



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química

METODO PARA SISTEMATIZAR LA IDENTIFICACION
DE ENTEROBACTERIAS

T E S I S

Que para obtener el título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
BIOQUIMICO MICROBIOLOGO

p r e s e n t a :
ROSALBA GUTIERREZ GRANADOS



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.

CLAS TESIS 1979
ABO M.T. 160
FORMA _____
PREO _____



A mis queridos padres:
En reconocimiento a su cariño,
esfuerzo y apoyo. *

A Mario Alejandro:
Que siempre me ha orientado con amor.

Con agradecimiento a la Profa.
Q.F.B. Elda Peniche Quintana
por la valiosa dirección de -
este trabajo.

Al:

Dr. Andrés Pérez Guerrero, y
al Ing. Homero Heras Herrera,
por su inapreciable cooperación
y consejo.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: PROF. OSCAR AMOR DODERO.
VOCAL: PROFA. LEONOR MARTINEZ SOTO.
SECRETARIO: PROFA. ELDA PENICHE QUINTANA
1er. SUPLENTE: PROFA. LILIA VIERNA DE GARCIA.
2o. SUPLENTE: PROFA. BISERKA SVESHTAROVA P.

SITIO EN DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

HOSPITAL CENTRAL DE PETROLEOS MEXICANOS.

NOMBRE DEL SUSTENTANTE:

SRITA. ROSALBA GUTIERREZ GRANADOS.

NOMBRE DEL ASESOR: PROFA. ELDA PENICHE QUINTANA.

I N D I C E

	Página
INTRODUCCION.	
CAPITULO I.	
ENTEROBACTERIAS.	
GENERALIDADES.	2
CLASIFICACION DE LA FAMILIA - ENTEROBACTERIACEAE.	3
IDENTIFICACION Y DIAGNOSTICO CLINICO.	15
MEDIOS DE CULTIVO.	16
CAPITULO II.	
METODO PROPUESTO.	
DESCRIPCION DEL METODO.	18
CONSIDERACIONES PARA LA DESCRIPCION DEL MISMO.	18
ALGORITMO PROPUESTO.	19
DESCRIPCION DEL EQUIPO DE COMPUTO - PARA EL PROCESO DEL ALGORITMO.	20
DISEÑO DEL PROGRAMA.	20
TRANSFORMACION DE LOS DATOS DE LA - TABLA DE IDENTIFICACION.	21
PROCEDIMIENTO DE CODIFICACION.	21
OBTENCION DE LA TABLA PATRON.	23
TABLA RESULTANTE	24
CAPITULO III.	
PROCEDIMIENTO DE OPERACION.	25
MUESTRAS A TRABAJAR.	25
PROCESO DE LOS DATOS OBTENIDOS	26
CAPITULO IV.	
RESULTADOS.	27
CAPITULO V.	
CONCLUSIONES.	29

INTRODUCCION.

Las Enterobacterias forman uno de los grupos más importantes y más frecuentemente identificados como agentes causales de infecciones intestinales y otros padecimientos orgánicos, por lo que su diferenciación será siempre vital para cualquier tratamiento médico. Con ese objeto se ha desarrollado un método rutinario para su identificación con pruebas complementarias.

La información obtenida después de que se han llevado a cabo las pruebas -- bioquímicas, enzimáticas, etc., agiliza la identificación con ayuda de un equipo de cómputo, llegando a la obtención de un solo dato que nos indica el tipo de microorganismo de que se trata.

La idea de este método se basa en la dificultad que existe al comparar diferentes resultados de fermentaciones en una tabla extensa, lo que trae consigo dudas, errores y complica la decisión porque es más lenta.

Se describe también en forma breve el grupo de las Enterobacterias, pruebas de laboratorio, y el método tradicional para la identificación de las mismas.

En realidad, no se pretende minimizar las siembras de las bacterias en medios de cultivo, ni mucho menos suprimirlos; lo que se propone es que una vez llevadas a cabo las pruebas bioquímicas, se facilite la localización de la bacteria en una tabla general que las incluye a todas.

Tomando en cuenta que por el método tradicional tendríamos que manejar ocho datos para cada resultado, se expone la metodología propuesta para sistematizar esta información, el análisis de los resultados, el algoritmo propuesto y la forma en que se generó la tabla de valores "Patrón".

El procedimiento no requiere conocimientos extensos de computación ni aún de manejo de complicadas máquinas, ya que la técnica aquí expuesta, intenta facilitar el acceso al equipo de cómputo.

Finalmente se propone un procedimiento para la operación rutinaria

...

CAPITULO I.- ENTEROBACTERIAS.

I.1.- GENERALIDADES.- La familia Enterobacteriacear está formada por bacterias en forma de bacilos Gram negativas aerobias ó anaerobias facultativas; la mayoría son no esporulados, algunas especies son --- atricas (sin flagelos) y pueden haber variantes no móviles de especies móviles. También hay formas móviles con flagelos peritricos. - Crecen bien en medios artificiales, ya que tienen la capacidad de - fermentar carbohidratos; poseen una estructura antigénica muy varia da.

Su habitat normal es el intestino del hombre y los animales.

La presencia de los géneros: Proteus, Escherichia, Aerobacter, ---- Klebsiella, Citrobacter y otros bacilos Gram negativos ligados a -- ellos como Salmonella y Shigella en proceso de bacteremia, neumonía, enfermedades del conducto urinario, infecciones de heridas post quirúrgicas, etc., ha sido ampliamente investigada y ésto indica un -- aumento considerable en la incidencia de enfermedades causadas por estos organismos.

Las Enterobacterias constituyen un grupo de microorganismos complejos formado por varios géneros; sin embargo hay muchos organismos - intermedios cuyas relaciones no se aprecian claramente.

Se han hecho muchos intentos de clasificar a este grupo, tal vez la clasificación más útil es la de Edwards y Ewing. (8)

Los términos de "Paracolon" y de "Pectobacterium" casi ya no se emplean y los organismos considerados en esta categoría se encuentran en otros grupos taxonómicos ó como variantes bioquímicos de los bacilos coliformes.

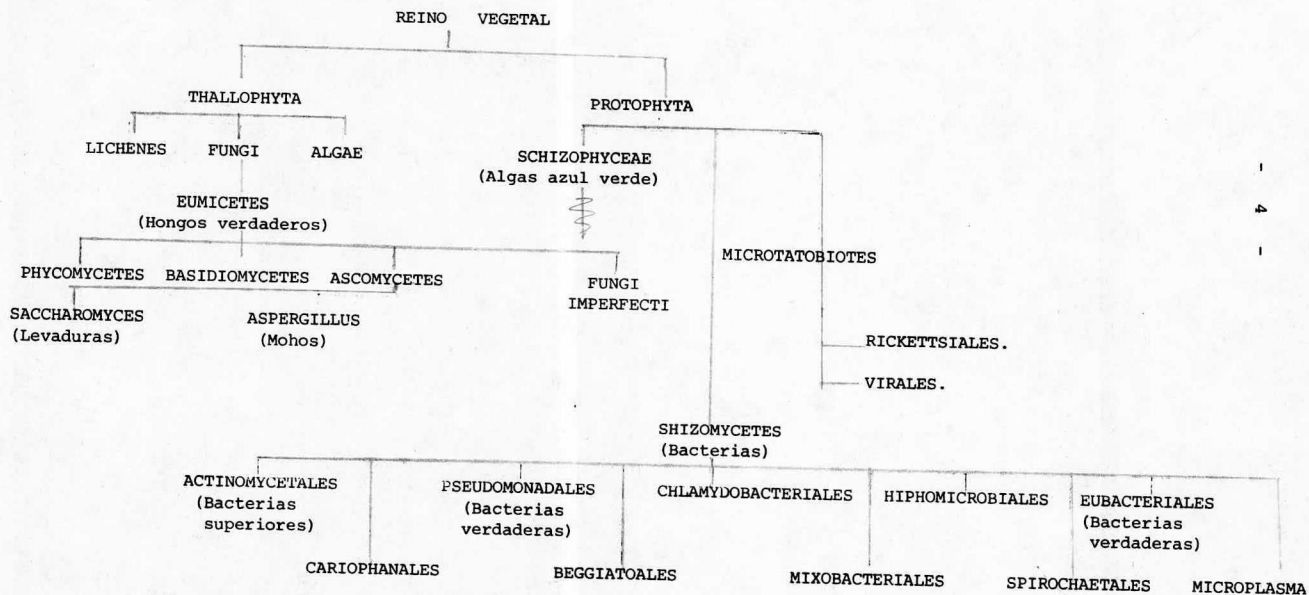
De hecho, para fines de diagnóstico clínico, en la gran mayoría de los laboratorios, no consideran necesario llevar la identificación lo más completa y exacta, ésto solo ocurre en la investigación epidemiológica, pero no para el tratamiento de rutina en la clínica.

La separación por grupos en la tabla de patrón de fermentaciones, - está determinada principalmente por sus características bioquímicas efectos sobre sustratos y ausencia ó presencia de características físicas, empleando medios de cultivo que contienen ingredientes para aislarlos e identificarlos.

Casi todas poseen lipopolisacáridos complejos en su pared celular - llamados Endotoxinas, que producen efectos fisiopatológicos en el - hombre y que solamente son liberadas por lisis de la célula bacte-- riana. Son termostables y tal vez tengan un agregado de peso molecu-- lar alto para que se manifieste la toxicidad. Las diferentes toxinas se diferencian según el orden de las unidades de monosacáridos. Entre algunos de los efectos que pueden producir las endotoxinas - se encuentran: alto grado de pirogenicidad, tolerancia a la sumi-- nistración repetida, choque letal en grandes dosis, fenómeno de -- Shwartzman (necrosis en la piel si se inyecta intradérmicamente -- primero y después en forma intravenosa), necrosis de lesiones tumo-- rales, aborto prematuro y resistencia a radiaciones ionizantes. Posteriormente, se hablará con más detalle de las características de cada bacteria en particular.

I.2.- CLASIFICACION DE LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE.- Las Enterobacte-- rias se encuentran clasificadas en el reino animal dentro de los - Protophyta (fillum) en la clase Schizomycetes, de la siguiente ma-- nera, según el cuadro que se muestra a continuación

CLASIFICACION ESQUEMATICA DE LOS PRINCIPALES MICROBIOS.



Dentro de las bacterias verdaderas, clase Schizomycetes, encontramos los siguientes grupos (órdenes Eubacteriales y Pseudomonadales):

<u>Grupos principales</u>	<u>Grupos conocidos</u>
Cocos (esféricos)	<u>Streptococcus</u> , <u>Neisseria</u> , etc.
Bacilos (forma de bastón recto)	<u>Bacillus</u> , <u>Salmonella</u> , <u>Clostridium</u> , etc.
Espirilos (espirales)	<u>Vibrio</u> , <u>Spirillum</u> .

Los bacilos rectos se dividen en las siguientes familias y géneros:

<u>FAMILIA</u>	<u>GENEROS</u>
1. BRUCELLACEAE	<u>Hemophilus</u> , <u>Yersinia</u> , <u>Francisella</u> , <u>Pasteurella</u> , <u>Brucella</u> .
2. ENTEROBACTERIACEAE	<u>Escherichia</u> , <u>Proteus</u> , <u>Salmonella</u> , <u>Shigella</u> , <u>Serratia</u> , <u>Klebsiella</u> , <u>Enterobacter</u> .
3. AZOTOBACTERIACEAE	<u>Azotobacter</u> .
4. RHIZOBIACEAE	<u>Rhizobium</u> .

A su vez, la familia Enterobacteriaceae se divide en los siguientes géneros y especies:

TRIBU I	<u>ESCHERICHIEAE.</u>
GENEROS	I <u>Escherichia coli</u> .
	II <u>Shigella</u> .
	1 <u>Shigella dysenteriae</u> .
	2 <u>Shigella flexneri</u> .
	3 <u>Shigella boydii</u> .
	4 <u>Shigella sonnei</u> .
TRIBU II	<u>EDWARDSIELLEAE.</u>
GENEROS	I <u>Edwardsiella</u> .
	1 <u>Edwardsiella tarda</u> .
TRIBU III	<u>SALMONELLEAE.</u>
GENEROS	I <u>Salmonella</u> .
	1 <u>Salmonella cholera-suis</u> .
	2 <u>Salmonella typhi</u> .
	3 <u>Salmonella enteritidis</u> .
	4 <u>Salmonella typhimurium</u> .

- II Arizona.
 - 1 Arizona hinshawii.
- III Citrobacter.
 - 1 Citrobacter freundii.
- TRIBU IV KLEBSIELLEAE.
 - GENEROS I Klebsiella.
 - 1 Klebsiella Pneumoniae.
 - 2 Klebsiella ozaenae.
 - 3 Klebsiella rhinoschleromatis.
 - II Enterobacter.
 - 1 Enterobacter cloacae.
 - 2 Enterobacter aerogenes.
 - 3 Enterobacter hafniae.
 - 4 Enterobacter liquefasciens.
 - III Pectobacterium.
 - 1 Pectobacterium carotovorum.
 - IV Serratia.
 - 1 Serratia marcescens (subespecies marcescens)
 - 2 Serratia marcescens (subespecies kiliensis)
- TRIBU V PROTEAE.
 - GENEROS I Proteus.
 - 1 Proteus vulgaris.
 - 2 Proteus mirabilis.
 - 3 Proteus morganii.
 - 4 Proteus rettgeri.
 - II Providencia.
 - 1 Providencia alcalifasciens.
 - 2 Providencia stuartii.

Se han mencionado los géneros más importantes así como sus especies, pero - hay algunos menos importantes que también se pueden encontrar.

A continuación se hablará a grandes rasgos de las características más importantes de cada tribu, género y sus especies principales:

TRIBU I ESCHERICHIEAE.

ESCHERICHIA COLI.

Es raro que presente cápsulas; la mayoría son móviles, forman colonias redondas, convexas, lisas, con bordes definidos, algunas cepas lisan los eritrocitos de la gelosa sangre.

Producen ácido y gas a partir del carbohidratos, obteniendo la misma cantidad de CO_2 e H_2 a partir de glucosa.

Se diferencia de Enterobacter aerogenes por las pruebas de IMViC.

Hay cepas muy estudiadas en Genética (como la K 12) donde se demuestra que existe recombinación sexual que da por resultado mutantes de colonias, antígenos, facultades fermentativas, resistencia a virus, etc.

Las cepas O: 1, 2, 4, 6, 7, 50 y 75 infectan vías urinarias; otras: 055, 0111 y 0127 dan brotes de diarrea infantil.

De estas cepas, unas producen una enterotoxina potente parecida a la toxina del cólera que produce diarrea aguda sin invadir el epitelio intestinal; -- otras cepas sí lo penetran y provocan una inflamación semejante a la disentería por shigella.

Las diferencias bioquímicas entre las cepas enteropatógenas y los tipos normales de E. Coli no son suficientemente grandes como para que se puedan diferenciar entre ellos correctamente. La diferenciación de los tipos depende por lo tanto, de su comportamiento serológico.

Tiene tres tipos antígenos: O, K y H. Los O no se inactivan a 121°C ; los K también somáticos, se presentan como cápsulas o envolturas que inhiben la aglutinación de los O; el efecto inhibitor queda inactivado por el calor a 100°C . Los antígenos K constan de tres variedades: L, A y B.

Los antígenos H sólo se presentan en las cepas móviles.

Para las cepas enteropatógenas, se debe clasificar el antígeno O y la variedad B del antígeno K.

Las aglutinaciones en portaobjetos se hacen partiendo de un cultivo puro en una placa de agar Mc Conckey, de colonias lisas, usando primero suero polivalente, después monovalentes si es necesario; se confirma con aglutinación en tubo.

GENERO SHIGELLA

Inmóviles, la mayoría lactosa negativas, producen ácido de otros azúcares pero no gas. Son no esporulados, aerobios ó anaerobios facultativos. Su hábitat natural es el intestino donde produce disentería.

Sus colonias son redondas, convexas, transparentes, de bordes enteros de 2 mm. de diámetro. En medios diferenciales son lactosa negativos dando colonias in coloras.

Tienen estructura antigénica completa por lo que presentan gran traslapo en la serología de las diferentes especies y la mayoría comparte antígenos O con otros organismos. Estos antígenos O son complejos de lipopolisacáridos-proteína.

Grupo A: Sh. dysenteriae (Sh. shigae).- Se divide en 10 serotipos distintos, son manitol negativo. Responsables de la disentería bacilar.

Grupo B: Sh. flexnerii.- Dividido en 6 serotipos con variantes X y Y. Fermenta el manitol a excepción del serotipo 6 (bacilo del Newcastle).

Grupo C: Sh. boydii.- Tiene 15 serotipos, fermenta el manitol.

Grupo D: Sh. sonnei. Un serotipo. Fermenta el manitol, lactosa y sacarosa. Causa disentería en el Oriente medio. Produce colicina.

Sh. dysenteriae (tipo I) produce una exotoxina termolábil que se separa de la bacteria fácilmente, letal para animales, diferente antigénicamente de la endotoxina, causa "intoxicación" en la disentería dando reacciones en el Sistema Nervioso Central.

Las colonias en Mc. Conckey recuerdan a las de salmonella, excepto las de -- Sh. sonnei que pueden mostrar aspecto mate de "salpicado de tinta".

Se usan medios de Mc Conckey, agar-citrato-desoxicolato, agua peptonada azucarada, etc., para su aislamiento e identificación.

Pruebas serológicas: Según las reacciones bioquímicas, se hacen: si es manitol negativo, prueba contra Sh. dysenteriae. Si es manitol positivo con anti sueros polivalentes.

Si estas pruebas son negativas puede ser que los antígenos fimbriales enmascaren el resultado verdadero; las fimbrias son órganos de adhesión a las superficies, por ejemplo: a los eritrocitos. Muchos antígenos se soportan sobre éstos; algunas Enterobacterias los poseen.

Sh. sonnei se puede identificar también porque produce colicinas.

TRIBU II EDWARDSIELLEAE.GENERO EDWARDSIELLA.

Son bacterias móviles, descarboxilan la lisina y ornitina. Fermentan con rapidez la glucosa y maltosa y con raras excepciones forman gas a partir de estos sustratos. La mayoría de las cepas utilizan el glicerol aunque lentamente; no degradan: lactosa, sacarosa, manitol, dulcitol, salicina, inositol, sorbitol, rafinosa, ramnosa, xilosa. La especie mas conocida es Edwardsiella tarda.

TRIBU III SALMONELLEAE.GENERO SALMONELLA

Móviles, aerobios, lactosa negativos, no esporulados de longitud variable, sus flagelos son peritricos. Resisten congelación y algunos agentes químicos como: verde brillante, tetracionato de sodio y desoxicolato de sodio. Posee tres tipos de antígenos: H ó flagelares, O ó somáticos y Vi (las cepas que lo presentan tienden a ser mas virulentas); los H tienen lo que se llama "variación de fase" ó sea que este antígeno muda en dos fases 1 y 2. Su membrana contiene lipopolisacáridos que actúan como endotoxinas cuando se liberan por lisis.

Produce las siguientes enfermedades principalmente: fiebre tifoidea (- causada por S. typhi) y paratifoidea (por S. paratyphi y S. Shochtmulleri).

S. Cholera-suis a veces causa septicemia, que puede ocasionar lesiones seras en órganos y tejidos en personas con defensas bajas.

El tercer tipo de padecimiento es el más común, conocido como gastroenteritis ó intoxicación alimentaria causada por S. typhimurium y S. enteritidis ó S. derby.

Para diagnóstico se analiza sangre, médula ósea, heces, orina, secreción de origen diverso, etc.

Es un buen diagnóstico el observar el título de anticuerpos y el aumento de éstos durante la enfermedad.

El aislamiento de Salmonella se hace primero sembrando la muestra en un cultivo de enriquecimiento como caldo verde brillante ó tetracionato, que inhiben el crecimiento de la flora normal y coliformes; de allí se siembra en medios diferenciales ó se examinan por inmunofluorescencia directa.

La identificación se hace como en todas las bacterias, por pruebas bioquí-

cas y pruebas de aglutinación con antisueros específicos.

La prueba de Widal es la que cuantifica los anticuerpos aglutinantes presentes en el suero del paciente; su interpretación es: antígeno O alto (1:160 ó más), y H bajo es una infección activa en ese momento, H alto (1:16) ó -- más, y O bajo: infección o vacunación pasada. Vi alto: que el sujeto es portador.

En Epidemiología se acostumbra tipificar todas las especies por fagos.

GENERO: ARIZONA,

Fermenta la lactosa, está serológicamente relacionado con Salmonella spp. Licúan la gelatina, pero no la dulcita. Si llega a ser patógeno produce una enfermedad parecida a la ocasionada por Salmonella.

GENERO: CITROBACTER.

C. freudii se encuentra en el suelo, generalmente como contaminación a partir de la tierra y presente en el agua y alimentos. A veces causa infección urinaria.

Debido a su parecido con Escherichia en su fermentación ácida y a Klebsiella en su utilización del citrato; se conoce como bacilo coliforme intermedio.

Posee beta galactosidasa.

Sus antígenos son: O, K y H.

Muchos Enterobacter al tener un complejo polisacárido común, hace que -- tengan pruebas cruzadas.

TRIBU IV KLEBSIELLEAE

GENERO KLEBSIELLA

Antes conocido como bacilo de Friedlander, es patógeno del aparato respiratorio y ahora muy común principalmente en infecciones de hospitales.

K. pneumoniae a diferencia de su nombre, raramente produce neumonía lobar.- Es muy similar a K. aerogenes, pero éste generalmente se aísla de la orina y el primero es más común en el esputo.

Otros Klebsiella asociados a reacciones inflamatorias: K. rhinoscleromatis, K. ozaenae y K. edwardsii (dos variedades).

Su crecimiento colonial es muy mucoso, las colonias son más grandes que -- las de E. coli, y en incubaciones prolongadas se hacen confluentes.

Al microscopio se puede observar que poseen grandes cápsulas de polisacárido. Es inmóvil.

fermenta una variedad de carbohidratos, variando según las cepas.

Antígenos: K o capsular, de polisacáridos termolábiles que envuelve a los antígenos somáticos (O ó R).

Se identifican por hinchamiento de la cápsula con antisuero específico.

GENERO: ENTEROBACTER.

E. aerogenes es móvil, su crecimiento es grande y mucoso, tiene cápsula pequeña. Puede infectar el intestino, el aparato urinario, dar sepsis o ser libre. Antes se conocía como Aerobacter.

Sus cápsulas son más raras, la mayoría son móviles. Sus colonias son parecidas a las de E. coli, pero más mucosoides.

Producen ácido y gas a partir de carbohidratos. Su diferencia de E. coli se hace por las pruebas de IMViC.

GENERO PECTOBACTERIUM.

Son móviles y no inmóviles, licúan el pectato de sodio, es positivo en la prueba del rojo de metilo. La mayoría licúa la gelatina.

No descarboxilan la lisina, arginina y ornitina.

El sorbitol lo fermenta sólo raras veces, pero la mayoría de las cepas producen ácido a partir de ramnosa, arabinosa y rafinosa.

Crecen óptimamente a 25°C y pobremente a 37°C. La especie tipo es Pectobacterium caratovorum.

GENERO: SERRATIA.

Licúa la gelatina, es positiva en las pruebas de Voges Proskaver, invariablemente positiva a la desoxirribonucleasa y a la OPNG (orto nitro fenil - beta de galactopiranosido)

Casi todas producen un pigmento rojo evidente.

Se encuentra cada vez con mas frecuencia en infecciones agudas y crónicas.

Antes se conocía como Bacillus prodigiosus por lo que al pigmento rojo que produce se le llama prodigiosina (tripirrimeteno).

Es negativo para fenilalanina deaminasa y ureasa (TDA).

Del mar se ha aislado S.piscatorum, la que produce ciertas afecciones en --

pescados conservados, como el bacilo rojo de la sardina.

TRIBU V PROTEAE.

GENERO PROTEUS.

Son bacilos móviles, aerobios, la mayoría son de vida libre. Proteus vulgaris es flora normal del intestino. Proteus mirabilis parece ser la causa de las diarreas en verano en los niños. Proteus rettgeri y Proteus morganii provocan infecciones en hospitales.

Son lactosa negativos, licúan rápidamente la gelatina, desdoblan la urea formando amoníaco y se diseminan en medios sólidos en lo que se llama "swarming" o "emigración", la que se puede inhibir añadiendo hidrato de cloral o alcohol feniletílico; no crece bien a Ph ácido.

Las especies móviles, además de antígeno O tienen antígeno H. Las cepas OX - inmóviles de P. vulgaris poseen polisacáridos específicos comunes con las ricettsias (Reacción de Weil Felix).

Como los coliformes, sólo producen infecciones cuando salen del intestino. - Son frecuentes en infecciones crónicas del aparato urinario y sus vías.

GENERO: PROVIDENCIA.

Son bacterias intermedias entre Proteus y Shigella.

Excepcionalmente producen ureasa, diseminan la fenilalanina, son indol positivos y gelatina negativos.

Es un Proteus ureasa negativo, no tiene carácter invasor (swarming).

Las dos principales bacterias son: P. alcalifasciens y P. stuartii.

Las siguientes bacterias no pertenecen a la familia Enterobacteriaceae pero por estar íntimamente ligadas se encuentran mencionadas con ella, ya que las enfermedades que producen son muy parecidas a las de las Enterobacterias, además son bacilos Gram negativos y se pueden analizar conjuntamente porque se utilizan las mismas pruebas.

GENERO: PSEUDOMONAS.

Pertenece a la familia Pseudomonadaceae, son móviles, se caracterizan por la ausencia casi completa de actividad fermentativa. Produce un olor agradable a fruta y los pigmentos solubles que produce se difunden en el medio, observándose un color verde amarillento o azulado (piocianinas, solubles en agua

y cloroformo, de actividad antimicrobiana. También producen fluoresceína - (verde, fluorescente, hidrosoluble, insoluble en cloroformo). Otras cepas no producen pigmento.

Algunas cepas son hemolíticas.

En septicemias se puede descubrir verdo-globina (un producto de la hemoglobina o pigmento fluorescente en las heridas, quemaduras u orina, por su -- fluorescencia a la luz ultravioleta).

Ps. aeruginosa sólo es patógena en áreas sin defensas o en infecciones mixtas. Infecta las heridas produciendo un pus verdoso, puede llegar a causar meningitis cuando se introduce por punción lumbar, infecta vías urinarias cuando es introducida por catéteres o por irrigación con soluciones. También en el aparato respiratorio infecta por respiradores contaminados causando neumonía necrosante, frecuente en otitis media.

Si infecta el ojo, causa destrucción rápida del globo ocular, después de - una lesión u operación.

Se conocen al menos siete tipos de Ps. aeruginosa.

Los lipopolisacáridos de su membrana tienen especificidad antigénica, de - los cuales pueden obtenerse vacunas de protección contra septicemias.

Pruebas para identificar Pseudomonas son: oxidación del gluconato a ceto - gluconato y la presencia de citocromooxidasa.

También se puede ver la resistencia al calor de la fosfatasa alcalina de - Ps. aeruginosa y Ps. pseudomallei que sí lo son, no así las demás.

Un medio selectivo para Pseudomonas en su identificación y aislamiento es el de Brown y Lowbury con sales cuaternarias de amonio, cloruro de cetil-- trimetilamonio y agar.

Alcaligenes faecalis.

El nombre actualizado de este organismo es: Pseudomonas alcaligenes, ya - que después de innumerables pruebas se encontró con características más - cercanas a este género.

Vibrio cholerae.

De la familia Spirillaceae, es un bacilo curvo, móvil por un flagelo polar, no hemolisan, pero pueden ocasionar una coloración parda en el medio, son - Voges Proskaver negativos.

Antes se conocía como Vibrio comma, que junto con otros vibrios relacionados produce cólera en el hombre.

En un primocultivo se presenta en forma curvada, comas de 2 a 4 mm. de largo, sin esporas. Por cultivo prolongado se convierte en bacilo recto. Sus colonias son redondas, lisas y convexas, opacas y granulares a la luz transmitida, algunas forman colonias plegadas.

Crece en medios ordinarios a 37°C con sales minerales y aspargina como fuentes de carbono y nitrógeno, a pH elevados (8.5 a 9.5) pero mueren rápidamente por ácidos por lo que en muchos medios con carbohidratos se destruyen solos con rapidez.

Fermentan sacarosa y manosa, pero no la arabinosa. En peptona con triptofano y nitrato produce indol y nitritos, y agregando ácido sulfúrico produce un color rojo (Reacción nitroso-indol o del rojo cólera), la glucosa inhibe esta reacción.

Algunos vibrios (como El Tor) producen hemolisinas solubles. Otros, como V. cholerae digieren eritrocitos sin liberar una hemolisina soluble, separan mixovirus de la superficie del eritrocito por medio de una enzima destructora del receptor (EDR), una neuraminidasa.

Poseen un solo antígeno flagelar termolábil, común para muchos vibrios.

Parece que los anticuerpos anti H no se relacionan con la protección a la infección. Los antígenos O obtenibles, son moléculas tóxicas con fracciones de polisacárido responsables de la especificidad serológica que dan 6 grupos de antígeno O, estos anticuerpos sí son protectores.

V.cholerae sólo es patógeno para el hombre, no es invasivo, no llega a la sangre, sólo permanece en el intestino donde se multiplica, se lisa y libera su toxina y tal vez hasta mucina y endotoxina.

Produce una enterotoxina termostable y ácidolábil de PM=90 000 daltons y 90% de proteína, sólo se conoce un tipo antigénico. Aumenta la actividad de la adenilciclase y de la concentración de AMP cíclico dando hipersecreción de la mucosa del intestino delgado, que produce diarrea de hasta 20 litros diarios con deshidratación, acidosis, choque y muerte. Los primeros días las heces son parecidas a "agua de arroz".

El Tor causa una enfermedad diarreica similar.

Algunos infectan animales como caballos, ganado bovino, etc., en aparato genitourinario producen muchas veces el aborto (V. fetus, que también causa septicemia y aborto en el hombre).

V. parahemolyticus produce gastroenteritis a partir de alimentos contaminados.

II IDENTIFICACION Y DIAGNOSTICO CLINICO.

Datos clínicos: Las manifestaciones clínicas dependen del sitio de la infección y son iguales a los síntomas de procesos provocados por otros microorganismos, se ha encontrado aumentada la bacteremia a veces con colapso vascular y choque cuando las defensas están disminuidas, se está en proceso de medicación o después de una operación quirúrgica.

Diagnóstico en el laboratorio: a) Productos patológicos.- Orina, sangre, pus, LCR, esputo, heces y otros, según la localización de la infección.

b) Frotis teñidos.- Los bacilos Gram negativos se parecen todos, sólo se pueden diferenciar las cápsulas de Klebsiella algunas veces, o con tinción especial.

c) Cultivos.- Los productos patológicos se siembran en gelosa simple, gelosa sangre y en medios diferenciales con colorantes y carbohidratos especiales que dan idea de aquellos microorganismos que fermentan la lactosa o no.

Las bacterias aisladas en medios diferenciales se identifican por pruebas bioquímicas y serológicas.

Muchas veces se pueden identificar rápidamente por la fermentación de lactosa:

Fermentación rápida:

- 1.- E. coli: Colonia de brillo metálico, móvil, plana, no viscosa.
- 2.- E. aerogenes: Colonia levantada, sin brillo, a veces móvil, viscosa, resiste cefalosporina.

Fermentación lenta:

- 1.- Bacilos paracolón: Serratia, Hafnia, Citrobacter, Arizona, Providencia.

No fermentan la lactosa:

- 1.- Shigella: Inmóvil, no produce gas de glucosa.
- 2.- Salmonella: Móvil, forma ácido y gas a partir de glucosa.
- 3.- Proteus: Se diseminan en el agar, hidrolisan rápidamente la urea.
- 4.- Pseudomonas: Producen pigmento azul verde y fluorescente. Olor "dulzón".

En general, dependiendo de la muestra que se va a analizar, es el proce

so que se sigue para identificar plenamente el agente causal, en el caso de las Enterobacterias los productos que más comúnmente se analizan son:

Orina (Urocultivo)

Heces (Coprocultivo)

Sangre (Hemocultivo)

Pus, secreciones diversas, líquido cefalorraquídeo, etc.

Como la muestra, además de materias patógenas generalmente presenta otras bacterias contaminantes o de la flora normal, es necesario inhibirlas, y para ese fin, se utilizan medios específicos que con presencia de sales, colorantes, etc., las eliminan; ya que no las toleran o también medios de enriquecimiento ya que la bacteria patógena puede encontrarse en una cantidad muy pequeña o estar inhibida por antibióticos. Por esta razón, una muestra debe sembrarse primero en estos medios, luego en un medio diferencial, después en uno específico y posteriormente llevar a cabo otras pruebas que permitan la identificación completa. Muchas veces es necesario preservar la muestra, para lo cual se necesitan otros medios soporte antes de resembrar en los específicos.

La siguiente lista presenta los principales medios de cultivo para Enterobacterias:

2.1 MEDIOS DE CULTIVO.

Medios de transporte:

Medio de Cary y Blair.

Medio de Stuart.

Medios de enriquecimiento:

Caldo selenito.

Caldo tetracionato.

Medios específicos:

Agar sulfito de bismuto (Wilson Blair modificado).

Agar verde brillante.

Agar desoxicolato.

Agar citrato desoxicolato.

Agar eosina azul de metileno.

Medio entérico de Hektoen.

Medio Mc Conckey.

Agar SS.

Agar xilosà-lisina-desoxicolato.

Medios diferenciales:

Medio de acetato.

Medio de alginato.

Medio de fermentación de carbohidratos.

Agar citrato de Simon's.

Agar citrato.

Medio de gelatina-cisteína.

Medio de prueba de descarboxilasa.

Medio de prueba de DNA asa.

Medio para licuefacción de gelatina.

Caldo glicerol-fucchina.

Medio para prueba de sulfuro de hidrógeno.

Agar de hierro Kligler.

Agar hierro peptona.

Medio para prueba de indol.

Medio para prueba de indofenol-oxidasa.

Agar lisina-hierro.

Caldo malonato.

Medio para prueba del rojo de metilo.

Medio para prueba de movilidad.

Medio de reducción del nitrato.

Medio para prueba del ONPG.

Medio ácido orgánico (Kauffmann y Petersen).

Medio para prueba de oxidación-fermentación.

Medio de pectato.

Agar fenilalanina.

Medio de ácido fenilpropiónico.

Medio de producción de pigmento.

Medio de cianuro de potasio.

Agar tartrato.

Medio de prueba de ureasa.

Medio de Voges Proskaver.

CAPITULO II METODO PROPUESTO.

1.- Descripción del método.-

1.1 Consideraciones para la descripción del mismo.

En la rutina del diagnóstico microbiológico generalmente, como ya se sabe, se investiga la actividad bioquímica del microorganismo aislado con el fin de identificarlo. Cada laboratorio posee su perfil estándar de -- pruebas que realiza, adaptadas de una tabla bastante extensa y completa que existe de las bacterias Gram negativas (Tabla A)..- Si la comparación de un número pequeño de resultados con esa tabla de características es - fácil, se complica cuando se tienen mayor número de pruebas, más aún en lugares donde el trabajo es mucho.

Una posible solución a este problema puede ser el uso de una computadora que programada de acuerdo a un sistema fijo, nos ayudará en la selección de cada bacteria según los datos obtenidos.

Para comprender lo anterior, es necesario establecer las siguientes consideraciones:

Los datos usados en este programa se tomaron de una secuencia fija de resultados de una tabla estándar de pruebas de fermentación transformando los datos así:

- (0) Representa un resultado negativo o ausencia de una característica en particular.
- (1) Representa un resultado positivo así como producción de ácido y gas al mismo tiempo.

Siguiendo la transformación o codificación de los datos, se pueden expresar de otra forma, usando Escherichia coli como ejemplo:

<u>COLUMNA</u> ,	<u>DATO DE LA PRUEBA</u>	<u>REACCION</u>	<u>REACCION CODIFICADA</u>
1	Glucosa	+	1
2	Lactosa	+	1
3	Gas	+	1
4	Producción de H ₂ S	-	0
5	Producción de indol	+ ó -	1
6	Movilidad	+ ó -	1
7	Manitol	+	1
8	Sacarosa	+ ó -	1
9	Urea	-	0

NOTA: + ó - indica que la mayoría de los cultivos son positivos en un 90%, - ó + que son negativos en su mayor parte, otras aclaraciones de la tabla y del proceso se harán mas adelante, ya que si apreciamos la Tabla A se puede ver un resultado variable; en estos casos sólo se ha tomado en cuenta el más probable, es por eso que en el caso de E. coli, las pruebas de indol, movilidad y sacarosa, se consideraron positivas.

La secuencia de números obtenida para E. coli es un número binario (que consta de dos elementos: 0 y 1) que es: 111011110.- Este a su vez, por medio del algoritmo del programa se va a convertir en un número decimal más comprensible y fácil de manejar.

1.2.- ALGORITMO PROPUESTO.- El algoritmo propuesto permite la conversión de un número binario (base 2) a un número decimal (base 10).

Tomando en cuenta que estos sistemas numéricos son posicionales, el procedimiento de cálculo en la máquina consiste en multiplicar el número a convertir por el resultado de elevar la base del número (2 para números binarios) a un exponente, que será igual a la posición menos uno que ocupe el número a convertir numerando esta posición de derecha a izquierda.

El algoritmo es entonces la operación mediante la cual la computadora transforma el número binario de nueve cifras en uno decimal de tres, más manejable.

Entonces, desglosando la operación, tenemos:

Para E. coli:

Número binario para E. coli: 1 1 1 0 1 1 1 1 0

$$\begin{aligned} \text{Número decimal: } & 1X2^8 + 1X2^7 + 1X2^6 + 0X2^5 + 1X2^4 + 1X2^3 + 1X2^2 + 1X2^1 + 0X2^0 \\ & = 1X256 + 1X128 + 1X64 + 0X32 + 1X16 + 1X8 + 1X4 + 1X2 + 0X1 \\ & = 478. \end{aligned}$$

De la misma forma se transforman todos los números obtenidos de la tabla, - tomando también como positivos (1) los que se consideran pruebas débiles, - marcados como positivos en un paréntesis (Ver Tabla A y Anexo 1).

PARA LA TABLA PATRON = ANEXO I =

Extracciones	Simbolos
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	
13	
14	
15	
16	
17	
18	
19	
20	
21	
22	
23	
24	
25	
26	
27	
28	
29	
30	
31	
32	
33	
34	
35	
36	
37	
38	
39	
40	
41	
42	
43	
44	
45	
46	
47	
48	
49	
50	
51	
52	
53	
54	
55	
56	
57	
58	
59	
60	
61	
62	
63	
64	
65	
66	
67	
68	
69	
70	
71	
72	
73	
74	
75	
76	
77	
78	
79	
80	
81	
82	
83	
84	
85	
86	
87	
88	
89	
90	
91	
92	
93	
94	
95	
96	
97	
98	
99	
100	

111011110 ESCHERICHIA COLI
 100000000 SHIGELLA DYSENTERIAE A
 100000100 SHIGELLA FLEXNERII B
 100000100 SHIGELLA BOYDII C
 110000110 SHIGELLA SONNEI D
 100111001 EDWARDSIELLA TARDIA
 100101100 SALMONELLA TYPHI
 101001100 SALMONELLA PARATYPHI A
 101101100 SALMONELLA SCHOTTMULLERI
 101101100 SALMONELLA TYPHIMURIUM
 111101100 ARIZONA HINSHAWII
 111101111 CITRIBACTER FREUNDI
 111011101 CITRIBACTER DIVERSUS
 111000111 KLEBSIELLA PNEUMONIAE
 111001111 ENTEROBACTER CLOACAE
 111001111 ENTEROBACTER LIQUEFASCIENTIS
 100001111 SERRATIA MARCESCENS
 101111011 ARTEUS VULGARIS
 101101011 ARTEUS MIRABILIS
 101011001 ARTEUS HORBANI
 101011111 ARTEUS RETTGERI
 100011010 PARVIDENCIA ALCALIFACIENS
 000011000 ALCALIGENES FAECALIS
 100011110 VIBRIO CHOLERA
 10001001 PSEUDOMONAS AERUGINOSA
 111011110 PSEUDOMONAS AERUGINOSA
 111001111 PERTHABACTERIUM

1.3 Descripción del equipo de cómputo para el proceso del algoritmo. El algoritmo propuesto, debido a su sencillez, puede ser programado para procesarse en cualquier calculadora de escritorio que acepte algún lenguaje de programación o cualquier sistema de cómputo de los llamados "minicomputadoras" o bien computadoras grandes.

En este caso, debido a las facilidades que fueron proporcionadas, el algoritmo se programó en lenguaje FORTRAN EXTENDED del sistema CDC 6400 instalado en las Oficinas Generales de Petróleos Mexicanos.

Este sistema consta de todas las unidades necesarias para el proceso local (Proceso en lotes o Proceso Batch), asimismo, también tiene posibilidades amplias para el proceso remoto (Teleproceso), por medio de terminales conectadas al equipo.

Este último tipo de proceso fue el que se seleccionó para el desarrollo del programa y para el proceso rutinario del algoritmo, con objeto de simular lo que sería el proceso teniendo una terminal instalada en el laboratorio de un hospital.

Un programa de sistema de cómputo es una serie de instrucciones en un lenguaje especial que le indicarán a la computadora las operaciones a realizar con los datos que se le proporcionan.

Se desarrollaron dos programas: Uno para la obtención de la Tabla Patrón y otro para el proceso de rutina de los datos de laboratorio. Ambos programas se diseñaron para que la información de las pruebas se alimente directamente por una terminal de teleproceso de acuerdo al procedimiento de codificación explicado más adelante (Capítulo 2.1).

1.4 Diseño del programa.- Los programas desarrollados se diseñaron de una forma que nos permitiera verificar la eficiencia del método.

Al realizar la operación de rutina del método, se recomienda que el diseño y construcción del programa se lleve a cabo de manera que permita al usuario alimentar sus datos por medio del teclado de la terminal de teleproceso, el cual es muy similar al teclado de una máquina de escribir común, y obtener los resultados sin tener conocimientos de sistemas de cómputo o de lenguajes de programación.

Adelante, se muestran los dos programas:

EXTERNALS	TYPE	ARGS	REFERENCES
EOF	REAL	1	14
IMP		2	11

STATEMENT LABELS		DEF LINE	REFERENCES
10274	20	10	25
10343	100 FMT	13	12
0	200 INACTIVE	15	14
0	300	20	13
10353	400 FMT	22	21
10325	1000	26	14
10363	1100 FMT	28	27

LOOPS	LABEL	INDEX	FROM-TO	LENGTH	PROPERTIES
10311	300	* I	18 20	7B	EXT REFS

STATISTICS

PROGRAM LENGTH	132B	90
BUFFER LENGTH	10260B	4272
52000B CM USED		

2.- Transformación de los datos de las tablas de identificación.-

2.1 Procedimiento de codificación.- Como ya se explicó, la codificación es la transcripción de los datos, al formato definido en el programa para que el equipo pueda procesar la información, o de otra manera, - es la transformación de los datos originales en números de manejo más fácil.

En el Anexo I se muestran las formas de codificación con los datos de las tablas de identificación. La anotación se realizó colocando los datos - de las pruebas según las columnas indicadas en la tabla descrita a continuación:

<u>COLUMNA</u>	<u>PRUEBA</u>
1	Glucosa
2	Lactosa
3	Gas
4	H ₂ S
5	Indol
6	Movilidad
7	Manitol
8	Sacarosa
9	Urea

Cada resultado se debe anotar en la columna que le corresponde, ya que si se cambia alguna de lugar, el resultado estará alterado.

Se anotan como ya se mencionó:

1 para pruebas positivas (o en un 90%)

0 para pruebas negativas (o en un 90%)

Para las pruebas marcadas como débiles (+) y d^w en la tabla, se anotan también 1.

2.2 Proceso de los datos de la Tabla Patrón.- De acuerdo a lo expuesto - en el inciso anterior, se tienen todos los datos codificados, los que se van a alimentar al programa descrito en el Capítulo II, obteniéndose los valores de la Tabla Patrón (Anexo II).

- ANEXO II -

TABLA PATRÓN DE NÚMEROS DECIMALES PARA ENTEROBACTERIAS		
NÚMEROS BINARIOS	NÚMERO DECIMAL	ENTEROBACTERIAS
111011110	478	ESCHERICHIA COLI
100000000	256	SHIGELLA DYSENTERIAE A
100000100	260	SHIGELLA FLEXNERII B
100000100	260	SHIGELLA BOYDII C
110000110	390	SHIGELLA SONNEI D
100111001	313	EDWARDSIELLA TARDA
100101100	300	SALMONELLA TYPHI
101001100	332	SALMONELLA PARATYPHI A
101101100	364	SALMONELLA SCHOENMULLERI
101101100	364	SALMONELLA TYPHIMURUM
111101100	492	ARIZONA HINSHAWII
111101111	495	CITROBACTER FREUNDI
111011101	477	CITROBACTER DIVERSUS
111000111	455	KLEBSIELLA PNEUMONIAE
111001111	463	ENTEROBACTER CLOACAE
111001110	462	ENTEROBACTER AEROGENES
111001111	463	ENTEROBACTER LIQUEFACIENS
100001111	271	SERRATIA MARCESCENS
101111011	379	PROTEUS VULGARIS
101101011	363	PROTEUS MIRABILIS
101011001	345	PROTEUS MORGANII
101011111	351	PROTEUS REITZERI
100011010	262	PROVIDENCIA ALCALIFACIENS
000011000	24	ALCALIGENES FAECALIS
100011110	266	VIBRIO CHOLERA
100001001	265	PSEUDOMONAS AERUGINOSA
111011110	478	PARACOLOMBACTRIUM
111001111	463	PESTOBACTERIUM

- 3.- Otención de la Tabla Patrón.- Observando la tabla y los valores ya corridos se tienen los números decimales correspondientes a cada una de las Enterobacterias y que va a ser su número de identificación (Ver -- Anexo II).

La lista obtenida que va a funcionar como Tabla Patrón es:

1.-	<i>Alcaligenes faecalis</i>	024
2.-	<i>Shigella dysenteriae</i> A	256
3.-	<i>Shigella flexnieri</i> B	260
4.-	<i>Shigella boydii</i> C	260
5.-	<i>Pseudomonas auruginosa</i>	265
6.-	<i>Serratia marcescens</i>	271
7.-	<i>Providencia alcalifasciens</i>	282
8.-	<i>Vibrio cholera</i>	286
9.-	<i>Salmonella typhi</i>	300
10.-	<i>Edwardsiella tarda</i>	313
11.-	<i>Salmonella paratyphi</i> A	332
12.-	<i>Proteus morgani</i>	345
13.-	<i>Proteus rettgeri</i>	351
14.-	<i>Proteus mirabilis</i>	363
15.-	<i>Salmonella shcothmulleri</i>	364
16.-	<i>Salmonella typhimurium</i>	364
17.-	<i>Proteus vulgaris</i>	379
18.-	<i>Shigella sonnei</i> D	390
19.-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	455
20.-	<i>Enterobacter aerogenes</i>	462
21.-	<i>Enterobacter cloacae</i>	463
22.-	<i>Enterobacter liquefasciens</i>	463
23.-	<i>Pectobacterium</i>	463
24.-	<i>Citrobacter diversus</i>	477
25.-	<i>Escherichia coli</i>	478
26.-	<i>Paracolobactrum</i>	478
27.-	<i>Arizona hinshawii</i>	492
28.-	<i>Citrobacter freundii</i>	495

- 3.1. Tabla resultante (Tabla Patrón); La Tabla Patrón por lo tanto nos ser
virá de comparación con los resultados obtenidos al correr las prue--
bas de estudios reales hechos. Los valores no se modifican, de acueru
do a lo que se discute en los resultados (Incisos 1, 2 y 3).

CAPITULO III

PROCEDIMIENTO DE OPERACION.

1. Muestras a trabajar.- Para comprobar que este método puede funcionar - se probó con 350 muestras tomadas en:

- a) El Hospital de Petróleos Mexicanos.- Laboratorio de Análisis Clínicos.
- b) Pruebas bioquímicas reportadas por los alumnos de la Facultad de Química de la UNAM., que cursaron los Laboratorios de: Bacteriología Médica y Análisis Clínico Bacteriológicos (2o. semestre de 1978), de - muestras a analizar recibidas por ellos para práctica, de cepas ya - conocidas.

Cada bacteria para identificar fue aislada del medio ENDO o EMB, de los siguientes estudios: Urocultivos, Coprocultivos, Exudados vaginales y - uretrales y secreciones diversas.

En cada caso, se siguió con la rutina descrita en el Primer Capítulo y una vez que se aisló una colonia y por frotis con tinción de Gram se comprobó que eran bacilos Gram negativos, se sembraron en los medios de: Kligler.

SIM.

Surraco.

Manitol.

Después de 24 horas de incubación, se anotaron los resultados, dejando -- unas horas más los tubos dudosos (o tardíos) o haciendo una resiembra para mayor claridad.

La movilidad se verificó en algunos casos con el método de la gota pen diente.

Cada prueba se encuentra anotada en las hojas del Anexo III; a continua ción se encuentran los datos codificados de todas las pruebas y los re sultados.

Las pruebas que se realizaron fueron:

Urocultivos	151
Coprocultivos	86
Vaginales	47
Uretrales	09
Diversos	28
Pruebas bioquímicas	29

- 2.- Proceso de los datos obtenidos,- Los datos de cada problema se introducen en la computadora de la misma forma como se hizo con la Tabla Patrón, después de que se ha introducido el programa y se ha alimentado a la máquina con todos los datos que necesita (Capítulo II, 1.4, Ver hojas anexas). Se obtuvo un número decimal por cada bacteria, que se va a comparar con los de la Tabla Patrón.

- ANEXO III -

HCJA 1

CONVERSION DE LOS NUMEROS BINARIOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS DE LABORATORIO
NUMEROS BINARIOS NUMERO DECIMAL NUMERO DE PRUEBA

111011110	478	001
111011110	478	002
111011110	478	003
111011110	478	004
111011110	478	005
101011111	351	006
101101100	364	007
101101100	364	008
101101100	364	009
111011101	477	010
101101100	364	011
101101100	364	012
111101100	492	013
100111001	313	014
111011101	477	015
101001100	332	016
100001111	271	017
000011000	24	018
100001000	260	019
110000110	390	020
111011110	478	021
111011110	478	022
100001000	260	023
101001100	332	024
101001100	332	025
101001100	332	026
101111011	379	027
100101100	300	028

HOJA 2

CONVERSION DE LOS NUMEROS BINARIOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS DE LABORATORIO

NUMEROS BINARIOS	NUMERO DECIMAL	NUMERO DE PRUEBA
101011111	351	029
100001111	271	030
101111011	379	031
100111001	313	032
100000100	260	033
110000110	390	034
101101100	364	035
101001100	332	036
101001100	332	037
101101100	364	038
100101100	300	039
100101100	300	040
100001111	271	041
101111011	379	042
111011110	478	043
100001001	265	044
100000100	260	045
101011111	351	046
100011110	286	047
101011111	351	048
100011110	286	049
111011110	478	050
101001100	332	051
101001100	332	052
101001100	332	053
101001100	332	054
110000110	390	055
110000110	390	056

CONVERSION DE LOS NUMEROS BINARIOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS DE LABORATORIO
 NUMEROS BINARIOS NUMERO DECIMAL NUMERO DE PRUEBA

110000110	390	057
101001100	332	058
100000000	256	059
101011001	345	060
101011001	345	061
101101100	364	062
101101100	364	063
101001100	332	064
100101100	300	065
101011111	351	066
111001110	462	067
101011111	351	068
101011111	351	069
101101100	364	070
101011111	351	071
101101100	364	072
101101100	364	073
101011111	351	074
101101100	364	075
111011101	477	076
101101100	364	077
100111001	313	078
100111001	313	079
101001100	332	080
000011000	24	081
110000110	390	082
111011110	478	083
101011111	351	084

CONVERSION DE LOS NUMEROS BINARIOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS DE LABORATORIO
 NUMEROS BINARIOS NUMERO DECIMAL NUMERO DE PRUEBA

101011111	351	085
100101100	300	086
111101111	495	087
100001001	265	088
101110111	363	089
101111011	379	090
101111011	379	091
101101011	363	092
100111001	313	093
101101011	363	094
111101100	492	095
101101011	363	096
100111001	313	097
101101011	363	098
101111011	379	099
100111001	313	100
100001001	265	101
101011001	345	102
100111001	313	103
110000110	390	104
101101011	363	105
111011110	478	106
100101100	300	107
101101011	363	108
100101100	300	109
111011110	478	110
101101011	363	111
111011110	478	112

CONVERSION DE LOS NUMEROS BINARIOS CENENIDOS EN LAS PRUEBAS DE LABORATORIO
 NUMEROS BINARIOS NUMERO DECIMAL NUMERO DE PRUEBA

100101100	300	113
110000110	390	114
111011110	478	115
101101011	363	116
101101011	363	117
111011110	478	118
110000110	390	119
101101011	363	120
111011110	478	121
111011110	478	122
101101011	363	123
111011110	478	124
111011110	478	125
101001100	332	126
101101011	363	127
111011110	478	128
100101100	300	129
101101011	363	130
111011110	478	131
101101100	364	132
101101011	363	133
111011110	478	134
101101100	364	135
101101011	363	136
111011110	478	137
111011110	478	138
101001100	332	139
100101100	300	140

CONVERSION DE LOS NUMEROS BINARIOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS DE LABORATORIO
 NUMEROS BINARIOS NUMERO DECIMAL NUMERO DE PRUEBA

111011110	478	141
111011110	478	142
101101100	364	143
101101011	363	144
100000100	260	145
111011110	478	146
111011110	478	147
100101100	300	148
111101111	495	149
100000100	260	150
111011110	478	151
100101100	300	152
100101100	300	153
100101100	300	154
100101100	300	155
100101100	300	156
100101100	300	157
100000100	260	158
100101100	300	159
100101100	300	160
100000100	260	161
100000100	260	162
100101100	300	163
100000100	260	164
100000100	260	165
100000100	260	166
100101100	300	167
100000100	260	168

CONVERSION DE LOS NUMEROS BINARIOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS DE LABORATORIO
 NUMEROS BINARIOS NUMERO DECIMAL NUMERO DE PRUEBA

101001100	332	169
100101100	300	170
100101100	300	171
101101100	364	172
100001000	260	173
100001000	260	174
100001000	260	175
100101100	300	176
100101100	300	177
100101100	300	178
100101100	300	179
100101100	300	180
100101100	300	181
100101100	300	182
111011110	478	183
111011110	478	184
111011110	478	185
111011110	478	186
111011110	478	187
111011110	478	188
100101100	300	189
100101100	300	190
100101100	300	191
100101100	300	192
100101100	300	193
111011110	478	194
111011110	478	195
111011110	478	196

CONVERSION DE LOS NUMEROS BINARIOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS DE LABORATORIO
 NUMEROS BINARIOS NUMERO DECIMAL NUMERO DE PRUEBA

111011110	478	197
100101100	300	198
100101100	300	199
111011110	478	200
100101100	300	201
101101011	363	202
111011110	478	203
100101100	300	204
101111011	379	205
111011110	478	206
100000100	260	207
111011110	478	208
111011110	478	209
100101100	300	210
101011111	351	211
101111011	379	212
111000111	455	223
100101100	300	214
111000111	455	215
101111011	379	216
111011110	478	217
100101100	300	218
111000111	455	219
111011110	478	220
100101100	300	221
111011110	478	222
111011110	478	223
100000100	260	224

CONVERSION DE LOS NUMEROS BINARIOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS DE LABORATORIO
 NUMEROS BINARIOS NUMERO DECIMAL NUMERO DE PRUEBA

100101100	300	225
100101100	300	226
101101011	363	227
100101100	300	228
101011001	345	229
100101100	300	230
100000100	260	231
101101100	364	232
101101011	363	233
101111011	379	234
100000100	260	235
101111011	379	236
111011110	478	237
111011110	478	238
100101100	300	239
111011110	478	240
100101100	300	242
100101100	300	242
101101011	363	243
100101100	300	244
101101011	363	245
111011110	478	246
101011111	351	247
100101100	300	248
101101011	363	249
101101011	363	250
100101100	300	251
111011110	478	252

CONVERSION DE LOS NUMEROS BINARIOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS DE LABORATORIO
 NUMEROS BINARIOS NUMERO DECIMAL NUMERO DE PRUEBA

111011110	478	253
101101011	363	254
100101100	300	255
100101100	300	256
111011110	478	257
111101111	495	258
111011110	478	259
100101100	300	260
111101111	495	261
111011110	478	262
101101100	364	263
101111011	379	264
111011110	478	265
101101011	363	266
100101100	300	267
111011110	478	268
111101111	495	269
100101100	300	270
101101011	363	271
111010111	455	272
101101011	363	273
101101011	363	274
100111001	313	275
100111001	313	276
101111011	379	277
100111001	313	278
100011111	271	279
110010110	350	280

CONVERSION DE LOS NUMEROS BINARIOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS DE LABORATORIO EN LAS PRUEBAS DE LABORATORIO
 NUMEROS BINARIOS NUMERO DECIMAL NUMERO DE PRUEBA

101101100	364	281
101111011	379	282
101111011	379	283
100001001	265	284
101101011	363	285
100101100	300	286
100111001	313	287
100111001	313	288
101111011	379	289
100111001	313	290
100011010	282	292
111000111	455	292
110000110	390	293
101111011	379	294
101111011	379	295
111000111	455	296
100101100	300	297
100111001	313	298
100101100	300	299
110000110	390	300
100101100	300	301
100000000	256	302
111000111	455	303
100111001	313	304
100111001	313	305
101101011	363	306
101111011	379	307
101111011	379	308

CONVERSION DE LOS NUMEROS BINARIOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS DE LABORATORIO
 NUMEROS BINARIOS NUMERO DECIMAL NUMERO DE PRUEBA

100101100	300	309
101111011	379	310
100111001	313	311
100111001	313	312
100111001	313	313
111101111	495	314
101111011	379	315
111000111	455	316
111000111	455	317
111000111	455	318
100101100	300	319
100111001	313	320
110000110	390	321
100011010	282	322
111000111	455	323
111000111	455	324
101111011	379	325
101111011	379	326
100000000	256	327
100111001	313	328
101111011	379	329
101101011	363	330
101111011	379	331
101111011	379	332
100111001	313	333
100011010	282	334
101111011	379	335
111000111	455	336

CONVERSION DE LOS NUMEROS BINARIOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS DE LABORATORIO
 NUMEROS BINARIOS NUMERO DECIMAL NUMERO DE PRUEBA

- 101011010	346	337
101101100	364	338
100000100	260	339
101011110	350	340
101011010	346	341
111011110	478	342
100000100	260	343
101101100	364	344
101101100	364	345
- 101011110	350	346
100000100	260	347
111011110	478	348
- 101011110	350	349
101011010	346	350

TOTAL NUMEROS CONVERTIDOS 350

 IF60236-//// END OF LIST ////

 IF60236 //// END OF LIST ////

T A B L A "A"

DIFERENCIACION DE ENTEROBACTERIAS POR PRUEBAS BIOQUIMICAS.

		KLIGLER			SIM		MANITOL	SURRACO			
		Gluc.	Lact.	Gas	H ₂ S	Indol	Móvil	r de f	Sacar	Urea	
ESCHERICHIAE											
EDWARDSIELLEAE											
SALMONELLEAE											
KLEBSIELLEAE	Citrobacter										
	Enterobacter										
Serratia											
Proteus											
PROTEAE	Providencia										
	Vibrio										

+ : 90% ó más positivo a las 24-48 hs.; - : 90% ó más negativo; (+) : corresponde a una positiva lenta; + ó - : la mayoría de los cultivos positivos; - ó + : la mayoría de los cultivos negativos; d : diferentes reacciones; + ó (+) ó - ; d^w : corresponde a una reacción débilmente positiva.

IV RESULTADOS.- Como se puede ver en la Tabla Patrón, todos los valores se encuentran en un rango comprendido entre 024 y 504, hay cuatro grupos de bacterias que tienen el mismo número, y existen algunos valores que se diferencian de otro por sólo una unidad.

El único problema aquí se presenta con los números de identificación -- iguales, que analizándolos tenemos:

3. <u>Shigella flexnerii</u> B	260
4. <u>Shigella boydii</u> C	260
15. <u>Salmonella schothmulleri</u>	364
16. <u>Salmonella typhimurium</u>	364
21. <u>Enterobacter cloacae</u>	463
22. <u>Enterobacter liquefasciens</u>	463
23. <u>Pectobacterium</u>	463
25. <u>Escherichia coli</u>	478
26. <u>Paracolobactrum</u>	478

El primero, segundo y tercer grupo son bacterias tan parecidas, que en realidad es difícil diferenciar una de otra sólomente por estas nueve pruebas que se proponen, a excepción de Pectobacterium que no es de la misma familia de Enterobacter, pero hay que tomar en cuenta que en todos los casos de los tres primeros grupos se cuenta con otras pruebas muy sencillas para diferenciar una especie de otra ya que solo por estas pruebas sería difícil, por lo que habría que tomar en cuenta: Morfología colonial, otras pruebas de fermentación, reacciones inmunológicas, etc.

Un caso especial se presenta con E. coli y Paracolobactrum, ya que la primera bacteria es muy frecuente hallarla como agente causal patógeno de alguna infección, no así Paracolobactrum que no es patógena - (de vida libre) y además al igual que Pectobacterium presenta un cuadro de fermentaciones muy irregular y poco estandarizado, por lo que sus resultados muchas veces darán números fuera de los de la tabla; pero insistiendo, se trata de bacterias no patógenas o flora normal del hombre.

Con E. coli que ha sido tan estudiada, nos podemos valer aún de más - pruebas auxiliares para diferenciarla en un momento dado de cualquier bacteria, como las ya sugeridas anteriormente. Por lo tanto, sabiendo

manejar los datos correctamente y analizando con criterio los resultados podemos obtener identificaciones reales.

No hay que olvidar que el verdadero objetivo de este trabajo es obtener un método útil para usar como rutina en el diagnóstico clínico, no en la identificación bacteriana en general, ya que ésta implicaría un estudio más profundo y completo de un sinnúmero de pruebas; pero en -- realidad también sería posible hacerlo. Aquí nos interesa encontrar -- las bacterias patógenas causantes de la infección.

Otra cosa muy importante es que las pruebas se deben trabajar en condi ciones estandarizadas, usar una Tabla Patrón que esté comprobada como efectiva en nuestro ambiente de trabajo para hacer comparaciones rea-- les y además, lo más importante es apreciar los resultados de nuestras pruebas a analizar con el mismo criterio, ya que entre una persona y - otra varía la apreciación de las fermentaciones.

V CONCLUSIONES.-

Después de haber hecho las pruebas y encontrado algunos problemas, se puede concluir y aconsejar:

- 1.- Para adaptar este método a un laboratorio, hay que experimentar en diferentes condiciones como: Varias temperaturas, medios de cultivo, formas de sembrar, tiempos de incubación, cantidad de luz, aire, etc., todos los microorganismos que vayan a formar la Tabla Patrón, hasta lograr un comportamiento lineal de cada bacteria en nuestro ambiente de trabajo, partiendo siempre de CEPAS PURAS.
- 2.- Leer los resultados de las pruebas con el MISMO criterio, de ser posible, hechas por la misma persona.
- 3.- Tomar en cuenta que en los sistemas numéricos considerados en este trabajo, el valor relativo del dígito depende de su posición o lugar que ocupa dentro del número. Por tal motivo para la selección de los lugares de codificación de los números binarios, tanto para la Tabla Patrón como para la de pruebas de laboratorio, se tuvo especial cuidado en colocar de izquierda a derecha los lugares, para obtener los resultados de las pruebas, de las más seguras a las menos confiables, y en esta forma el valor decimal obtenido de la conversión se alterará por un resultado incierto en la cifra menos significativa, permitiéndonos una comparación más fácil con los valores de la Tabla Patrón. En estas condiciones, es importante interpretar con mayor cuidado las primeras cinco ó seis pruebas para no tener error, ya que son las de mayor valor significativo y podrían alterar más el número final, no así las dos últimas cifras.
- 4.- Algunos números no resultan ser alguno de los de la Tabla Patrón, pero si están bien interpretados (de acuerdo al inciso anterior) se pueden considerar como el número más cercano a él; de lo contrario, repetir las pruebas si no estamos conformes con los resultados. (Ver Pruebas No. 337, 340, 341, 346, 349 y 350).

- 5.- Llevar un récord de todas las características de todas las pruebas, desde el aspecto colonial en medios de enriquecimiento, hasta las pruebas bioquímicas, de ser posible anotar aún antes de las últimas pruebas, la bacteria probable de que se trata.
- 6.- Incubar todas las pruebas bajo las mismas condiciones exactamente que las de la Tabla Patrón que montamos.
- 7.- Incubar mayor tiempo las pruebas dudosas.
- 8.- Si no es posible contar con el equipo de cómputo aquí usado, se puede usar una variedad de máquinas menos complicadas a las que se les adaptaría el programa.
- 9.- Por último, hay que decir que este método si es recomendable para usar en la rutina ya que nos asegura que se está trabajando bien y ahorrando mucho trabajo, siempre y cuando se sigan todas las condiciones mencionadas y se cuente con el equipo adecuado.
- 10.- En este trabajo se logró el objetivo inicial que fue comprobar que el método es aplicable a la práctica y además se le pueden hacer algunas modificaciones según sean nuestras necesidades.

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

- 1.- Baker, F. J. "Manual de Técnica Bacteriológica".- Editorial Acriba España 1970.
- 2.- Berners-Lee, C.M. "Computación Electrónica de Datos", English Universities, London 1965.
- 3.- Burdon, K.L. y Williams, R.P. "Microbiología". Publicaciones Cultural, S.A. México, 1971.
- 4.- Civetta Nicolas, "Computación Electrónica de Datos". The Open University, 1971.
- 5.- Del Rey Calero, J. "Microbiología e Inmunología de las Enfermedades Infecciosas". Editorial Marbán, Madrid 1976.
- 6.- Davidsohn, I. y Henry, J. B. Todd-Sanford; "Diagnóstico Clínico por el Laboratorio". Salvat Editores, 1977.
- 7.- Dom, W.S. "Numerical Methods with Fortran IV Case Studies". Wiley Publishing, Inc. New York, 1974.
- 8.- Edwards, P.R. y Ewing, W. H. "Identification of Enterobacteriaceae" Burgess Publishing Co. 1972.
- 9.- Jawest, E. Melnick, J.L. y Adelberg, E.A. "Manual de Microbiología Médica". El Manual Moderno, S.A. 1973.
- 10.- Kuesrer, J. L. y Mize, J. H. "Optimization Techniques with Fortran IV". Mc Graw-Hill. New York, 1973.
- 11.- Mc Clung, L. S. "General Bacteriology Laboratory Manual" 1975.
- 12.- Rohde, P. A., B. A. "Manual de Procedimientos de Laboratorio y de Productos BBL". División Victor Dickinson & Co. Ed. Asociados, S.A. México 1974.
- 13.- Salle, A. J. " Fundamentals Principles of Bacteriology" 1973.
- 14.- Spencer, F. y Hide, T. A. "An Approach to Microbiologic Diagnosis and Matrix Problems for the Small Hospital Laboratory using a Small Computer". American Journal of Clinical Pathology, 1973.



TESIS "CLASICAS"

**PASEO DE LAS FACULTADES 32-D
FRACC. COPILCO UNIVERSIDAD
CIUDAD UNIVERSITARIA 20, D. F.**