

870127

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA 4

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



BUSQUEDA DE BACTERIAS GRAM NEGATIVAS
 CAUSANTES DE CONJUNTIVITIS OCULAR EN PERSONAS
 DE NIVEL SOCIO-ECONOMICO BAJO, DURANTE LOS
 MESES DE SEPTIEMBRE, OCTUBRE Y NOVIEMBRE.

TESIS PROFESIONAL
 QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
 QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
 P R E S E N T A
 JOSE MARIA LEDINICH RODRIGUEZ

ASESOR: Q. F. B. MA. DEL SOCORRO PULIDO GARCIA
 GUADALAJARA, JALISCO.

**TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN**

2002



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.



Q.F.B. ROSA M. MUÑOZ SAUCEDO
PRESIDENTE
COMISION REVISORA DE TESIS.



TRUJILLO.

I.Q. JUAN JOSE TRUJILLO DEL RÍO.
DIRECTOR

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS.

DEDICATORIAS

A Dios:

Por darme la oportunidad de existir
y haber logrado una de mis metas.

A mis padres:

Romeo y Lilia por su apoyo, esfuerzo
y sacrificio desinteresado para hacer
de mí un profesionista.

A mis hermanas:

María Elena, Ana Lilia, Belinda y
Gabriela, con cariño.

A Cecilia:

Con amor y cariño, por todo lo bueno
que he recibido de ella.

A mi Directora de Tesis:

Q.F.B. Ma. del Socorro Pulido, por su
ayuda y colaboración en la realización
de éste trabajo.

A todos mis Profesores:

Por su colaboración con sus conocimientos.

A mis Compañeros y Amigos:

Mi recuerdo.

I N D I C E .

I N D I C E

	PAG.
CAPITULO I	
Introducción.....	1
CAPITULO II	
Generalidades.....	3
CAPITULO III	
Material y Método.....	26
CAPITULO IV	
Resultados.....	29
CAPITULO V	
Conclusiones.....	31
BIBLIOGRAFIA.	34

C A P I T U L O I

INTRODUCCION.

La inflamación de la conjuntiva debida a la acción bacteriana, es una enfermedad sumamente molesta que si se descuida puede tornarse grave.

Las bacterias Gram negativas juegan un papel muy importante en éstas infecciones, que aunque con menos incidencia, están consideradas dentro de las más agresivas ya que inclusive pueden causar perforación de la córnea, meningitis o septicemia, por lo que es necesario diagnosticar y dar tratamiento lo más pronto posible para evitar éstas complicaciones.

En estado sano, la conjuntiva muestra considerables variaciones de aspecto a diversas edades y en personas que desempeñan distintos trabajos: solamente tras repetidas observaciones, podrá aprenderse a distinguir las particularidades del color, vascularización o laxitud que son características del estado de salud. Este tejido es asiento frecuente de enfermedades puesto que no solo está expuesto a todos los tipos de irritantes exógenos e infecciones y propenso a reacciones alérgicas sino que además se ve complicado con frecuencia por enfermedades internas y trastornos metabólicos.

El motivo del presente estudio se basa en primer lugar en comprobar que las bacterias Gram negativas son más agresivas, causando una infección más severa a la conjuntiva ocular.

Los malos hábitos higiénicos, el alcoholismo, la desnutrición y otros factores facilitan la entrada y establecimiento de dichas bacterias, por lo que el estudio se realizó en personas de nivel socioeconómico bajo, en las cuales como ya es sabido, los factores antes mencionados tienen alto índice de incidencia.

Otro motivo en que se basó el estudio es que al tener afectado el globo ocular, órgano vital para el desarrollo y desenvolvimiento de las actividades cotidianas, ésto viene a constituir un problema de salud pública y foco de infección para las personas que lo rodean.

Entre las bacterias Gram negativas responsables de causar conjuntivitis tenemos: Neisseria gonorrhoeae, Neisseria sicca, Branhamella catarrhalis, Klebsiella pneumoniae, Proteus vulgaris, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa y algunos miembros del género Haemophilus.

C A P I T U L O I I

GENERALIDADES.

ESTRUCTURA DEL GLOBO OCULAR:

Los ojos son los órganos de la visión. La luz reflejada por los objetos circundantes, entra en el ojo, donde estimula unas células que transmiten, mediante el nervio óptico, las informaciones al cerebro, donde son interpretadas como imágenes — visuales.

Las enfermedades son numerosas y adoptan nombres diversos según su naturaleza o la parte del ojo que afectan. Se pueden producir infecciones (conjuntivitis, blefaritis, iritis) provocadas por diversos gérmenes, lesiones o heridas, introducción de — cuerpos extraños, quemaduras con sustancias químicas o golpes: todas éstas tienen en común el enrojecimiento, lagrimación abundante y los trastornos visuales.

El globo ocular es una esfera casi perfecta de 2.5 cm de diámetro aproximadamente, situado en una cavidad ósea protectora (órbita), está parcialmente inmerso por detrás en una masa de tejido adiposo, sus movimientos son controlados por tres pares de músculos, y sus principales estructuras son:

a) Conjuntiva:

Es una membrana transparente que reviste la parte interna de los párpados y recubre la parte visible del ojo. Contiene vasos sanguíneos excepto en la región de la córnea y terminaciones nerviosas que la hacen sensible a la mínima irritación.

b) Esclerótica:

La túnica externa del globo ocular, también llamada — "blanco del ojo"; es semirígida y mantiene la forma del mismo.

c) Coroides:

Es la túnica intermedia, oscura y gruesa, impide la reflexión interna de la luz, sus vasos sanguíneos irrigan la parte interna del ojo.

d) Retina:

Es la túnica interna, sensible a la luz, las células de la retina (conos y bastones) transforman la luz en impulsos nerviosos. Las fibras nerviosas de la retina se unen para formar el nervio óptico.

e) Nervio Óptico:

Transmite los estímulos visuales de la retina al encéfalo.

f) Córnea:

Refracta o desvía la luz que entra al ojo, cubre un sexto de la superficie ocular y es uno de los pocos tejidos del organismo carente de vasos sanguíneos.

g) Iris:

Anillo coloreado del ojo, es una extensión de la coroides y tiene una abertura central: la pupila.

h) Cristalino:

Posee una estructura fibrosa pero es transparente, cambia de forma para enfocar los objetos cercanos y lejanos.

CONJUNTIVITIS:

La conjuntivitis es una inflamación de la conjuntiva, caracterizada por infiltración celular y exudado.

La clasificación basada en su etiología es:

- | | |
|----------------|---------------|
| a) Bacteriana | f) Química |
| b) Viral | g) Mecánica |
| c) Fúngica | h) Irritativa |
| d) Parasitaria | i) Alérgica |
| e) Tóxica | j) Lagrimal |

De acuerdo a la Edad de la Ocurrencia:

- a) Oftalmía Neonatorum
- b) Conjuntivitis del adulto.

Dependiendo del tipo de exudado:

- a) Purulento
- b) Mucopurulento
- c) Membranoso
- d) Pseudomembranoso

Dependiendo del curso que sigue la infección:

- a) Agudo
- b) Subagudo
- c) Crónico

La historia de la inflamación puede ser valiosa, la enfermedad infecciosa es frecuentemente bilateral y puede involucrar otros miembros de la familia o de la comunidad.

La enfermedad unilateral sugiere un origen tóxico, químico, mecánico o lagrimal.

Un exudado copioso sugiere inflamación bacteriana, un exudado fibroso no denso sugiere alergia o infección viral.

La hiperemia de la conjuntiva puede ser transitoria o recurrente y crónica. La primera es producida por irritación temporal, como cuerpos extraños en el saco conjuntival, la congestión recurrente y crónica puede ser producida por causas ambientales como habitaciones mal ventiladas, polvo ó exposición a la luz intensa o calor, también por alteraciones en el metabolismo o padecimientos alérgicos.

La simple hiperemia del tipo descrito produce malestar, manifestado como tensión, arenosidad, imposibilidad de mantener los ojos abiertos y fatiga, la luz brillante molesta. Lo frecuente es que existan aumento en las secreciones de tipo acuoso y la presencia de moco sugiere infección.

FACTORES PREDISPONENTES:

La Conjuntiva clásicamente se refiere a una barrera contra microorganismos, aunque éstos puedan ingresar activamente en el epitelio íntegro, por qué?:

Porque existen una serie de factores predisponentes, que si éstos están de manifiesto, al presentarse el microorganismo, generalmente existirá infección conjuntival; en muchas ocasiones, no es necesaria la presencia de una bacteria patógena, sino que la flora normal puede presentarse como tal, en presencia de éstas circunstancias.

Entre los factores predisponentes más importantes en nuestro tiempo tenemos:

- | | |
|-----------------------|---|
| a) Drogadicción | h) Uso prolongado de lentes de contacto blandos |
| b) Alcoholismo | i) Inmunosupresores |
| c) Mala Higiene | j) Disturbios Metabólicos |
| d) Mal Nutrición | k) Stress |
| e) Contaminación-Smog | l) Quimioterapia |
| f) Maquillaje | |
| g) Uso de esteroides | |

En resumen, lo que se puede decir de éstos factores es que casi todos vienen a repercutir en la baja de las defensas - del organismo, y por lo tanto lo predisponen a muchas enfermedades e infecciones.

FAMILIA NEISSERIACEAS.

Las Neisserias son un grupo de cocos Gram negativos que generalmente se agrupan en pares. Algunos miembros del grupo son habitantes normales del sistema respiratorio del hombre y se presentan extracelulares; otros (gonococo, meningococo), - son patógenos para el hombre y su localización característica es intracelular.

El típico organismo del Género Neisseria, es un diplococo Gram negativo, de 0.8 micras de diámetro aproximadamente; las Neisserias son inmóviles y no forman esporas. Los cocos individuales tienen forma de riñón, con los lados adyacentes planos ó cóncavos.

Crecen en medios enriquecidos a una temperatura de 37°C por un tiempo de 24-48 hrs. los géneros patógenos crecen mejor - en medios que contengan sustancias orgánicas complejas, tales como sangre y proteínas animales y una atmósfera que contenga del 5-10% de CO₂ (p.ej. una jarra con vela). Estos microorganismos son inhibidos por algunos constituyentes tóxicos del medio, tales como ácidos grasos y sales. Mueren rápidamente por desecación por la luz solar y por calor húmedo, así como por muchos desinfectantes.

Todas las especies del Género Neisseria producen oxidasa, ésta propiedad se utiliza para su identificación.

Para el diagnóstico diferencial de las especies, son necesarias las pruebas de fermentación que se expresan en la siguiente tabla:

TABLA DE IDENTIFICACION DE LA FAMILIA NEISSERIACEAE SEGUN SUS PROPIEDADES FISIOLÓGICAS:

Microorg.	Glucosa	Maltosa	Lactosa	Sacarosa	Crec. en Agar Nutritivo.
<i>N. gonorrhoeae</i>	+	-	-	-	-
<i>N. meningitidis</i>	+	+	-	-	-
<i>B. catarrhalis</i>	-	-	-	-	+
<i>N. sicca</i>	+	+	+	+	+

Neisseria gonorrhoeae:

Son diplococos ó cocos aislados Gram negativos con apariencia de granos de café de 0.6 a 1 micra de diámetro, y se pueden presentar intra ó extracelulares.

El gonococo es muy restringido para su puerta de entrada, en el humano, ataca principalmente las membranas mucosas del tracto genitourinario y la conjuntiva, ésta última progresa rápidamente, afectando todas las estructuras del ojo y frecuentemente dá por resultado la ceguera.

Causa conjuntivitis purulenta aguda la cual puede complicarse por ulceración de la córnea con la resultante cicatrización y ceguera.

CONJUNTIVITIS GONOCOCCICA DEL RECIEN NACIDO. (Oftalmia neonatorum).

Los ojos del infante son infectados durante el pasaje a través del canal del parto. El periodo de incubación de la oftalmia neonatorum es de 1-3 días y es usualmente bilateral.

La descarga es fétida y se vuelve purulenta y copiosa pudiendo escurrir por las mejillas. Los párpados se inflaman marcadamente y son difíciles de abrir, acumulándose el pus en el saco conjuntival. Deberían usarse lentes al abrir los párpados del niño porque el pus puede salpicar a los ojos del observador causando una severa infección ocular.

El tejido conjuntival es el que se involucra primero, volviéndose posteriormente muy rojo y rugoso, en ésto se diferencia la conjuntivitis gonocócica de otras conjuntivitis bacterianas en el recién nacido.

La oftalmía gonocócica, particularmente en los casos severos o no tratados, es complicada comúnmente por queratitis severa o purulenta, se asocia con el período de descarga y marcado edema de los párpados, la excesiva presión en los párpados hinchados decrece la irrigación sanguínea, y el pus tóxico macera el epitelio corneal, creando una puerta de entrada a los microorganismos. La queratitis comienza con un infiltrado amarillento, el cual progresa a ulceración rápidamente resultando en perforación y panoftalmitis.

La enfermedad es altamente contagiosa y el aislamiento del niño es obligatorio.

CONJUNTIVITIS GONOCOCCICA EN EL ADULTO:

Esta condición es usualmente unilateral y resulta de una autotransmisión del organismo del tracto uretral.

No obstante ocurre principalmente en varones y el ojo derecho es el más afectado.

El cuadro clínico es similar al de la oftalmía neonatorum, con ciertas diferencias.

La descarga purulenta no es copiosa y el tejido conjuntival tiende a ser más involucrado y a volverse más papilar y rugoso que en el niño. La característica más importante es que la córnea es casi constantemente involucrada en casos no tratados.

Antes de la era de los antibióticos, se perdían muchos ojos. Como en el niño las posibles consecuencias son perforación de la córnea, endoftalmitis y panoftalmitis, aún ahora, el pronóstico en adultos debe ser precavido.

Iritis, iridociclitis, hipopión (sin participación de la córnea), o abscesos del párpado, también pueden desarrollarse.

PROFILAXIS:

La clásica profilaxis consiste en la instilación de una gota de nitrato de plata al 1% en solución en cada ojo del recién nacido y el uso de antibióticos también se ha defendido.

Branhamella catarrhalis:

Branhamella catarrhalis (anteriormente llamada Neisseria catarrhalis), es un habitante constante del tracto respiratorio. Se considera generalmente saprofitica, pero puede ser en ocasiones débilmente patógena.

Branhamella catarrhalis, puede confundirse con Neisseria meningitidis, ya que ambas son habitantes de la faringe y el diagnóstico diferencial es de gran importancia.

Morfológicamente, en la secreción en frotis, es indistinguible del gonococo y el meningococo. Tiene la forma de granos de café y es intracelular, pero en ocasiones éste coco puede ser más grande que la Neisseria y puede teñirse más intensamente.

La diferenciación cultural es más significativa, Branhamella catarrhalis, es al contrario que Neisseria, crece abundantemente y libremente en medios ordinarios. En agar nutritivo, las colonias son redondas, grises y brillantes, pero después de 24 hrs se tornan opacas y levemente café en el centro.

Bioquímicamente, Branhamella catarrhalis no produce ácido o gas de cualquiera de los azúcares. Las pruebas de fermentación con glucosa, maltosa y sacarosa son negativas. Branhamella catarrhalis, es más resistente a agentes físicos que el gonococo y el meningococo.

Aunque es principalmente no patógena, Branhamella catarrhalis puede volverse patógena en ciertas condiciones del ojo, se encuentra ocasionalmente en casos moderados y aún severos de conjuntivitis y en conjuntivitis postoperatoria.

El organismo es encontrado más frecuentemente en casos de inflamación de las glándulas de Meibomio.

Han sido reportados casos extremadamente raros de endoftalmitis debida a Branhamella catarrhalis.

Neisseria sicca:

Este microorganismo es miembro habitual de la flora del sistema respiratorio, particularmente de la nasofaringe y generalmente no produce enfermedad, aunque en ocasiones se le encuentra causando cuadros de conjuntivitis que van desde moderados a severos.

Morfológicamente es similar a las otras Neisserias, en cultivo presenta colonias pequeñas, opacas, friables y arrugadas. Tiene por característica fermentar todos los carbohidratos y su crecimiento en agar nutritivo es positivo.

GENERO HAEMOPHYLUS:

Es un grupo de cocobacilos Gram negativos, pequeños, aerobios, inmóviles y no esporulados y las variantes virulentas son casi siempre capsulares.

Requieren ciertos factores derivados de la sangre para que cualquiera de sus especies pueda desarrollar en los medios de cultivo. Algunas especies necesitan el Factor X, una ferroporfirina termoestable derivada de la hemoglobina. Otras requieren Nicotinamida Adenina Dinucleótido, NAD, también conocido como Coenzima I ó Factor V; y algunas en especial, requieren ambos factores.

Otras características del género *Haemophylus*, es que son en general bastante susceptibles al enfriamiento y desecación. Son aparentemente parásitos estrictos, y es muy común su recuperación como comensales del tracto respiratorio superior.

La conjuntivitis aguda contagiosa conocida como ojo rosado, es clásicamente causada por *Haemophylus aegyptius* conocido como bacilo de Koch-Weeks, si bien *Haemophylus influenzae* — puede también estar implicado especialmente en el invierno. Epidemias localizadas de conjuntivitis tienen lugar entre individuos que comparten toallas, pañuelos y otros objetos que toman — contacto directo con la cara o los ojos.

Un color rosado difuso en la esclerótica y la presencia de una secreción serosa o purulenta, son virtualmente diagnóstico de infección por *Haemophylus aegyptius*. Hay también sensación de rascado, visión borrosa por el exudado, lagrimeo excesivo y pesades del párpado.

CARACTERISTICAS DIFERENCIALES DE LAS ESPECIES DE HAEMOPHYLUS:

E S P E C I E S .	R E Q U E R I M I E N T O S .	
	Factor X	Factor V
H. aegyptius	+	+
H. influenzae	+	+
H. parainfluenzae	-	+
H. ducrey	+	-
H. vaginalis	-	-

GENERO PSEUDOMONAS:

El género *Pseudomonas*, está compuesto por bacilos - Gram negativos, móviles que producen pigmentos hidrosolubles que se difunden a través del medio. Se encuentran ampliamente distribuidos en el agua, suelo, aguas negras y el aire.

Pseudomonas aeruginosa:

Se presenta frecuentemente en pequeña proporción en la flora intestinal normal.

Pseudomonas aeruginosa crece con facilidad en los medios de cultivo, no fermenta la lactosa y forma colonias redondas lisas de color verdoso fluorescente y de olor aromático dulce; de las colonias difunde un pigmento verde azul hacia el medio. Algunas tienen actividad hemolítica.

Entre los pigmentos producidos por *Pseudomonas aeruginosa*, están la piocianina, una sustancia azulosa, soluble en agua y en cloroformo, que posee cierta actividad antimicrobiana, y la fluoresceína, una sustancia verdosa fluorescente, hidrosoluble e insoluble en cloroformo. *Pseudomonas aeruginosa* puede producir una exotoxina termolábil.

Pseudomonas aeruginosa es patógena solamente cuando - es introducida en zonas que carecen de las defensas normales ó cuando participa en infecciones mixtas. Produce infección en las heridas dando lugar a pus verdosa; las infecciones del ojo pueden conducir a la rápida destrucción del globo ocular, lo cual ocurre frecuentemente después de alguna lesión o de procedimientos quirúrgicos.

La conjuntivitis primaria raramente ocurre, no obstante que la conjuntivitis purulenta, usualmente unilateral puede presentarse en el recién nacido. Se ha reportado el tipo membranoso de conjuntivitis usualmente secundaria a queratitis.

El proceso se caracteriza por un rápido curso y necrosis, el cual puede resultar en perforación en 24 hrs. La única posibilidad de salvar el ojo es la pronta identificación y el tratamiento temprano.

Los signos y síntomas auxiliares al diagnóstico temprano son los siguientes:

- 1) Siempre hay historia de daño corneal debida a cuerpo extraño.
- 2) Aproximadamente 9 de 10. casos tenían historia de terapia ocular reciente.
- 3) El síntoma ocular principal es dolor, que sobreviene 2 ó 3 días después del daño corneal. Estos son usualmente, signos de opacidad corneal e infiltración, también puede aparecer ulceración rápidamente.

FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE:

La familia Enterobacteriaceae, está formada en su mayor parte por bacilos Gram negativos, no esporulados, que pueden o no tener flagelos; crecen en medios de cultivo simples, fermentan la glucosa y reducen los nitratos a nitritos.

Escherichia coli:

Son bacilos Gram negativos que desarrollan fácilmente en medios de cultivo ordinarios, pueden ser aerobios, anaerobios o facultativos. La temperatura de crecimiento óptima es de 37°C.

Fermentan gran cantidad de azúcares con producción o no de gas; algunos son móviles y otros carecen de flagelos. Muchos forman indol pero no son capaces de producir H₂S.

Escherichia coli está constituida por antígeno somático "O", de superficie o capsular "K" y flagelares "H"; estudios realizados en este campo han permitido conocer la serología de estas bacterias así como su mejor clasificación.

La mayoría de las cepas de Escherichia coli forman parte de la flora normal del intestino y resultan más bien benéficas que perjudiciales. Cuando debido a circunstancias especiales salen del aparato digestivo y se localizan en otros órganos y sistemas son capaces de producir cuadros patológicos muy diversos tales como conjuntivitis, contaminación de heridas, septicemias etc.

Los medios más recomendables para su aislamiento son Agar Mac. Conkey y EMB. Se incuban aeróbicamente a 37°C por 18 a 24 hrs. Se hacen pruebas bioquímicas de las colonias fermentadoras de la lactosa, para su plena identificación.

Género Klebsiella:

Son bacilos Gram negativos, capsulados, inmóviles, que miden de 0.3 - 1.5 micras por 0.6 - 6 micras. Se encuentran acomodados en cadenas cortas, en pares ó aislados.

En el cultivo se encuentran colonias grandes muy mucoides y tienen la característica de ser pegajosas. Para su crecimiento no necesitan de requerimientos especiales y pueden utilizar el citrato y la glucosa como única fuente de carbono y el amoniaco como fuente de nitrógeno.

Son fermentadoras de la lactosa y la glucosa con la producción de ácido y gas, Vogues-Proskauer positivos.

Su temperatura óptima de crecimiento es de 35 a 37°C y a un Ph de 7.2.

Klebsiella pneumoniae o Bacilo de Friedlander, es un bacilo inmóvil, capsulado, el cual produce colonias húmedas de gran tamaño que frecuentemente presentan aspecto mucoso.

Patogenicidad: Klebsiella pneumoniae constituye el patógeno para la especie humana de todas las que se encuentran en el grupo de las Klebsiellas. Se encuentra en el aparato respiratorio del 5-10% de individuos sanos.

Estructura antigénica: Se ha identificado hasta el momento 5 antígenos "O" y 72 antígenos capsulares "K" que son polisacáridos. Todas las especies de Klebsiella comparten comunmente antígenos y pueden ser tipificados con algunos antisueros.

Género Proteus:

Son bacilos rectos Gram negativos que miden de 0.4 a 0.6 micras por 1-3 micras. Estos bacilos pueden encontrarse - en pares ó cadenas. Son no capsulados, móviles por flagelos peritricos, presentando la movilidad en forma de swarming.

Fermentan la glucosa con la producción de ácido y pueden producir ácido pero en forma más lenta en la galactosa, fructosa y glicerol. Son rojo de metilo positivos.

Alguna especie de Proteus crece en medios minerales que contienen amoniaco y que lo utiliza como única fuente de nitrógeno. Reducen los nitratos a nitritos y utilizan la glucosa como única fuente de carbono.

Proteus vulgaris y Proteus mirabilis crecen en forma de bandas invasoras en la superficie del agar húmedo; éstos microorganismos producen también grandes cantidades de H_2S y licúan la gelatina. Proteus vulgaris es indol positivo y Proteus mirabilis es indol negativo.

El medio de urea es específico para la identificación de Proteus que rápidamente destruye la urea y vuelve el medio alcalino (rojo), su temperatura óptima de crecimiento es de 10 a 43°C.

Patogenicidad: Proteus produce infección en el hombre solamente cuando abandona su hábitat normal en el intestino y - produce con frecuencia infecciones en el tracto urinario y otras infecciones graves como es la conjuntivitis.

Estructura Antigénica: Las especies móviles de Proteus contienen el antígeno "H" y el "O".

La estructura antigénica de Proteus vulgaris presenta especial interés desde el punto de vista médico, ya que ciertas cepas poseen antígenos "O" determinados (OX₂, OX₁₉ y OX_k) que son aglutinados por acción de sueros de pacientes que presentan diversos procesos producidos por Rickettsias. (Reacción de Weil-Félix).

TABLA DE IDENTIFICACION DE LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE:

Organismo	Citrato	Urea	H ₂ S	Indol	Motilidad	Gluc.	Lact.	Sac.	LIA
E. coli	-	-	-	+	+	+	+	-	+
K. pneumoniae	+	-	-	-	-	+	+	+	+
P. vulgaris	+	+	+	+	+	+	-	+	+

FUNDAMENTOS BIOQUIMICOS UTILIZADOS PARA LA DIFERENCIACION.

Prueba de la Oxidasa:

Los citocromos son hemoproteínas que contienen hierro y actúan como último eslabón de la cadena respiratoria aerobia, transfiriendo electrones al oxígeno, con formación de agua. El sistema citocromo se encuentra en los organismos aerobios ó anaerobios facultativos, de modo que la prueba de oxidasa es importante para identificar a aquellos organismos que carecen de la enzima, o son anaerobios obligados. La prueba es muy útil para la identificación de colonias de bacterias Gram negativas que se presume sean especies de Pseudomonas o Neisserias (positivas).

La prueba de citocromo oxidasa utiliza ciertos colorantes, como el diclorhidrato de p-fenilendiamina, que actúan como aceptores artificiales de electrones, sustituyendo al oxígeno. La p-fenilendiamina es incolora en estado reducido, pero en presencia de citocromo oxidasa y oxígeno atmosférico, se oxida formando azul de indofenol.

La prueba se lleva a cabo añadiendo directamente unas pocas gotas de reactivo a las colonias bacterianas con actividad de citocromo oxidasa que desarrollarán en segundos un intenso color azul en el sitio de la inoculación. Para ésta prueba no se debe emplear alambres de acero inoxidable, dado que los productos de oxidación de la superficie formados al esterilizarlos a la llama, pueden producir reacciones falsas positivas. Se recomienda el derivado tetrametilico de la p-fenilendiamina, ya que es más estable durante el almacenamiento, más sensible a la detección del citocromo oxidasa y menos tóxico que el derivado dimetilico.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Fermentación de azúcares.

Todos los azúcares son medios líquidos que llevan el indicador rojo de fenol, la asimilación del carbohidrato con la consecuente liberación de productos ácidos, provocará el viraje del indicador a un color rojizo, lo que indica una prueba positiva.

Esta prueba nos permite observar la habilidad que tiene un microorganismo en fermentar o degradar un carbohidrato - en especial, produciendo ácido o ácido y gas.

La fermentación depende de varios factores, tipo de organismo, temperatura y naturaleza de la sustancia.

Mac. Conkey Agar:

El agar de Mac. Conkey es un medio diferencial para la selección y recuperación de enterobacterias y bacilos Gram negativos entéricos relacionados.

Las sales biliares y el cristal violeta inhiben el desarrollo de las bacterias Gram positivas y algunas Gram negativas exigentes.

La lactosa es el único hidrato de carbono, las bacterias fermentadoras de lactosa forman colonias de diferentes tonos de rojo, debido al viraje del indicador rojo neutro (rojo a Ph menor de 6.8) por la producción de ácidos mixtos. Las colonias no fermentadoras de lactosa aparecen incoloras o transparentes.

Citrato de Simmons:

El citrato de sodio es una sal del ácido cítrico, un compuesto orgánico simple que constituye uno de los metabolitos del ciclo de ácidos tricarbóxicos. Algunas bacterias pueden obtener energía por vía distinta a la de la fermentación de hidratos de carbono, utilizando citrato como única fuente de carbono.

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 amoniaco, llevando a la alcalinización del medio por conversión del amoniaco en hidróxido de amonio. El azul de bromotimol, amarillo a Ph menor de 6, y azul a Ph mayor de 7.6, es el indicador.

El desarrollo de un color azul intenso en 24-48 hrs. - indica una prueba positiva y revela que el organismo en estudio ha sido capaz de utilizar el citrato contenido en el medio, con la formación de productos alcalinos.

Lisina Descarboxilasa. LIA.

Las descarboxilasas son un grupo de enzimas sustrato - específicas, capaces de actuar sobre la porción carboxilo de - los aminoácidos, con la formación de aminas de reacción alcalina. Esta reacción, conocida como descarboxilación, produce dióxido de carbono como producto secundario. Cada una de las descarboxilasas es específica para un aminoácido. Lisina, ornitina y - arginina, son los tres aminoácidos ensayados habitualmente en - la identificación de las Enterobacterias.

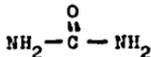
El aminoácido L-lisina, sufre descarboxilación para dar cadaverina (una diamina) y dióxido de carbono, por la acción de la enzima específica lisina descarboxilasa.

La fenilalanina es un aminoácido que por desaminación forma un cetoácido, el ácido fenilpirúvico. De la familia Enterobacteriaceae, sólo los miembros del Género Proteus y Providencia poseen la enzima desaminasa necesaria para esta conversión.

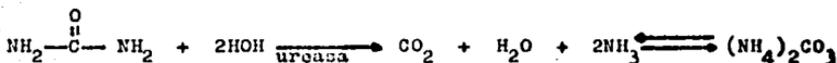
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Hidrólisis de la Urea:

La urea es una diamida del ácido carbónico con la siguiente fórmula:



Todas las amidas son fácilmente hidrolizadas con liberación de amoníaco y dióxido de carbono. La ureasa es una enzima que poseen muchos tipos de microorganismos que pueden hidrolizar urea de acuerdo con la siguiente reacción:



El amoníaco reacciona en solución para formar carbonato de amonio, produciéndose una alcalinización y un aumento de Ph del medio, un color rojo del medio indica alcalinización e hidrólisis de la urea.

Indol:

El indol, un benzilpirrol, es uno de los productos de degradación metabólica del aminoácido triptófano. Las bacterias que poseen la enzima triptofanasa son capaces de hidrolizar y desaminar el triptófano con producción de indol, ácido pirúvico y amoníaco. La producción de indol es una característica importante para la identificación de muchas especies de microorganismos.

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, éste es el principio activo de los reactivos de Kovac y Ehrlich.

Novidad:

La movilidad de una bacteria 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; para detectar motilidad se observa una ligera turbidez a los lados de la picadura.

Los medios para detectar esta motilidad deben contener concentraciones de agar de 0.4% ó menor, porque de otra manera el gel es demasiado firme para permitir su diseminación.

Producción de H₂S:

La capacidad de ciertas especies bacterianas para liberar azufre de aminoácidos y otros compuestos que lo contienen en forma de gas H₂S, constituye una característica importante para su identificación.

El sistema de detección de H₂S, el punto final a lo largo de la línea de inoculación hay formación de un precipitado negro insoluble de sulfuro de metal pesado.

C A P I T U L O I I I

MATERIAL Y METODO.

Para éste estudio se recolectaron 100 muestras de pacientes que cursaban con conjuntivitis y su objetivo fué la búsqueda e identificación de las bacterias Gram negativas causantes de dicha infección.

Los pacientes en estudio correspondían a un nivel socioeconómico bajo, y acudían al Hospital Oftalmológico "San José" donde les brindaban servicio social.

Para ésta investigación no se tomaron en cuenta factores tales como edad, sexo y ocupación.

El material requerido para el presente estudio fué:

- Medio de Transporte: (Stuart)
- Agar Sangre.
- Agar Chocolate.
- Agar Columbia.
- Agar Mac. Conkey.
- Agar Nutritivo.

Bioquímicas:

- | | |
|----------------------|---------------------------------|
| - Glucosa | - KIA |
| - Maltosa | - SIM |
| - Lactosa | - Urea |
| - Sacarosa | - LIA |
| - Prueba de Oxidasa | - Reactivo de Kovack y Erhlich. |
| - Citrato de Simmons | |

TONA DE MUESTRA:

La obtención de la muestra se hizo con dos hisopos estériles al mismo tiempo.

El exudado fué tomado sin molestias usando la siguiente técnica: se abre el párpado inferior y se pasa sobre toda su superficie ambos aplicadores.

Uno de ellos sirvió para hacer un frotis inmediatamente tomada la muestra, éste se tindió por la técnica de Gram, el cual ayuda a dar un diagnóstico precoz por la observación de las bacterias en el mismo.

Como la muestra no se sembró directamente en los medios de cultivo, el segundo hisopo fué introducido en un medio de transporte (Stuart), para ser llevado al laboratorio.

Las muestras se sembraron por la técnica de aislamiento por estrias en los siguientes medios de cultivo, óptimos para la identificación del agente etiológico.

Primeramente se sembró en agar chocolate con atmósfera del 5 al 10% de CO_2 , a una temperatura de $37^{\circ}C$ y un tiempo de incubación de 24-48 hrs.

Al encontrarse desarrollo, se hizo la tinción de Gram, para seleccionar las colonias, si las características microscópicas indican morfología semejante a la Familia Neisseriaceae, se procede a realizar las bioquímicas de glucosa, maltosa, lactosa y sacarosa, así como la prueba de oxidasa, característica positiva para ésta familia; posteriormente se sembró en un medio ordinario como agar nutritivo simple a $37^{\circ}C$ sin atmósfera de CO_2 y de presentarse crecimiento, ésto demuestra que son colonias de Branhamella u otras Neisserias no patógenas, así como Acinetobacter o Moraxella.

Ahora encaminado a la búsqueda del Género *Haemophilus*, se procedió a sembrar en el medio de agar columbia, el cual contiene los requerimientos nutritivos, como son el factor X (una ferroporfirina) y el factor V (ó nicotinamida adenina dinucleótido NAD), esenciales para el desarrollo de éstas bacterias.

Por último, para buscar patógenas entéricas, Gram negativas, el primoaislamiento se hizo en el medio de agar MacConkey ó EMB, del crecimiento obtenido, si lo hubo, se les hizo la tinción de Gram, y de las colonias sospechosas, las siguientes bioquímicas para su plena identificación: KIA, Citrato de Simmons, SIM, Urea, LIA y sacarosa.

En éste último medio de cultivo, así como en el agar sangre, también se puso de manifiesto la presencia de *Pseudomonas*; el desarrollo colonial se manifiesta dando una colonia que toma un tono gris verdoso, y hay producción de pigmentos como piocianina y fluoresceína, los cuales se difunden en el medio y son característicos de éste grupo.

C A P I T U L O I V

RESULTADOS.

Los resultados obtenidos en la presente investigación revelan que las bacterias Gram negativas abarcan un porcentaje muy significativo en la ocurrencia de la conjuntivitis ocular.

De los 100 casos estudiados, en 8 no se obtuvo crecimiento bacteriano, por lo tanto son considerados negativos, 74 fueron debidos a la acción de bacterias Gram positivas, - por lo que no fueron tomados en cuenta para éste trabajo; finalmente, 18 de ellos correspondieron a bacterias Gram negativas.

Si consideramos un total de 92 casos en los que si se presentó desarrollo, las bacterias Gram negativas ocupan un porcentaje del 19.56%

Los resultados obtenidos se expresan en las siguientes tablas:

Número de casos revisados:	100
Número de casos provocados por bacterias Gram negativas =	18
Número de casos provocados por bacterias Gram positivas =	74
Número de casos negativos =	8
	<hr/>
Total =	100

BACTERIA AISLADA	# de casos	Porcentaje
Branhamella catarrhalis	6	6.5%
Neisseria gonorrhoeae	3	3.3%
Neisseria sicca	2	2.2%
Haemophilus sp.	2	2.2%
Pseudomonas aeruginosa	2	2.2%
Klebsiella pneumoniae	2	2.2%
Proteus vulgaris + Escherichia coli	1	1.1%

C A P I T U L O V .

CONCLUSIONES.

Branhamella catarrhalis, generalmente considerada como inocuo habitante de la membrana conjuntival, ocupa aquí el primer lugar como agente etiológico en su inflamación, sin embargo, la explicación puede encontrarse en el hecho de que en todos los casos había previa lesión ocular ó se presentaban factores predisponentes, ésto influye en que un organismo integrante de la flora normal actúe ahora como un verdadero oportunista; de igual forma podemos referirnos a Neisseria sicca - también considerada como no patógena.

Neisseria gonorrhoeae es responsable de dos casos severos en recién nacidos y uno más en adultos. Los bebés contraen la infección por el pasaje a través del canal del parto en madres que padecen gonorrea, y el caso de los adultos - que la sufren, ésto puede deberse a que se tallan los ojos - con las manos contaminadas con el gérmen.

Este organismo causa severos daños a la conjuntiva e inclusive puede provocar la ceguera.

En el caso del género Haemophilus, son niños de corta edad y niños recién nacidos los afectados; siendo ésta una - característica del organismo.

Pacientes con daño severo y procesos avanzados, caracterizados por dolor intenso y fotofobia eran debidos a Pseudomonas aeruginosa, la que debido a los pigmentos que produce, confiere a los exudados purulentos un tono característico.

Bacterias entéricas como Klebsiella pneumoniae, Proteus vulgaris y Escherichia coli es raro que se presenten en la - conjuntivitis, pero en individuos con malos hábitos higiénicos pueden provocar la entrada de éstos organismos a la conjuntiva.

Los casos encontrados aquí, fueron provocados por - personas que manejaban dinero y se tallaban los ojos, peji: Cajeras, y un caso particular en que se encontraron asociados Protocus vulgaris y Escherichia coli, en un mecánico que sufrió quemaduras en el globo ocular al caerle ácido de una batería, y se llevó las manos sucias a los ojos.

Si bien la frecuencia de casos debidos a bacterias - Gram positivas en la conjuntivitis es mayor; no debe descartarse la posibilidad de ocurrencia de las bacterias Gram negativas; pues se pudo constatar en éste estudio que son más agresivas y causan serios daños a ésta membrana y al globo ocular en general.

La explicación de los 8 casos en que no se obtuvo desarrollo bacteriano, se encuentra en los diferentes orígenes que tiene la inflamación de la membrana conjuntival, pues - aunque las bacterias son las principales responsables; virus, hongos, procesos alérgicos y disturbios metabólicos pueden - también provocarla.

En nuestro tiempo hay que hacer hincapié en los factores más importantes que nos predisponen para adquirir una infección conjuntival, ya sea consciente o inconscientemente, como también la falta de preparación, la ignorancia ó simplemente el desinterés de las personas y la poca importancia que éstas les dan a las medidas de seguridad laborales - impuestas, como lo son el uso de cascos, lentes ó máscaras - protectoras.

Por éstos motivos, hay que elevar el grado de conciencia; y por otro lado, hay que dar a las personas en general, - la información y orientación necesarias para mejorar los hábitos higiénicos y nutricionales para dejar de caer en éstas complicaciones, que además de ser un problema para el individuo, convierten a éste en una seria amenaza para quienes le rodean, constituyendo un foco de diseminación de gérmenes, tanto en el ámbito laboral como en el ambiente familiar.

BIBLIOGRAFIA.

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

Bojalil, L.; Santoscoy, G.: Microbiología Médica. Tomo I. 1a. Ed. Edit. Francisco Méndez Oteo. México. 1981.

Jawetz, E.; Melnick, J.: Manual de Microbiología Médica. 8va. Ed. Edit. El Manual Moderno, S.A. México. 1979.

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

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

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

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

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

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

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

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

Padilla de Alba, F. J.: Oftalmologia Fundamental. 1a. Ed.
Edit. C. M. Editor. México. 1980.

Ernest, T. J.: 1983 Year Book of Ophthalmology. 1a. Ed. Edit.
Year Book Medical Publishers, Inc. Chicago. 1983.

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

Rosado, D.; Amador, C.: Síntesis de Biología. 3a. Ed. Edit.
Trillas, México. 1975.

Poirier, R.: Seventeenth annual meeting of the Ocular Mi-
crobiology and Immunology Group. American Journal of Ophthal-
mology. Vol. 95. No. 2. pp 246-250. Feb. 1983.

Grave, E.; Carrasco, G.: Ulceras Bacterianas. Anales de la
Sociedad Mexicana de Oftalmología. A.- Junio de 1983.

Raber, I.; Laibson, P.: Pseudomonas Corneoscleral Ulcers. -
American Journal of Ophthalmology. Vol. 93. No. 2. pp 256.
Feb. 1982.

Eiferman, R.; Snyder, J.: Neisseria Meningitidis Conjuncti-
vitis. American Journal of Ophthalmology. Vol. 97. No. 3.
pp 104-105.

Smith, S.; Herman, W.: A Method of Collecting Culture Mate-
rial from Corneal Ulcers. American Journal of Ophthalmology.
Vol. 97 No. 3. pp. 105-106. Jan. 1984.

Eiferman, R.: Pseudomonas Scleritis. American Journal of -
Ophthalmology. Vol. 93. No. 1. pp 133. Jan. 1982.

Lemp, M.; Blackman, H.: Gram Negative Corneal Ulcers in Elderly Aphakic Eyes with Extended Wear Lenses. Ophthalmology. Vol. 91. No. 1. pp 60-63. Jan. 1984.

Hassman, G.: Pseudomonas Corneal Ulcer with Extended Wear Soft Contact Lenses for Myopia. Archives of Ophthalmology. Vol. 101. No. 10. pp 1549-1550. Oct. 1983.

Adams, Ch.: Corneal Ulcers in Patients with Cosmetic Extended Wear Contact Lenses. American Journal of Ophthalmology. Vol. 96. No. 6. pp 705-708. Dec. 1983.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN