

870127

13

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

2y

Incorporada a la Universidad Nacional Autónoma de México

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



IDENTIFICACION DE BACILOS GRAMNEGATIVOS NO
FERMENTADORES EN MUESTRAS DE AGUAS NEGRAS Y
SU IMPORTANCIA EN LAS INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

ABEL PARRA RODRIGUEZ

Asesor: Q.F.B. María del Socorro Pulido García

GUADALAJARA, JALISCO.

1990

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

IDENTIFICACION DE BACILOS GRAMNEGATIVOS NO FERMENTADORES
EN MUESTRAS DE AGUAS NEGRAS Y SU IMPORTANCIA EN LAS IN-
FECCIONES INTRAHOSPITALARIAS

Indice	Pag.
Capitulo I Microbiologia del agua.	
1.1 Introducción.	1
1.2 Flora normal del agua.	1
1.3 Contaminación bacteriana de las aguas naturales.	3
1.4 Aguas negras.	4
Capitulo II Estructura y metabolismo bacteriano.	
II.1 Generalidades.	5
II.2 Clasificación bacteriana.	5
II.3 Metabolismo energético bacteriano.	6
Capitulo III Bacilos gramnegativos no fermentadores.	
III.1 Generalidades.	10
III.2 Familia: <u>PSEUDOMONADACEAE</u> .	10
2.1 Género: <u>Pseudomonas</u> .	10
2.1.a <u>P. aeruginosa</u> .	11
2.1.b <u>P. putida</u> .	13
2.1.c <u>P. mallei</u> .	14
2.1.d <u>P. pseudomallei</u> .	16

2.1.e	<u>P. alcaliaenes.</u>	17
2.1.f	<u>P. pseudoalcaliaenes.</u>	17
2.1.g	<u>P. fluorescens.</u>	17
2.1.h	<u>P. stutzeri</u>	18
2.1.i	<u>P. cepacia</u>	19
2.1.j	<u>P. acidovorans</u> u <u>P. testosteroni</u>	19
2.1.k	<u>P. maltophilia</u>	20
2.1.l	<u>P. diminuta</u> y <u>P. versicularis</u>	20
2.1.m	<u>P. putrefaciens</u>	21
III.3	Familia: <u>VIBRIONACEAE</u>	21
3.1	Género <u>Aeromonas</u>	22
3.1.a	<u>A. hydrophila</u> y <u>A. nunctata</u>	22
3.1.b	<u>A. salmonicida</u>	23
3.2	Género <u>Plesiomonas</u>	24
	Especie <u>shigelloides</u>	24
3.3	Género <u>Flavobacterium</u>	24
3.3.a	<u>F. meningosepticum</u>	24
III.4	Familia: <u>NEISSERIACEAE</u>	25
4.1	Género <u>Acinetobacter</u>	25
4.1.a	<u>A. calcoaceticus</u>	26
4.2	Género <u>Moraxella</u>	26
III.5	Familia: <u>LEGIONELLACEAE</u>	
	Género <u>Bordetella</u>	26
III.6	Bacilos gramnegativos no fermentadores de afiliación no determinada	

6.1	Género <u>Alcaligenes</u>	27
6.1.a	<u>A. faecalis</u>	27
6.1.b	<u>A. odorans</u>	27
Capítulo IV	Medios de cultivo	29
IV.1	Generalidades	29
IV.2	Clasificación	30
2.1	Por su consistencia	30
2.2	Por su origen	31
2.3	Por su composición	31
2.4	Por su utilización	32
Capítulo V	Medios de cultivo utilizados para el aislamiento e identificación bioquímica de bacilos gramnegativos no fermentadores en muestras de aguas negras.	
V.1	Introducción	34
V.2	Caldo G. N. (Caldo Gramnegativo, Hajna)	34
V.3	Agar Mc Conkey	35
V.4	Agar desoxicolato citrato (A.D.C.)	37
V.5	Agar Xilosa Lisiana desoxicolato (X. L.D.)	38
V.6	Medios de identificación bioquímica - para bacilos gramnegativos no fermentadores	38
6.a	Agar hierro de Kligler (K.I.A.)	38
6.b	Agar Citrato de Simmons	43

6.c Medio semisólido de S.I.H.	45
6.d R.M.-V.P. (Caldo Rojo de metilo - Voges Proskauer)	47
6.e Caldo Urea	49
6.f Manitol	50
Capítulo VI Método para el aislamiento e identifica- ción bioquímica de bacilos gramnegativos no fermentadores en aguas negras	51
VI.1 Metodología	51
VI.2 Prueba de la citocromo-oxidasa (método)	52
Capítulo VII Resultados	
VII.1 Relación de colonias identificadas en 40 muestras de aguas negras	54
VII.2 Los resultados obtenidos por muestra	56
VII.3 Gráfica de abundancia por especies de bacilos gramnegativos no fermentado-- res en 40 muestras de aguas negras	67
VII.4 Gráfica de abundancia por géneros de bacilos gramnegativos no fermentado-- res en 40 muestras de aguas negras	69
VII.5 Gráfica de comparación de porcentajes de especies identificadas en 40 mues- tras de aguas negras como bacilos - -	

gramnegativos no fermentadores	69
VII.6 Conclusión	70
Bibliografía	72

CAPITULO I
MICROBIOLOGIA DEL AGUA

1.1 Introducción.-

Se enfoca primordialmente al estudio bacteriológico del agua en los aspectos sanitarios debido a que representan gran importancia las enfermedades que se transmiten por este medio y el interés evidente de controlarlas.

Un criterio para juzgar la calidad sanitaria del agua es por supuesto la clase y el número de bacterias que contiene, pero sin embargo el juicio sobre la calidad sanitaria del agua, no puede basarse en la ausencia de un microorganismo patógeno, pero cabe suponer que cuando el agua se contamina con heces fecales humanas es probable que contenga bacterias que causen dificultades o patologías al ser humano y esto lo podemos observar en las aguas negras de una población.

1.2 Flora normal del agua.-

Es difícil señalar la flora normal del agua pues en ella se presentan bacterias que por sus requerimientos de desarrollo son difíciles de desarrollar en medios de cultivo de laboratorio, pero sin embargo no hay duda que existe una flora bacteriana normal y característica del

agua.

Entre los tipos de bacterias que se comprenden dentro de la flora normal del agua pudiéramos citar brevemente:

- 1) Bacterias encapsuladas (bacterias del azufre, del hierro y formas similares).
- 2) Bacterias con apéndices
- 3) Formas espirales
- 4) Bacilos:
 - a) En sus formas pigmentadas podemos incluir a Serratia y a Chromobacterium
 - b) Diversas formas no pigmentadas como:
 - Las bacterias fluorescentes.
 - Algunas bacterias azufrosas.
 - Bacterias termófilas.
 - Bacilos aerobios formadores de esporas.
 - Bacilos anaerobios formadores de esporas.
- 5) Formas de cocos.
- 6) Bacterias fijadoras de nitrógeno.
- 7) Bacterias nitrificantes.

Estas bacterias se encuentran en el agua de lagos, arroyos y pantanos.

1.3 Contaminación bacteriana de las aguas naturales. -

Además de las bacterias normales (naturales) del agua, ésta puede contener una diversidad de bacterias que la contaminan de fuentes externas las que pueden ser el aire, el suelo y por excretas humanas y animales.

En circunstancias apropiadas, las bacterias suspendidas en el aire son las que se expulsan de las vías respiratorias humanas y animales, pero en cuanto se refiere al aire en general, es hecho insignificante y relativamente raro. Se han encontrado en el aire de hospitales y cuartos de enfermos microorganismos patógenos.

Por regla general las bacterias patógenas son excesivamente raro encontrarlas en el polvo seco. Los microorganismos que se encuentran en el aire varían según los lugares.

Muchas bacterias que se encuentran en el aire, en particular las aerobias formadoras de esporas, son esencialmente formas propias del suelo. Una pequeña parte de la flora bacteriana propia del suelo está formada por bacterias patógenas como Clostridium por citar un ejemplo.

En la práctica, puede considerarse que los patógenos que se encuentran en el suelo provienen ya sea de carne de animales o humanos muertos por una enfermedad in-

fecciosa y de las excretas animales y humanas.

Contaminación por excretas: La contaminación del agua por excretas puede realizarse no sólo por las presentes en el suelo sino también en forma directa, siendo ésta en su mayor parte consecuencia de las densidades de población humana y de la organización urbana.

1.4 Aguas negras.-

Se considera como aguas negras el agua ya usada del abastecimiento de una población, y como tal es una dilución de materia fecal y otros desperdicios. Desde el punto de vista higiénico, las aguas negras son vehículo importante en la transmisión de enfermedades entéricas.

Las aguas negras contaminadas ya sea directa o indirectamente no sólo contienen la flora bacteriana propia del agua sino también la flora del suelo, además de la de las excretas humanas y animales, siendo estas últimas las causantes de enfermedades transmisibles de gran importancia.

Entre las bacterias presentes en las aguas negras se pueden encontrar: Enterobacterias, bacilos gramnegativos no fermentadores, formas cocoideas y así pudiéramos citar la mayoría de las formas patógenas para el ser humano.

CAPITULO II

ESTRUCTURA Y METABOLISMO BACTERIANO

II.1 Generalidades.-

Las bacterias son microorganismos unicelulares con un tamaño promedio de 0.2 a 10 micras; se reproducen por fisión binaria con la producción de dos células hijas de igual tamaño.

Las bacterias esféricas que son los cocos pueden formar pares, cadenas o racimos irregulares. Las formas helicoidales o espirales incluyen los espirilos y vibriones.

Los bacilos son bacterias en forma de bastoncillos, algunos encapsulados y/o esporulados. También hay microorganismos filamentosos, algunos de éstos crecen con ramificaciones y llegan a formar micelio (Actinomicetos).

II.2 Clasificación bacteriana.-

Las bacterias para su estudio se han clasificado según: sus propiedades de coloración, tamaño, forma, motilidad, tipo de flagelo, cápsula, etc.

La enfocaremos sólo a sus propiedades de coloración :

La coloración de Gram permite clasificar las bacterias en: las bacterias grampositivas y las bacterias gramnegativas.

Según se trate de las bacterias, la composición de la pared es diferente entre las bacterias grampositivas, - las gramnegativas y las denominadas ácido alcohol resistentes, no obstante su componente "esquelético" es común en los tres tipos de bacterias, éste es el peptidoglicano; sus componentes son dos aminoazúcares alternantes unidos por enlaces beta-1-4 (N-acetilglucosamina y el ácido N-acetilmurámico, en las bacterias ácido alcohol resistentes, éste está sustituido por el ácido N-glicosilmurámico). En las bacterias gramnegativas la pared es más compleja en su composición y estructura, pues en ella predominan las proteínas, los fosfolípidos y los lipopolisacáridos.

11.3 Metabolismo energético bacteriano.-

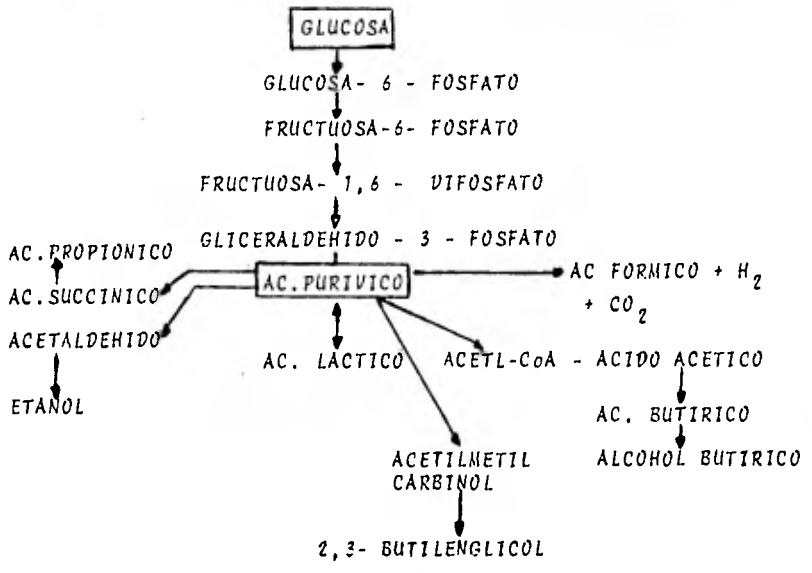
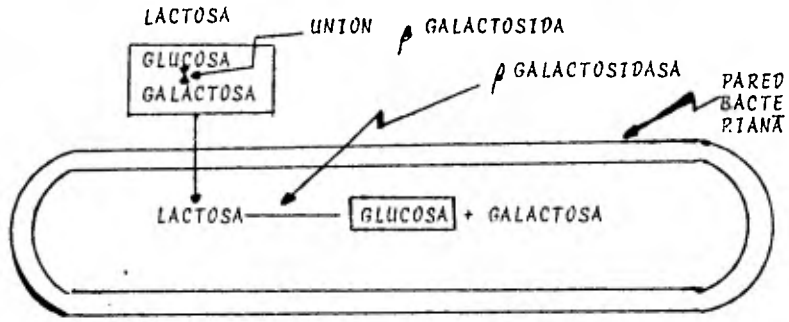
La degradación bacteriana de los hidratos de carbono tiene lugar por varias vías metabólicas e implica una serie de etapas en las que los iones hidrógeno son transferidos sucesivamente a compuestos de mayor potencial redox, con la liberación final de energía en la forma de Adenosina Trifosfato (A.T.P.).

La glucosa constituye para la bacteria la principal fuente de carbono y su degradación se produce por tres vías principales y son: la vía Entner-Douderofff (E.D.), la vía Embden-Meyerhof-Parnas (E.M.P.) y la vía de Warburg-Dickens (Hexosa monofosfato o H.M.P.); la conversión de la glucosa en ácido pirúvico se lleva a cabo en cada una de estas tres vías por medio de una serie de diferentes etapas de degradación.

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

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

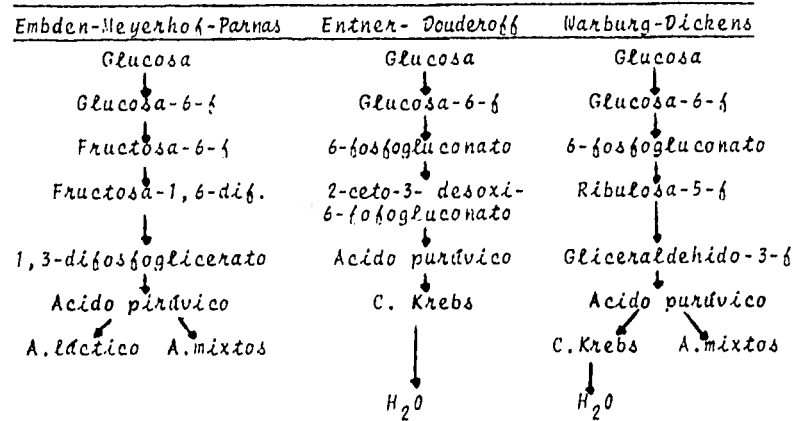
Ahora enfocaremos la vía utilizada por la mayoría de los bacilos gramnegativos no fermentadores, siendo esta la vía de Entner-Douderofff; la cual es también llamada aerobia ya que requiere oxígeno para que se lleve a cabo la glucólisis.



FERMENTACION ACIDO MIXTA REALIZADA POR BACTERIAS GRAMNEGATIVAS.

La glucosa en la vta de E.D. no se divide en dos - triosas como en la vta de E.M.P.; en lugar de ello es oxi dada a 6-fosfogluconato y 2-ceto-3-desoxi-6-fosfogluconato antes de la formación de ácido pirúvico. Carentes de las deshidrogenasas necesarias para oxidar el ácido pirúvico a ácido láctico u otros ácidos mixtos, las bacterias oxidativas más bien transfieren los iones H disponibles - del ácido pirúvico al ciclo de Krebs donde finalmente se unen al oxígeno elemental para formar agua.

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



VIAS METABOLICAS PARA LA DEGRADACION BACTERIANA DE LA -
GLUCOSA (Diagnostico microbiológico de Koneman)

CAPITULO III

BACILOS GRAMNEGATIVOS NO FERMENTADORES

III.1 Generalidades.-

Los bacilos gramnegativos no fermentadores no representan un grupo taxonómicamente bien definido, sino más bien comprenden más de treinta especies englobadas en géneros entre los que se encuentra: Pseudomonas, Acinetobacter, Aeromonas, Plesiomonas, Flavobacterium, Achromobacter, Alcaligenes, Bordetella y Noraxella.

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

III.2 Familia: PSEUDOMONADACEAE

La familia Pseudomonadaceae contiene bacilos rectos o curvos gramnegativos móviles por uno o varios flagelos polares, cuyo metabolismo es respiratorio, nunca fermentativo.

2.1 Género: Pseudomonas

Las bacterias del género Pseudomonas se definen como bacilos gramnegativos, casi siempre móviles por uno

o varios flagelos polares, aerobios estrictos; su metabolismo utiliza sólo la vía oxidativa.

Pseudomonas son bacterias muy repartidas en la naturaleza; su hábitat fundamental es el suelo y el agua, y de ahí pasan a todos los seres vivos, vegetales, animales y al hombre.

Algunas especies son patógenas para los vegetales y animales y es en el hombre donde se constituye como un microorganismo típico oportunista, que causa infecciones fundamentalmente hospitalarias, con una marcada gravedad y una alta mortalidad a la vez que es patente su resistencia a los antibióticos.

2.1.a P. aeruginosa

Es la especie del género Pseudomonas que mejor se conoce; el tamaño de la célula de P. aeruginosa varía considerablemente; por lo general aparece como pequeños bastoncillos delgados; existe un único flagelo polar que permite a la bacteria ser activamente móvil; los bacilos se tiñen con colorantes de anilina y son gramnegativos.

Las colonias son grandes y diseminadas, con bordes irregulares y consistencia mucóide. Las cepas producen un pigmento azul (piocianina) o verde azulado que difunde

en el medio; también se producen pigmentos fluorescentes que varían de color del amarillo verdoso al amarillo pardusco llamado pioverdina y la piomelanina que tiene un color marrón negro. La piocianina es un pigmento exclusivo de *P. aeruginosa*, pero los pigmentos fluorescentes también son producidos por otras especies.

Se encuentra distribuida *P. aeruginosa* con amplitud en la naturaleza y es frecuente descubrirla en los ambientes húmedos de los hospitales.

Patogenia en el hombre: Se consideró a *P. aeruginosa* como un saprofito inofensivo o al menos, como un microorganismo con un poder patógeno insignificante; sin embargo se ha hecho evidente que el microorganismo se asocia de forma causal con gran variedad de infecciones por lo general de naturaleza nosocomial, en pacientes que tienen sus defensas inmunológicas comprometidas, y se relaciona con cambios en las modalidades terapéuticas en los hospitales modernos.

Pese a sus muchos determinantes de virulencia, se considera que *P. aeruginosa* es un patógeno oportunista, que rara vez es capaz de producir una infección primaria en individuos sanos normales.

Entre los pacientes que tienen un riesgo especial de sufrir una infección por Pseudomonas se encuentran aquellos que sufren terapia inmunosupresora o procedimientos invasivos de diagnóstico y terapéuticos. Frecuentemente los pacientes quemados son colonizados, así como aquellos que tienen heridas de origen quirúrgico o de otro tipo.

Diagnóstico bacteriológico: Normalmente las muestras clínicas que van a ser examinadas para detectar la presencia de Pseudomonas, se cultivan en agar sangre (no siendo necesaria la sangre) y en uno de los medios selectivos menos inhibidores, que se utilizan para bacilos gramnegativos entéricos por ejemplo agar McConkey o E.H. B. a las colonias sospechosas, se les aplica la tinción de gram, realizándose un subcultivo en agar KIA o en otros medios para establecer que el microorganismo aislado es un bacilo gramnegativo aerobio, que no fermenta los carbohidratos.

La producción de pigmentos es una evidencia presuntiva (piocianina) de P. aeruginosa.

2.1.6 P. putida

Se ha aislado P. putida de fuentes de agua en hospitales, nebulizadores ultrasónicos y catéteres intraveno

sos, rara vez se les asocia a enfisema, infecciones de --
heridas, septicemia y abscesos.

P. putida no hidroliza la gelatina, produce piover
dina; por ende es fluorescente, no produce piocianina. Las
cepas del biotipo A crecen a 4 grados centígrados y casi
todas las cepas del biotipo B no lo hacen; desarrolla muy
bien en medios como X.L.D. y A.D.C. y en Mc Conkey, con -
frecuencia produce pigmentos verdosos.

2.1.c P. mallei

El bacilo del muermo es un bastoncillo pequeño rec
to, o levemente curvo que normalmente tiene los extremos
redondeados y con frecuencia un contorno irregular; en -
cultivo los bacilos pueden aparecer en pares. Los baci--
los son inmóviles no capsulados y no producen esporas.

En agar las colonias son pequeñas, redondas, conve
xas y de consistencia amorfa; con el tiempo se hacen opa
cas con el centro de color marrón claro. Los bacilos son
gramnegativos, tiñéndose también con azul de metileno al
calino de Loeffler.

P. mallei crece en medios de cultivo normales, pe
ro en un aislamiento primario, este crecimiento es pobre
y lento; generalmente se necesita una incubación de 18 -

horas a una temperatura de 37 grados para que el bacilo - crezca uniformemente.

El muermo que sólo aparece en los caballos, mulas, asnos, pero ocasionalmente, se trasmite a otro animal y - al hombre.

Patogenicidad para el hombre: En las áreas endémicas, los veterinarios y aquellas personas que participan en el cuidado de los caballos son los más propensos a contraer el muermo. Los cultivos recién aislados son muy virulentos y puede el personal de laboratorio contraer infecciones con desarrollos fatales.

En el hombre la forma aguda de la enfermedad del muermo, con fiebre elevada y síntomas de infección generalizada es la más común; la mayoría de los casos termina fatalmente en dos o tres semanas y a veces algunos días - después del inicio. De vez en cuando puede aparecer la forma crónica y persiste durante meses e incluso años, - con una úlcera que se extiende y otras características - muy parecidas a las de los caballos.

Ni el ataque de la enfermedad ni el producido por la inmunización artificial confieren inmunidad permanente frente al muermo.

2.1.d P. pseudomallei

Pseudomonas pseudomallei tiene una morfología y unas propiedades de tinción similares a las de otras Pseudomonadaceas. En contraste con P. mallei, Pseudomonas pseudomallei es móvil, crece a 42 grados centígrados y licúa la gelatina.

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

El bacilo es de vida libre y en las áreas endémicas se encuentran en el suelo húmedo y en el agua.

La melioidosis, producida por P. pseudomallei es una enfermedad cuya sintomatología es similar a la del muermo.

La infección que aparece de manera natural afecta sobre todo a los roedores. La melioidosis en el hombre puede asumir muchas formas clínicas, Estas infecciones tienen un porcentaje de mortalidad elevado.

2.1.e P. alcaligenes

Se ha aislado de charcos, ríos, piscinas, acuarios, en leche fresca y de heces humanas. Pseudomonas alcaligenes es un patógeno oportunista que ha sido aislado de la sangre de pacientes con piroxia, de la orina, de vías respiratorias y de abscesos.

2.1.f P. pseudoalcaligenes

Las especies alcaligenes y pseudoalcaligenes del género Pseudomonas no son pigmentadas y no licúan la gelatina ni producen ácidos con azúcares, crecen a 41 grados centígrados y son monotricos.

P. pseudoalcaligenes y P. alcaligenes se han aislado de equipo terapéutico. Ningún antibiótico por sí solo es efectivo contra todos los miembros de estas dos especies.

2.1.g P. fluorescens

P. fluorescens, es un contaminante ambiental y en raras ocasiones, un patógeno oportunista para el hombre.

P. fluorescens se ha aislado de heridas, esputo, líquido pleural, orina, y en sangre de transfusiones; es un bacilo recto gramnegativo no fermentador, crece entre 25

y 40 grados centígrados y son monotricos. Es capaz de -- crecer en medio de base mineral, sin factores de creci- - miento con amonio como única fuente de nitrógeno y de glu- cosa como única fuente de energía y de carbono.

Se consideran biotipos de P. fluorescens las Pseu- domonas que producen pigmentos fenaclicos modificados co- mo la fenacina alfa carboxilica, clorarrarina y oxiclora- rarina.

2.1.h P. stutzeri

Pseudomonas stutzeri se localiza en el suelo y el agua; se ha aislado además del estiércol en humus, paja , agua de desecho, aguas estancadas, alimentos preparados - para niños, heces humanas y en animales.

En muestras clínicas P. stutzeri ha sido aislada - de heridas, esputos, garganta, y nariz sangrante, líquido cefalorraquídeo, orina, oídos, genitales, ojos, y en he- ces humanas, aunque generalmente no se le ha asociado con ninguna enfermedad, se cree que vive como saprofito en el cuerpo humano.

Además de las características de Pseudomonas, P. - stutzeri produce un pigmento intracelular amarillo, crece produciendo colonias rugosas, es móvil con flagelo polar_

monótrico, crece bien en agar desoxicolato citrato a 37 - grados centígrados.

2.1.i P. cepacia

Los nombres de P. multivorans y P. Kingii son sinónimos de P. cepacia; frecuentemente se recupera de agua - en medio nosocomial, en diversos instrumentos médicos y - se ha aislado de diversas muestras de tipo clínico; es un patógeno oportunista que interviene en una gran variedad de infecciones a menudo adquiridas en los hospitales.

2.1.j P. acidovorans y P. testosteroni

Estos microorganismos crecen entre los 35 y 42 grados centígrados; no utiliza ningún tipo de carbohidrato. P. acidovorans y P. testosteroni se han aislado de fuentes humanas como: sangre, orina y tracto respiratorio; se les aisló también de abscesos y heridas, pero no se les ha atribuido significación clínica a estos aislamientos.

Un organismo llamado Comomonas se considera idéntico a P. acidovorans y a P. testosteroni. Su nombre fue originalmente Vibrio terrigenus, luego cambió a Vibrio percolans, en seguida a Lophomonas alcaligenes y finalmente Comomonas terrigena. Es un organismo del suelo que se encuentra muy raramente en material clínico; sólo se di-

ferencia de los anteriores por ser ureasa positivo y citrato de Simmons negativo.

2.1.k P. maltophilia

Se le ha aislado de diferentes puntos de la economía humana, siendo más frecuente aislarla de tracto respiratorio por su ambiente húmedo; la podemos localizar en sangre, en orina, y es frecuente aislarla de heridas quirúrgicas; se encuentran también en la leche, aguas potables, aguas estancadas, en ríos, y en aguas de desecho; también puede estar como contaminante de cultivo de tejidos.

P. maltophilia es la única Pseudomona oxidasa negativa, es un patógeno oportunista ocasional, posee flagelos multitrícos, algunas cepas producen pigmentos amarillos o pardos.

2.1.l P. diminuta y P. versicularis

Crecen en agar de Mc Conkey; casi todas las cepas forman un pigmento soluble; han sido aisladas de aguas corrientes y de aguas de acequias, y contaminando cultivo de tejidos en equipo terapéutico de inhalación; también ha sido aislada de fuente humana, pero no se le atribuye significado etiológico.

2.1.m P. putrefaciens

Pseudomonas putrefaciens se localiza en el suelo, heces, agua de desecho, aguas corrientes y estancadas, en el gas natural y en el agua salada. P. putrefaciens ha sido aislada de muestras clínicas de procedencia humana tales como: sangre, orina, esputo, secreciones de heridas, abscesos, úlceras y de otitis media además de escobillados faríngeos.

Muchas cepas de P. putrefaciens requieren una incubación de 48 horas en agar desoxicolato citrato y otras no crecen en este medio. P. putrefaciens es un bacilo con flagelo polar y conserva las características propias del género Pseudomonas.

III.3 Familia: VIBRIONACEAE

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

Esta familia incluye tres géneros de importancia médica: Vibrio, Aeromonas, y Plesiomonas. Las especies del género Vibrio, de interés clínico humano, son princi-

palmente patógenos intestinales, en tanto que Aeromonas y Plesiomonas dan lugar a cuadros clínicos en diversas locaciones.

3.1 Género: Aeromonas

Las especies de Aeromonas son bacilos gramnegativos no esporulados; algunas poseen flagelo polar, tanto en la morfología como en la tinción de gram, son similares a Pseudomonas. Se distinguen claramente por la forma de fermentar la glucosa por parte de Aeromonas ya que Pseudomonas la oxida.

Aeromonas presentan una reacción para la oxidasa de manera positiva, lo que las distingue de algunos géneros de Enterobacterias; no presenta la formación de pigmento característico de Pseudomonas y su prueba de indol positiva.

3.1.a A. hydrophila y A. punctata

La Aeromonas hydrophila es la especie de este grupo más comúnmente hallada en la práctica clínica. Este organismo puede provocar diarrea transitoria e infecciones en heridas, complicadas a veces con celulitis y raramente con septicemia.

Se ha encontrado a Aeromonas hydrophila en particular en huéspedes sometidos a inmunosupresión; el hábitat natural de las Aeromonas se encuentra en el agua, ya sea dulce o de mar; las bacterias también residen en sifones o desagües de piletas.

Aeromonas hydrophila y Aeromonas punctata pueden desarrollar en medios de aislamiento entérico como: agar Mc Conkey, agar X.I.D. o agar desoxicolato citrato, produciendo colonias ya sea lactosa positivas o lactosa negativas similares a las de las enterobacterias; sin embargo, las podemos diferenciar de éstas porque producen citocromo oxidasa.

A. punctata a diferencia de A. hydrophila es citrato de Simmons negativo.

3.1.b A. salmonicida

El hábitat natural de ésta es sin lugar a dudas el agua. Se han aislado estos microorganismos de heces humanas, lesiones cutáneas y heridas.

Es V.P. negativa y no forma gas a partir de glucosa; es una bacteria infrecuente; además, no ha sido implicada en enfermedades humanas.

3.2 Plesiomonas shigelloides

El género Plesiomonas se ha aislado de aguas dulces y saladas y de las secreciones intestinales de animales.

Anteriormente denominada Aeromonas shigelloides, es también oxidasa positivo; es fermentadora de la glucosa, es un bacilo gramnegativo, se le ha encontrado en aguas negras y forma parte de la flora fecal de animales. En la especie humana se le ha encontrado en casos de gastroenteritis, celulitis, septicemia y en casos de meningitis.

3.3 Género: Flavobacterium

Este género comprende bacilos gramnegativos aerobios estrictos, inmóviles, oxidasa positivos, que producen colonias pigmentadas. La producción de ácido a partir de algún carbohidrato suele ser lenta o no se observa.

3.3.a Flavobacterium meningosepticum

Aún siendo excepcionalmente patógena ha sido responsabilizada de epidemias de meningitis en lactantes y prematuros.

Aunque estas infecciones generalmente se deben a contaminación del equipo y soluciones del hospital, el aislamiento de F. meningosepticum de los genitales femeni

nos sugiere éstos como fuente posible de infección del -- neonato.

III.4 Familia: NEISSERIACEAE

La familia NEISSERIACEAE está compuesta por cocos_ y cocobacilos aerobios, con tendencia a agruparse en pa-- rejas; se dividen en cuatro géneros: Neisseria, Kingella, Acinetobacter, y Moraxella.

Los géneros Acinetobacter y Moraxella, por su mor-- fología cocobacilar y sus propiedades metabólicas se acos-- tumbra estudiarlos entre los bacilos gramnegativos no -- fermentadores.

4.1 Género: Acinetobacter

Son bacterias muy ubicuas, que forman parte de la flora normal de la piel y mucosas de los aparatos respira-- torio, digestivo y genitourinario del hombre y animales ; su papel patógeno se relaciona con su capacidad oportunis-- ta, principalmente en el medio hospitalario, y con fenó-- meno de selección de abusos de antibióticos, estado de in-- munosupresión, múltiples actos quirúrgicos y exploratorios originan diversos procesos infecciosos localizados, supu-- raciones, meningitis, septicemia, etc.

4.1.a Acinetobacter calcoaceticus

En el género Acinetobacter sólo hay una especie la cual recibe el nombre de A. calcoaceticus; son bacilos gramnegativos aerobios no fermentadores; comúnmente forman parte de la flora normal. A. calcoaceticus es un patógeno oportunista, distribuido con amplitud en suelo y agua; se le ha aislado de esputo, piel, sangre, líquido pleural y orina.

4.2 Género: Moraxella

Las Moraxellas son parásitos animales, más comúnmente encontrados en las membranas mucosas del tracto respiratorio.

Casi todas las Moraxellas son nutricionalmente exigentes. El total de este género de bacterias son bacilos gramnegativos, cortos, no móviles, no pigmentados, son oxidasa positivos y no utilizan los hidratos de carbono. Los microorganismos son variables con respecto a su crecimiento en agar Mc Conkey.

III.5 Familia: LEGIONELLACEAE

Género : Bordetella

Las especies del género Bordetella se asocian a tosferina o a infecciones semejantes. Para el aislamiento

to de Bordetella se utiliza el medio de Bordet gengou, -- donde las cepas presentan las siguientes características: son pequeñas, transparentes, convexas, y lisas, y pueden mostrar un ligero tinte amarillo o verde; son oxidasa positivas y no atacan los azúcares.

III.6 Bacilos gramnegativos no fermentadores de afiliación no determinada

6.1 Género: Alcaligenes

Los miembros de este género son bacilos gramnegativos aerobios estrictos, oxidasa positivos, móviles por flagelos peritricos que utilizan sólo la vía oxidativa de la glucosa.

6.1.a Alcaligenes fecalis

Es una bacteria saprofita del agua y del suelo; - puede aislarse de cualquier área del organismo humano; ha dado lugar a infecciones oportunistas. En los hospitales se puede encontrar en los aparatos con humedad, como respiradores, sistema de hemodialisis y soluciones intravenosas.

6.1.b Alcaligenes odorans

También es móvil; produce un olor fuerte aromati-

co a manzana en medio de agar y produce una zona verde de decoloración en agar sangre.

CAPITULO IV
MEDIOS DE CULTIVO

IV.1 Generalidades.-

Las bacterias necesitan una serie de compuestos para su desarrollo (una fuente de carbono, nitrógeno, elementos inorgánicos y factores de crecimiento). Un medio de cultivo es un sustrato o solución de nutrientes en los que crecen y se multiplican los microorganismos, con el objeto de aislar e identificar las diferentes especies bacterianas y llevar a cabo una serie de estudios complementarios.

El desarrollo del microorganismo en un medio de cultivo depende de factores como:

- a) Debe contener los elementos alimenticios apropiados.
- b) Debe tener disponible el oxígeno necesario (cuando se requiera de este elemento).
- c) La humedad necesaria para el crecimiento del microorganismo.
- d) El medio tiene que otorgar el pH apropiado para el crecimiento de la bacteria.
- e) Debe de mantener las debidas relaciones de temperatura.

- f) El medio debe de ser estéril.
- g) Debe de impedirse al máximo la contaminación.

IV.2 Clasificación.-

Los medios de cultivo pueden dividirse según diferentes criterios: Por su consistencia, por su origen, por su composición, por su utilización.

2.1 Por su consistencia:

Medios sólidos

Un medio se puede preparar añadiendo agar a un medio líquido determinado; este conjunto convenientemente esterilizado, se vierte en una caja de petri o tubos; las exigencias nutritivas y las condiciones fisicoquímicas son similares a las de los medios líquidos, pero a diferencia de ellos los medios sólidos presentan la posibilidad de obtener colonias aisladas, separadas una de otra, siempre y cuando el inóculo sea lo suficientemente diluido para que no haya un crecimiento muy abundante.

Medios líquidos

Contiene los nutrientes citados inicialmente con la adición de algún tampón capaz de mantener el pH requerido para el crecimiento del microorganismo.

2.2 Por su origen:

Medios sintéticos

Los medios sintéticos son aquellos que poseen sus componentes químicos definidos. Los medios semisintéticos, son medios sintéticos a los que se les añaden factores de crecimiento bajo la forma de un extracto orgánico completo.

Medios naturales

Estos medios son los preparados a partir de sustancias naturales animales o vegetales, de composición no rigurosamente constante.

2.3 Por su composición

Medios comunes

Los medios comunes son los que como única finalidad tienen el crecimiento de los microorganismos poco exigentes.

Medios enriquecidos

Son medios comunes u ordinarios, a los que se añaden ciertos productos (suero, sangre, líquido ascítico, y/o glucosa, etc.), que permiten el aporte de factores de crecimiento o sustancias que neutralizan los agentes inhi

bidores del desarrollo de bacterias exigentes.

Medios de enriquecimiento

Son medios líquidos que favorecen o permiten la multiplicación de una bacteria en particular, inhibiendo parcialmente el crecimiento de otras.

Medios selectivos

Son medios de cultivo sólidos en los que la selectividad se consigue alterando las condiciones físicas del medio o añadiendo compuestos químicos que sean nocivos para las bacterias cuyo crecimiento no nos interesa.

Medios diferenciales

Son aquellos medios de cultivo en los que no sólo crecen determinadas bacterias, sino, además, las bacterias al actuar sobre alguno de los componentes específicos del medio demuestran algunas de sus propiedades características de su familia, género o especie.

2.4 Por su utilización

Medios de transporte

Son los medios de cultivo que se utilizan para asegurar la viabilidad de las bacterias en el momento de la toma, hasta su posterior siembra en el laboratorio o para

su envío de un laboratorio a otro.

Medios de conservación

Estos medios de cultivo se utilizan para mantener la viabilidad de las bacterias y sus caracteres morfológicos y fisiológicos. Un gran número de los medios de cultivo utilizados en el laboratorio de microbiología son mixtos con finalidad de varios grupos de los antes citados.

CAPITULO V

MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS PARA EL AISLAMIENTO E
IDENTIFICACION BIOQUIMICA DE BACILOS GRAMNEGATIVOS
NO FERMENTADORES EN MUESTRAS DE AGUAS NEGRAS

V.1 Introducción.-

Cada muestra que llega al laboratorio de microbiología para ser analizada se inocular en diversos medios de cultivo cada uno de los cuales se ha elegido por su capacidad para aumentar la recuperación de ciertos agentes - etiológicos; algunos diferencian un grupo de microorganismos de otros por sus características fisiológicas, y -- otros medios enriquecidos aseguran el crecimiento de la mayoría de las bacterias.

La elección de un medio de cultivo adecuado es sumamente importante porque al optar entre muchas alternativas el laboratorista está predestinando los límites o las capacidades del laboratorio, ya que de él depende la elección de un medio de cultivo adecuado, según sea la muestra a analizar.

Medio de enriquecimiento

V.2 Caldo G. N. (Caldo Gramnegativo, Caldo Hajna)

Es un medio líquido selectivo utilizado para el -

cultivo de organismos gramnegativos procedentes de muestras de: agua, orina, coágulo de sangre, torundas impregnadas de microorganismos procedentes de utensilios de la comida y la bebida, de muestras procedentes de la garganta y a partir de especímenes de esputos, se recomienda una temperatura de 30 grados centígrados para muestras de esputos y de 37 grados para muestras de aguas.

. Los componentes principales del caldo gramnegativo son: Triptosa que sirve como nutriente en el medio.

Citrato sódico y desoxicolato sódico: Son bactericidas para microorganismos grampositivos e inhiben el desarrollo de coliformes, mientras que los fosfatos sirven como tampones o buffers. La incrementada concentración de manitol sobre dextrosa ayuda a limitar el crecimiento de algunas enterobacterias y acelera el crecimiento de las que son capaces de fermentarlo. Pseudomonas y Proteus crecerán en el medio sin ninguna dificultad y sin afectar el crecimiento de otras bacterias gramnegativas.

V.3 Agar Mc Conkey

Medio de aislamiento primario

Este medio de cultivo es de uso diferencial, para uso en el aislamiento y diferenciación entre organismos -

fermentadores y no fermentadores de lactosa, de bacterias entéricas gramnegativas. Se basa en el agar de sales biliares-rojo neutro-lactosa y ha sido utilizado generalmente para el aislamiento selectivo de bacilos gramnegativos procedentes de muestras clínicas; se recomienda para la siembra microbiológica de aguas, de embutidos y para el aislamiento de bacterias patógenas presentes en productos lácteos.

La acción diferencial del agar de He Conkey se basa en la fermentación de la lactosa. Las colonias de los microorganismos capaces de fermentar la lactosa, producen una calda localizada de pH, lo cual, seguido por la absorción del rojo neutro imparte un color rojo a la colonia. Puede presentarse también una zona de precipitado biliar debido al cambio de pH. Las colonias de organismos que no fermentan la lactosa, permanecen incoloras y traslúcidas. La selectividad del medio se debe a la presencia de violeta cristal y de sales biliares que inhiben casi completamente el crecimiento de microorganismos grampositivos.

Una placa que muestre las colonias en un desarrollo discreto es lo más deseable para fines de aislamiento.

Inocule la muestra directamente sobre la superficie del medio y realice su siembra por el método de aisla

miento, incube sus placas ya inoculadas a 35 grados centígrados. Examine para detectar crecimiento entre las 18 y 24 horas después del inicio de la incubación.

V.4 Agar desoxicolato citrato (A. D. C.)

Medio de aislamiento primario

En el medio de cultivo A. D. C. se inhibe el crecimiento de bacterias coliformes y de bacterias grampositivas o se suprimen considerablemente debido al desoxicolato sódico y al citrato sódico presentes en la fórmula; la selectividad del medio permite el uso de inóculos abundantes; si la lactosa del medio se fermenta provoca una acidificación del medio alrededor de la colonia. El cambio del pH hace que el indicador rojo neutro cambie a rojo y que la bilis precipite. La reducción del citrato férrico amónico a sulfuro de hierro ocasionada por organismos que producen sulfuro de hidrógeno viene dada por el ennegrecimiento de la parte central de la colonia. La colonia lactosa positiva es de color rosa rodeada de una zona de precipitado biliar; las colonias lactosa negativas son incoloras, se sugiere se incube las placas a 35-37 grados centígrados de 18 a 24 horas. Su siembra debe ser por aislamiento.

V.5 Agar Xilosa Lisina desoxicolato (X. L. D.)

El agar X L D contiene lactosa, sacarosa y xilosa, - luego cualquier microorganismo que los utilice con forma- ción de ácido produce colonias pigmentadas de amarillo. - Las bacterias que no utilizan estos carbohidratos forman colonias que utilizan la lisina, a menudo presentan un - tinte anaranjado. El medio de X. L. D. se utiliza para - la diferenciación de bacterias entéricas, debe ser incuba do a 35 grados por 24 horas.

V.6 Medios de identificación bioquímica para bacilos gramnegativos no fermentadores

6.a Agar hierro de Kligler (K. I. A.)

Se utiliza para la identificación de bacilos gram- negativos basada en la fermentación de la glucosa y la - lactosa, y en la producción de sulfuro de hidrógeno. Di- ferencia entre los organismos que fermentan los carbohi- dratos (glucosa y lactosa) de los que no tienen ninguna - acción o de los que llevan a cabo un metabolismo oxidati- vo.

Se prepara el medio con rojo de fenol como indica- dor de la producción de ácido; además, sulfato ferroso -- como indicador de la producción de sulfuro de hidrógeno - por la bacteria. Esta combinación de ingredientes propor

ciones reacciones sensibles, distintas y bien definidas.

Para obtener reacciones diferenciales de cultivo es necesario que la bacteria a identificar provenga de una colonia aislada (no contaminada); se recomienda tomar de los medios de aislamiento la colonia más alejada de la zona de inóculo y que se encuentre sobre la zona de la estirpe lo que nos asegura que no estamos tomando una colonia contaminante del medio de cultivo y además asegurarnos de no arrastrar colonias que por no estar aisladas nos puedan dar resultados falsos y llevarnos a una "identificación" errónea de la bacteria.

Si la colonia no se encuentra aislada se aconseja volver a sembrar en medios de aislamiento, tomando el inóculo de los medios de aislamiento iniciales para poder tener una colonia adecuada sin ningún tipo de contaminante, la que nos dará reacciones características de la bacteria.

Base para los medios de fermentación de carbohidratos: Se han ideado varias fórmulas como base de medios (caldos o agaros) para detectar propiedades fermentadoras de carbohidratos de las bacterias; la selección depende en gran parte de la preferencia personal.

El agar hierro de Kligler (K.I.A.) y el agar triple

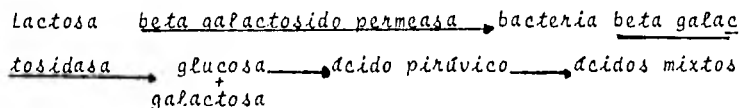
azúcar hierro (T.S.I.) son virtualmente indispensables para la identificación de bacilos gramnegativos recuperados en medios de aislamiento primario.

Las siguientes observaciones son importantes en el estudio de la fórmula de KIA. La incorporación de cuatro compuestos proteicos: extracto de carne, extracto de leva dura, peptona y proteosa peptona, hace que el KIA y el TSI sean muy ricos desde el punto de vista nutritivo, y la falta de inhibidores permite el desarrollo de todas las especies bacterianas, salvo las más exigentes.

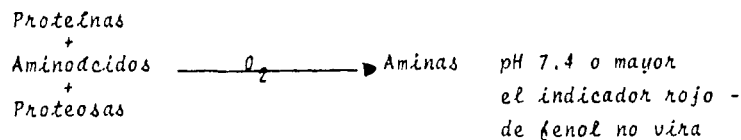
La lactosa está presente en una concentración 10 veces mayor que la glucosa (la relación sacarosa a glucosa es también de 10 a 1 en el TSI). El sulfato ferroso es el detector de la producción de ácido sulfhídrico por la bacteria. El indicador rojo de fenol es amarillo a pH de menos de 6.8. Puesto que el pH final del medio está estabilizado a 7.4, la producción de cantidades relativamente pequeñas de ácido provocan un cambio visible de color.

Fermentación de la lactosa: La lactosa es un disacrido compuesto por glucosa y galactosa unidos por un enlace galactosido, por hidrólisis se destruye esta unión dejando libres los monosacáridos (glucosa y galactosa). Para que una bacteria utilice la lactosa deben estar pre-

senten las enzimas beta galactosido permeasa, que permiten el paso de la lactosa a través de la pared celular, y la beta galactosidasa requerida para la hidrólisis una vez que el disacrido ha ingresado a la bacteria. La reacción ácida proviene de la degradación de la glucosa como se observa en las siguientes reacciones:



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



En el fondo del tubo donde no hay oxígeno, la de--

gradación proteica es mínima y se puede detectar incluso pequeñas cantidades de ácido por la aparición de un color amarillo. En ausencia de fermentación de carbohidratos, no se forman ácidos y la producción de aminas en el pico, junto con los buffers alcalinos, hace que todo el medio aparezca de color rojo.

Las bacterias que producen este tipo de reacción son conocidas como "no fermentadoras". Un KIA o un TSI negativo es una de las importantes indicaciones de que un organismo no pertenece a la familia enterobacteriacea.

Si el tubo de KIA es inoculado con un organismo fermentador de glucosa que no puede utilizar la lactosa, sólo se puede obtener una cantidad relativamente pequeña de ácido, ya que la concentración de glucosa en el medio es de sólo 0.1%. Inicialmente, durante las primeras 8 a 12 horas de incubación aun esta cantidad de ácido puede ser suficiente para hacer virar tanto el fondo como el pico al color amarillo; sin embargo, en las pocas horas siguientes, las proteinas de la parte inclinada del tubo, por acción del oxígeno y las bacterias comienza a liberar aminas que contrarrestan las pequeñas cantidades de ácido. A las 18 a 24 horas, todo el pico retorna a un pH alcalino, retomando un color rojo. En el fondo del tubo la de-

gradación proteica es insuficiente para contrarrestar el ácido formado, y se mantiene el color amarillo. De modo que la reacción pico alcalino / fondo ácido en el KIA -- (o TSI), es un importante indicador inicial de que el organismo en estudio no es un fermentador de lactosa:

Pico: Lactosa → NO EXISTEN ENZIMAS → NO HAY FORMACION DE ACIDOS.

Fondo: Glucosa 0.1% → ácido pirúvico → ácidos mixtos
 indicador vira a amarillo.

Las bacterias que utilizan la lactosa (lactosa y/o sacarosa en el TSI), producen en el KIA cantidades relativamente grandes de ácido debido a la mayor concentración de lactosa en el medio y suficientemente grandes para superar la reacción alcalina desarrollada en el pico, y todo el tubo permanece amarillo:

Pico: Lactosa beta galactosidasa $\xrightarrow[\text{glucosa}]{\text{galactosa}}$ ácido pirúvico
 ácido pirúvico → ácidos mixtos → indicador rojo de fenol vira a amarillo

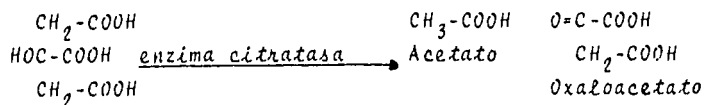
6.b Agar Citrato de Simmons

Se recomienda para la diferenciación de bacterias gramnegativas en base a la utilización del citrato como única fuente de C.

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

Algunas bacterias pueden obtener energía por vías distintas a la fermentación de carbohidratos. La utilización del citrato por una bacteria se detecta mediante la formación de productos alcalinos; el medio de cultivo Agar citrato de Simmons incluye: Citrato de sodio y fosfato de amonio como única fuente de nitrógeno. Las bacterias que pueden utilizar el citrato también pueden extraer nitrógeno de la sal de amonio, con producción de amoníaco, llevando a la alcalinización del medio por conversión del NH_3 en hidróxido de amonio. El azul de bromotimol es el indicador presente en este medio de cultivo, que tiene un viraje a amarillo a pH menor de 6.0 y a azul a pH mayor de 7.6.

Los microorganismos que fermentan el citrato inician el proceso con la siguiente reacción empleando la enzima citratasa:



El oxaloacetato puede entonces ser fermentado. Algunas moléculas son entonces oxidadas vía piruvato y - -

otras son reducidas a fumarato.

6.c Medio semisólido de S.I.M.

Movilidad

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

Indol

El indol es uno de los productos del metabolismo del aminoácido triptofano; las bacterias al poseer la enzima triptofanasa degradan el aminoácido con producción de indol, ácido pirúvico y amoníaco. El indol se puede detectar en un medio apropiado observando el desarrollo -

de un color rojo luego de añadir un reactivo que contiene p-dimetilaminobenzaldehído (reactivo de Erlich o Kovacs).

Triptofano $\xrightarrow{\text{enzima triptofanasa}}$ Piruvato + NH₃ +
Indol (Este en presencia del reactivo de Erlich o Kovacs
produce un viraje en el color del reactivo agregado)

Producción de sulfuro de hidrógeno.

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

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

terias.

- 4) Que las bacterias posean sistemas enzimáticos capaces de producir sulfuro de hidrógeno.

Medios Líquidos (Caldos)

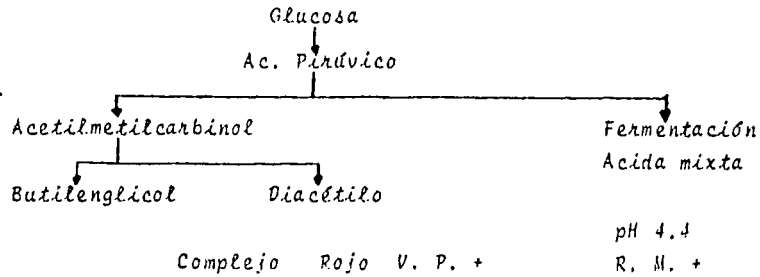
6.d R.M.-V.P. (caldo Rojo de metilo - Voges Proskauer)

Rojo de metilo

El medio consta de un indicador de pH con un intervalo entre 6.0 y 4.4. El pH al cual el rojo de metilo detecta la producción de ácido, es considerablemente menor que otros indicadores utilizados en medios de cultivo bacteriológicos.

El medio más comúnmente utilizado es el caldo Rojo de metilo - Voges Proskauer (R.M.V.P.) conteniendo dicho medio glucosa como sustrato hidrocarbonado.

Se inocula el caldo con una cepa pura del organismo en cuestión y se incuba a 35 grados por 24 horas. Para ver la producción de ácido en el medio se le añaden 5 gotas de la solución Rojo de metilo. Una reacción positiva se observa por un distinguible color rojo, que indica la presencia de ácido en el medio; la reacción negativa se da cuando el medio toma un color amarillo.



Reacciones que se llevan a cabo en los tubos para
las pruebas de R.M.-V.P.

Voges Proskauer

El ácido pirúvico formado en la degradación fermentativa de la glucosa es metabolizado a través de varias vías de acuerdo con los sistemas enzimáticos que poseen las diferentes especies de bacterias; una de las vías lleva a la producción de acetilmetilcarbinol; algunas de las enterobacterias producen este compuesto como principal subproducto del metabolismo de la glucosa; los bacilos gramnegativos no fermentadores (Pseudomonas, Acintobacter, Moraxella, Bordetella, Alcaligenes), presentan sólo reacciones negativas para las pruebas anteriores al no fermentar la glucosa y por lo tanto no producir ácidos en su metabolismo ni la producción de acetilmetilcarbinol.

Se inocula el tubo con una cepa pura del organismo

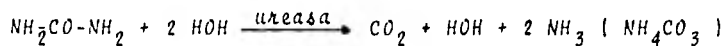
en estudio, se incuba durante 24 horas a 35 grados centígrados; al finalizar este periodo, se le añade 0.6 ml de alfa naftol al 5% y 0.2 ml de KOH al 40%; deben ser añadidos los reactivos en ese orden. Se agita el tubo para exponerlo al oxígeno atmosférico y se deja reposar durante 10 minutos; una prueba positiva está indicada por el desarrollo de un color rojo en el medio a los 10 minutos de añadidos los reactivos.

Nota: Los resultados de estas pruebas no deben ser leídos después de transcurrida una hora, pues los reactivos en el cultivo pueden producir un color cobrizo y por consiguiente se reportarían falsos positivos.

6.e Caldo Urea

La urea es una amida de ácido carbónico con fórmula $\text{NH}_2\text{CO-NH}_2$. Todas las amidas son fácilmente hidrolizadas con la liberación de amoníaco y dióxido de carbono.

La reacción efectuada por algunas de las bacterias en esta prueba bioquímica con la cual corroboramos si la bacteria es capaz de producir la enzima ureasa es la siguiente:



El amoniaco reacciona en solución para formar carbonato de amonio produciéndose así una alcalinización y un aumento del pH del medio. El medio ya inoculado se incuba por 24 horas a 35 grados centígrados. Los organismos que hidrolizan la urea pueden rápidamente producir reacciones positivas en 1 a 2 horas y las especies menos activas necesitan hasta 72 horas.

6.6 Manitol

Esta prueba es una reacción de fermentación de carbohidratos y contiene el manitol como carbohidrato de - - elección para la fermentación y rojo de fenol como indi--cador de la producción de ácido en el medio.

CAPITULO VI

METODO PARA EL AISLAMIENTO E IDENTIFICACION BIOQUIMICA DE BACTERIAS GRAMNEGATIVAS NO FERMENTADORAS EN AGUAS NEGRAS.

VI.1 Metodología

La investigación se llevó a cabo con 40 muestras - de aguas negras tomadas de los diques abiertos de la ciudad de Guadalajara, Jalisco.

Cada muestra se dividió en 5 alcuotas las que se trataron por separado. Cada alcuota fue sembrada en caldo gramnegativo (caldo Hajna) en tubos con 10 ml de caldo y 0.5 ml de muestra (aguas negras) se utilizaron mecheros encendidos para mantener el ambiente estéril y evitar la contaminación del medio. Se incubaron los caldos ya sembrados a 37 grados centígrados por 24 horas. Cumplido el lapso de las 24 horas, cada uno de los cultivos realizados anteriormente fueron sembrados en: Agar Mc Conkey, - Agar desoxicolato citrato, Agar xilosa lisina desoxicolato y se incubaron a 37 grados por 24 horas. Todas las cajas anteriormente sembradas fueron revisadas y las colonias sospechosas de ser no fermentadoras se sembraron en la siguiente serie de pruebas bioquímicas para su identificación: Agar K.I.A., Agar citrato de Simmons, Agar semi sólido de S.I.M. y en los caldos H.R.-V.P. Urea y Mani-

tol además de la prueba citocromo-oxidasa; todos los medios y los caldos fueron sembrados a 37 grados centígrados por 24 horas. Es importante que las lecturas de las reacciones bioquímicas sean hechas a las 24 horas porque algunas de las reacciones bioquímicas suelen alterarse si se prolonga el tiempo de incubación y no serán útiles en la identificación de la bacteria sospechosa pues no corresponderá el resultado con la bacteria que se está identificando, provocando esto una identificación errónea.

VI.2 Prueba de la citocromo-oxidasa (método)

Se usaron discos sensibles con diclorato de N,N,N',N'-tetrametil-p-fenilendiamina (160 mcg) y una suspensión bacteriana (se añade 0.3 ml de sol. salina y una asada de cultivo bacteriano puro), se coloca el sensibilizador en la suspensión bacteriana la cual tomará un color azul si el resultado es positivo y se conservará sin cambio si la prueba es negativa.

Luego de obtenidos los resultados de las pruebas de identificación bioquímica se compararon con la siguiente tabla de identificación:

	Cluc. lact. Pig.	Citrea-	Oxida- sac	Indol	H ₂ O	R.H.	Urea	Man- to- ol
<i>Pseudomonas</i> :								
<i>aeruginosa</i>	+ K K	+	+	-	-	-	v	v
<i>putida</i>	+ K K	NR	+	+	-	-	NR	v
<i>fluorecens</i>	+ K K	+	+	-	-	-	v	v+
<i>stutzeri</i>	+ K K	NR	+	+	-	-	NR	v+
<i>alcaligenes</i>	- K K	+	+	+	-	-	NR	-
<i>pseudoalcaligenes</i>	- K K	NR	+	+	-	-	NR	-
<i>pseudomallei</i>	- K K	+	+	-	-	-	v	v
<i>mallei</i>	- K K	+	+	+	-	-	v	+
<i>cepacia</i>	+ K K	+	+	+	-	-	+	+
<i>leostoeaxoni</i>	- K K	NR	+	+	-	-	NR	-
<i>acidovorans</i>	- K K	NR	+	+	+	-	NR	v
<i>mallophilia</i>	+ K K	-	+	+	-	-	-	-
<i>diminuta</i>	+ K K	NR	+	+	-	-	NR	-
<i>putrefaciens</i>	- K K	NR	+	+	-	-	NR	-
<i>Aeromonas</i> :								
<i>hydrophila</i>	- K A	+	+	+	-	+	-	+
<i>punctata</i>	- K A	NR	+	+	-	-	v	+
<i>salmonicida</i>	- K A	-	+	+	-	-	v	v
<i>Plesiomonas</i> :								
<i>shigelloides</i>	- K A	-	+	+	-	+	-	-
<i>Achromobacter</i> :								
<i>xylooxidans</i>	- K A	v	+	+	-	-	-	-
<i>Acinetobacter</i> :								
<i>calcoaceticus</i>	- K K	v	-	-	v	-	v	-
<i>Alcaligenes</i> :								
<i>faecalis</i>	- K K	v	+	+	-	-	v	-
<i>odorans</i>	- K K	+	+	+	-	-	-	-
<i>Bordetella</i> :								
<i>bronchiseptica</i>	- K K	+	v	-	-	-	-	-
<i>Moraxella</i> :								
<i>bovis</i>	- K K	-	+	-	-	+	-	-
<i>lacunata</i>	- K K	-	+	-	-	+	-	-
<i>lucifaciens</i>	- K K	-	+	-	-	NR	+	-
<i>kingii</i>	- K K	-	+	-	-	+	-	-
<i>nonlucifaciens</i>	- K K	-	+	-	-	+	v	-
<i>osloensis</i>	- K K	-	+	-	-	+	-	-
<i>phenylpyruvica</i>	- K K	-	+	-	-	+	+	-
<i>urethralis</i>	- K K	-	+	-	-	+	-	-

NOTAS:

- A: Producción de ácido. v: Reacción variable con
 K: Reacción alcalina. resultados + o - .
 NR: No desarrolló. v: Reacción variable con
 v: Reacción variable con resultados en su mayo-
 resultados en su mayo-
 a la positivos. a la negativos.

CAPITULO VII

R E S U L T A D O S .

VII.1 Relación de colonias identificadas en 40 muestras
de aguas negrasPseudomonas:

<u>aeruginosa</u>	41
<u>putida</u>	19
<u>mallei</u>	18
<u>alcaligenes</u>	15
<u>fluorecens</u>	12
<u>pseudomallei</u>	10
<u>stutzeri</u>	6
<u>maltophilia</u>	5
<u>cevacia</u>	3
<u>putrefaciens</u>	1

Aeromonas:

<u>hydrophila</u>	17
<u>salmonicida</u>	11
<u>punctata</u>	6

Acinetobacter:

<u>calcoaceticus</u>	5
--------------------------------	---

<u>Plesiomonas:</u>	
<u>shigelloides</u>	5
<u>Flavobacterium:</u>	
<u>meningosepticum</u>	4
<u>Achromobacter:</u>	
<u>xulosoxidans</u>	2
<u>Alcaliáenes:</u>	
<u>faecalis</u>	2
<u>odorans</u>	1

Un total de 183 bacterias identificadas como bacterias gramnegativas no fermentadoras en 40 muestras de -- aguas negras.

Las infecciones intrahospitalarias pueden ser producidas por una flora heterogénea y cambiante integrada -- no sólo por patógenos primarios sino además por una gran variedad de patógenos potenciales u oportunistas que forman parte de la flora normal del organismo o se comportan como saprofitos.

El grupo más importante está constituido por bacilos gramnegativos oportunistas pues éstos intervienen en -- más del 60% de las infecciones, seguido de un 30% de in-- fecciones producidas por las bacterias grampositivas oportu

tunistas como los géneros: Clostridium, Corinebacterium, Bacillus entre otros géneros no menos importantes.

VII.2 Los resultados obtenidos por muestra fueron los siguientes:

Número de muestra	allicuota	Bacteria
1	1	- <u>Aeromonas hydrophila</u>
	2	- N.D. (No Desarrollo)
	3	- N.D.
	4	- <u>Pseudomonas alcaligenes</u>
	5	- <u>Pseudomonas mallei</u>
2	1	- <u>Pseudomonas mallei</u>
	2	- <u>Pseudomonas mallei</u>
	3	- <u>Pseudomonas mallei</u>
	4	- N.D.
	5	- <u>Pseudomonas putrefaciens</u>
3	1	- N.D.
	2	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	3	- N.D.
	4	- <u>Pseudomonas fluorescens</u>
	5	- N.D.
4	1	- <u>Pseudomonas pseudomallei</u>
	2	- <u>Pseudomonas pseudomallei</u>
	3	- N.D.

Número de muestra	alícuota	Bacteria
4	4	- N.D.
	5	- N.D.
5	1	- <u>Pseudomonas pseudomallei</u>
	2	- N.D.
	3	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	4	- N.D.
	5	- N.D.
6	1	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	2	- <u>Pseudomonas pseudomallei</u>
	3	- N.D.
	4	- N.D.
	5	- N.D.
7	1	- <u>Flavobacterium meninosepticum</u>
	2	- <u>Flavobacterium meninosepticum</u>
	3	- N.D.
	4	- N.D.
	5	- N.D.
8	1	- <u>Pseudomonas mallei</u> <u>Aeromonas punctata</u>
	2	- <u>Achromobacter xylooxidans</u> <u>Aeromonas punctata</u>
	3	- N.D.
	4	- <u>Pseudomonas pseudomallei</u>

Número de muestra	alcuota	Bacteria
8	4	- <u>Pseudomonas fluorescens</u>
	5	- <u>Pseudomonas pseudomallei</u>
9	1	- <u>Achromobacter xulosoxidans</u> <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	2	- <u>Pseudomonas stutzeri</u>
	3	- <u>Acinetobacter calcoaceticus</u>
	4	- <u>Pseudomonas maltophilia</u>
	5	- <u>Pseudomonas mallei</u>
10	1	- <u>Pseudomonas mallei</u>
	2	- <u>Pseudomonas fluorescens</u>
	3	- N.D.
	4	- N.D.
	5	- N.D.
11	1	- N.D.
	2	- N.D.
	3	- <u>Pseudomonas fluorescens</u>
	4	- N.D.
	5	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
12	1	- N.D.
	2	- N.D.
	3	- N.D.
	4	- N.D.
	5	- <u>Pseudomonas cepacia</u>

Número de muestra	alícuota	Bacteria
12	5	<u>Flavobacterium meningosepticum</u>
		<u>Pseudomonas fluorescens</u>
13	1	- N.D.
	2	- N.D.
	3	- <u>Pseudomonas stutzeri</u>
	4	- N.D.
	5	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u> <u>Flavobacterium meningosepticum</u>
14	1	- <u>Aeromonas hydrophila</u> <u>Aeromonas salmonicida</u>
		2
	3	- <u>Pseudomonas alcaligenes</u>
	4	- N.D.
	5	- <u>Aeromonas salmonicida</u> <u>Pseudomonas mallei</u> <u>Plesiomonas shigelloides</u>
15	1	- <u>Aeromonas punctata</u> <u>Aeromonas hydrophila</u>
		2
	3	- <u>Aeromonas hydrophila</u>
	4	- <u>Aeromonas punctata</u>
	5	- <u>Aeromonas hydrophila</u>
16	1	- N.D.

Número de muestra	alícuota	Bacteria
16	2	- <u>Aeromonas hydrophila</u>
	3	- N. D.
	4	- <u>Pseudomonas mallei</u>
	5	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
17	1	- N. D.
	2	- <u>Pseudomonas maltophilia</u>
	3	- <u>Aeromonas hydrophila</u>
	4	- <u>Pseudomonas fluorescens</u>
	5	- <u>Pseudomonas pseudomallei</u> <u>Pseudomonas fluorescens</u> <u>Pseudomonas maltophilia</u>
18	1	- <u>Aeromonas salmonicida</u>
	2	- N. D.
	3	- <u>Aeromonas hydrophila</u>
	4	- N. D.
	5	- <u>Aeromonas hydrophila</u>
19	1	- <u>Pseudomonas cepacia</u>
	2	- <u>Pseudomonas alcaligenes</u> <u>Pseudomonas maltophilia</u>
	3	- <u>Pseudomonas pseudomallei</u>
	4	- <u>Acinetobacter calcoaceticus</u>
	5	- <u>Pseudomonas pseudomallei</u> <u>Alcaligenes faecalis</u>

Número de muestra	alcuota	Bacteria	
20	1	- <u>Plesiomonas shigelloides</u>	
	2	- N.D.	
	3	- N.D.	
	4	- N.D.	
	5	- N.D.	
21	1	- <u>Pseudomonas fluorescens</u>	
	2	- N.D.	
	3	- N.D.	
	4	- <u>Alcaligenes faecalis</u> <u>Pseudomonas mallei</u>	
	5	- <u>Pseudomonas mallei</u>	
22	1	- <u>Pseudomonas alcaligenes</u>	
	2	- <u>Pseudomonas alcaligenes</u> <u>Pseudomonas aeruginosa</u> <u>Pseudomonas fluorescens</u>	
	3	- <u>Pseudomonas mallei</u> <u>Pseudomonas aeruginosa</u>	
	4	- <u>Pseudomonas mallei</u> <u>Pseudomonas aeruginosa</u>	
	5	- <u>Pseudomonas alcaligenes</u> <u>Pseudomonas aeruginosa</u>	
	23	1	- N.D.
		2	- <u>Aeromonas hydrophila</u>

Número de muestra	alícuota	Bacteria
23	3	- N.D.
	4	- N.D.
	5	- N.D.
24	1	- N.D.
	2	- N.D.
	3	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	4	- <u>Pseudomonas alcaligenes</u>
	5	- <u>Aeromonas salmonicida</u>
25	1	- <u>Aeromonas salmonicida</u>
	2	- N.D.
	3	- <u>Aeromonas hydrophila</u>
	4	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u> <u>Pseudomonas alcaligenes</u>
	5	- <u>Aeromonas salmonicida</u> <u>Plesiomonas shioelloides</u>
	26	1
2		- <u>Aeromonas salmonicida</u>
3		- <u>Pseudomonas fluorescens</u> <u>Plesiomonas shioelloides</u> <u>Pseudomonas putida</u>
4		- <u>Pseudomonas aeruginosa</u> <u>Pseudomonas mallei</u> <u>Aeromonas salmonicida</u>

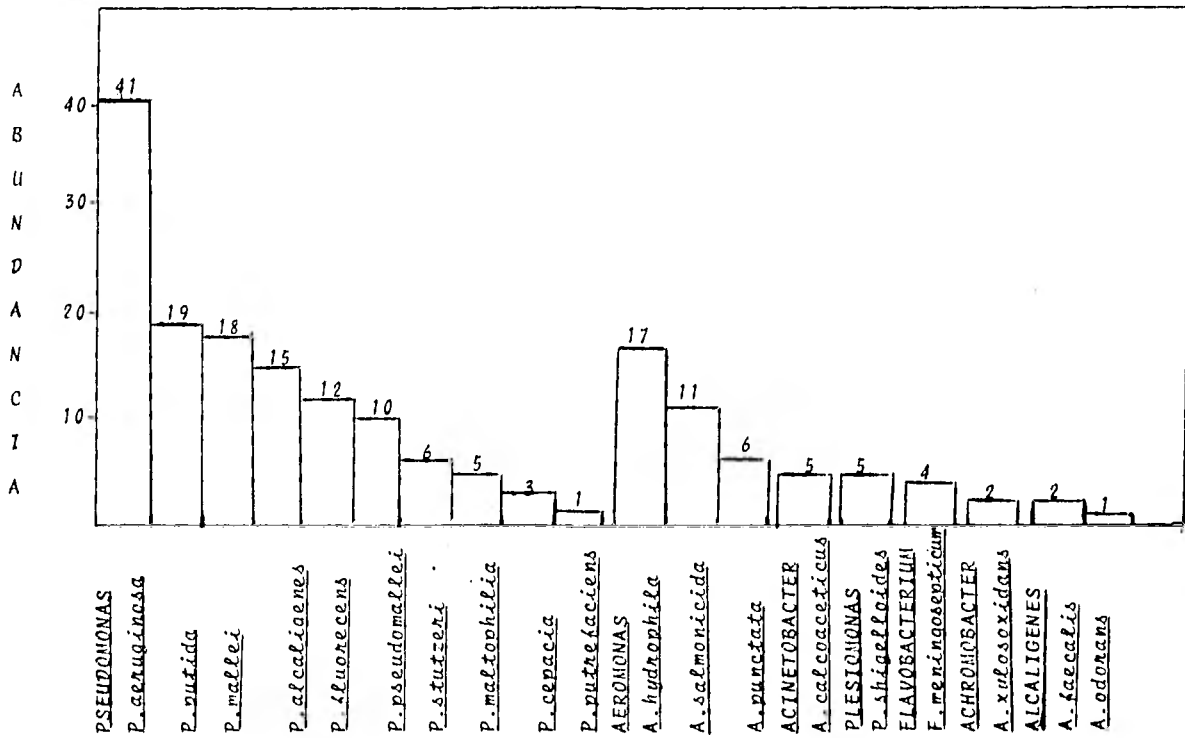
Número de muestra	alcuota	Bacteria
26	5	- <u>Pseudomonas cepacia</u> <u>Pseudomonas mallei</u>
27	1	- <u>Aeromonas hydrophila</u>
	2	- <u>Pseudomonas pseudomallei</u> <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	3	- <u>Pseudomonas stutzeri</u>
	4	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	5	- <u>Pseudomonas stutzeri</u>
28	1	- H. D.
	2	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	3	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u> <u>Pseudomonas putida</u>
	4	- <u>Pseudomonas putida</u> <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	5	- N. D.
29	1	- <u>Pseudomonas maltophilia</u> <u>Pseudomonas putida</u>
	2	- <u>Pseudomonas alcaligenes</u>
	3	- <u>Pseudomonas putida</u>
	4	- N. D.
	5	- <u>Pseudomonas putida</u> <u>Pseudomonas stutzeri</u>
30	1	- <u>Acinetobacter calcoaceticus</u>

Número de muestra	alícuota	Bacteria
30		<u>Aeromonas punctata</u>
	2	- <u>Aeromonas punctata</u>
	3	- <u>Pseudomonas fluorescens</u> <u>Pseudomonas putida</u>
	4	- <u>Pseudomonas putida</u> <u>Pseudomonas alcaligenes</u> <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	5	- <u>Pseudomonas fluorescens</u>
31	1	- <u>Pseudomonas putida</u>
	2	- <u>Pseudomonas putida</u>
	3	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	4	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	5	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u> <u>Pseudomonas putida</u>
32	1	- <u>Pseudomonas alcaligenes</u>
	2	- N.D.
	3	- <u>Plesiomonas shigelloides</u>
	4	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	5	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u> <u>Pseudomonas mallei</u>
33	1	- N.D.
	2	- <u>Pseudomonas putida</u>
	3	- <u>Aeromonas hydrophila</u>
	4	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>

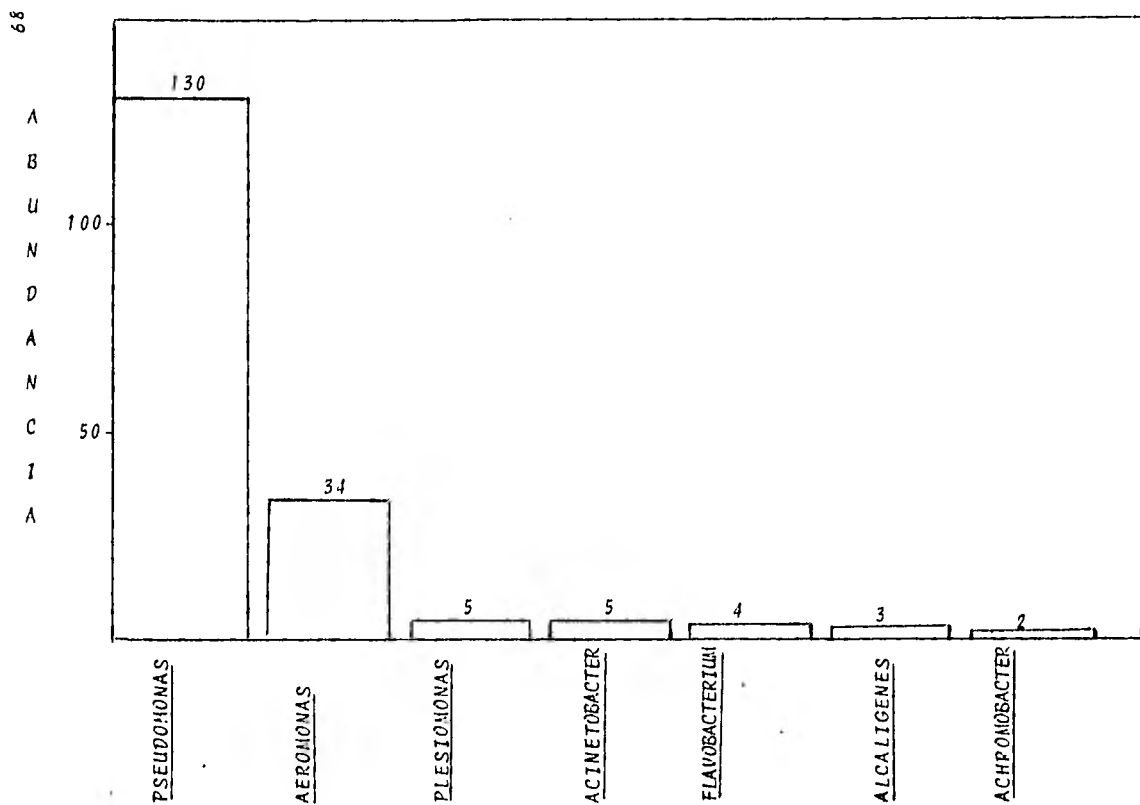
Número de muestra	allicuota	Bacteria
33	5	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
		<u>Pseudomonas putida</u>
34	1	- N.D.
	2	- N.D.
	3	- N.D.
	4	- N.D.
	5	- <u>Aeromonas hydrophila</u>
35	1	- <u>Pseudomonas putida</u>
	2	- N.D.
	3	- N.D.
	4	- N.D.
	5	- N.D.
36	1	- N.D.
	2	- <u>Pseudomonas mallei</u>
	3	- <u>Pseudomonas stutzeri</u>
	4	- N.D.
	5	- N.D.
37	1	- <u>Pseudomonas alcaligenes</u>
		<u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	2	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	3	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
4		<u>Pseudomonas putida</u>
		- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>

Número de muestra	alícuota	Bacteria
37	5	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
		<u>Pseudomonas alcaligenes</u>
38	1	- <u>Alcaligenes odorans</u>
	2	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	3	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	4	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	5	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
39	1	- <u>Aeromonas hydrophila</u>
	2	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	3	- <u>Pseudomonas putida</u>
	4	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	5	- <u>Pseudomonas alcaligenes</u> <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
40	1	- <u>Pseudomonas aeruginosa</u>
	2	- <u>Pseudomonas putida</u>
	3	- <u>Pseudomonas mallei</u>
		<u>Pseudomonas alcaligenes</u>
		<u>Acetobacter calcoaceticus</u>
	4	- <u>Aeromonas hydrophila</u>
		<u>Pseudomonas putrefaciens</u>
		<u>Pseudomonas putida</u>
	5	- <u>Anicetobacter calcoaceticus</u>
		<u>Aeromonas hydrophila</u>
<u>Pseudomonas putida</u>		

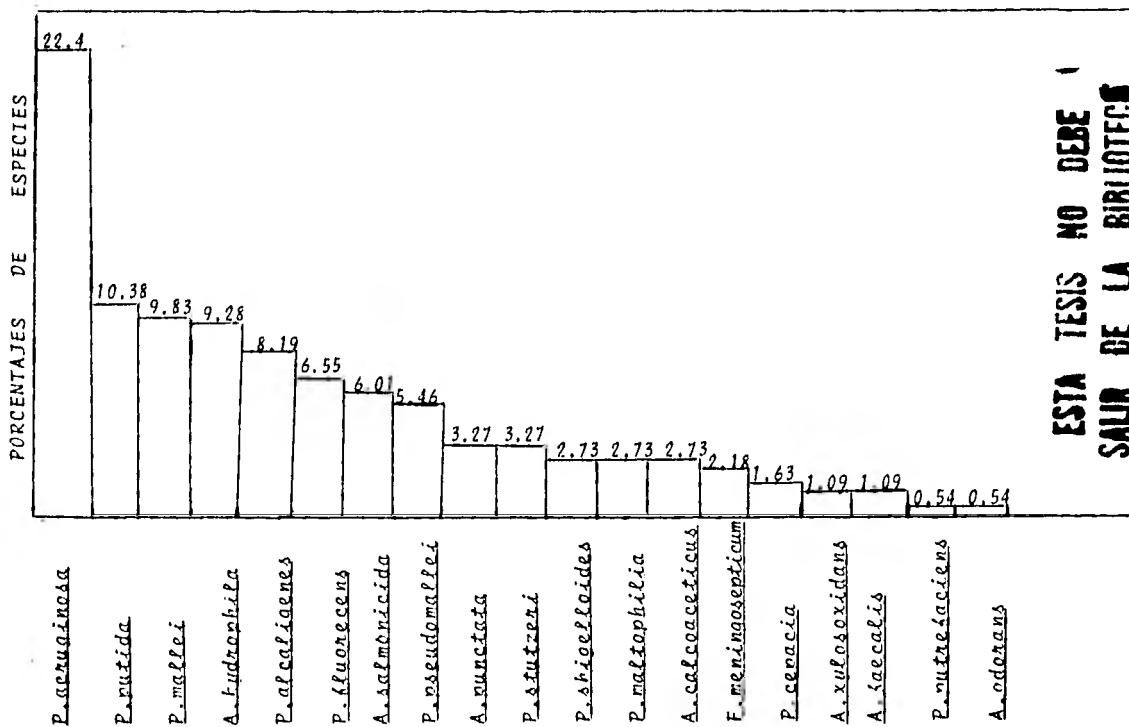
GRÁFICA DE ABUNDANCIA POR ESPECIES DE BACILOS GRAMNEGATIVOS NO FERMENTADORES EN 40 MUESTRAS DE AGUAS NEGRAS.



GRAFICA DE ABUNDANCIA POR GENEROS DE BACILOS GRAMNEGATIVOS NO FERMENTADOS EN 40 MUESTRAS DE AGUAS NEGRAS .



GRAFICA DE COMPARACION DE PORCENTAJES DE ESPECIES IDENTIFICADAS EN 40 MUESTRAS DE AGUAS NEGRAS COMO BACILOS GRAMNEGATIVOS NO FERMENTADORES.



ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

VII.6 Conclusión

Al final de esta investigación es posible darse cuenta del peligro permanente que representa un canal de aguas negras que se localiza dentro de los límites de una ciudad de más de un millón de habitantes, pues es un foco de infección constante para los pobladores de una ciudad como lo es la de Guadalajara Jalisco.

Las aguas negras son un medio de cultivo rico en nutrientes que favorecen el desarrollo de bacterias, lo que ocasiona que vectores activos provoquen trastornos patológicos entéricos, problemas en la piel, corazón, pulmones y así pudiéramos hacer una larga lista de enfermedades provocadas por las bacterias presentes en el agua de desecho humano de una ciudad.

Al comparar porcentajes de infección entre las bacterias oportunistas es posible observar que los bacilos gramnegativos no fermentadores tienen una gran importancia como causantes de infecciones intrahospitalarias.

Se pudiera concluir observando los resultados obtenidos en esta tesis, una identificación positiva y abundante de microorganismos clasificados como bacilos gramnegativos no fermentadores; además, se observa que los que

se presentaron en mayor abundancia ocasionan trastornos -
patológicos severos (Pseudomonas aeruginosa y algunas -
otras especies del mismo género), como medida preventiva -
y con el fin de disminuir la contaminación que emana de -
un dique abierto de aguas negras, se podría lograr una -
meta si éstas fueran conducidas por tuberías de gran ca-
libre cerradas y tratadas antes de que sean lanzadas al -
medio ambiente.

BIBLIOGRAFIA

- Tokujiro Aida, et al. Temporary low oxygen condition for the formation of nitrate reductase and nitrous oxide reductase by dinitrifying Pseudomonas sp G54. Canada. - Canadian Journal of microbiology. vol 32 No. 7, jul.1986
- Silvia Gionoc, et al. Tipificación bioquímica de Pseudomonas aeruginosa aislada del Hospital general del centro médico "La Raza" I. M. S. S. México. Revista latinoamericana de microbiología. vol 24, No. 2 Abr-jun.1982.
- Barry D. Hill. Evaluación del sistema O/F y los métodos convencionales para la identificación de bacilos gramnegativos no fermentadores, Canada. Canadian J. Med. Tech. Vol 442 1980.
- Cabajal Guy, Flores Wilfredo. Nuevos biotipos de Pseudomonas aeruginosa en infecciones infantiles. Boletín de la oficina sanitaria panamericana. vol 98 No. 2 - feb. 1985.
- Cervantes Carlos, et al. Biocinotipos of clinical strains of Pseudomonas aeruginosa isolated in Morelia - México. México. Revista latinoamericana de microbiología. vol 28 No. 4 Oct-dic-1986.

- A. S. Lampe, T.J.K. van der Reijden. Evaluation of commercial test system for the identification of nonfermenters European journal of clinical microbiology. vol 3 - No. 4 august 1984
- Holder Ian Alan, Wheeler Robert. Exnerimental studies of the pathogenesis of infections owing to Pseudomonas aeruginosa: elastase, an IgG protease. Canada. Canadian journal of microbiology. vol 30 No. 9 Sept. 1986.
- Garcla Gonzdlez Rafael, et al. Sensibilidad in vitro de Pseudomonas aeruginosa. México. Infectologla. Año 6 - No. 4 Abr. 1986.

BIBLIOGRAFIA

- Davis, Dubelco
Tratato de microbiologia
Barcelona, España
Segunda edición
1979
Editorial Salvat
- Pelczar H.J.
Microbiologia
México
Cuarta edición
Editorial Mc Graw Hill
- Difco, Laboratories
Manual Difco
Detroit Michigan, U.S.A.
Décima edición
Laboratorios Difco
- Lennette E. H.
Manual de microbiologia clínica
Barcelona, España
Editorial Salvat

- Carpenter Philip L.

Microbiología

Cuarta edición

1979

Editorial Interamericana

- Freeman B. A.

Tratado de microbiología de Burrows

México

22da edición

Editorial Interamericana

- Jawetz Ernest, et al

Microbiología médica

México

Décimasegunda edición

Editorial el manual moderno

- Krupp M. A., et al

Diagnóstico clínico u tratamiento

México

1987

Editorial el manual moderno

- White Abraham, et al

Principios de bioquímica

España

Sexta edición

Editorial Mc Graw Hill

- Dyson Robert D.

Principios de biología celular

México

1982

Fondo educativo interamericano

- Sonnenwirth Alex C., Jared L.

Métodos y diagnóstico del laboratorio clínico

Argentina

Octava edición

Editorial médica panamericana

- Pumarola A., et al

Microbiología y parasitología médica

España

Segunda edición

1987

Editorial Salvat

- Koneman Elmer W., et al

Diagnóstico microbiológico

México

Edición 1985

Editorial médica Panamericana.