganismos transitorios pueden responder aprovechando — la situación y al proliferar pueden llegar a producir enfermedad.

### Papel de la Flora Residente:

Los microorganismos que están siempre presentes en las superficies del cuerpo son comensales. El hecho de que prosperen en un área determinada, depende de factores fisiológicos como la temperatura, la humedad y la presencia de determinados nutrientes y sustancias inhibitorias.

Por otro lado, los miembros de la flora normal pueden por sí mismos causar enfermedad bajo ciertas condiciones. Estos organismos están adaptados al modo de vida no invasivo determinado por las limitaciones del ambiente; si son removidos violentamente de las restricciones que tal ambiente les impone y son introducidos a la circulación sanguínea o a los tejidos, éstos organismos pueden volverse patógenos.

El punto importante es que los microorganismos de la flora normal residente son inocuos y pueden ser benéficos en su localización normal en el huésped y en ausencia de anomalías coincidentes. Pueden producir enfermedad si son introducidos a los tejidos en gran cantidad y existen factores predisponentes.

Por estas razones, los miembros de la flora residente que se encuentran en procesos patológicos son en ocasiones denominados "oportunistas".

El saco conjuntival nunca está prácticamente libre de gérmenes, pero debido a su temperatura relativamente baja por su exposición al ambiente, a la evaporación del líquido lagrimal y al moderado riego sanguíneo, las bacterias no se pueden propagar con facilidad. Además en las lágrimas se encuentra una enzima bacteriostática: la lisozima.

De aquí que acción principalmente de manera mecánica, arrastrando los agentes nocivos y sus productos. Las bacterias del saco conjuntival aumentan al aplicar un vendaje, debido a la falta de movimiento de los párpados y al aumentar la temperatura.

La mayor parte de los gérmenes que se encuentran normalmente en este tejido no son patógenos, y predominantemente se encuentran difteroides como Corynebacterium xerosis, algunos tipos de Neisserias y a menudo también estafilococos. Streptococcus, Haemophilus y Coliformes no deben encontrarse en ojos normales.

## CONJUNTIVITIS.

Es la inflamación de la conjuntiva, que es la membrana que reviste la parte interna de los párpados y la superficie expuesta del globo ocular. La conjuntivitis infecciosa causada por bacterias principalmente, es sumamente contagiosa, pues se puede transmitir con las manos sucias o con las toallas y — afecta invariablemente ambos ojos.

Se caracteriza por secreción abundante y el enfermo se queja de ardor, prurito y sensación de arenillas que constituyen la "trifida conjuntival", pudiendo además referir cierta fotofobia y visión borrosa.

Al acumularse la secreción y resecaarse sobre el borde palpebral durante la noche, se aglutina en las pestañas y los párpados tienden a quedarse pegados el uno al otro.

### Clasificación:

La inflamación de la conjuntiva se manifiesta en muchos grados y tipos, pero, por lo común, es de origen infeccioso o alérgico. Se acompaña siempre de hiperemia y aumento de secreción. La hiperemia varía en grado y en distribución y la secreción en naturaleza y cantidad. Su naturaleza es de importancia diagnóstica.

Puede ser acuosa, debido principalmente a secreción lagrimal excesiva, o mucosa, mucopurulenta, purulenta y membranosa, en cuyo caso el padecimiento se debe por lo general a bacterias.

Una secreción serosa sugiere etiología viral, en cuyo caso la congestión es mínima, hay secreción acuosa y edema hinchado difuso de la mucosa. Típicamente es causada por virus del herpes y adenovirus.

## PROFILAXIS:

Es importante conocer algunas normas higiénicas para evitar el contagio de éste padecimiento entre familiares y vecinos y la reinfección del propio enfermo: deberá el paciente o la persona que lo cure, lavar sus manos cada vez que toque los ojos infectados, empleando simplemente agua y jabón en forma generosa; al secar los ojos el paciente empleará un fragmento de algodón o un pañuelo desechable que se eliminará cada vez y no enjugando con él repetidas veces, convirtiendo a éste en un reservorio de gérmenes que vuelve a poner sobre el ojo repetidamente, deberá el enfermo evitar acudir a reuniones sociales, escolares o de trabajo, para no transmitir el padecimiento al saludar o emplear objetos comunes como lápices, herramientas, lentes y otros.

Finalmente deben evitarse dos prácticas comunes: El cubrir el ojo con secreción infectada, porque hay fotofobia o está muy enrojecido, ya que éste predispone al desarrollo de úlceras corneales por la persistencia prolongada de la secreción contra el epitelio corneal, y la práctica de usar colirios con cortisona, ya que suelen enmascarar el cuadro, no destruyen el germen y pueden permitir una sobreinfección por organismos más peligrosos como hongos o virus que pueden lesionar el ojo en forma más severa.

### STAPHYLOCOCCUS.

Las células esféricas de tamaño alrededor de 1 micra, su característica morfológica es la notable tendencia a presentarse en forma de racimos irregulares; ésto es debido a una división celular en 3 planos, con la tendencia de las células hijas a permanecer en estrecha proximidad.

Son Gram positivas, no forman esporas, son inmóviles y no parecen tener cápsula.

Crecen en la mayoría de los medios bacteriológicos en condiciones aeróbicas, se desarrollan a 37°C, dando colonias opacas, lisas, elevadas y de aspecto brillante; algunas forman pigmentos de lipocromo, dando a las colonias color amarillo oro o lila, ésta pigmentación es de gran importancia práctica, ya que con ésta se pueden diferenciar las especies.

Son Catalasa positivos, Staphylococcus aureus fermenta el manitol mientras que Staphylococcus epidermidis no lo hace.

Son capaces de crecer en presencia de concentraciones relativamente altas de NaCl y ésto puede ser aprovechado para su aislamiento.

Staphylococcus aureus es relativamente resistente al calor y hasta cierto grado a desinfectantes, se puede considerar infeccioso por períodos prolongados.

Los Staphylococcus se han hecho resistentes a los medicamentos con mayor facilidad que la mayor parte de las bacterias, por lo que la frecuencia de resistencia a los medicamentos ha alcanzado un punto en que el tratamiento y control de infecciones estafilocócicas han retrocedido esencialmente al de la era anterior a los medicamentos.

## TOXINAS Y ENZIMAS:

Los *Staphylococcus* pueden producir enfermedades tanto por su capacidad de multiplicarse y diseminarse ampliamente en los tejidos, como por la producción de diversas sustancias extracelulares; entre éstas se encuentran las siguientes:

### a) Exotoxina:

Toxina letal para los animales por inoculación parenteral, provoca necrosis de piel, contiene diversas hemolisinas solubles, las cuales pueden ser separadas por electroforesis y son las siguientes:

- 1.- Hemolisina alfa, toxina que lisa hemátidas de carnero y conejo, tiene acción poderosa sobre el músculo liso de los vasos.
- 2.- Hemolisina beta, toxina que destruye eritrocitos de carnero, pero no los de conejo.

Estas hemolisinas son antigénicamente diferentes y no tienen relación alguna con las lisinas de los estreptococos.

### b) Leucocidina:

Toxina que produce aglutinación y muerte de leucocitos.

### c) Enterotoxina:

Es causa importante de envenenamiento cuando el *Staphylococcus* se desarrolla en alimentos con carbohidratos y proteínas.

### d) Coagulasa:

Toxina producida por algunos *Staphylococcus* patógenos para el hombre, que tiene la capacidad de coagular el plasma citratado u oxalato. Sus efectos se manifiestan en proteger a las bacterias contra la fagocitosis y antagonismo a la actividad bactericida normal del suero.

### e) Hialuronidasa:

Substancia extracelular producida por la mayor parte de los *Staphylococcus* patógenos. Favorece la diseminación de los microorganismos infectantes.



Los *Staphylococcus* penetran a través de la piel íntegra, o cuando se rompe ésta barrera por un traumatismo.

El establecimiento de éstos microorganismos da lugar a necrosis de tejido, ésta infección puede limitarse o diseminarse por vía sanguínea causando focos secundarios en algún tejido u órgano donde se alojarán las bacterias.

Siempre se ha considerado que *Staphylococcus aureus* es la única especie patógena del género, pero ahora debe tomarse en cuenta que *Staphylococcus epidermidis* puede causar serias infecciones. Algunas pruebas a que pueden someterse éstos organismos en la fermentación del manitol y la producción de coagulasa, siendo ésta última concluyente para la patogenicidad.

En el caso de la inflamación de la conjuntiva, el exudado es usualmente purulento, la bacteria prolifera sobre la superficie, usualmente sin invadir, pero puede diseminarse por vía linfática o circulatoria y causar serios problemas.

El estafilococo es el más común y mejor estudiado en las infecciones oculares; fué una vez considerado como simple saprofito e inocuo habitante conjuntival, pero recientes experimentos han establecido que el estafilococo oftálmico produce poderosas toxinas.

Una de las principales complicaciones que sobrevienen a la conjuntivitis estafilocócica es la aparición de blefaritis aunque también puede presentarse queratitis.

Estas infecciones son más frecuentes si se presentan factores como sequedad de la conjuntiva, uso de lentes de contacto, maquillaje, disturbios metabólicos y otros.

La conjuntivitis estafilocócica aguda del recién nacido, difiere de la condición manifestada en la vida adulta, es purulenta pero superficial, con muy poco tejido involucrado, pero nunca será tan severa como la conjuntivitis gonocócica.

## STREPTOCOCCI:

Los estreptococos son microorganismos esféricos, con una disposición característica en forma de cadenas, y ampliamente distribuidos en la naturaleza. Algunos son miembros de la flora normal del hombre. Producen una gran variedad de enfermedades, debido a la producción de sustancias y enzimas extracelulares; su capacidad para efectuar diferentes grados de hemólisis constituye una base importante para su identificación.

Los cocos individuales son esféricos u ovoides y se disponen en cadenas, los cocos se dividen en un plano perpendicular al eje mayor de la cadena.

Son Gram positivos, no esporulados e inmóviles. Las cepas virulentas son capsuladas. En unos estreptococos la cápsula está formada por ácido hialurónico, aunque algún tipo de estreptococo está envuelto en una cápsula de polisacáridos. Su diámetro varía entre 0.5 y 1 micra.

### CULTIVO:

Son organismos exigentes que se desarrollan mejor en medios que contengan sangre o suero. A las 24 ó 48 horas de incubación a la temperatura óptima de 37°C aparece en medios sólidos una colonia pequeña, giráscea, opalescente, semejante a una gotita de líquido.

Los estreptococos son Catalasa negativos y no reducen los nitratos, dos propiedades que los diferencian de los estafilococos. No fermentan la inulina y no son disueltos por la bilis, circunstancias que los diferencian de los neumococos.

En Agar sangre, pueden o no alterar la hemoglobina, las cepas que la transforman incompletamente y forman un halo verdoso alrededor de la colonia, son los Streptococcus viridans o alfa-hemolíticos; los que la hacen desaparecer completamente y dejan un halo transparente que circunda a la colonia, son los hemolíticos verdaderos o beta-hemolíticos, los que no producen modificación alguna en los glóbulos rojos inmediatos a la colonia son los an-hemolíticos o gamma-hemolíticos. Esta es la clasificación de Brown.

Los estreptococos son aerobios y anaerobios facultativos. Se han encontrado algunos que son anaerobios.

#### CLASIFICACION:

Diversos tipos de estreptococos tienen importancia en la patología humana, pero se observó un comportamiento diferente entre diferentes cepas de los estreptococos beta-hemolíticos. Esto llevó a Rebeca Landfield a hacer un estudio antigénico de éstos últimos. Esta investigadora encontró que en la pared hay un Carbohidrato "C" por el cual pudieron establecer distintos grupos de la A a la O, exceptuando las letras I y J.

- 1.- El Grupo A: A éste pertenecen más del 90% de los estreptococos de las infecciones humanas. Son los menos resistentes de todos a los agentes físicos, químicos y terapéuticos. Ocupando una posición más superficial que el carbohidrato "C", en la pared, se encuentra la proteína "M" que junto con la cápsula de ácido hialurónico es esencial para la virulencia.
- 2.- Los del Grupo B: producen mastitis en las vacas y pueden causar faringitis en el hombre transmitida por la leche. Cuando tienen cápsula es de polisacrido en vez de ácido hialurónico.
- 3.- Los del Grupo C: de los caballos, tienen similitud con los del Grupo A. También producen estreptolisina "O".
- 4.- En el Grupo D: están los enterococos. En contraste con los del grupo A, son los estreptococos más resistentes a los agentes físicos, químicos y terapéuticos.

5.- *Streptococcus viridans*: No producen hemolisinas solubles aunque muchas especies producen zonas de hemólisis alfa, algunas especies carecen de acción sobre los eritrocitos.

La acción sobre los eritrocitos depende de la especie de la cual provengan, p.ej. Ph, temperatura, humedad, y de otros factores no bien comprendidos.

Estos microorganismos no producen Carbohidrato "C" a diferencia de los neumococos (cuyas colonias son parecidas), no son solubles en la bilis ni son inhibidos por la optoquina.

*Streptococcus viridans* es el miembro más importante de la flora normal del sistema respiratorio humano.

#### TOXINAS Y ENZIMAS:

Hás de 20 productos extracelulares antigénicos son elaborados por el grupo A de estreptococos, incluyendo los siguientes:

a) Estreptocinasas: (fibrinolisisina)

Es producida por muchas cepas de estreptococo beta hemolítico, provoca la transformación del plasminógeno del suero humano a plasmina, enzima proteolítica activa que digiere a la fibrina y a otras proteínas.

b) Estreptodornasa: (deoxirribonucleasa)

Es una enzima que despolimeriza al DNA. La actividad enzimática puede ser determinada midiendo la disminución de la viscosidad de soluciones conocidas de DNA.

c) Hialuronidasa:

Es una enzima que desdobra el ácido hialurónico, constituyente importante de la substancia intercelular del tejido conjuntivo, así pues, la hialuronidasa favorece la diseminación de los microorganismos infectantes.

d) Toxina Eritrogénica:

Es soluble y destruida mediante ebullición durante una hora. Provoca el exantema que se presenta en la escarlatina y solo las cepas que la producen pueden provocar la enfermedad.

e) Difosfopiridina-nucleotidasas:

Enzima que quizá esté relacionada con la capacidad del microorganismo de matar a los leucocitos.

f) Hemolisinas:

Los estreptococos beta-hemolíticos del grupo A producen dos hemolisinas:

- 1.- La estreptolisina "O": Tiene actividad hemolítica en su estado reducido y se inactiva rápidamente cuando se oxida.
- 2.- La estreptolisina "S": Es el agente responsable de las zonas de hemólisis que se producen alrededor de las colonias de estreptococos en las placas de Agar sangre.

HELIASIS EN EL OJO:

La infección de la conjuntiva por Streptococcus pyogenes se caracteriza por un infiltrado localizado y engrosamiento severo. El proceso progresa rápidamente y hay necrosis masiva.

La infección puede diseminarse en la órbita y aún al cerebro o bajo la cara.

La infección ocular causada por Streptococcus pyogenes preferentemente en niños, resulta de sinusitis o infección focal de la dentadura o faringitis.

Puede ocurrir panoftalmítis, uveítis, iritis e iridociclítis.

Se puede desarrollar una conjuntivitis con formación moderada de pseudomembranas o membranas verdaderas. El proceso puede complicarse por una rápida necrosis de la córnea y perforación.

En todas estas condiciones oculares severas, Streptococcus pyogenes es el principal responsable; sin embargo, el papel de Streptococcus viridans debe tomarse en cuenta, pues puede causar infecciones focales crónicas, y de hecho, puede ser más frecuente que Streptococcus pyogenes.

## STR. PNEUMONIAE PH. PNEUMONIAE:

La especie recibe el nombre de pneumoniae debido a que su hábitat natural es el aparato respiratorio, tanto del hombre como de algunos animales.

Esta bacteria no es perfectamente esférica, su forma es más bien lanceolada, mide de 0.5 a 1.25 micras, se agrupa principalmente en pares, pero puede hallarse en cadenas cortas, es Gram positiva, puede formar una cápsula de gran espesor, que en ocasiones es mayor que el de la célula bacteriana; ésta tiene un papel muy importante en la patogenicidad de la bacteria.

No forma esporas, carece de flagelos, es inmóvil, anaerobia, pero desarrolla mejor en un ambiente que contenga un 10% de CO<sub>2</sub>.

Se cultiva en medios ricos en elementos nutritivos a un Ph ligeramente alcalino (7.4 - 7.8), muere rápidamente cuando el Ph se torna ácido. Los medios de cultivo más comúnmente utilizados son el Agar sangre y el Agar chocolate.

Cuando se hace la siembra directamente de los productos del enfermo, las colonias en Agar sangre se observan a las 18 ó 24 hrs de incubación a 37°C de 0.5 a 1 mm de diámetro, redondeadas, de bordes netos, convexas, de color gris perla, de superficie lisa brillante, de aspecto mucoso y rodeadas de una zona de color verde debido a la formación de hemolisis alfa. Este tipo de colonias corresponde a neumococos con cápsula.

Los antígenos más importantes son aquellos que se encuentran en la cápsula.

El carbohidrato "C" se encuentra en la pared de la célula bacteriana y es el responsable de la formación de la proteína "C" reactiva que se encuentra en sueros de los enfermos de neumonía.

La vía de entrada es habitualmente la nasofaringe, y de ahí se difunde a los tejidos que pueden ser afectados.

El diagnóstico de laboratorio se basa casi exclusivamente en la identificación del neumococo en los productos patológicos del paciente.

Streptococcus pneumoniae fermenta la inulina y es inhibido por la optoquina. Otra prueba importante es la solubilidad en sales biliares.

#### FACTORES DE PATOGENICIDAD:

Se considera que su patogenicidad se debe casi exclusivamente a la cápsula, debido a que inhibe la fagocitosis y así puede crecer libremente.

Otros factores de patogenicidad son: una hemolisina que causa la coloración verdosa alrededor de las colonias en Agar sangre y también hialuronidasa y leucocidina.

#### HALLAZGOS EN EL OJO:

Varios estudios indican que Streptococcus pneumoniae se presenta frecuentemente en la flora conjuntival normal y sistema nasolagrimal.

Sin embargo, factores predisponentes como infecciones interrecurrentes, infecciones virales, alcoholismo, debilidad y muchas otras, son algunas veces más importantes en el desarrollo de la infección neumocócica que la virulencia del agente mismo.

El neumococo puede causar queratitis con hipopión y se encuentra frecuentemente en dacriocistitis crónica y es causa común de conjuntivitis aguda, pero no es ordinariamente el responsable de conjuntivitis crónica o blefaroconjuntivitis.

La infección parece ser más prevalente en el tiempo de Invierno. La asociación frecuente del frío con su presencia en la parte superior del cuerpo es característica.

La infección tiene predilección por los niños. Los exudados pueden ser abundantes y purulentos.



Fundamento de algunas de las pruebas empleadas para la diferenciación e identificación de las Bacterias Gram Positivas.

Género Staphylococcus:

- a) Prueba de la Catalasa
- b) Prueba de la Coagulasa.

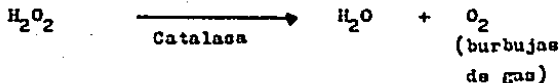
Género Streptococcus:

- a) Prueba de la Hidrólisis del Hipurato.
- b) Prueba de tolerancia a la sal.
- c) Susceptibilidad a la Bacitracina.
- d) Prueba de solubilidad en bilis.

PRUEBA DE LA CATALASA:

La catalasa es una enzima que descompone el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en oxígeno y agua. Químicamente la catalasa es una hemoproteína, de estructura similar a la hemoglobina, excepto que los cuatro átomos de hierro de la molécula están en estado oxidado (Fe +3) en lugar de reducido (Fe +2). Excluyendo los estreptococos, la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas poseen actividad catalasa.

El peróxido de hidrógeno se forma como uno de los productos finales del metabolismo oxidativo o aeróbico de los hidratos de carbono. Si se deja acumular, el peróxido de hidrógeno es letal para las células bacterianas. La Catalasa transforma al peróxido de hidrógeno en  $H_2O$  y oxígeno; como lo muestra la siguiente reacción.



La prueba de la catalasa, es muy comúnmente utilizada para diferenciar estafilococos (positivos) de estreptococos (negativos).

Prueba en portaobjetos:

1.- Con un palillo se toma el centro de una colonia pura de un cultivo de 18 a 24 hrs. y se coloca en un portaobjetos limpio.

a) La reacción no puede llevarse a cabo si se introduce Agar sangre en el  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

2.- Se agrega una gota de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30 % sobre las bacterias.

a) No deben invertirse los pasos especialmente si se usan asas que contengan hierro, porque puede dar reacciones falsas positivas.

b) No es necesario mezclar con el palillo.

Se tiene cuidado que el cultivo sea de 18 a 24 hrs. ya que si las colonias son viejas, pueden perder su actividad catalasa y posiblemente darían una reacción negativa falsa.

El peróxido de hidrógeno debe resguardarse de la luz porque lo descompone fácilmente. La solución debe guardarse refrigerada mientras no se usa.

#### PRUEBA DE LA COAGULASA:

De entre las enzimas producidas por los estafilococos en medios artificiales, la que ha atraído mayor atención es la coagulasa.

El estafilococo es la única bacteria que sintetiza una enzima capaz de coagular el plasma citratado u oxalatado.

Para explicar la correlación existente entre la virulencia del estafilococo y la producción de coagulasa se ha sugerido:

a) Que la enzima causa la formación de coágulos que interfieren la acción de los fagocitos.

b) Que la fibrina producida se deposita en la superficie de los gérmenes y constituye una envoltura antifagocitaria.

La coagulasa, enzima producida por Staphylococcus aureus es relativamente termoestable. Es probablemente de naturaleza proteica y es fácilmente inactivada por enzimas proteolíticas.

El mecanismo exacto y la estructura química de la coagulasa es desconocida, sin embargo, se sabe que juega un papel en la coagulación. In vitro, la coagulasa aumenta la capacidad del plasma para coagular.



Prueba en portaobjetos:

- 1.- Se coloca una gota de solución salina estéril (0.85%) de NaCl en un portaobjetos limpio.
- 2.- Se toma una colonia de las bacterias, se deposita en la gota de sol. salina y se mezcla suavemente.
- 3.- Se añade una pequeña cantidad de plasma en la suspensión de Staphylococcus y se homogeniza suavemente.

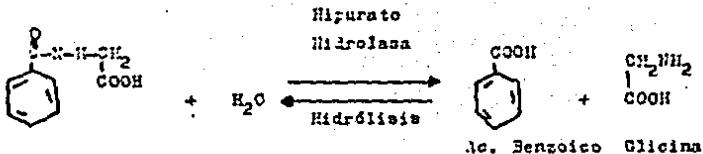
Se observa la formación inmediata de un precipitado macroscópico en forma de grumos blancos en caso positivo, la coagulación ocurre entre 5 y 20 segundos.

Las pruebas negativas se consideran así si la coagulación no ocurre entre 5 y 20 segundos.

#### HIDROLISIS DEL HIPURATO:

Esta prueba se utiliza para determinar la capacidad de algunas cepas de estreptococos de hidrolizar el hipurato de sodio a ácido benzoico y glicina por acción de una enzima anti-génica y termolábil conocida como hipurato hidrolasa.

La producción de ácido benzoico se determina fácilmente por la adición de cloruro férrico acidificado con el cual se forma un precipitado.



Con la combinación de otras pruebas, auxilia en la diferenciación de *Streptococcus* beta hemolíticos del Grupo B (*Streptococcus a-lactiae* es positivo) los *Streptococcus* spp humanos Beta hemolíticos que usualmente son negativos; y es una prueba de identificación presuntiva de los *Streptococcus* del grupo B.

Para llevar a cabo la prueba se prepara un medio de cultivo líquido a base de caldo de infusión de corazón adicionado con hipurato de sodio a una concentración del 1%. La inoculación se hace de 1 ó 2 colonias en 5 ml de medio y se incuba a 37°C por 20 Hr.

Posteriormente se centrifuga el medio y se toman 0.8 ml del sobrenadante al cual se le agrega 0.2 ml de una solución al 12% de cloruro férrico acidificado con HCl con lo cual se forma un precipitado espeso que indica que la prueba es positiva si perdura por más de 10 minutos.

#### PRUEBA DE TOLERANCIA A LA SAL:

Es una prueba que sirve para identificar a *Streptococcus* del grupo D ya que es el único grupo que resiste altas concentraciones de sal en el medio de cultivo.

La prueba de tolerancia a la sal requiere la utilización de un medio de cultivo a base de caldo de infusión de corazón, glucosa, púrpura de bromocresol como indicador y NaCl al 6.5%.

El medio se debe incubar por 24 hrs a 37°C. La prueba se interpreta como positiva si el medio presenta un color amarillento turbio que es producido al virar el indicador por la presencia de ácido producido por el desdoblamiento de la glucosa.

### SUSCEPTIBILIDAD A LA BACITRACINA:

La prueba de susceptibilidad a la Bacitracina se utiliza ampliamente en estudios en los cuales es necesaria la diferenciación entre los grupos A y B de estreptococos, se basa en la sensibilidad del Streptococcus del Grupo "A" a determinada concentración del antibiótico.

La prueba de susceptibilidad a la bacitracina requiere la utilización de discos diferenciales cuya concentración es de 0.4 UI que debe ser colocado de manera aséptica sobre una placa de Agar sangre inoculada con una cepa pura de Streptococcus Betahemolítico. La interpretación del resultado se hace después de la incubación por 24 hrs a 37 °C.

Si la bacteria es sensible al antibiótico, se observa alrededor del disco una zona circular sin crecimiento, limitada por el desarrollo de colonias de estreptococos.

Si el microorganismo es resistente al antibiótico, sólo se observará crecimiento normal alrededor del disco.

### PRUEBA DE SOLUBILIDAD EN BILIS:

Se basa en la capacidad que tienen las sales biliares de disminuir la tensión superficial en la interfase medio-membrana, la cual afecta la membrana celular y en la producción y activación de una enzima autolítica que ocasiona una rápida destrucción de las células cuando se cultivan en medios artificiales.

Estas son inactivas cuando su estructura carece de grupo hidroxilo mientras que las sales del ácido desoxicólico, que son compuestos dihidroxílicos poseen mayor actividad que el ácido cólico y taurocólico, los cuales poseen 3 grupos OH, en su núcleo basal.

Las sales biliares que tienen mayor actividad lítica, son el taurocolato de sodio y el desoxicolato de sodio, siendo este último con más frecuencia utilizado en las pruebas de solubilidad en bilis.

Esta prueba se puede hacer usando sales biliares deshidratadas como el taurocolato de sodio o el desoxicolato de sodio, los cuales pueden ser esterilizados sin que varíe su concentración.

Se usará desoxicolato de sodio al 10% en solución, para llevar a cabo la prueba se prepara una suspensión de bacterias de un cultivo puro de *Streptococos* en 1 ml de solución salina isotónica, a la cual se le agrega una gota de indicador rojo de fenol y se ajusta al Ph 7 adicionando 0.5 ml de desoxicolato de sodio y se incuba a 37°C por 3 horas, haciendo observación cada hora para detectar algún cambio en la coloración.

Si la bacteria es soluble en bilis, al cabo de 3 horas de incubación, la solución aparecerá clara.

Para hacer la interpretación del resultado se recomienda usar un control preparado con una suspensión de bacterias en solución salina, la cual produce turbidez parecida a una prueba negativa.

CAPITULO III

## MATERIAL Y METODO.

El estudio se realizó en 100 pacientes que presentaban conjuntivitis. No se tomó en cuenta una edad límite ni tampoco sexo.

Las muestras fueron obtenidas de personas de nivel socioeconómico bajo, que acuden a atenderse al Hospital Oftalmológico "San José". La recolección abarcó los meses de Septiembre, Octubre y Noviembre de 1984.

Como el objetivo principal del presente trabajo fue poner en evidencia a las bacterias Gram positivas más frecuentes en la conjuntivitis ocular, los medios fueron seleccionados para orientar hacia un mejor aislamiento de éste tipo de microorganismos. Sin embargo, debido a que las mismas muestras eran sometidas a otro tipo de estudios, fue posible contar con un número mayor de medios de cultivo, lo que aumentó significativamente la cantidad de éstos organismos aislados.

Los medios utilizados fueron: el medio de transporte de Stuart, Agar sangre y Agar chocolate, ricos en nutrientes para obtener un desarrollo abundante.

El Agar estreptocel es seleccionado por ser específico para el Género Streptococcus.

El Agar columbia en que se ha comprobado, desarrollan abundantemente Staphylococcus aureus y Staphylococcus epidermidis.

Y para finalizar, el medio de Vogel & Johnson adicionado con telurito, para la identificación de colonias de Staphylococcus aureus que son característicamente de color negro brillante.



Fue necesario recurrir al empleo de otras pruebas para conocer con exactitud la especie de la que se trataba, entre ellas, la producción de catalasa, coagulasa y fermentación del manitol, para organismos del Género *Staphylococcus*; y otras, como el desarrollo en tubos con NaCl al 6.5%, Hidrólisis del hipurato, solubilidad en Bilia y sensibilidad a bacitracina, orientadas a la identificación de las especies del Género *Streptococcus*.

#### TOMA Y MANEJO DE LA MUESTRA:

El paciente se sometió a un interrogatorio para recolectar datos que pudieran ser de interés, como edad, sexo, ocupación, uso de lentes de contacto, si sufrió previa lesión ocular, y tiempo de evolución de la enfermedad.

Para la obtención de la muestra, se requiere tomar todas las medidas asepticas, y en la cercanía de un mechero, se evierte el párpado inferior del paciente, haciendo que éste dirija su mirada hacia arriba para así lograr una mayor exposición del tejido conjuntival.

Se colocaron dos hisopos como se muestra en el esquema, y se recoge la secreción del fondo de saco conjuntival inferior, haciendo que el aplicador siga un movimiento de recolección longitudinalmente, al mismo tiempo que se rota entre los dedos tratando de que éste quede bien impregnado de los posibles gérmenes.

Una vez hecho ésto, se insertó un hisopo en un medio de transporte (Stuart) para ser llevado al Laboratorio de inmediato.

El segundo aplicador fue para la elaboración del frotis y su tinción por el método de Gram.

Los siguientes medios: Agar sangre, Agar estreptocel, Agar columbia y Agar chocolate (este último con atmósfera de  $CO_2$  al 5-10%), se incubaron a  $37^{\circ}C$  durante 24 hrs. De las colonias obtenidas, previa observación detallada de su aspecto, presencia y tipo de hemólisis, se les hizo un frotis teñido con Gram.

De acuerdo a la morfología microscópica observada en el frotis, y al resultado obtenido en la prueba de la Catalasa, se orientarán las pruebas bioquímicas y medicas empleados según se trate del Género *Staphylococcus* (Catalasa positivo) ó del Género *Streptococcus* (Catalasa negativo). El uso de éstas pruebas fué con el objeto de conocer con mayor precisión a el agente etiológico.

Toma de muestra:

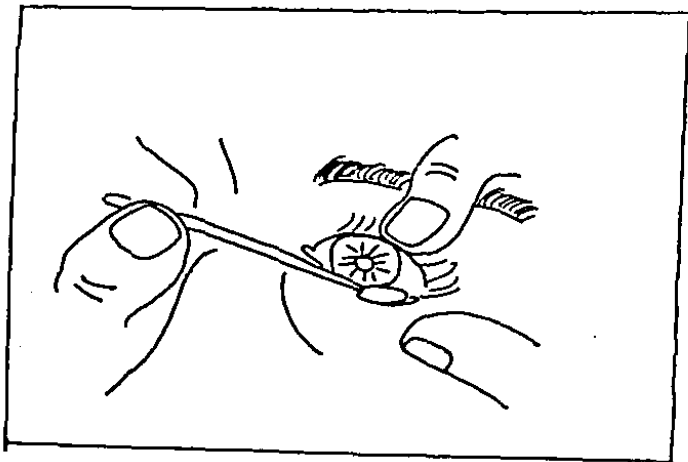
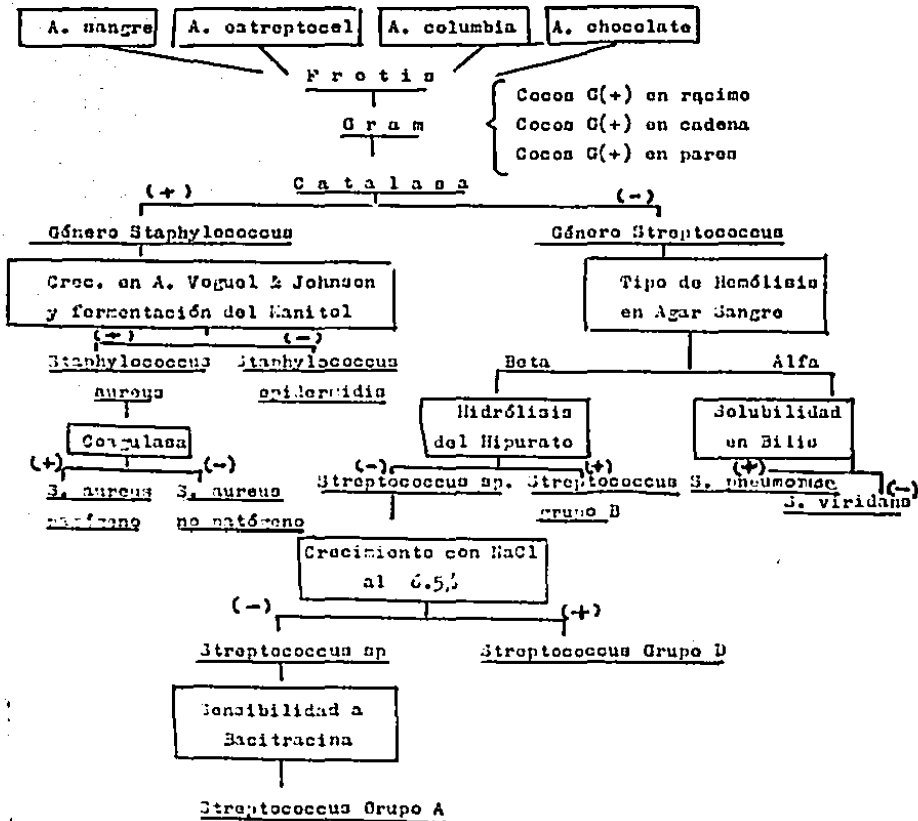


Diagrama de identificación:



CAPITULO IV

## RESULTADOS.

De los resultados obtenidos, salta a la vista la alta incidencia debida a las bacterias Gram positivas encontradas en la conjuntivitis ocular.

De los 100 casos revisados 8 fueron negativos y 18 correspondieron a otro tipo de bacterias.

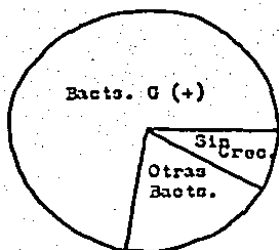
Es notorio el papel que juega Staphylococcus aureus, pues alcanza un porcentaje de ocurrencia del 40.2, en segundo lugar, se encontró un 30.4, para Staphylococcus epidermidis generalmente considerado no patógeno.

siguiendo en orden descendente, Streptococcus pyogenes 4.3%, Streptococcus pneumoniae 3.3%, Streptococcus alfa hemolítico (viridans) 1.1, y finalmente un caso de Streptococcus pyogenes asociado con Staphylococcus epidermidis que corresponde a un 1.1.

Estos resultados se esquematizan en los siguientes cuadros:

No. de casos revisados =	100
No. de casos provocados por Bacterias Gram positivas =	74
Otras bacterias =	18
Casos sin crecimiento bacteriano =	8

Diagrama:



Tomando en cuenta que fueron 92 casos debidos a la acción bacteriana, se obtienen los siguientes datos:

BACTERIA AISLADA	Número de Casos	Porcentaje.
a) <i>Staphylococcus aureus</i>	37	40.2%
b) <i>Staphylococcus epidermidis</i>	28	30.4%
c) <i>Streptococcus pyogenes</i>	4	4.3%
d) <i>Streptococcus pneumoniae</i>	3	3.3%
e) <i>Streptococcus viridans</i>	1	1.1%
f) <i>S. pyogenes</i> + <i>S. epidermidis</i>	1	1.1%

Total = 74

<i>Staphylococcus aureus</i>	a) Coagulasa (+) = 20 casos
	b) Coagulasa (-) = 17 Casos

Se trató de establecer la correlación que existe entre el papel de la bacteria ofensora y un ojo que ha sido lesionado previamente por golpes, rebabas, quemaduras, fragmentos de vidrios, etc, y se encontró lo siguiente:

	<i>S. aureus.</i>	<i>Staphylococcus epidermidis.</i>
Previa lesión	7 Casos	12 Casos
Sin previa lesión	30 Casos	17 Casos.

Otro punto que se tomó en cuenta fué el tiempo de evolución de la enfermedad según la bacteria responsable, para inferir conclusiones sobre procesos agudos y crónicos.

Nº Días de evolución	S. aureus	S. epidermidis	S. pyogenes	S. pneumoniae
1	-	-	-	-
2	-	3	-	-
3	-	4	-	-
4	2	6	-	-
5	10	8	-	1
6	3	1	1	1
7	2	2	3	-
8	8	2	-	-
9	2	-	-	-
10	5	1	1	-
11	1	1	-	1
2 Semanas	2	1	-	-
3 Semanas	1	-	-	-
2 Meses	1	-	-	-
	37	29	5	3
Nº Total de Casos.				

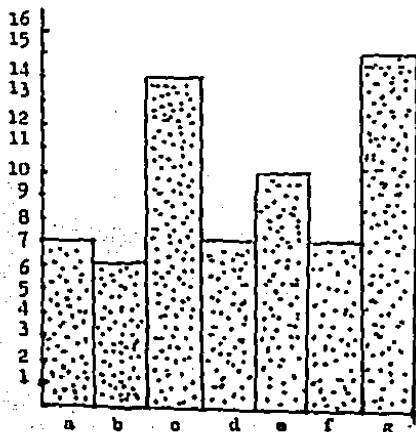
Los medios de Agar sangre y Agar chocolate son muy ricos y se consideran óptimos para el aislamiento de las bacterias Gram positivas, sin embargo, las observaciones obtenidas durante el presente trabajo, indican que un tercer medio; el Agar columbia, empleando generalmente para el aislamiento de bacterias Gram negativas del género Haemophilus supera grandemente a los antes mencionados; por lo menos lo que se refiere al género Staphylococcus.

De un total de 66 casos correspondientes al Género *Staphylococcus* fueron aislados en los siguientes medios:

a) Agar sangre	7 Casos
b) Agar chocolate	6 Casos
c) Agar columbia	14 Casos
d) Agar sangre + Agar chocolate	7 Casos
e) Agar sangre + Agar columbia	10 Casos
f) Agar chocolate + Agar columbia	7 Casos
g) A.sangre + A.chocolate + A.columbia	15 Casos

Total = 66 Casos

# Casos



Medios en que se  
aisló la Bacteria



CAPITULO V

## CONCLUSIONES.

Definitivamente, la conclusión más importante de éste trabajo, es dejar establecido el relevante papel que juegan las bacterias Gram positivas como responsables de la inflamación de la conjuntiva.

Corresponde a Staphylococcus aureus, el primer lugar como agente etiológico de ésta enfermedad. Su patogenicidad, determinada por la prueba de la Coagulasa, indica un gran número de casos de organismos Coagulasa positivos, lo que es sumamente importante si tomamos en cuenta los daños que puede causar en el globo ocular.

Staphylococcus epidermidis, generalmente considerado integrante de la llamada flora normal de la conjuntiva, podría tornarse patógeno si se presenta lesión de ésta membrana, y ésto aunado a los malos hábitos higiénicos puede agravar el cuadro. Se puede comprobar ésto, analizando los resultados obtenidos, que revelan que casi la mitad de éstos organismos se presentaron cuando habfa habido algún tipo de lesión, es decir, actúan como oportunistas.

Los casos provocados por Streptococcus pyogenes, se caracterizaron en general por ser más severos, y no presentaban antecedentes de traumatismo.

Streptococcus pneumoniae, es particularmente importante en niños pequeños y recién nacidos.

Si tomamos en cuenta el tiempo de la evolución de la enfermedad, se puede decir que los pacientes cuyo caso tendía a hacerse crónico, o ya lo era, se debían principalmente a Staphylococcus aureus.

Debido a que la inflamación de la conjuntiva puede tener diversos orígenes además del ataque bacteriano, por ejemplo, ser provocada por virus, hongos, o ser debida a factores mecánicos, tóxicos o alérgicos, en éstos podemos encontrar la explicación a los 8 casos que resultaron bacteriológicamente estériles, pues muchos de los pacientes habían acudido al campo, se habían bañado en albercas o habían sufrido quemaduras en el ojo.

Se considera que además de tener presentes a las bacterias Gram positivas como las principales agresoras de la conjuntiva, se deberían hacer las pruebas de sensibilidad a diversos antibióticos para corroborar si los medicamentos empleados de rutina — para este tipo de proleza son eficaces contra éstos organismos; entrando aquí el relevante papel del laboratorio en el aislamiento e identificación del agente etiológico para orientar al Oftalmólogo hacia un tratamiento acertado.

Un punto importante es la prevención de ésta enfermedad, pues muchas veces puede ser causada por descuido e ignorancia del paciente; según se observó en el interrogatorio a que fueron sometidos los pacientes, se pudo constatar que muchos de ellos, debido a su oficio, estaban en constante peligro de sufrir lesiones en los ojos, por ejemplo: soldadores, carpinteros, jardineros etc.

O muchas veces el tallarse los ojos con las manos sucias, como mecánicos, cajeros, etc. daba principio a la infección, por lo que con un mínimo de molestias y cuidados pueden abarcar-se las medidas profilácticas necesarias.

GLOSIARIO:

B.-

Blofaritis: Inflamación de los párpados.

D.-

Dacriocistitis: Inflamación del saco lagrimal.

E.-

Endoftalmitis: Inflamación de los tejidos internos del ojo.

H.-

Hiperemia: Acumulación de sangre en una parte u órgano. Congestión.

Hipopión: Acumulación de pus en la cámara anterior del ojo.

Hordeolum: Orzuelo. Pequeño furúnculo en el borde del párpado, puede ser externo si afecta una glándula de Zeiss ó interno si afecta una glándula de Meibomio.

I.-

Iridociclitis: Inflamación del iris y el cuerpo ciliar.

Iritis: Inflamación del iris, caracterizada por el cambio de coloración del órgano, contracción de la pupila, tensión dolorosa, fotofobia y congestión de la región ciliar.

M.-

Meibomitis: Inflamación de las Glándulas de Meibomio.

P.-

Panofthalmitis: Inflamación purulenta de todo el ojo.

Q.-

Queratitis: Inflamación de la Córnea.

U.-

Uvea: Cara posterior pigmentada del iris. Iris, cuerpo ciliar, y coroides formando en conjunto la capa pigmentada del ojo.

Uveítis: Inflamación de la uvea.

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

Fedukowicz, H.: External Infections of the Eye. 2nd. Ed. Edit. Appleton-Century-Crofts. New York. 1978.

Sojalil, L.; Jantoseoy, G.: Microbiología Médica. Tomo I. 1a. Ed. Edit. Francisco Mániz Oteo. México, D.F. 1981.

Jawetz, E.; Melnich, J.: Manual de Microbiología Médica. 3va. Ed. Edit. El Manual Moderno. S.A. México. 1979.

Noneman, E.; Allen, S.: Diagnóstico Microbiológico. 1a. Ed. Edit. Médica Panamericana. Buenos Aires. 1983.

Diccionario Terminológico de Ciencias Médicas. 11va. Ed. Edit. Salvat Mexicana de Ediciones. S.A. de C.V. México. 1983.

Diccionario Médico Familiar. 1a. Ed. Edit. Selecciones del Reader's Digest, S.A. de C.V. México. 1982.

Monfiola, J.: Resumen Clínico de Oculología. 1a. Reimpresión. Edit. Universidad Autónoma de Guadalajara. México. 1982.

Davidsohn, I.; Henry, J.: Todd-Junfod. Diagnóstico Clínico por el Laboratorio 6a. Ed. Edit. Salvat Mexicana de Ediciones. S.A. de C.V. Barcelona. 1982.

Parsons.: Enfermedades de los ojos. 16va. Ed. Edit. Interamericana. México. 1980.

Hosby.: Ophthalmology. Principles and Concepts. 4a. Ed. Edit. C.U. Company. Saint Luis. 1978.

Asbury, T.; Vaughan.: Oftalmología General. 9na. Ed. Edit. El Manual Moderno. México. 1982.

Padilla de Alba, F. J.: Oftalmología Fundamental. La. Ed. Edit. C.N. Editor. México. 1930.

Ernest, T. J.: 1933 Year Book of Ophthalmology. 1a. Ed. Edit Year Book Medical Publishers, Inc. Chicago. 1933.

Mac. Paddin, J.P.: Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria. 2a. Ed. William Wilkins Editorial.

Rozado, L.; Amador. J.: Síntesis de Biología. 3a. Ed. Edit. Trillas. México. 1975.

Sutphin, J. S.; Pflugfelder, G.P.: penicillin-Resistant Streptococcus pneumoniae keratitis. American Journal of Ophthalmology. Vol. 191. No. 4. pp. 667. April 1983.

Stanson, B.: Acute Conjunctivitis. Archives of Ophthalmology. Vol. 97. No. 3. pp. 331-339. 1984.

Poirier, R.: Seventeenth annual meeting of the Ocular Microbiology and Immunology Group. American Journal of Ophthalmology. Vol 95. No. 2. pp 246-250. Feb. 1993.

Grave, M.; Carrasco, G.: Ulceras bacterianas. Anales de la Sociedad Mexicana de Oftalmología. A- Junio de 1933.

Smith, B.; Hanson, H.: A Method of Collecting Culture Material from Corneal Ulcers. American Journal of Ophthalmology. Vol. 97 No 3. pp 105-106. Jan. 1934.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA