

870123
2ej

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



CLASIFICACION DE NEISSERIAS SP AISLADAS DE DIFERENTES SECRECIONES

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
AURORA ESPINOSA ESPINOSA
A S E S O R :
Q.F.B. MA. DEL SOCORRO PULIDO GARCIA
GUADALAJARA, JALISCO. 1988

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

INDICE

1. Introducción	1
2. Generalidades	2
2.1 Morfología	4
2.2 Desarrollo	5
2.3 Patogenicidad	7
2.4 Fisiopatología	10
2.5 Factores predisponentes a una infección gonorréica	12
3. Material y métodos	13
3.1 Procedimiento	13
3.2 Pruebas bioquímicas	18
3.3 Medios de transporte y de cultivo	26
4. Resultados	28
5. Conclusiones y comentarios	35
6. Bibliografía	37

1- INTRODUCCION

Los neisserios son diplococos gram negativos que semejan un grano de café. Fueron descubiertos por Neisser en 1879, al observarlos constantemente en las secreciones purulentas vaginales y uretrales de los gonorreicos, además de el exudado conjuntival de hijos de madres gonorreicas. Este grupo de bacterias comprende especies saprofiticas y especies patógenas; las no patógenas generalmente se encuentran en la boca y vías respiratorias del hombre. Se pueden separar en dos grupos de especies, según el pigmento que producen y sus reacciones de fermentación.

Este trabajo, se basa en la necesidad e importancia que tiene el averiguar cuál es la especie de Neisseria con la que estamos trabajando: si es solamente una Neisseria saprofitica o patógena. En vista de la promiscuidad sexual existente en la actualidad, se han aislado varias cepas de Neisseria sp de diferentes secreciones, de aquí que para este estudio se tomen cinco diferentes secreciones humanas.

2.- GENERALIDADES

Las especies que comprende el género Neisseria son: N. gonorrhoeae, N. meningitidis, N. lactamica, N. subflava, N. flavescens, N. sicca y N. mucosa, pero se agregaron en los meses de Junio a Agosto de 1986, de acuerdo con el Manual Bergey: N. dentrificans, N. canis, N. elongata y N. cinerea. Todos ellos son diplococos gram negativos que semejan un grano de café, con sus superficies aplanadas opuestas. Hay especies que son parásitos y algunas no patógenas, esto hace que se dividan en dos grandes grupos.

a) Especies muy exigentes, que sólo se cultivan en medios especiales y son muy sensibles a agentes externos. Son parásitos humanos estrictos, y comprenden las especies patógenas N. gonorrhoeae y N. meningitidis.

b) Especies poco exigentes, que se cultivan en medios comunes, se desarrollan a 22°C y son poco sensibles a los agentes externos como N. sicca, N. mucosa, N. subflava, N. flavescens y N. lactamica. Son especies comensales, forman parte de la flora normal de vías respiratorias superiores, son oportunistas pero pueden intervenir en procesos patológicos. Las especies de este género se diferencian básicamente por oxidación de azúcares y reducción de nitratos.

En 1879, Neisser fue quien observó por primera vez estos microorganismos y se dio cuenta de que aparecían constantemente en las secreciones purulentas de los gonorreicos, (no sólo en secreciones uretrales y vaginales), sino también, en el exudado conjuntival de la infección gonorreica.

Todas las especies de Neisseria lucen al microscopio como diplococos gram negativos, esto obliga a hacer un estudio mas detallado, antes de reportar que en la observación del frotis se encontraron "Diplococos Gram Negativos". Esto tiene una consecuencia social muy fuerte, ya que este diagnóstico puede malinterpretarse o dar pie a que el médico le informe a

la paciente que padece gonorrea, en lugar de pedir la especie de esos diplococos, ya que puede tratarse de neiserias saprófitas. Si a la pareja de la paciente le informan: su mujer tiene neiserias no patógenas, tal vez sólo le interese que a su pareja le den medicina para retirar las bacterias, pero si en cambio le dicen que su mujer tiene gonorrea, la reacción del hombre no se hace esperar, aunque él sea la fuente de infección.

Se encuentran Neisseria sp en otras secreciones como la faríngea, donde la incidencia de N. lactamica es muy alta; sin embargo se encuentran presentes: N. sicca, N. subflava, N. flavescens, N. cinerea, N. mucosa y N. elongata. Aquí se encuentran como flora normal, pero como son bacterias oportunistas, pueden estar causando: meningitis, endocarditis, empiema, pericarditis, neumonía, bacteremia, conjuntivitis, etc.

2.1 Morfología.

Las neisérias son cocos gram negativos (fig # 1), inmóviles, que no forman esporas, crecen en parejas y, ocasionalmente, en tétradas y pequeños racimos. En las preparaciones tomadas en fresco, las neisérias se presentan a pares, y los cocos están en contacto por sus caras planas. En los cultivos puros, los cocos son ovales o esféricos, y a menudo se agregan en masas irregulares. Cuando el frotis es preparado de pus de secreción gonorrreica, los diplococos se encuentran dentro de los leucocitos. Producen oxidasas y catalasas, atacan los azúcares por oxidación.

MORFOLOGIA DE NEISSERIA SPP (FIGURA # 1)



2.2 Desarrollo.

Las neisérias comprenden varias especies, la mayoría son relativamente exigentes, y requieren medios enriquecidos, como el agar chocolate, que proporcione una importante fuente de hierro. Hay variaciones específicas de aminoácidos, purinas, pirimidinas y vitaminas.

La mayor parte de las especies, para su desarrollo, necesitan una humedad relativa elevada y un tensión de bióxido de carbono entre 5 y 10%.

Algunas neisérias son especialmente susceptibles a la desecación y desarrollan dentro de estrechos límites de temperatura (35-37°C) y pH (7.2 - 7.6) Todos los miembros del género Neisseria producen catalasa y citocromo oxidasa. Deberán cultivarse por espacio de 48 hrs.

Se encuentran en este género especies productoras de pigmentos xantófilos y no pigmentados; dentro de las pigmentadas las hay desde el amarillo hasta el marrón. (Tabla # 1)

MORFOLOGIA COLONIAL

TABLA # 1

	Color	Apariencia y Textura
<i>N. gonorrhoeae</i>	gris - blanco	plana
<i>N. meningitidis</i>	blanco amarillento - no pigmentada	plana, transparente
<i>N. lactamica</i>	amarillento - no pigmentada	plana, transparente
<i>N. sicca</i>	no pigmentada	rugosa, seca
<i>N. subflava</i>	amarillo verdoso	plana
<i>N. mucosa</i>	amarillento	mucoide, produce cápsula
<i>N. flavescens</i>	amarillo dorado - marrón	opaca, plana
<i>N. cinerea</i>	blanco grisáceo	ligeramente granular
<i>N. canis</i>	amarillento	pequeña, lisa
<i>N. elongata</i>	ligeramente amarilla	seca, plana, brillante

Las Neisseria crecen mejor en la superficie de un medio sólido que en un medio líquido equivalente, por eso generalmente se lleva a cabo en placas de agar.

2.3 Patogenicidad

Se puede hacer un juicio precoz: cultivando la secreción en agar nutritivo, a una temperatura de 22°C, esto nos llevará sólo al crecimiento de las neiserias no patógenas; el gonococo y el meningococo necesitan cultivarse en agar sangre a 37°C y en capnofilia.

Se ha demostrado que la virulencia de las cepas está directamente relacionada con la estructura antigénica; así el gonococo presenta diversos antígenos en los pili, cápsula y pared celular.

Los pili intervienen en la adherencia a las células epiteliales, en los fenómenos de transformación genética y dificultan la fagocitosis por los polimorfonucleares.

Se ha demostrado la presencia de una cápsula cuya composición no se conoce, que presente propiedades antifagocitarias.

Pared celular. Antígenos protéicos superficiales tipospecíficos, éstos han permitido dividir los gonococos en 16 serotipos: A, B, C, D, E, F, G, H, N, R, S, T, U, V, W y X. Otro antígeno es el lipopolisacárido (antígeno LPS) asociado con la endotoxina, está directamente relacionado con la aparición de anticuerpos, pero produce reacciones cruzadas con N. lactamica.

El meningococo presente una estructura antigénica poco conocida, pese a ello se conocen el antígeno capsular, proteínas tipospecíficas, lipopolisacáridos y pili, los tres últimos se encuentran en la pared celular

Antígeno capsular. Desde el punto de vista químico y serológico se dividió a los meningococos en 9 grupos: 4 grupos clásicos, A, B, C, D, y 5 de reciente adquisición, X, Y, Z, 29E y W-135

Pared celular. Los antígenos de la pared celular son: proteínas tipoespecíficas, lipopolisacáridos y pili.

Proteínas tipoespecíficas (STA o "serotype antigen") Permite clasificar a los meningococos en serotipos, especialmente para los grupos A, B, C, Y y W-135.

Lipopolisacáridos (antígeno LPS). Es termoestable y se identifica con la endotoxina.

Pili. Se han observado en las cepas recién aisladas.

Por especie se les encuentra causando patología:

Neisseria gonorrhoeae: Produce gonorrea, teniendo poder patógeno sobre mucosas genitales; en el hombre produce uretritis crónica, constricción, epididimitis y prostatitis. En la mujer pueden estar afectadas todas las vías genito-uritarias: cervicitis, uretritis, vulvovaginitis, salpingitis crónica, hidrosalpinge, piosalpinge, bartolinitis, absceso tuboovárico, proctitis, perihepatitis y peritonitis. Y tanto en el hombre como en la mujer causa oftalmia neonatorum, gonorrea rectal y faríngea, artritis gonocócica, endocarditis, miocarditis y meningitis.

Neisseria meningitidis: Produce meningitis meningocócica, se encuentra en la nasofaringe sin producir patología, hasta que la inmunidad del huésped baja o carece de ella. Las lesiones que produce esta bacteria tienen origen tromboembólico. Puede producir también rinofaringitis, otitis, artritis conjuntivitis purulenta, neumonía, meningitis purulenta, raras veces periviperitonitis. Ocasionalmente se han aislado meningococos de ano y uretra del hombre y de la vagina y cuello del útero en la mujer.

Neisseria sicca: Meningococo que se encuentra en mucosa de vías respiratorias. Ocasionalmente causa infecciones en el riñón; endocarditis y rara vez uretritis, pero su papel patógeno es desconocido.

Neisseria flavescens: Algunas cepas causan epidemias limitadas de meningitis.

Neisseria lactamica: Hay varias cepas que producen meningitis, bacteremia e infecciones respiratorias, rara vez se le encuentra relacionada con trastornos urogenitales. Por lo general coloniza faringe de niños de 3 meses de edad a 6 años.

Neisseria subflava, Neisseria flavescens, Neisseria elongata, Neisseria cinerea, Neisseria mucosa: Estas especies de neisserias son consideradas como de muy poca virulencia, y rara vez se ven implicadas como agentes etiológicos de las siguientes enfermedades: meningitis, pericarditis, bacteremia, endocarditis y neumonía.

2.4 Fisiopatología

N. gonorrhoeae no puede reproducirse o multiplicarse en áreas recubiertas con epitelio escamoso, pero sí en epitelio columnar, por tal motivo el sitio más común de infección primaria es el cervix en la mujer y la uretra en el hombre. En el hombre, el proceso infeccioso se presenta como una uretritis. Al final del tercer día después de la exposición se encuentra secreción purulenta con leucocitos polimorfonucleares con gonococos fagocitados en su citoplasma.

La inflamación puede bajar y el descamado epitelio columnar estar reemplazado por epitelio escamoso o estar asentado en la uretra posterior con exacerbaciones frecuentes. El posterior daño es el resultado del reemplazo de las capas mucosa y submucosa por tejido fibroso y cicatrizado. Esta cicatriz se puede contraer produciendo estrechez en la uretra.

Otras complicaciones son: cronicidad, lesiones específicas de la piel, complicaciones en epidídimo y próstata, artritis supurativa, diseminación y endocarditis.

En las mujeres, las glándulas endocervicales producen las condiciones ideales para N. gonorrhoeae. Generalmente la infección es totalmente asintomática. Un proceso similar al observado en la uretra masculina se presenta, con descarga purulenta, si viene de la abertura cervical.

La fase aguda de la cervicitis, disminuye después de un período variable de tiempo, pero los organismos permanecen en la glándulas cervicales por largos períodos.

La infección puede extenderse y ascender por las trompas de falopio, piel

del endometrio. Desarrolla en uretra, pero rara vez en miometrio.

Se han encontrado procesos rectales y faringeos como sitio primarios con alarmante frecuencia.

Rendtorff et al. de la universidad de Tennessee estimaron que la infección gonorréica produce 122,000 casos quirúrgicos anuales y de 30,000 a 60,000 mujeres que son esterilizadas involuntariamente cada año.

2.5 Factores predisponentes a una infección gonorréica

El alarmante incremento de casos de gonorrea puede atribuirse a 2 factores: el social y el médico.

Factores sociales:

- Ruptura de los cerrados "círculos sexuales"
- Incremento de la movilidad de la población
- Relejação de costumbres con tendencia liberal o postura permisiva hacia la promiscuidad
- Reducción del temor de un embarazo
- Ignorancia acerca de las enfermedades venéreas

Factores médicos:

- Falta de una prueba serológica para detección rápida
- Carencia de una vacuna efectiva
- Apatía de los médicos a reportar sus casos a las autoridades de salud pública
- Posible predisposición por los efectos de los contraceptivos orales
- Incremento de la resistencia del gonococo a diferentes drogas
- Insuficientes fondos para las instituciones de salud pública para la coordinación de buenas campañas contra enfermedades gonorréicas
- Conocimientos limitados de la biología de N. gonorrhoeae y la fisiopatología gonorréica.

3.- MATERIAL Y METODOS

Se procesaron 250 muestras obtenidas de 5 diferentes secreciones, éstas fueron: ojos, oídos, faringe, vagina y uretra masculina; 50 muestras de cada una de ellas.

3.1 Procedimiento

Para cada muestra se hizo una toma con dos hisopos estériles, posteriormente se introdujeron en un tubo de ensayo con medio de Stuart para transportar la muestra. Al llegar la muestra al laboratorio, con uno de los hisopos se hizo un frotis para teñirlo al gram, con el otro se sembraron dos cajas con medio de cultivo: uno no selectivo y enriquecido como el agar sangre para recuperar el mayor número de especies presentes en cada secreción, otro selectivo y enriquecido como el agar chocolate para no perder las bacterias que nos interesan pues son muy exigentes (tabla # 2).

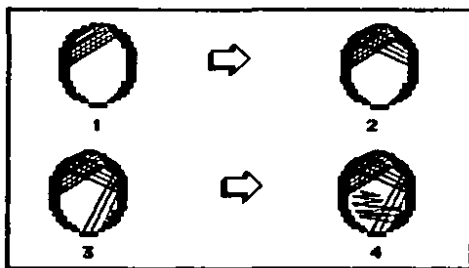
CRECIMIENTO MEDIOS DE CULTIVO (TABLA # 2)

	AGAR CHOCOLATE	AGAR SANGRE	AGAR NUTRITIVO
N. gonorrhoe	+	0	0
N. meningitidis	+	0	0
N. lactamica	+	v	+
N. sicca	0	v	+
N. subflava	0	v	v
N. mucosa	0	+	+
N. flavescens	0	+	+
N. cinerea	0	v	+
N. elongata	0	0	+

+ = generalmente positivo 0 = generalmente negativo v = caract. variables

Se utilizó la técnica por aislamiento (fig # 2), para la diseminación adecuada de los microorganismos para posterior identificación y observación de las colonias formadas. Se incubó a 37°C por 48 horas, después de este período de tiempo se realizaron frotis al gram de todos los tipos de colonias diferentes encontrados en los medios de cultivo; primero, para localizar las bacterias que nos interesaban y, en segundo, para observar las bacterias que se perdieron al hacer el cultivo y las que persistieron, ésto, comparando el frotis inicial con los frotis de las colonias obtenidas.

**ASLAMIENTO PRIMARIO DE MICROORGANISMOS
EN CAJA DE PETRI (FIGURA #2)**



Una vez hecho el inóculo primario, se disemina sucesivamente en estrías con movimientos de arriba a abajo en cada cuadrante, dando vuelta a la caja en ángulos de 90° grados. El asa se debe esterilizar entre las sucesivas estrías.

El propósito de esta técnica es distribuir el inóculo suficientemente sobre la superficie del agar como para poder obtener colonias bacterianas bien aisladas.

Una vez observada la morfología que nos interesaba, se les sembró en agar nutritivo a 37°C, de 24 a 48 horas sin proporcionarles una atmósfera especial, se hizo la prueba de la citocromo-oxidasa. Después, si la prueba era positiva se resembraba la colonia en diversos azúcares (maltosa, glucosa, lactosa, sacarosa) y en caldo nitrato para ver la reducción a nitrato. Se observaron los resultados después de 24 horas, los negativos se incubaban más tiempo para comprobar o su negatividad o si era una bacteria lenta para aprovechar aquel sustrato. Una vez obtenidos estos resultados se pasó a la clasificación en la tabla # 3

UTILIZACION DE CARBOHIDRATOS (TABLA # 3)

	GLUCOSA	MALTOSA	LACTOSA	SACAROSA	FRUCTOSA	NITRATO
N. gonorrhoeae	+	-	-	-	-	-
N. meningitidis	+	+	-	-	-	-
N. lactamica	+	+	+	-	-	-
N. sicca	+	+	-	+	+	-
N. subflava	+	+	-	v	v	-
N. mucosa	+	+	-	+	+	+
N. flavescens	-	-	-	-	+	-
N. cinerea	-	-	-	-	-	-
N. elongata	-	-	-	-	-	-
N. denitrificans	+	-	-	+	+	+
N. canis	-	-	-	-	-	+

♦ = generalmente positivo - = generalmente negativo v = caract. variables

Tinción de Gram

Propósito:

Coloración diferencial utilizada para demostrar las propiedades tintoriales de todos los grupos de bacterias.

Las bacterias Gram (+) retienen el cristal violeta tras la decoloración y aparecen de color azul intenso. Las bacterias Gram (-) no son capaces de retener el colorante primario y se contracoloran de rojo con la safranina.

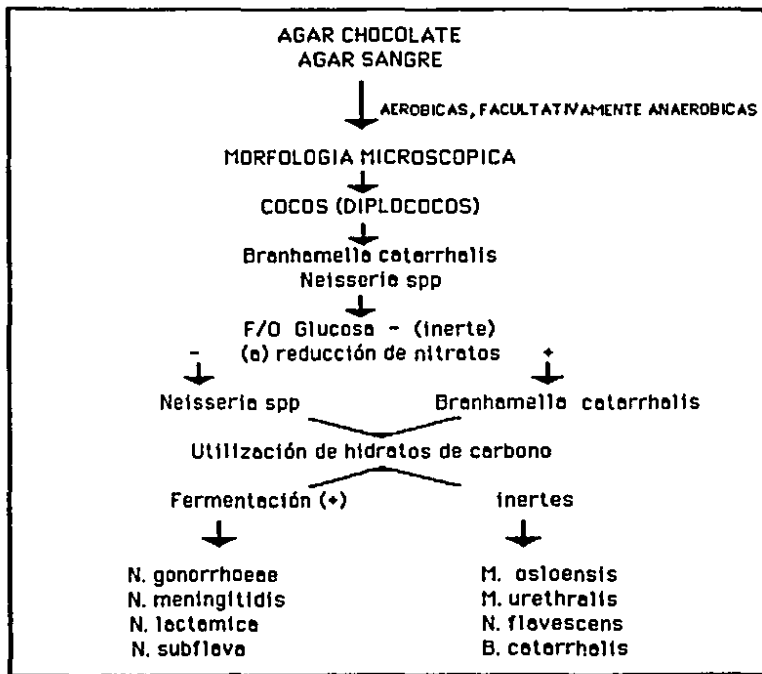
Las características de coloración de Gram pueden ser atípicas en cultivos muy jóvenes, viejos, muertos o en degeneración.

Cristal violeta	Iodo Gram	Decolorante	Contracolor
Cristal violeta	Ioduro de potasio	Acetona	Safranina O
Etenol	Iodo	Etenol al 95%	Etenol al 95%
Oxalato de amonio	Agua destilada		Agua destilada
Agua destilada			

Técnica:

- 1) Preparar el frotis (extendido y fijado de la muestra)
- 2) Cubrir con violeta de genciana por un minuto
- 3) Lavar al chorro de agua
- 4) Cubrir el frotis con lugol por un minuto
- 5) Lavar con alcohol acetona hasta la decoloración
- 6) Lavar al chorro para arrastrar el exceso de alcohol
- 7) Cubrir el frotis con safranina por un minuto
- 8) Lavar al chorro y secar
- 9) Observar por inmersión

ESQUEMA DE IDENTIFICACION DE NEISSERIAS (Esquema # 1)



3.2 Pruebas bioquímicas

Prueba de la oxidasa

Principio:

Determinar la presencia de las enzimas oxidases

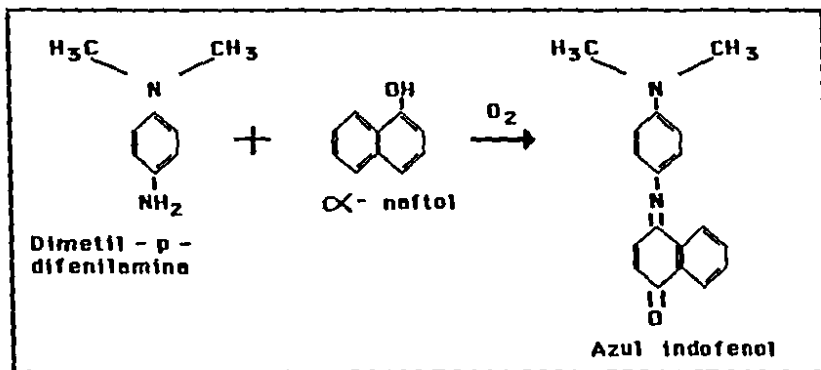
Objetivo:

Originalmente se utilizó para identificar las especies de Neisseria, pero ahora se usa para identificar otros géneros de bacterias, ya que la mayoría de los organismos gram positivos son oxidasa negativos y muchos de los bacilos gram negativos aparte de las enterobacteraceae tienen actividad oxidasa variable.

Bases bioquímicas:

La prueba de la oxidasa está basada en la producción bacteriana de una enzima oxidasa. Esta reacción de la oxidasa se debe a la presencia de un sistema citocromo-oxidasa que activa la oxidación del citocromo reducido por el oxígeno molecular, el que a su vez actúa como aceptor de electrones en la etapa terminal del sistema de transferencia de electrones.

Todas las especies de Neisseria producen una enzima oxidasa que, cuando se encuentra en presencia del oxígeno atmosférico, citocromo c, y un reactivo oxidasa, oxidan al reactivo para formar un compuesto coloreado, indofenol.



- 1.- Reactivo de Kovacs Diclorhidrato de tetrametil-p-fenilendiamina al 1%
- 2.- Alfa-naftol al 1%

Método de Placa Directa

- 1.- Agregar directamente 2 ó 3 gotas de reactivo a algunas colonias sospechosas en algún medio en placa.
- 2.- No inundar toda la placa con el reactivo.
- 3.- No invertir la placa.
- 4.- Observar cambios de color.

NOTA.- Reacción de color en 10 a 15 segundos. Ninguno de los reactivos interfiere con la coloración de gram.

Un resultado positivo está formado por numerosas reacciones en las cuales un componente autooxidable del sistema citocromo es el catalizador final. Los diversos colorantes de la prueba de la oxidasa son aceptores de electrones artificiales; el reactivo parafenilendiamina y el indofenol son a la vez dadores y aceptores de electrones. Estos sustratos artificiales son incoloros o coloreados, según el estado en que se encuentren; la reacción oxidasa final muestra un producto coloreado.

PRUEBA DE REDUCCION DEL NITRATO

Principio:

Determinar la capacidad de un organismo de reducir el nitrato en nitritos o en nitrógeno libre.

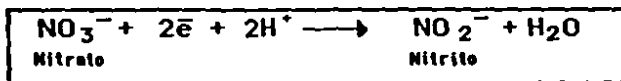
Objetivo:

Ayuda a la diferenciación de las especies: Branhamella catarrhalis (+) y Neisseria mucosa (+) de otras especies de Neisseria (-).

Bases bioquímicas:

La reducción del nitrato en nitrito y en gas nitrógeno, tiene lugar generalmente en condiciones anaeróbicas, en las cuales un organismo obtiene su oxígeno del nitrato y sólo pueden reducir nitrato en ausencia de oxígeno. En la reducción del nitrato, los citocromos bacterianos transportan electrones a moléculas aceptores específicas.

La presencia de los nitritos en el medio se detecta añadiendo alfa-naftilemina y ácido sulfanílico, con la formación de un colorante rojo de diazonio, p-sulfobenceno-azo-alfa-naftilemina.



Caldo Nitrato	Reactivo A	Reactivo B
Extracto de Carne Peptona Nitrato de Potasio Agar libre de nitritos Agua destilada	Alfa - naftilamina Acido acético (SN) 30%	Acido Sulfenilico Acido acético (SN) 30%

Al finalizar la incubación (24 hrs) agregar 1 ml del reactivo A y 1 ml del reactivo B. Si desarrolla color rojo en 30 segundos indica presencia de nitritos, por lo tanto, reacción positiva para la reducción de nitratos.

La ausencia de color puede indicar que los nitratos no han sido reducidos (reacción negativa verdadera) o que el nitrato fué reducido a productos diferentes de nitritos, como amonio, nitrógeno molecular (desnitrificación), óxido nítrico, óxido nitroso e hidroxilamina, por lo tanto hay que agregar polvo de zinc para que reduzca nitratos a nitritos y corroborar reacción negativa verdadera.

PRUEBA DE LA UTILIZACION DE CARBOHIDRATOS

Principio:

Determinar la habilidad de las Neisserie sp para fermentar (degradar) un carbohidrato específico incorporado al medio basal produciendo ácido.

Objetivo:

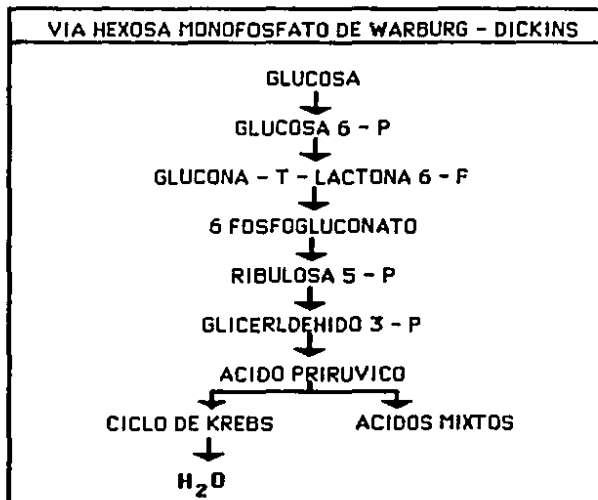
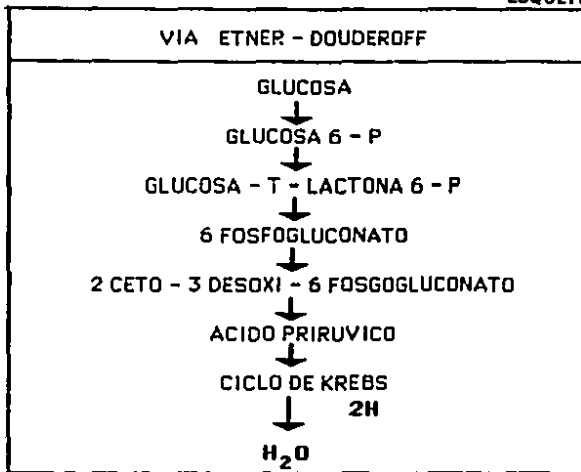
Las Neisserie sp son identificadas por su crecimiento y colonias características, su coloración y morfología al gram y su actividad oxidasa.

Para fines epidemiológicos, médico-legales y clínicos, es necesario confirmar si la Neisserie sp es patógena, esto se lleva a cabo con la prueba de la utilización de carbohidratos.

Bases bioquímicas:

El crecimiento de las neisierias es difícil por sus requerimientos; pero son metabólicamente activos. Hay infinidad de caminos involucrados en el metabolismo de la glucosa de varias especies de Neisserie, los cuales primero se llevan a cabo por vía oxidativa y luego fermentativa. En la formación glicolítica del ácido láctico con su subsecuente oxidación a piruvato, el acetato es utilizado por N. gonorrhoeae y N. meningitidis.

N. gonorrhoeae metaboliza la glucosa en una combinación de vías: Etner-Doudoroff y la vía de la hexosa--fosfato, obteniéndose como producto CO y ácido acético, éste es un proceso aeróbico. (Esquema # 2).



El no crecimiento ocurre anaeróbicamente, pero pequeñas cantidades de ácido acético y láctico son producidas a partir de la glucosa.

La utilización de la glucosa (dextrosa) ocurre en dos etapas:

- a) La glucosa se degrada a acetato y CO durante la actividad del crecimiento
- b) El ácido acético es oxidado después de la utilización de la glucosa en el medio de la prueba.

El cambio presente en el indicador de pH a ácido se debe a la producción de ácido acético y pequeñas cantidades de ácido láctico.

Prueba de carbohidratos
Triptelna
Cloruro de sodio
Rojo fenol
Hidrato de carbono
Agua destilada

3.3 Medios de transporte y de cultivo

Medio de transporte de Stuart

Agar Tioglicolato de Sodio Glicerofosfato de Sodio Cloruro de Calcio Azul de Metileno

Se suspenden 14.1 grs de polvo en un litro de agua destilado, se calienta hasta hervir, se esteriliza en autoclave y se distribuye en tubos con tapón de rosca.

Este medio es un sustrato medio sólido empleado en el transporte y conservación de especímenes para cultivos de diversos gérmenes.

Agar sangre

Su abundante base nutritiva ofrece condiciones óptimas de crecimiento a todos los microorganismos presentes, su pH (6.8) favorece la conservación de los eritrocitos y formación de halos claros de hemólisis.

Extracto de corazón Triptosa Cloruro de sodio Agar agar Aditivo: sangre Aqua

Se disuelven los ingredientes secos en el agua, se esteriliza en autoclave, se deja enfriar hasta 45°C, añadiendo de 5-8% de sangre desfibrinada, verter en cajas de petri.

Agar chocolate

Extracto de corazón Tryptose Cloruro de sodio Agar agar Aditivo: sangre Agua

Se disuelven los ingredientes secos en el agua, se esteriliza en autoclave, se deja enfriar hasta 45°C, añadiendo de 5-8% de sangre desfibrinada, antes de que solidifique se lleva hasta 100°C durante un minuto en agua hirviendo. Ocurre así la ruptura de los eritrocitos y éstos suministran un mejor sustrato para el crecimiento de las especies de neiserias exigentes.

Agar nutritivo

Este medio es empleado como base en la elaboración de medios más complejos.

Extracto de carne Peptona Agar agar Agua

Se disuelven los ingredientes en un poco de agua y se eflora hasta un litro. Se esteriliza en autoclave y se vacía en cajas de petri estériles.

4. RESULTADOS

De las 250 muestras obtenidas, sólo 28 fueron positivas, 222 fueron negativas para alguna de las especies de Neisseria. Los resultados se muestran en el cuadro # 2

cuadro # 2

Bacteria aislada	Tipo de secreción				
	Faríngea	Ocular	Otíca	Uretral	Vaginal
N. gonorrhoeae	1	-	-	3	6
N. meningitidis	-	-	-	-	-
N. lactamica	4	-	-	-	-
N. sicca	2	-	-	-	-
N. subflava	-	-	-	-	-
N. mucosa	10	-	2	-	-
N. flavescens	-	-	-	-	-
N. cinerea	-	-	-	-	-
N. elongate	-	-	-	-	-
N. canis	-	-	-	-	-
N. dentrificans	-	-	-	-	-

En la siguiente tabla (tabla # 5), se hace una relación de las especies de neiseria identificados en este estudio y el porcentaje que les corresponde.

tabla # 5

Bacteria aislada	# de casos	Porcentaje
N. gonorrhoeae	10	4.0 %
N. lactamica	4	1.6 %
N. sicca	2	0.8 %
N. mucosa	12	4.8 %

Como puede observarse el porcentaje de las especies de Neisseria fue muy bajo, para hacer más patente esta situación se han puesto en la tabla # 6 los grandes grupos de bacterias (atendiendo a su morfología y tinción al Gram), pudiéndose comparar contra el número de casos de Neisseria sp. encontrados en este estudio.

tabla # 6

Bacteria aislada	# de casos
Neisseria spp	28
Levaduras	76
Cocos Gram (+)	225
Cocos Gram (-)	88
Bacilos Gram (+)	245
Bacilos Gram (-)	78

La incidencia de otras bacterias es muy alta si se compara con la de neiserias no patógenas, siendo ambos grupos parte de la flora normal bacteriana de las cavidades estudiadas. (Cuadro # 3 y # 4)

También se puede visualizar en las siguientes gráficas (una gráfica para cada tipo de secreción estudiada) que la gran mayoría de las bacterias encontradas corresponden en mayor o menor proporción a la flora normal de las cavidades estudiadas.

cuadro # 3

FLORA BACTERIANA NORMAL	Oído	Conjuntiva	Faringe
Staphylococcus epidermidis	+++	+++	++
Micrococcus aerobios	++	++	+
Staphylococcus aureus	+	+	++
Streptococcus sp.	-	-	+
Streptococcus pneumoniae	+	+	++
Streptococcus alfa hem.	+	+	+++
Corynebacterium (difteroides)	+++	-	++
Propionibacterium	+	+	+
Lactobacillus	+	-	+
Bacillus sp	+	+	+
Clostridium perfringens	-	-	-
Otros anaerobios	-	-	+
Enterobacteraceae	+	-	+
Pseudomonas	+	-	+
Acinetobacter	+	-	+
Neisseria	-	+	+
N. meningitidis	-	-	-
Moraxella	-	-	+
Haemophilus	-	-	+

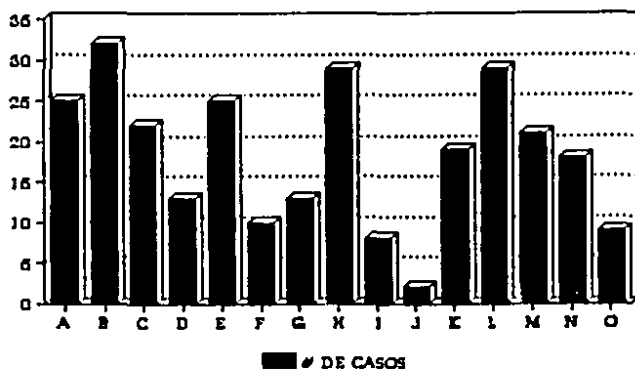
cuadro # 4

FLORA BACTERIANA NORMAL DE VAGINA	
Bacteroides, Fusobacterium	++
Peptococcus, Peptoestreptococcus	+
Eubacterium, Bifidobacterium	+
Clostridium perfringens	+
Staphylococcus aureus	+
Staphylococcus epidermidis	+
Streptococcus fecalis	+
Lactobacillus	++
Corynebacterium sp.	+
Enterobacteraceae	+
Pseudomonas	+
Treponema sp.	-
Mycobacterium sp.	-
Mycoplasma sp.	+
Chlamydia	+

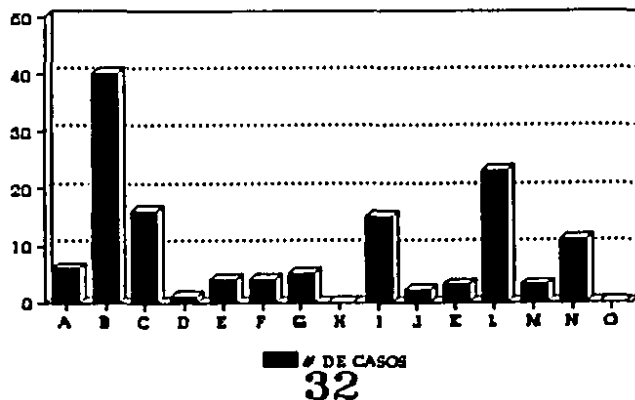
En los siguientes gráficos el significado de las variables es el siguiente:

- A** Levaduras
- B** Cocos Gram (+)
- C** Staphylococcus sp.
- D** Streptococcus sp.
- E** Micrococcus sp.
- F** Tétradas
- G** Diplococos Gram (+)
- H** Diplococos Gram (-)
- I** Cocos Gram (+)
- J** Cocobacilos Gram (-)
- K** Cocobacilos Gram (+)
- L** Bacilos Gram (+)
- M** Bacilos sp.
- N** Bacilos Gram (-)
- O** Actinomicetales

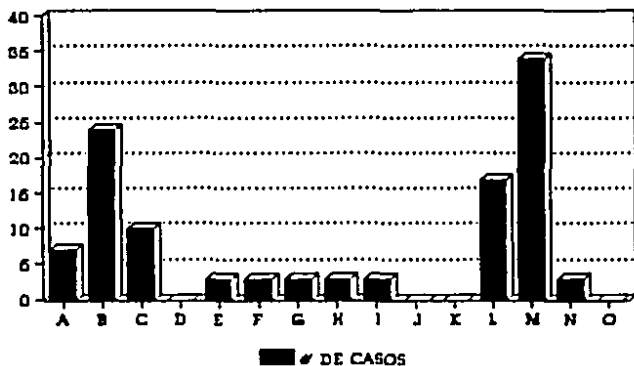
FARINGEO



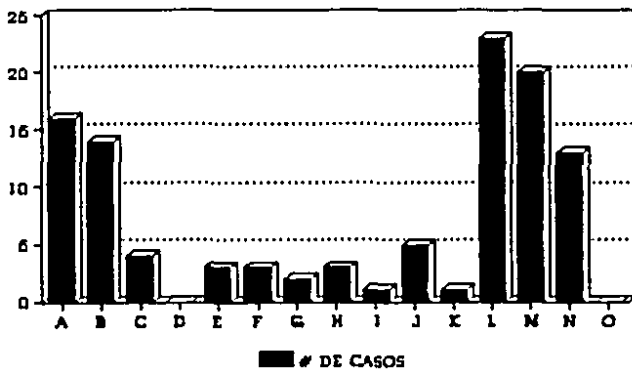
OCULAR



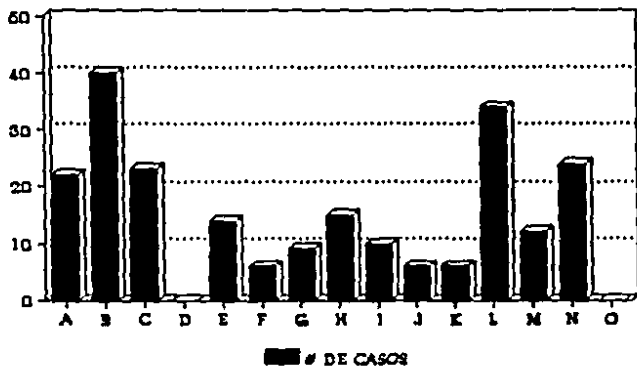
OTICO



URETRAL



VAGINAL



5. CONCLUSIONES Y COMENTARIOS

Neisseria gonorrhoeae es considerada la especie de Neisseria más frecuente en nuestro medio, pero observamos que comparado con otros países (como Estados Unidos) es todavía bajo. Dada la promiscuidad sexual y el relajamiento de costumbres se esperaba encontrar a esta especie de Neisseria en más alto porcentaje y en otras secreciones, como la faríngea, ocular y ótica; ya que en estudios realizados en los Estados Unidos se han obtenido resultados positivos para estas secreciones en cantidades alarmantes y en número creciente. Esto nos hace pensar que en nuestro medio no hemos llegado a tal grado en dicha relajación de costumbres.

La infección gonorréica es un problema fuerte de salud, pues la automedicación ha dado pie a que surjan cepas de N. gonorrhoeae resistentes a la penicilina. Al inicio de la década de los sesentas, se utilizaba un tratamiento de 50 a 100,000 UI administradas en forma dividida. En 1972, el Centro para el Control de Enfermedades (CDC) recomendó duplicar la dosis de penicilina G procaínica, en la actualidad, la dosis empleada es de 4.8 millones UI. La bacteria logra la resistencia, gracias a la producción de tres plásmidos: "Asiático" originario de Filipinas, "Africano" inicialmente visto en África Occidental y el "Europeo". Los dos primeros están ampliamente difundidos. Estos plásmidos controlan la producción de Penicilinas. El paciente con gonorrea, al sentir remisión de los síntomas generalmente, no termina el tratamiento. Lo anterior, nos lleva a pensar la cantidad tan grande de portadores que diseminan la bacteria que ya ha desarrollado resistencia a la penicilina.

N. lactamica, N. sicca y N. mucosa, consideradas como flora normal oportunista tienen un porcentaje bajo en comparación con otro tipo de bacterias oportunistas, pero esto puede deberse a que las muestras fueron tomadas durante los meses de enero y febrero, meses en los que el clima es muy frío, y aunque se pusieron los medios de transporte a una temperatura alrededor de 37°C antes de depositar la muestra, el tiempo

transcurrido entre el depósito de ésta y la siembra en el medio de cultivo, pudo bastar para que la bacteria muriera y no pudiera ser identificada.

Hacemos esta consideración porque en estos meses las defensas del huésped están disminuidas dadas las temperaturas ambientales, y era de esperarse un porcentaje mayor de incidencia de las especies de Neisseria, aunque se debe plantear la posibilidad de que algunas bacterias de la flora normal, también oportunistas inhiban a éstas, pero eso ya es motivo de otro estudio.

6. BIBLIOGRAFIA

- B.A. Freeman.; **Tratado de Microbiología de Burrows**, 21a. Ed. México. Edit. Panamericana. 1983.
- B.D. Davis Dulbecco, H.N. Eissen, H.S. Ginsberg y W.B. Wood.: **Tratado de Microbiología**, 2a. Ed. España. Edit. Salvat. 1972.
- Bajajil, L.; Santoscoy, G.: **Microbiología Médica**. Tomo I. 1a. Ed. México. Edit. Francisco Méndez Olea. 1981.
- Calderón Jaimes, Ernesto.: **Resistencia de Neisseria gonorrhoeae**. Rev. Infectología, Año 6, Núm. 4, Pag 91 - 92, Abril 1986.
- Conde González, Carlos J.: **Cervicovaginitis: una visión panorámica**. Rev. Infectología, Año 5, Núm. 2, Pag 30 - 31, Febrero 1985.
- Cowans y Steel's.: **Manual para la identificación de bacterias de importancia médica**, 1a. Ed. México. Edit. Continental. 1982.
- Chem, Kirk C.S.; Amsel, Richard.; Eschenbach, David A.; Holmes, Kirk K.: Rev. Infectología, Año 3, Núm 6, Pag 285 - 286, Junio 1983.
- De la Cruz González, Rubén.: **Vaginitis inespecífica y Gardnerella vaginalis**. Rev. Infectología, Año 5, Núm. 1, Pag 2, Enero 1985.
- De la Cruz González, Rubén.; Calderón J, Ernesto.: **Diagnóstico rápido de infecciones cervicovaginales**. Rev. Infectología, Año 6, Núm. 5, Pag 115 - 120, Mayo 1985.
- Davidsohn, I.; Henry, J.: **Todd-Sanford. Diagnóstico Clínico por el Laboratorio**. 6a. Ed. Barcelona. Edit. Salvat. 1982.
- **Diccionario Terminológico de Ciencias Médicas**. 11va. Ed. México. Edit. Salvat. 1983.
- **Difco. Manual de Bacteriología** (recopilación de técnicas)

- Jawetz, E; Allen, S.: **Diagnóstico Microbiológico**, 8va. Ed. México. Edit. El Manual Moderno. 1979.
- Koneman, Allen, Dowll y Sommers.: **Diagnóstico Microbiológico**, Argentina. Edit. Panamericana. . 1983.
- Mc Faddin, Jean F.: **Biochemical Test For Identification of Medical Bacteria**, 2a. Ed. U.S.A. Edit. William Wilkins.
- Mendialoe, J.: **Resumen Clínico de Ecología**. 1a. Reimpresión. México. Edit. Universidad Autónoma de Guadaluajara. 1982.
- Pedreza B, María Elena.: **Novedades en la nomenclatura bacteriológica**. Rev. Infectología, Año 6, Núm. 5, Pag 124 - 125, Mayo 1986.
- Platt Jr, Allan F.: **Faringitis bacteriana en adultos**. Rev. Infectología, Año 5, Núm 12, Pag 332 - 337, Diciembre 1985.
- Pumerale, A., Rodríguez Torres, A.,García Rodríguez, J.A., Plédrola-Angulo,G.: **Microbiología y Parasitología**, España. Edit. Salvat. 1984
- Redentorff, R.C. et. al.: **Memphis Gonorrhoea Complications study a Progress Repor**, Rev. American Venereal Disease Association Meeting, Noviembre 1972.
- Schoolnik, Gary K.: **The Pathogenic Neisseriae**, Rev. American Society for Microbiology, 1985
- Stryer, Lubert.: **Bioquímica**, 2a. Ed. España. Edit. Reverté. 1982.
- Valu, Joseph A.: **Simple Disk-Plate Method for the Biochemical Confirmation of Pathogenic Neisseria**. Rev. Journal of Clinical Microbiology, Núm 2, Pag 172 - 174, Febrero 1976