

870127

5

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

Incorporada a la Universidad Nacional Autónoma de México

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



**PREVALENCIA DE ESPECIES DEL GENERO KLEBSIELLA
EN INFANTES CON PROBLEMAS DE VIAS RESPIRATORIAS ALTAS**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTA:

DORA LETICIA LIZARRAGA LIZARRAGA

ASESOR: Q.F.B. SOCORRO PULIDO G.

**ESIS CON
A DE ORIGEN**

GUADALAJARA, JAL.,

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central

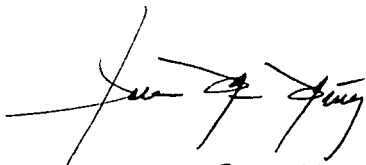


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

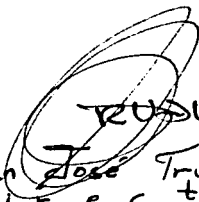
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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.



Q.F.B. Rosa Ma. Muñoz Saucedo
P r e s i d e n t e
Comisión Revisora de Tesis.



RUSILLO.
I.Q. Juan José Trujillo del Río.
D i r e c t o r
Escuela de Ciencias Químicas.

A MIS PADRES Y HERMANOS
POR EL GRAN AMOR QUE ME
INSPIRAN Y POR SU VALIOSO APOYO

A DIOS QUE ME DIO LUZ
EN ESTE CAMINO GRACIAS

A MI ESPOSO E HIJO
POR EL GRAN AMOR QUE ME
DEMOSTRAN Y SU GRAN APOYO.

CON MI ESTIMACION PARA MIS AMIGOS
DE AYER; HOY Y SIEMPRE; Y PARA
MIS APRECIABLES MAESTROS.

CON AGRADECIMIENTO Y ADMIRACION
A LA Q. F. B. MARJA DEL REFUGIO SOCIO R.
A LA Q. F. B. ROSA MARJA MUÑOZ
AL DR. J. JAIME MENDOZA S.

CON CARINO Y RESPETO A LA
Q. F. B. SOCORRO PULIDO S.
POR SU GRAN ESTIMULO Y VALIOSA
COOPERACION.

RESPECTUOSAMENTE PARA LOS
H. MIEMBROS DEL JURADO

PALABRAS AL II. JURADO

*SOMETO A LA CONSIDERACION DEL HONORABLE
JURADO LOS PRESENTES ESTUDIOS, PARA QUE
CON SU AMPLIO CRITERIO TEN LA OPINION
QUE CREAN CONVENIENTE.*

El amor todo lo puede: hace ligero todo lo pesado y lleva con igualdad todo lo desigual, lleva la carga sin carga y hace dulce y sabroso todo lo amargo.

El amor lo vence todo: el odio, la violencia, la guerra, el egoísmo. Es la palmerita de la paz en los desiertos del dolor. Es un instrumento poderosísimo en la búsqueda de la paz, porque se arma de paz contra el poder, contra la razón, contra la riqueza. Cuando el amor unirá a todos los hombres como hermanos, los grandes males que pesan sobre la raza humana, como la exclusividad, el hambre, la guerra, el subdesarrollo, el analfabetismo, la explotación del hombre... desaparecerán.

El amor libera, armoniza, ilumina.

El amor se arma de paz contra el poder, contra la razón, contra el honor, y dulcifica en medio de las penosas angustias que causa, la marginación de todas las violencias, de todos los golpes, de todas las tempestades.

William Shakespeare

INDICE

CAPITULO I

INTRODUCCION

1

CAPITULO II

GENERALIDADES

5

Descripción del género *Klebsiella*

6

Descripción de las especies del género *Klebsiella*

8

CAPITULO III

MATERIAL Y METODOS

10

Selección de Medios de Cultivo Primarios

12

Utilización de Citrato

13

Detección de fermentadores de glucosa y lactosa en agar hierro de Kligler

14

Movilidad

16

Indol

17

Ureasa

18

CAPITULO IV

RESULTADOS

20

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y 10 COMENTARIOS

31

BIBLIOGRAFIA

35

PREVALENCIA DE ESPECIES DEL
GENERO KLEBSIELLA EN INFAN
TES CON PROBLEMAS DE VIAS
RESPIRATORIAS ALTAS.

INTRODUCTION

Entre las infecciones intrahospitalarias en infantes, predominan en nuestro medio aquellas provocadas por bacterias Gram (-), destacando por su frecuencia y gravedad la sepsis por Klebsiella.

Este tipo de enfermedades cada vez son más difíciles de tratar por la resistencia creciente a los antibacterianos conocidos y porque para prevenirlas se requiere una vigilancia epidemiológica permanente que no siempre es posible realizar. Si bien los profesionales de la salud, poseen conocimientos básicos sobre los microorganismos y su relación con las enfermedades humanas, una breve reseña de los microorganismos más comunes resultará útil en el desarrollo de un programa para la prevención y control de las infecciones.

Hace más de 1 siglo Luis Pasteur (1822-1895) y sus colegas descubrieron que el hombre no puede vivir mucho tiempo en un ambiente estéril. Los años transcurridos entre 1882 y 1910 fueron descritos como la época de los grandes descubrimientos, pues en este período, la mayoría de los microorganismos patógenos fueron identificados lo que permitió prevenir y controlar muchas infecciones y enfermedades. En esta reseña ponemos especial énfasis en la mención de las bacterias, porque estos microorganismos son los principales causantes de infecciones y enfermedades en relación con el ambiente asistencial de la salud.

CONDICIONES OPTIMAS:

FLORA NORMAL.-

Denominase flora normal a los microorganismos del hombre y de los animales que colaboran con el cuerpo para mantener el equilibrio de la salud, impidiendo el desarrollo excesivo de bacterias nocivas.

Siendo de las vías respiratorias altas (faringe, nasofaringe, senos paranasales, celdas mastoideas.) en los cuales, están estreptococos anhemolíticos. Neisseria

Bacillus Gram (-), como: Pseudomonas, Escherichia, Parvulus, Citrobacter, Grupus - Klebsiella-Enterobacter-Serratia. Gram (+) como: Streptococcus hemolíticos, Ne-
plococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae.

LARYNGE.— Muy poco después de nacer, los estafilococos se encuentran en la flora predominante. Por las fosas nasales se inhala todo tipo de bacterias del aire, que se adhieren en la superficie mucosa.

NASOFARINGE.— También estas bacterias antes mencionadas pueden alojarse aquí en laquea y bronquios si no son atrapadas por las secreciones mucosas de la nariz y de la misma nasofaringe, pocos microorganismos llegan a la laquea o bronquios y los que lo hacen suelen eliminarse por medios mecánicos o inmunológicos.

Si cualquiera de estos 2 mecanismos falla, los microorganismos quedan se multiplican y producen infección.

SENOS PARANASALES Y CELNAS MASTOIDEAS .— Prácticamente estériles.

Como en uno de los grupos antes mencionados figura el Grupo Klebsiella-Enterobacter-Serratia, es por lo que consideramos de importancia el estudio que realizamos debido a que en un momento dado pueden causar algún problema de vías respiratorias altas.

El desarrollo de cualquier enfermedad infecciosa depende de una sucesión de factores que a menudo constituyen un ciclo, el cual debe ser necesariamente solo para prevenir y controlar la infección.

Los factores que intervienen en este proceso infeccioso son:

- 1.— Un agente microbiano e infeccioso que vive y se multiplica.
 - 2.— Una fuente o reservorio donde se desarrolla.
 - 3.— Escape de éste agente a través de una puerta de salida.
 - 4.— Su transmisión de diversas maneras.
 - 5.— Su ingreso en la nueva fuente de infección por la puerta de entrada apropiada.
 - 6.— Su maduración y multiplicación, en la nueva fuente (un huésped susceptible).
- El agente etiológico o infeccioso tiene que poseer virulencia suficiente como para producir estado de enfermedad en el hombre.

Las *Klebsiela* son a menudo encontradas en el intestino humano y en una variedad de situaciones ambientales, tales como suelo, vegetación y agua (Duncan y Ruggell, 1972; Killell, 1975). A lo largo de las 2 últimas décadas, las *Klebsiela* han venido a ser patógenos oportunistas importantes en pacientes de hospital (Price y Seligh , 1970; Curie et al 1978).

GENERALIDADES

El género VJ. Klebsiella nevinan 1885.

Son bacilos no móviles, Gram (-), encapsulados de 0.3-1.5 por 0.6-6.0 ,
dispuestos aisladamente, en pares o cadenas cortas.

Se desarrollan en medios de extracto de carne que producen colonias brillan-
tes más o menos en forma de domo, de grados variables de pegajosidad depen --
diendo de la cepa y la composición del medio.

Ningunos requisitos para su desarrollo especial y la mayoría de las cepas --
pueden usar citrato y glucosa como fuente de C. única y amoníaco como fuente-
de N.

La glucosa es fermentada con la producción de ácido y gas (Más C_2 que H_2) -
pero ocurren cepas anaerobias. La mayoría de fermentación de glucosa y la --
reacción V. P. generalmente es positiva: ácido láctico , acético y fórmico, -
son formados en cantidades más reducidas y etanol en cantidades más grandes -
en una fermentación ácido mixta. El H_2S no se produce e ISJ; gelatinosa e in-
dol por lo general no son producidos. Temperatura óptima de desarrollo 35-37
°C pH óptimo alrededor de 7.2.

Las cepas de Klebsiella son resistentes a penicilina en dosis normales pero
pueden ser sensibles a concentraciones altas: la sensibilidad a las siguen -
tes drogas puede variar: ampicilina, cefalosporina, estreptomina, clorvam-
fenicol, tetraciclina, neomicina, kanamicina, polimixina B, sulfonamidas y ni-
trofurantoina. La proporción de cepas resistentes está creciendo constantemen-
te, lo cual puede ser debido a mutaciones pero en muchos casos probablemente
causado por transferencias de plásmidos portadores de determinantes de resis-
tencia a un número variable de drogas.

Klebsiella en sus cultivos se clasifican serológicamente sobre la base de sus
antígenos K (capsulares) y O (somáticos) virulencia.

La especiación de las Klebsiellas puede lograrse mejor por medios de las pue-
bas ilustradas en el cuadro abajo citado.

ESPECIACION DEL GEN. KLEBSIELLA

PRUEBA

K. pneumoniae

K. oxytoca

K. ozaenae

K. stuartii

Identificación

de lactosa	+	+	(-)	-
Voges Proskauer	+	+	-	-
Pejo melado	-	-	+	+
Citrato Serratia	+	+	(-)	-
Lisina decarboxasa	+	+	(-)	-
Lisina				
Melenado	+	+	-	+
Tribol	-	+	-	-
Succinasa	+	+	(-)	-
Ureasa	+	+	(-)	-

Los tipos capsulares A. C. de Julianello (1926) y O. F. de Gosling y Sridena (1936) fueron redesignados 1-6 por Kaufman (1949), quien estableció nuevos tipos: otros investigadores han llevado el total de tipos K hasta 80 y hay 11 tipos O diferentes, como el número de tipos O es pequeño en comparación con los tipos K, ya que su determinación del tipo serotípico se basa primariamente en la determinación K.

Todos los tipos K pueden ser encontrados en K. pneumoniae; K. ozaenae contiene los tipos 4, 5, 6, 115 y ocasionalmente el 3, pero la mayoría pertenecen al tipo de capsula 4. Las cepas de K. stuartii usualmente son miembros de K. tipo 3.

Existen muchas relaciones entre los Agr. K. de Klebsiella y algunos entógenos K. de otras bacterias tales como Streptococcus pneumoniae, Escherichia coli y Salmonella paratyphi-B (entógeno M). Al ser examinados se encuentran que los entógenos O reaccionan en gran medida en orden de los del grupo Escherichia coli.

Los entógenos K. de los tipos K 1-72 son polisacáridos acetilglucosaminos que contienen ácido hexámico (ácido glucurónico o galacturónico) en casi todos los casos, y también 2 a 4 de los siguientes ácidos como: galactosa, glucosa, manosa, fructosa y rabinosa (Mannich 168-1971). Von Lidenitz es al

1968 para una revisión de análisis cualitativos y cuantitativos de Klebsiella en sustancias capsulares. En cuanto a los lipopolisacáridos de los antígenos ver Mamici (1968-1971).

No existen repintes sobre la serología de antígenos R (de cepas conentes de antígeno O con o sin antígeno K) los antígenos fimbriales.

Un antígeno específico de grupo presente en casi todas las cepas de Klebsiella ha sido reportado (Pickell y Cabelli, 1953).

GENÉTICA : Una recombinación cromosomal afortunada ha sido reportado por Masumoto y Tagaki (1970) Transferencia de plásmidos mediante conjugación si tiene lugar, y el carácter los ha transferido de E. coli K-12 por el factor F-lac.

DESCRIPCIÓN DE LAS ESPECIES DEL GÉNERO KLEBSIELLA

Klebsiella pneumoniae. - (Bécilo de Friedländer) constituye el patógeno más importante.

Klebsiella pneumoniae (Shvoeter) Trevisan 1887, 94 incluye Enterobacter aerogenes según lo descrito en la Séptima Edición de The Manual: Bacterium pneumoniae crouposae Zepf. 1885; 66 : Hyalococcus pneumoniae, Shvoeter 1886 , 152 Bacillus pneumoniae Shvoeter Flügge 1886 -204.

Pneu.mo'ni.ae.n gr. pneumonia (Inflamación de los pulmones).

M. L. n. gen pneumoniae de neumonía.

Fimbrias (franjas (2)) están presentes en la mayoría de las cepas:

Es un microorganismo capsulado, por lo cual produce colonias húmedas de gran tamaño, que frecuentemente presentan un aspecto mucoso.

Hasta el momento se han identificado en estos microorganismos 5 antígenos O y 72 antígenos capsulares K que son polisacáridos.

K. pneumoniae se encuentra en el aparato respiratorio y en las heces de un 5-10% de individuos sanos y se halla con frecuencia de forma secundaria en los pulmones de pacientes afectados de procesos pulmonares crónicos.

Tanto las neumonías producidas por K. pneumoniae como las debidas a Pneumococcus del tipo 3 se caracterizan por la producción de espumas gelatinosas y la presencia de una elevada densidad bacteriana en las zonas edematosas de las lesiones activas.

Klebsiella ozaenae (Abel) Bergey et al 1925, 266 (Bacillus ozaenae Abel 1893, 172 Bacterium ozaenae Abel) Lehmann y Neumann 1896, 204).

o. zae. 'nae. L. n. fm. ozaena ozaenae: L. N. gen ozaenae de ozenae.

Cierta enfermedad inflamatoria crónica del aparato respiratorio superior ha sido atribuida a esta bacteria en el Ozena (Atrofia fétida progresiva de la mucosa nasal).

La mayoría de las cepas se desarrollarán con Amo nio como fuente de N y la glu - cosa como fuente de C. y fuente de energía.

La cápsula tipo 4 es la más común, los tipos 3, 5, 6, y 1/5 son encontrados también.

Puede ser difícil clasificar una cepa como K. ozaenae debido a la gran variabilidad en muchas características bioquímicas.

No han sido encontradas fimbrias.

Klebsiella rhinoscleromatis. - Trevisan 1887, 95. (Bacterium rhinoscleromatis (Trevisan) Megula 1900, 352).

rhino.scle.no.ma.tis. M L. adj. rhinoscleromatis perteneciente a rhinoscleroma

No han sido demostradas fimbrias en esta especie, pertenecen a cápsula tipo 3.

Klebsiella rhinoscleromatis es encontrada constantemente y exclusivamente en pacientes con rhinoscleroma y sus contactos.

Klebsiella oxytoca. - Fue aislado primero por Flügge de una especie de leche agria en 1886. No fue hasta 1963 que el oxigenismo fue aceptado como un miembro del género Klebsiella y solamente con la aprobación de algunas autoridades.

MATERIAL Y METODOS

Las muestras remitidas para aislamiento de enterobacterias incluyen esputo, tejido, pus, líquidos corporales, escobillado rectal y heces.

Para prevenir el crecimiento excesivo de estos microorganismos y obtener un cuadro exacto de la flora microbiana, estas muestras deben cultivarse en -- forma inmediata o mantenerse en un medio de transporte apropiado como el de Stuart o Amies.

El material que se utilizó para este estudio fué:

Hisópos estériles

Lámpara de alcohol

Abatelenguas

Gradillas

Incubadora

Refrigerador

Microscopio

MEDIOS (Diferenciales , Selectivos)

Estreptocel Agar

EMB-Levine-Agar

Agar Sangre

Tergitol Agar

Mc. Conkey Agar

MEDIO DE TRANSPORTE

Stuart

BIOQUÍMICAS

Sacrosa

Calculo Simmons

SYM

Kligler

Urea

Se utilizaron 100 muestras de exudados faríngeos obtenidos de infantes con problemas de vías respiratorias altas, a los cuales se les hizo un breve cuestionario, el cual incluyó el nombre del paciente, la edad, la sintomatología y el cuadro clínico que fue dado por médicos especialistas en Pediatría.

Fueron tomadas las muestras con hisopo estéril ayudados de una lámpara de mano para poder visualizar el campo de trabajo, luego se introdujeron a un medio de Stuart (Medio de Transporte) para así ser llevados asépticamente al laboratorio donde se les procedió de la siguiente manera:

Las muestras se sembraron en 5 medios (diferenciales y selectivos) Mc, Conkey, EMG, Estreptocel, Tergitol, | Agar Sangre, las cuales fueron incubadas por 24 horas a 35 °C. y se observaron las características de las colonias, de las cuales se tomaron las sospechosas para el género Klebsiella (mucoides, cremosas, bordes irregulares, ligeramente elevadas, medianas) y de todo el crecimiento de diferentes colonias, se les realizó frotis el cual se tiñó con la coloración Gram.

Y se observaron los diversos microorganismos ahí presentes.

Enseguida a estas colonias se les realizó un batería establecida de pruebas bioquímicas para su identificación , las cuales fueron KIA, C. Simmons, SIM, Sacarosa, Urea.

SELECCION DE MEDIOS DE CULTIVO PRIMARIOS

Para un óptimo aislamiento de los microorganismos es esencial inocular la muestra en el medio de cultivo primario apropiado, tan pronto como sea posible realizar luego que ésta llega al laboratorio. De los varios cientos de medios comercialmente disponible es necesario que el microbiólogo clínico elija para uso diario un número relativamente pequeño de medios selectivos y no selectivos.

Un medio no selectivo es un medio tal como el Agar Sangre, considerando que es un medio de enriquecimiento, que promueve el desarrollo de las bacterias más comúnmente halladas. Un medio selectivo es aquel ideado para promover el desarrollo de ciertas bacterias , inhibiendo el de otras.

Los medios de cultivo primarios a inocular deben seleccionarse sobre la base de la fuente nutricional del material clínico y del conocimiento de las especies bacterianas comúnmente encontradas en muestras de diversas fuentes.

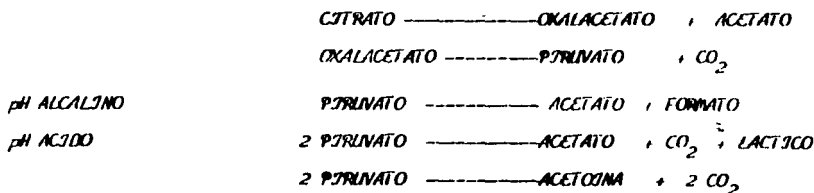
Por lo cual nosotros en nuestro estudio utilizamos los dos tipos de medios - como fueron (Mc. Conkey, Agar Sangre, EMS, Tergitol, Estreptocel)

UTILIZACION DE CITRATO

El Principio de utilización de citrato, consiste en determinar la capacidad - de un organismo para utilizar citrato de sodio como única fuente de C. para - metabolismo y desarrollo.

Principio

La utilización de citrato por una bacteria se detecta en un medio con citrato mediante la formación de sus productos alcalinos. El medio incluye citrato de sodio, un anión, como única fuente de carbono y fosfato de amonio como única fuente de nitrógeno. Las bacterias que pueden utilizar citrato también pueden extraer nitrógeno de la sal de amonio, con producción de amoníaco (NH_3), - llevando a la alcalinización del medio por conversión del NH_3 en hidróxido - de amonio (NH_4OH). El azul de bromotimol, amarillo a pH menor de 6 y azul a pH mayor de 7.6 es el indicador.



TECNICA

Se tomó una colonia bien aislada de la superficie de un medio de aislamiento primario e inoculó en una sola estala en el pico de agar citrato. Se inoculó -

el tubo a 35 °C durante 24 horas.

Interpretación

El desarrollo de un color azul intenso en 24-48 horas indica una prueba positiva y revela que el organismo en estudio ha sido capaz de utilizar citrato contenido en el medio, con la formación de productos alcalinos. La prueba es también positiva en ausencia de color azul si existe un desarrollo visible de colonias a lo largo de la estría de inoculación. Esto es posible debido a que para el desarrollo del organismo sea visible, debe encontrarse en la fase logarítmica, lo cual es factible sólo si el carbono y el nitrógeno han sido asimilados.

La interpretación positiva a partir del desarrollo en la línea de siembra se puede confirmar incubando el tubo durante 24 horas más usualmente en el cual aparece un color azul.

DETECCION DE FERMENTADORES DE GLUCOSA Y LACTOSA EN AGAR HIERRO DE KLIGLER

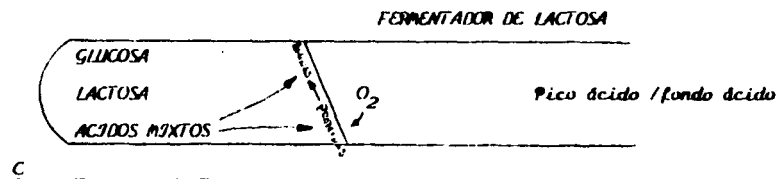
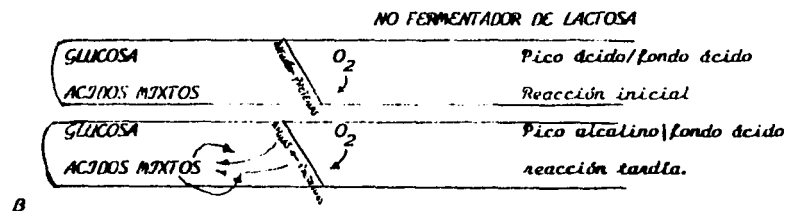
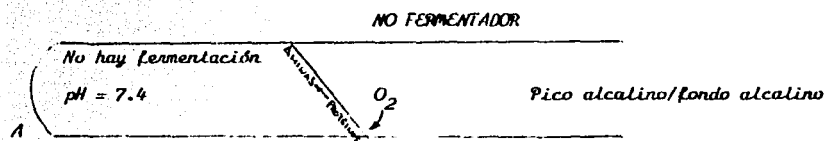
El agar hierro de Kligler (KJA) es virtualmente indispensable para la identificación de bacilos Gram negativos recuperados en medios de aislamiento primario. — El patrón de reacción es parte integrante de muchos esquemas de identificación de enterobacterias y sirven también de valioso control de calidad para la confirmación de las reacciones observadas en otros medios en estudio. La fórmula del agar doble de azúcar fué ideada originalmente por Russell, en 1911, para destacar la producción de ácido y gas a partir de dextrosa y lactosa en un único medio. — Kligler modificó la fórmula en 1917 añadiendo sulfato ferroso y tiosulfato de sodio a fin de detectar asimismo la producción de gas H_2S .

Las siguientes observaciones son de importancia en el estudio de la fórmula del KJA, la incorporación de cuatro compuestos proteicos, extracto de carne, extracto de levadura, peptona y proteosa peptona, hace que el KJA sea muy rico desde el punto de vista nutritivo, y la falta de inhibidores permite el desarrollo de todas las especies bacterianas salvo las más exigentes (exclu ---

yendo las anaerobias obligatas). Por tal razón, el KJA solo puede analizarse para un análisis una única especie bacteriana tomada de una sola colonia aislada en placa de agar primario o selectivo. La láctosa está presente en una concentración 10 veces mayor que la glucosa. El sulfato ferroso como detector de H_2S , es algo menos sensible que otras sales férricas o ferrosas: por lo tanto puede haber discrepancias en las lecturas de H_2S entre el KJA y el TSI]

El indicador rojo de fenol es amarillo a un pH menor de 6.8. Puesto que el pH final del medio está estabilizado a 7.4, la producción de cantidades relativamente pequeñas de ácidos provocan un cambio visible de color.

Los principios bioquímicos los que se basan las reacciones observadas en el KJA se ilustra abajo.



Esquema de los tres tipos generales de reacciones producidas por bacterias - que desarrollan en agar hierro de Kliger. A) muestra bacterias no fermentadoras, incapaces de producir ácido por fermentación de glucosa o lactosa: - no hay cambio en el medio (representado por color blanco) B) Ilustra una acidificación inicial del fondo y el pico del medio (líneas verticales) - por bacterias que fermentan glucosa, pero el pico retorna al pH alcalino al formarse aminas alcalinas por descarboxilación oxidativa de proteínas cerca de la superficie.

C) Ilustra la acidificación completa permanente del fondo y pico del tubo por bacterias fermentadoras de lactosa.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MOVILIDAD

La movilidad bacteriana es otra característica importante en la identificación final de una especie. Las bacterias se mueven por medio de flagelos, cuyo número y ubicación varía en las diferentes especies. Se dispone de -- tinciones flagelares para esta determinación, pero no se utilizan comúnmente.

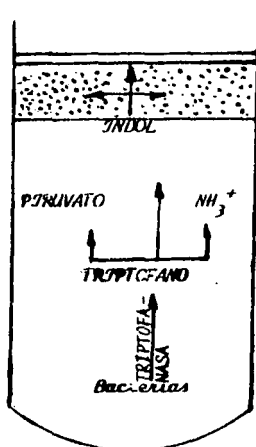
Los medios para detectar movilidad contienen concentraciones de agar de 0.4% o menos. A mayores concentraciones el gel es demasiado firme como para permitir la libre diseminación de los organismos. Los medios combinados, tales como el sulfuro-indol-movilidad (SIM) han hallado amplio uso en los laboratorios de microbiología clínica, pues se puede medir más de una característica en un mismo tubo. Se debe interpretar primero la prueba de movilidad, ya que el agregado del reactivo de indol puede oscurecer los resultados.

La prueba de movilidad se interpreta utilizando un examen macroscópico del medio para observar una zona de desarrollo difuso que parte de la línea de inoculación. Sin embargo, estas pruebas son inadecuadas para algunas bacterias nuevas, que son a menudo las que desarrollan lentamente en medio de prueba de movilidad en donde el indicador tetrazolio sería más útil.

INDOL

El indol es uno de los productos del metabolismo del aminoácido triptófano. - Las bacterias que poseen la enzima triptofanasa son capaces de degradar el triptófano, con producción de indol, ácido pirúvico, y amoníaco (NH_3^+).

El indol se puede detectar en un medio apropiado observando el desarrollo de color rojo luego de añadir un reactivo que contiene p-dimetilaminobenzaldehído (reactivos de Ehrlich o de Kovac). La base bioquímica de esta prueba se ilustra como sigue:



p-dimetilaminobenzaldehído

Capa cloroformica (color rojo)

Medio con triptófano:

Caldo triptófano

Agar sulfuro-indol movilidad (SIM)

Principio

La prueba de indol está basada en la formación de un complejo de color rojo cuando el indol reacciona con el grupo aldehído del p-dimetilaminobenzaldehído. Este es el principio activo de los reactivos de Kovac y Ehrlich descritos más adelante. Se debe utilizar un medio rico en triptófano. En la práctica se emplean medios combinados tales como sulfuro-indol-movilidad -

(SIM)

Técnica

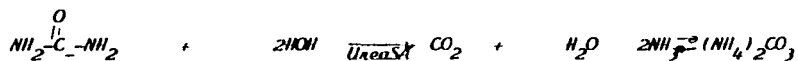
Inocular caldo triptófano (u otro medio con indol) con el organismo en estudio e incubar a 35 °C durante 18 u 24 horas. Al finalizar este periodo, añadir 5 gotas de reactivo por la pared interior del tubo.

Interpretación

El desarrollo de un vivo color rojo-fucsia en la interfase del reactivo y el caldo (o en la capa de cloroformo) segundos después de añadir el reactivo indica la presencia de indol y un prueba positiva.

UREASA

La ureasa es una enzima que poseen muchas especies de microorganismos que pueden hidrolizar urea de acuerdo con la siguiente reacción química.



El amoníaco reacciona en solución para formar carbonato de amonio, produciéndose una alcalinización y un aumento del pH del medio.

Técnica

Inocular el caldo con una asa cargada con el organismo previamente aislado en cultivo puro: estriar la superficie del agar con el organismo en estudio. - Incubaremos los medios a 35°C durante 18 a 24 horas.

Interpretación

Los organismos que hidrolizan urea rápidamente pueden producir reacciones positivas en 1 u 2 horas; las especies menos activas pueden requerir 3 u más días.

Las reacciones son:

Culto de Sturán: un color rojo en todo el medio indica alcalinización e hidrólisis de urea.

Agar de Christensen:

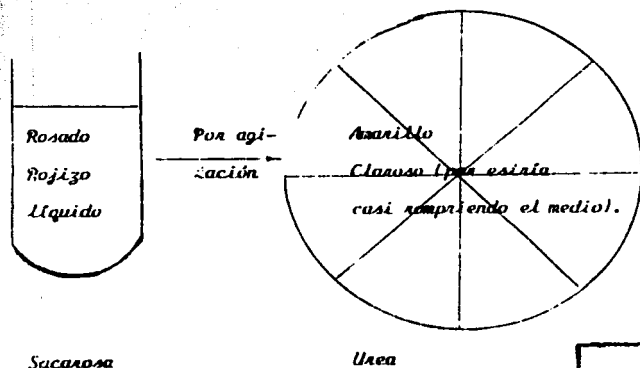
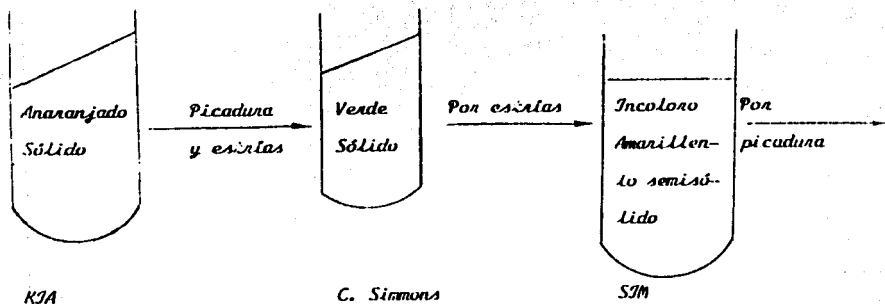
Degradadores rápidos de urea: color rojo en todo el medio

Degradadores lentos de urea: (Klebsiella sp) ; color rojo inicial solo en

el pico y gradualmente abarca todo el medio.

No hidrólisis de urea: el medio conserva el color amarillo original.

Las pruebas bioquímicas se realizaron de la siguiente manera:



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

RESULTADOS

Muestra	Edad	Síntomatología	COLONIAS					Resultado
			EMB	Tergitol	Estreptocel	A. S.	Mc. Conkey	
1	4	Dolor de cabeza, irritación en a- mígdalas +, Tos	+	+	-	-	-	Estrepto <u>K. pneumoniae</u> coco, Bá- cilos - Gram (-), cotos, - Gafkya, - Clostridium
2	3	Irritación en a- mígdalas ++ Cua- dro estreptococi- co.	+	+	+	+	-	Gran canti- Estreptococo- dad de leva- duras, Diplo- cocos gram (+) Estreptococo

3	5	Irritación en la garganta ++, Cua dro estreptococci co.	+	+	+	+	+	Cocos Gram (+) en pares, estreptococo, Diplococos Gram (-).	<i>Estreptococo</i>
4	8 m	Inflamación de amígdalas	+	+	-	-	+	Báctilos Gram (-), cortos Estreptococo, Diplococos Gram (+).	<i>K. oxytoca</i>
5	5	Inflamación de amígdalas	+	+	-	-	-	Estreptococo,	<i>Estreptococo</i>
6	5 m	Faringitis	+	+	-	-	+	Báctilos Gram (-), Estreptococo	<i>E. coli</i>
7	8	Faringitis y amigdalitis	+	+	+	+	-	Cocos gram (+), en pares Estreptococo.	<i>Estreptococo</i>
8	7 m	Gripa	+	+	-	-	+	Báctilos Gram (-), Cocos Gram (+), en pares, Diplococos Gram (-).	<i>K. pneumoniae</i>
9	1	Amígdalas inflamadas, irritación +++	+	+	+	-	-	Diplococos Gram (+) en pares, Estreptococo	<i>Estreptococo</i>



10	1	Amígdalas inflamadas irritación +	+	+	-	-	+	Bacilos Gram (-) cortos Escasas levaduras, Di- plococos Gram (+).	<u>K. pneumoniae</u>
11	3	irritación en las amig- dalas +	+	+	+	-	-	Abundantes levaduras, Diplococos Gram (-), Micrococos.	Levaduras
12	2	Irritación en las amig- dalas ++	+	+	+	-	-	Estreptococo, micrococos Abundantes levaduras.	Levaduras
13	1.4	Irritación en las amig- dalas +++, Bronquitis crónica con pus.	-	+	+	+	-	Estreptococo	Estreptococo
14	13	Faringitis estrepto- cocica.	-	+	+	+	-	Estreptococo, micrococos levaduras.	Estreptococo
15	5	Irritación en amígdalas ++, hipotroóficas.	-	+	+	+	-	Levaduras, Diplococos Gram (+), Estreptococo, Báci- los Gram (-) esporulados.	Estreptococo
16	12	Irritación en amígdalas ++, faringitis crónica.	+	+	+	+	+	Bacilos Gram (-) cortos, Diplococos Gram (+)	<u>E. coli</u>

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

17	12	Irritación en amígdalas ++, hipertroóficas	-	+	+	+	-	Cocos Gram (+) en pares, Estreptococo.	Estreptococo
18	3	Irritación en amígdalas ++	-	+	+	+	-	Diplococos Gram (+), Estreptococo.	Estreptococo
19	5	Irritación en amígdalas +	-	+	+	+	-	Micrococos, Estreptococo	Estreptococo
20	2	Irritación en amígdalas +	-	+	+	+	-	Estreptococo.	Estreptococo
21	3-5	Irritación en amígdalas ++, Tos	-	+	+	+	-	Estreptococo, Diplococos Gram (+).	Estreptococo
22	10 m.	Irritación en amígdalas ++, inflamación, faringitis, problemas bronquiales.	-	-	+	+	-	Estreptococo	Estreptococo
23	3	Irritación en amígdalas ++, inflamación	-	+	+	+	-	Diplococos Gram (+), Estreptococo.	Estreptococo
24	4	Adenopatía	-	+	+	+	-	Estreptococo	Estreptococo

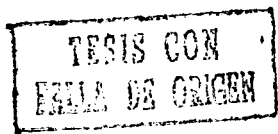
TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

25	12	vivir en garganta, irritación +, inflamación	-	+	+	-	Bacilos Gram (-) cortos Diplococos Gram (+), Estreptobacilos.	<u>K. chinensis</u> <u>nomalis</u>
26	4	Dolor, fiebre, irritación +, tos.	-	+	+	+	Estreptococo	Estreptococo
27	12	Dolor, inflamación, irritación +	-	+	+	+	Bacilos Gram (-), Diplococos Gram (+).	<u>K. ozaenae</u>
28	8 m	Adenopatía, urticaria, temo grafismo, irritación +	+	+	+	-	Bacilos Gram (-), Diplococos Gram (-), Estreptococo.	<u>K. pneumoniae</u>
29	1.3	Tos, moco, irritación +.	+	+	+	-	Estreptococo	Estreptococo
30	3	Irritación ++, hipertrofia adenopatía.	+	+	+	-	Cocos Gram (-), Estreptococo.	Estreptococo
31	12	Dolor en la garganta	-	+	+	-	Estreptococo	Estreptococo
32	5	Hipertrofia en las amígdalas.	-	+	+	+	Estreptococo, Bacilos Gram (-).	Estreptococo
33	7	Laringotraqueobronquitis	+	+	-	-	Bacilos Gram (-), Bacilos Gram (+) esporulados.	<u>K. chinensis</u> <u>nomalis</u> <u>K. ozaenae</u>

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

34	9m	Inflomación, Fiebre	+	+	+	-	+	Cocos Gram (-), Báculos <i>K. oxytoca</i> Gram (-), Diplococos - Gram (+).
35	3 m	Inflomación, irritación	-	-	-	-	-	-----
36	10 m	Irritación ++, Tos	-	-	-	-	-	-----
37	2	Irritación en amígdalas +++	+	+	+	+	-	Estreptococo, Diploco <i>Estreptococo</i> cos Gram (-) y (+).
38	2	Dolor en garganta, irri tación ++	-	+	+	+	-	Estreptococo, Diploco <i>Estreptococo</i> cos Gram (+)
39	2	Dolor en garganta, cata no.	-	-	-	-	-	-----
40	2.2	Fiebre, tos, dolor garga ta, catarro, irritación ++	-	-	-	+	-	Estreptococo <i>Estreptococo</i>
41	7	Irritación +	-	-	-	-	-	-----
42	1.8	Ama bronquial	-	-	+	+	-	Diplococos Gram (+) y (-) <i>Estreptococo</i> <i>Estreptococo</i>
43	7	Tos, Gripe, irritación +++, pus	-	-	+	-	-	Báculos Gram (-), <i>Estrepto Estreptococo</i> coco.
44	2 ^h	Irritación ++, inflama ción	-	+	+	+	-	Estreptococo, Diplococos <i>Estreptococo</i> Gram (-)

45	9	Irritación ++, inflamación	-	-	+	+	-	Estreptococo, Diplococos Gram (-).	Estreptococo
46	9	Inflamación, irritación ++, Dolor en garganta, tos, gri pa.	-	-	-	-	-	_____	_____
47	1.5	Tos, gripa, irritación ++ inflamación.	-	-	+	+	-	Estreptococo, Diplococos Gram (-).	Estreptococo
48	6	Inflamación, tos, dolor irritación ++.	+	+	+	+	-	Estreptococo	Estreptococo
49	2	Tos, gripa, inflamación	-	-	-	-	-	_____	_____
50	1.7	Tos, inflamación, irritación ++.	-	+	+	+	-	Micrococos, Estreptococo Diplococos Gram (-)	Estreptococo
51	4	Faringitis crónica, irrita ción ++, inflamación.	-	-	+	+	-	Estreptococo, Diplococos Gram (+)	Estreptococo
52	8m	Tos, gripa, inflamación, irri tación ++	+	+	+	+	+	Estreptococo, Báculos Gram (-) contos	<u>K. ozaenae</u>
53	5	Dolor, hiperabúlicas cefalea, anorexia, inflamación, irrita ción +	-	+	+	+	+	Estreptococo	Estreptococo



54	7	Gripa, tos, dolor, irritación ++ inflamación	+	+	+	+	+	Bacilos Gram (-)	<u>K. pneumoniae</u>
55	3	Tos, gripa, irritación + inflamación	-	+	+	+	-	Micrococos, Estrepto coco	Estreptococo
56	3m	Inflamación, gripa, tos irritación ++	-	-	+	+	-	Levaduras, Estrepto coco, Báculo Gram (-) esporulado.	Estreptococo
57	4	Tos seca, tapado de la nariz	-	+	+	+	-	Estreptococo, micrococos	Estreptococo
58	4	Dolor en garganta, inflamación irritación +	-	+	+	+	-	Estreptococo	Estreptococo
59	3	Gripa, tos, inflamación	+	+	+	+	+	Estreptococo, Bacilos Gram (-) cortos	<u>K. pneumoniae</u>
60	7	Gripa, tos, inflamación	+	+	+	+	+	Estreptococo, levaduras Bacilos gram (-)	Pseudomonas
61	10	Tos	+	+	+	+	-	Estreptobacilos, Diplococos Gram (+), Bacilos Gram (+)	Estreptococo
62	12	Gripa, irritación +	+	+	+	+	-	Estreptococo	Estreptococo

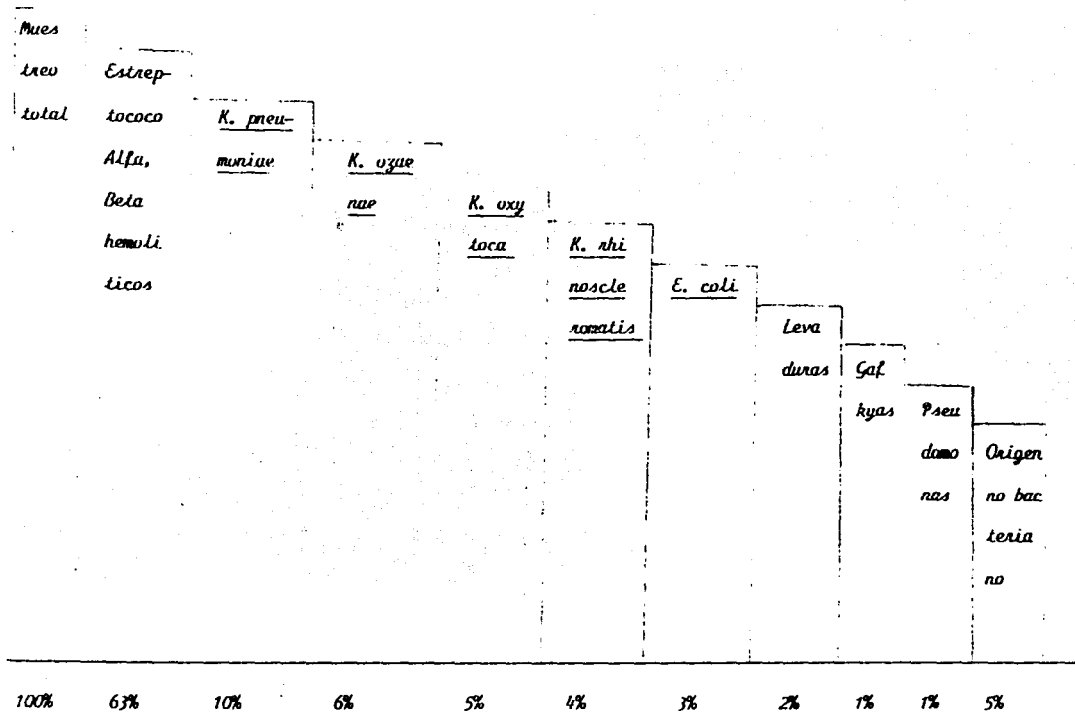
63	5m	Tos	-	-	+	+	-	Estreptococo	Estreptococo
64	1	Tos, gripa, adenopatia, hiperemias, fiebre.	-	-	+	+	-	Micrococos, Estreptococo	Estreptococo
65	8m	Gripa, tos, calentura	-	+	+	+	-	Estreptococo	Estreptococo
66	3	Dolor de cabeza, tempe- ratu- ra natural, irritación ++	+	+	+	+	-	Estreptococo	Estreptococo
67	4	Gripa, dolor de garganta crónico	+	+	+	+	+	Estreptococo, Báculos Gram (-) cortos.	<u>K. ozaenae</u>
68	12	Ama	+	+	+	+	-	Estreptococo, Báculos Gram (-) cortos.	<u>K. ozaenae</u>
69	4	Inflamación, alergia de la nariz	-	-	+	+	+	Micrococos, Diplococos Gram (+), Báculos Gram (-) cortos.	<u>K. pneumoniae</u>
70	9	Inflamación, irritación ++	+	+	+	+	+	Micrococos, Estreptococo, Báculos Gram (-) cortos	<u>K. rhinoscleromatis</u>
71	7	Inflamación, irritación ++	+	+	+	+	-	Micrococos, Estreptococo Báculos Gram (-) cortos	<u>K. pneumoniae</u>
72	4	Inflamación, irritación ++	+	+	+	+	+	Micrococos, Estreptococo Báculos Gram (-) cortos	<u>E. coli</u>

73	5	Adenopulsi. gripa, tos,	+	-	+	+	-	Micrococcos, Estreptococo	<u>K. rhinoscleromat</u>
								Báctilos Gram (-) cortos.	
74	2	Gripa, tos, fiebre	+	-	+	+	-	Estreptococo	Estreptococo
75	6	Gripa, tos	+	+	+	+	-	Levaduras, Estreptococo	Estreptococo
76	8	Inflamación, irritación	+	+	+	+	-	Micrococcos, Estreptococo	Estreptococo
77	3	Gripa, tos	+	+	+	+	-	Micrococcos, Estreptococo	Estreptococo
78	4	Inflamación, irritación	+	-	-	+	-	Estreptococo, Cocos Gram	Estreptococo
								(+) en racimo.	
79	4.5	Bronquitis asmática	-	-	+	+	-	Estreptococo	Estreptococo
80	9 m	Problemas de Klebsiella pero intestinal	-	-	+	+	-	Báctilos Gram (-) cortos, Estreptococo	Estreptococo
81	9 m	Gripa, tos	+	+	+	+	+	Báctilos Gram (-) cortos, Diplococos Gram (+).	<u>K. pneumoniae</u>
82	2	Alergia, bronquitis as mática.	+	+	-	+	+	Estreptococo, Báctilos Gram (-) cortos.	<u>K. ozaenae</u>
83	6	Inflamación, irritación	+	-	-	+	-	Estreptococo	Estreptococo
84	8	Irritación +, inflamación- alergia	+	+	+	+	-	Micrococcos, Gafkias, Di plococos Gram (+)	Gafkias
85	7	Alergia, asma	+	+	+	+	-	Báctilos cortos y largos Gram (-).	<u>K. oxyloca</u>
86	7	Tos, gripa	+	+	+	+	-	Estreptococo	Estreptococo
87	11	Alergia, asma	+	+	+	+	+	Báctilos cortos y largos Gram (-)	<u>K. oxyloca</u>

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

88	11	Tos, gripa	-	-	+	+	-	Estreptococo	Estreptococo
89	4	Tos, gripa	+	+	+	+	+	Estreptococo	Estreptococo
90	10	Alergia	-	+	+	+	-	Levaduras, Estreptococo	Estreptococo
91	1.11	Alergia, tos seca	-	-	+	+	-	Micrococcos, Estreptococo	Estreptococo
92	1.5	Asma, alergia, tos	+	+	+	+	+	Micrococcos, Báculos Gram (-) cortos.	<u>K. pneumoniae</u>
93	4	Irritación, +, inflamación	-	-	+	+	-	posible <u>B. subtilis</u> , Diplococcos Gram (+)	Estreptococo
94	3	Asma alérgica	-	-	+	+	-	Báculos cortos y largos Gram (-), Estreptococo	Estreptococo
95	4	Asma alérgica	-	-	+	+	-	Estreptococo, Báculos Gram (-) cortos y largos.	Estreptococo
96	8	Tos, asma alérgica	+	+	+	+	-	Estreptococo	Estreptococo
97	10	Anginas crónicas	-	+	+	+	-	Diplococcos Gram (+), Estreptococo	Estreptococo
98	9.5	Anginas crónicas	-	+	+	+	-	Estreptococo	Estreptococo
99	2.3	Anginas crónicas	+	+	+	+	+	Báculos Gram (-) cortos	<u>K. oxytoca</u>
100	3	Anginas crónicas	-	+	+	+	-	Estreptococo	Estreptococo

De los resultados obtenidos se puede esquematizar lo siguiente:

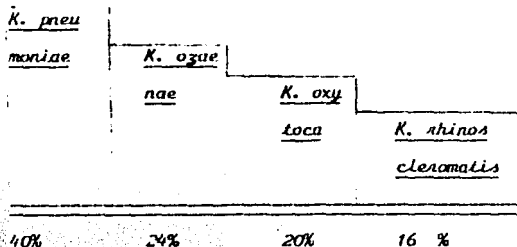


25% del muestreo total

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

CONCLUSIONES

De la gráfica anterior, se puede concluir que del 100 % del muestreo total, el 25 % está representado por el género Klebsiella, lo cual representa 1/4 parte, que es considerable y debe tomarse en cuenta, y no descartarse este tipo de género en infantes con problemas de vías respiratorias altas. Del 25 % que se obtuvo del género Klebsiella podemos deducir lo siguiente.



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

K. pneumoniae es la que prevalece más en el género, por lo cual la que -
representa un problema más grave.

Y que los doctores tomen conciencia cuando les llegue un paciente de este tipo,
y no solo piensen en una infección por Estreptococo, sino que tomen en cuenta
todas las variantes.

Además en este estudio se observó que todos los géneros que aparecen en la
gráfica anterior, así también como los de origen no bacteriano, representan
una sintomatología muy similar, por lo cual se sugiere al médico la importancia
de un estudio bacteriano.

También se observó que el género Klebsiella en este estudio tuvo una prevalencia
en niños menores de 1 año.

De acuerdo a los medios de cultivo que se utilizaron se observó que este género
se desarrollaba bien en todos, pero mejor desarrolló en (Mc. Conkey Agar, Yengitol
Agar, EM3 Agar.).

BIBLIOGRAFIJA

- Javis, Delbecco, Eisen, Ginsberg, Woos. *Tratado de Microbiología. Segunda Edición. U. S. A. . Sulvar Editores S. A. 1980.*
- Conman. Allen. Dowell. Sommers. *Diagnostico Microbiológico. Argentina. Editorial Médica Panamericana S. A. 1983.*
- Jean .T. MacFaddin. *Biochemical test for identification of medical bacteria. Segunda Edición. U. S. A. Williams-Wilskin. 1980.*
- Zinsser. *Microbiología. 17 a Edición. Argentina Editorial Médica Panamericana*
- Bergeys, *Manual of Determinative Bacteriology. Eight, Edition. U. S. A.*
- Castillo Pérez , A., Liebana Ureña, J. , Ramón Ureña, J. , Carrión Pastor , J. Maroto Vela, M. C. y Piédrola Angulo, G. *Actividad heteróloga las bacteriocinas de Klebsiella pneumoniae. Rev. Latinoamericana de Microbiología . 23: 81-85, 1981.*
- A. S. Edmondson, E. Mary Cooke, A. P. D. Wilcock and Ruth Shinebaum. *A comparison of the properties of Klebsiella strains isolated from different sources. Journal Medical Microbiology. Vol. 13 (1980).*
- Dubay-Grubn. *Infección Hospitalaria, Prevención y control. España. Editorial Médica Panamericana. 1980*
- Joan T Power., Margaret A. Calder. *Pathogenic significance of Klebsiella oxytoca in acute respiratory tract infection. Thorax 1983: 38.*
- Zamorano, M., Yañez, M.; Guovano, P., *Análisis clínico de 75 casos de Sepsis en el lactante del Servicio de Pediatría del Hospital Regional Leonardo Guzmán de Antofagasta. Revista Chilena de Pediatría. 50: 27-1979.*
- lung cell reactions after inhalation of bacterial lipopolysaccharides. Eur J. Respir Dis. U. S. A. 1982 Nov : 61 (6).*

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**