

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR  
SEDE AMBATO**

**MONOGRAFÍA DE GRADO**

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE TECNÓLOGO  
MÉDICO EN OPTOMETRÍA**

**TEMA:**

**“COMPORTAMIENTO DE LA FLORA BACTERIANA  
OCULAR, UTILIZANDO LENTES DE CONTACTO DE  
USO PROGRAMADO POR UN TIEMPO MAYOR AL  
DETERMINADO POR EL FABRICANTE, EN LA CIUDAD  
DE AMBATO”**

**AUTORA: SOLEDAD SALTOS IBARRA**

**ASESORA: Ms. CARMEN BARBA**



**Ambato - Ecuador**

**Septiembre, 2001**

## **ACTA DE ACEPTACIÓN DEL TRABAJO**

Una vez culminado el estudio e investigación por parte de la señora **Soledad Saltos Ibarra** sobre el tema **“COMPORTAMIENTO DE LA FLORA BACTERIANA OCULAR, UTILIZANDO LENTES DE CONTACTO DE USO PROGRAMADO POR UN TIEMPO MAYOR AL DETERMINADO POR EL FABRICANTE, EN LA CIUDAD DE AMBATO”**

### **CERTIFICAMOS:**

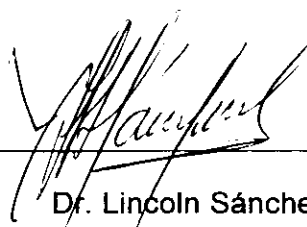
Que el mencionado trabajo es auténtico y original, cumple con todos los aspectos descritos en el Proyecto, elementos técnico – metodológicos y normas establecidas por la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede – Ambato, Programa de Optometría, autorizando su presentación para el trámite previa a la sustentación correspondiente.

Ambato, 20 de Septiembre del 2001

---

Ms. Carmen Barba

**ASESORA**



---

Dr. Lincoln Sánchez

**DIRECTOR DEL TEMA DE INVESTIGACIÓN**

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA**

Yo, **Soledad Saltos Ibarra**, por medio del presente autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede – Ambato y al Programa de Optometría, hacer lo que estime conveniente con el trabajo de Investigación de mi autoría, cuyo tema es: **“COMPORTAMIENTO DE LA FLORA BACTERIANA OCULAR, UTILIZANDO LENTES DE CONTACTO DE USO PROGRAMADO POR UN TIEMPO MAYOR AL DETERMINADO POR EL FABRICANTE, EN LA CIUDAD DE AMBATO”**.

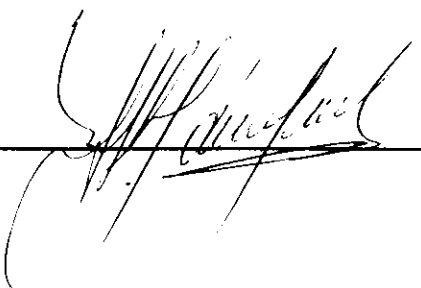
Para que así conste, firmo en la ciudad de Ambato, a los veinte días del mes de Septiembre del dos mil uno.

---

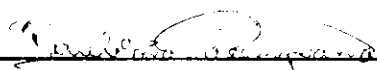
**Soledad Saltos Ibarra**

**Autora del Trabajo de Investigación**

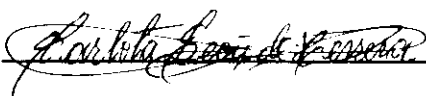
## MIEMBROS DEL TRIBUNAL



---



---



---

**Calificación:**

## **DEDICATORIA**

*A mis abuelitos Olga y Luis, que aunque ya no están a mi lado, viven como claro ejemplo de amor, ternura y respeto.*

**Soledad**

## **AGRADECIMIENTO**

- *A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, en las personas de sus Directivos y Profesores, en especial al Dr. Lincoln Sánchez, Director del Programa de Optometría.*
- *A la Ms. Carmen Barba, Asesora del presente Trabajo de Investigación, por su amistad, apertura y orientación permanente.*
- *A la Dra. Aída Carlota León, por su asesoramiento en la estructuración de este Trabajo Investigativo.*
- *A la Universidad Técnica de Ambato, por haber facilitado los laboratorios y materiales de la Facultad de Ingeniería en Alimentos, para la realización del presente trabajo; de manera especial al Ing Carlos Bustos y a la señorita Narciza Llerena, por su ayuda incondicional y desinteresada.*
- *A mis padres Ramón y Somnia; a mis hijos Juan Rafael y Juan Sebastián; a mi esposo Juan Carlos, por su invaluable apoyo permanente y porque son la máxima expresión de los sentimientos más puros del ser humano.*
- *A mis pacientes, por su importante colaboración.*

**Soledad**

# ÍNDICE

	Pág.
Portada .....	i
Acta de Aceptación del Trabajo .....	ii
Declaración de Autoría .....	iii
Miembros del Tribunal .....	iv
Dedicatoria .....	v
Agradecimiento .....	vi
Índice .....	vii
<b>RESUMEN</b> .....	xv
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>1. ANATOMÍA DEL OJO</b> .....	8
1.1. Córnea .....	8
1.1.1. Anatomía .....	8
1.1.2. Importancia y función .....	11
1.2. Limbo Esclero Corneal .....	15
1.2.1. Anatomía e importancia .....	15
1.3. Conjuntiva .....	19
1.3.1. Anatomía e importancia .....	19
1.4. Párpados .....	20
1.4.1. Anatomía e importancia .....	20
1.4.2. Presión o tonicidad de los párpados .....	23
1.5. Aparato lagrimal .....	26

	Pág.
1.5.1. Anatomía e importancia .....	26
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>2. EXAMEN PREVIO .....</b>	<b>28</b>
2.1. Agudeza Visual (AV) .....	31
2.1.1. Equipo y material .....	31
2.1.2. Técnica .....	32
2.1.3. Interpretación de los resultados .....	33
2.2. Estructuras Oculares Externas .....	34
2.2.1. Equipo y material .....	34
2.2.2. Técnica .....	34
2.3. Examen Oftalmoscópico .....	35
2.3.1. Equipo .....	35
2.3.2. Técnica .....	36
2.4. Datos Clínicos .....	38
2.5. Biomicroscopía .....	38
2.5.1. Examen con la lámpara de hendidura .....	38
2.5.2. Técnica .....	39
2.6. Medición de la Curvatura Corneal .....	39
2.7. Aspectos Fisiológicos de la Óptica .....	41
2.7.1. Emetropia, Hipermetropía, Miopía .....	41



Pág.

### **CAPÍTULO III**

<b>3. CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS .....</b>	<b>43</b>
3.1. Morfología y Ultraestructura de las Bacterias .....	50
3.2. Fisiología de las Bacterias .....	71
3.3. Composición Química de las Bacterias .....	72
3.4. Respiración de las Bacterias .....	78
3.5. Multiplicación y Crecimiento de las Bacterias .....	82
3.6. Principios Fundamentales del Cultivo de las Bacterias .....	83

### **CAPÍTULO IV**

#### **4. BACTERIOLOGÍA ESPECÍFICA**

4.1. Cocos .....	84
4.2. Cocos Grampositivos .....	85
4.2.1. Estafilococos .....	85
4.2.1.1. Morfología .....	85
4.2.1.2. Cultivo .....	86
4.2.1.3. Propiedades Enzimáticas .....	87
4.2.1.4. Toxicogénesis .....	87
4.2.1.5. Estructura antigénica .....	90
4.2.1.6. Resistencia .....	91
4.2.1.7. Patogénesis en el hombre .....	92

	Pág.
4.2.2. Estreptococos	96
4.2.2.1. Morfología .....	96
4.2.2.2. Cultivo .....	97
4.2.2.3. Propiedades Enzimáticas .....	98
4.2.2.4. Toxicogénesis .....	98
4.2.2.5. Estructura antigénica .....	100
4.2.2.6. Resistencia .....	107
4.2.2.7. Patogénesis en el hombre .....	107
4.3. Cocos Gramnegativos .....	109
4.3.1. Gonococos .....	109
4.3.1.1. Morfología .....	110
4.3.1.2. Cultivo .....	111
4.3.1.3. Propiedades Enzimáticas .....	111
4.3.1.4. Toxicogénesis .....	112
4.3.1.5. Estructura antigénica .....	112
4.3.1.6. Resistencia .....	112
4.3.1.7. Patogénesis en el hombre .....	112
4.3.1.8. Diagnóstico de laboratorio .....	114
4.3.2. Meningococos .....	116
4.3.2.1. Morfología .....	117

	Pág.
4.3.2.2. Cultivo .....	117
4.3.2.3. Propiedades Enzimáticas .....	118
4.3.2.4. Patogénesis en el hombre .....	118
 <b>CAPÍTULO V</b>	
<b>5. SUGERENCIAS Y NORMAS PARA TRABAJAR EN UN LABORATORIO</b>	
5.1. Sugerencias Generales e Información .....	119
5.2. Normas a seguir en el Laboratorio .....	120
5.3. El Microscopio .....	121
5.3.1. Amplificación .....	122
5.3.2. Empleo del microscopio .....	125
5.3.3. Precauciones especiales .....	128
 <b>CAPÍTULO VI</b>	
<b>6. EL CULTIVO DE LOS MICROORGANISMOS .....</b>	
6.1. Tubos con Agar Inclinado .....	137
6.2. Incubación de las Placas de Agar .....	138
6.3. Aislamiento de un Cultivo Bacteriano .....	139
6.4. Conservación de los Cultivos de Laboratorio .....	139
 <b>CAPÍTULO VII</b>	
<b>7. TINCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS</b>	

	Pág.
7.1. Técnicas de Tinción Simple .....	143
7.1.1. Técnicas de Tinción Diferencial .....	146
7.1.1.1. La Tinción de Gram .....	147
 <b>CAPÍTULO VIII</b>	
<b>8. PREPARACIÓN DE MEDIOS Y MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN</b>	
8.1. Medios .....	150
8.1.1. Medios complejos .....	150
8.1.2. Medios definidos .....	151
8.1.3. Método .....	153
8.1.3.1. Manejo del esterilizador con presión a vapor o autoclave .....	153
8.1.4. Algunos factores de la esterilización con vapor a presión .....	156
 <b>CAPÍTULO IX</b>	
<b>9. METODOLOGÍA .....</b>	<b>159</b>
 <b>CAPÍTULO X</b>	
<b>10. RESULTADOS .....</b>	<b>169</b>
 <b>CONCLUSIONES RECOMENDACIONES</b>	
Conclusiones .....	181

Recomendaciones .....	Pág. 182
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	183
<b>ANEXOS</b>	

### ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1. Cuantificación de colonias bacterianas .....	164
CUADRO 2. Descripción de las colonias de las bacterias: Bordes y Superficies .....	165
CUADRO 3. Descripción de colonias de las bacterias: Colores.....	166
CUADRO 4. Clases de bacterias .....	167
CUADRO 5. Número de colonias: Hongos .....	168
CUADRO 6. Descripción de colonias de hongos .....	168
CUADRO 7. Número de colonias bacterianas obtenidas en el primero y segundo meses .....	169
CUADRO 8. Número de colonias bacterianas obtenidas en el primer mes .....	171
CUADRO 9. Número de colonias bacterianas obtenidas a los dos meses .....	174
CUADRO 10. Número de colonias bacterianas obtenidas al inicio – primer mes .....	177
CUADRO 11. Número de colonias bacterianas obtenidas al inicio	179

	Pág.
segundo mes .....	179

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Historia Clínica

ANEXO 2. Materiales, técnicas y momentos del Trabajo de Investigación

# ***RESUMEN***

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR  
SEDE – AMBATO**

**ESCUELA DE OPTOMETRÍA**

**“COMPORTAMIENTO DE LA FLORA BACTERIANA OCULAR,  
UTILIZANDO LENTES DE CONTACTO DE USO PROGRAMADO POR  
UN TIEMPO MAYOR AL DETERMINADO POR EL FABRICANTE,  
EN LA CIUDAD DE AMBATO”**

**AUTORA: Soledad Saltos Ibarra**

**ASESORA: Ms. Carmen Barba**

**FECHA: Septiembre del 2001**

## **RESUMEN**

El presente trabajo demuestra que la utilización de lentes de contacto de uso programado por un tiempo mayor al determinado por el fabricante, produce una alteración en la flora bacteriana ocular, sin que esta alteración se vuelva patógena para el paciente. Se utilizarán cuarenta lentes de contacto Facus de la casa comercial CIBA VISIÓN, para veinte pacientes con diferentes ametropías e inclusive se trabajó con pacientes emétopes, ya que para esta investigación no era necesario corregir defectos refractivos sino simplemente conseguir usuarios de los lentes de contacto. Un grupo de pacientes utilizó los lentes de contacto durante un mes; mientras que otro grupo de pacientes, utilizó los lentes de contacto durante dos meses, procediendo luego a la comparación correspondiente entre dichos grupos, obteniendo como resultado que el grupo que no respetó el tiempo determinado por el fabricante, presentó una alteración significativa de su flora bacteriana ocular.

## INTRODUCCIÓN

La utilización de lentes de contacto ha aumentado en los últimos tiempos, ya sea por razones de fuerza mayor, como la disminución de la agudeza visual, hasta llegar a su uso por causas meramente estéticas. Lo importante es que existe en el mercado una gran variedad de materiales, tipo y forma en cuanto a lentes de contacto se refiere; por ejemplo, existen los lentes de contacto gas – permeables y los lentes de contacto blandos; dentro de los lentes de contacto blandos se encuentran los lentes de reemplazo mensual, que son los lentes con los que vamos a realizar esta investigación.

Si nos referimos a los lentes de contacto programados o desechables exclusivamente en este trabajo, es a causa de que existen diversos criterios en lo que a tiempo de uso se refiere; así, el laboratorio responsable recomienda la utilización del lente por un mes, pero en nuestro medio, por condiciones de tipo económico, cultural y social, los usuarios de dichos lentes prolongan su uso.

Es de conocimiento general que el lente de contacto en sí, es un **cuerpo extraño** dentro del ojo del paciente y como tal, puede provocar diferentes comportamientos de los que habitualmente se está acostumbrado; es el caso de la flora ocular que existe y habita normalmente en nuestros

ojos, que muy bien puede estar sujeta a alteraciones aún con el hecho de usar lentes de contacto de forma adecuada e indicada por el profesional de la salud que lo prescribe; de esta forma, queremos averiguar si se producen realmente cambios en la flora ocular y si los hay, cómo se comportan con el uso prolongado de los lentes de contacto programados; es decir, se evaluará cuál es la mejor condición para el paciente, para su comodidad y primordialmente para su Salud Visual.

No nos podemos olvidar de una buena adaptación del lente; al analizar dialécticamente este aspecto, Fernando Chacón afirma: "Hay que recordar que no estamos adaptando un lente a un ojo, estamos adaptando un sistema visual a un estilo de vida".<sup>1</sup>

De igual manera se va a revisar cuál es la flora ocular que existe normal y diariamente en nosotros.

En investigaciones realizadas anteriormente, los científicos han descubierto que en los bordes ciliares se encuentran con regularidad, como en el resto de la piel, el estafilococo blanco y el bacilo de xerosis,

---

<sup>1</sup> CHACÓN, Fernando. *Ojo con su Vista*, p. 13.

perteneciente al grupo de diftérico, que en condiciones habituales no son patógenos para el ojo.

La conjuntiva y la córnea son superficies húmedas expuestas al aire, sobre las que se depositan el polvo y gérmenes de la atmósfera diariamente; por esto, la conjuntiva casi nunca está libre de microbios, encontrándose ocasionalmente en ella los más variados microbios, tanto saprofitos como patógenos, que no se multiplican ahí debido a que el parpadeo limpia los gérmenes de la superficie, depositándolos en el saco conjuntival inferior, de donde son arrastrados por las lágrimas hacia la nariz.

Si por falta de parpadeo disminuye la evacuación lagrimal, el contenido microbiano de la conjuntiva aumenta inmediatamente.

Se ha asignado a las lágrimas una acción bactericida. A pesar de que, procedentes de la atmósfera se depositan en la conjuntiva toda clase de gérmenes patógenos como el neumococo, no siempre es un anuncio obligado de enfermedad infecciosa existente.

Las partes externas del ojo pueden ser directamente atacadas por microorganismos, que en unos casos proliferan sobre la superficie exacta y en otros casos precisan de una lesión epitelial para propagarse; no es una cuestión desconocida que la limpieza en cuanto tiene que ver con el uso y manipuleo de los lentes de contacto tiene mucho que ver con la acumulación de bacterias o microorganismos en los ojos y esta limpieza no solo se refiere al diario cuidado de los lentes de contacto con los diversos tipos de enjuagues y desinfectantes existentes en el mercado, sino al aseo personal del usuario, es decir, el aseo de su cara, de sus manos; en las mujeres, el tipo y la cantidad de maquillaje aplicado diariamente; por esto, en la adaptación de estos lentes de contacto programados, para realizar la investigación propuesta se debe tener muy en cuenta el tipo de persona a la que se le adaptará el lente, ya que ésta debe ser responsable en cuanto a su cuidado personal y de sus lentes, ya que no se desea que la flora ocular cambie por cuestiones de aseo.

## **1. TEMA**

**"Comportamiento de la Flora Bacteriana Ocular, utilizando lentes de contacto de uso programado por un tiempo mayor al determinado por el fabricante, en la ciudad de Ambato".**

## **2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿Cuál es el comportamiento de la flora bacteriana ocular, utilizando lentes de contacto de uso programado por un tiempo mayor al determinado por el fabricante, en la ciudad de Ambato?.

### **2.1. Delimitación Temporal del Problema**

El período en el que ubicamos al objeto de la investigación comprende desde el inicio del trabajo, agosto del 2000, hasta la fase final de los resultados de la investigación, junio del 2001.

#### **2.1.1. Delimitación espacial del problema**

Se señala como área espacial de la investigación a la zona urbana de la ciudad de Ambato.

#### **2.1.2. Unidades de observación**

Se realizará la observación a veinte pacientes, usuarios de lentes de contacto.

### **3. IMPORTANCIA Y JUSTIFICACIÓN**

#### **3.1. Importancia**

Conocer si se dan o no, cambios en la flora ocular, después de haber usado lentes de contacto de uso programado por un tiempo mayor al recomendado por el fabricante; tiene una importancia trascendental, primero porque en nuestra ciudad no se han realizado estudios referentes al tema; segundo, porque el uso de lentes de contacto ha aumentado en gran proporción en los últimos años; y, por último, porque en nuestro país por razones de tipo económico y cultural, los usuarios de los lentes no los desechan, los guardan y usan por tiempo indeterminado, sin tener en cuenta que pueden estar favoreciendo al desarrollo de infecciones en sus ojos.

#### **3.2. Justificación**

Al realizar esta investigación, es mi sincero anhelo contribuir al cambio de ideología en los usuarios de lentes de contacto, para preservar su salud visual, mediante información clara, precisa y verdadera sobre el comportamiento de la flora ocular.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo General**

- ✓ Determinar el comportamiento de la flora bacteriana ocular ante la utilización de lentes de contacto de uso programado, con el tiempo dado por el fabricante y con el empleado comúnmente por el paciente.

### **4.2. Objetivo Específico**

- ✓ Determinar si existe relación directa entre el tiempo de uso de lentes de contacto programados con la alteración de la flora bacteriana ocular.

# ***CAPÍTULO I***

## ***1. ANATOMÍA DEL OJO***

## **CAPÍTULO I**

### **1. ANATOMÍA DE LAS ESTRUCTURAS QUE INTERVIENEN EN LA ADAPTACIÓN DE LENTES DE CONTACTO**

Dentro de la adaptación de un lente de contacto, sea éste de cualquier tipo, están muy involucradas ciertas estructuras anatómicas; en este caso, nos interesa conocer dichas estructuras en su función contactológicamente hablando.

#### **1.1. Córnea**

##### **1.1.1. Anatomía**

La córnea termina su formación estructural durante la quinta semana de gestación. En los últimos meses de la misma, la córnea incrementa su

grosor y en el nacimiento su diámetro es de 10 mm aproximadamente. Las dimensiones finales se alcanzan al año de edad. La córnea en el adulto mide aproximadamente 11.7 mm en su plano horizontal y 10.6 mm en el vertical. El grosor corneal central es de 0.52 mm y existe un incremento gradual en el grosor de 0.67 mm cerca del limbo.

La córnea y el humor acuoso forman un lente positivo de 43 dioptrías en el aire y constituye el elemento refractivo principal del ojo. El tercio central de la córnea es esférico y mide cerca de 4 mm de diámetro. Debido a que la superficie posterior de la córnea es más curva que la anterior, la córnea central es más delgada (0.5 mm) que la periférica (1.0 mm).

La inervación de la córnea es una de las más ricas del ojo. La mayoría de los nervios se derivan de la división oftálmica del quinto nervio craneal. Algunos nervios superficiales penetran por la región subconjuntival y espiescleral, pero la mayoría penetra por la esclera.

La córnea periférica está irrigada por vasos conjuntivales, epiesclerales y esclerales. Normalmente no existen vasos sanguíneos en la córnea; además, normalmente los vasos superficiales del limbo no se

extienden más allá de 1 mm, pero en algunas patologías, estos vasos invaden la córnea. La córnea está compuesta de: Epitelio y Membrana Basal, Capa de Bowman, Estroma, Membrana de Descemet y Endotelio.

La superficie anterior de la córnea se deriva del estodermo superficial y se compone de epitelio escamoso estratificado no queratinizado. El epitelio consiste en una capa de células columnares unida a la membrana basal por hemidesmosomas.

De la capa de células basales surgen dos o tres capas de células poligonales; debido a sus extensiones estas células se llaman células aladas. La superficie apical es muy irregular debido a las microvellosidades. La Capa de Bowman consiste en fibrillas de colágena y mide de 8-14 micrones de grosor. Esta capa no tiene capacidad de regeneración. El estroma comprende el 90% o 500 micrones del grosor corneal total en los humanos. Está compuesto de colágena que produce queratocitos, sustancia propia y láminas de colágena.

La membrana de Descemet es una membrana acelular, que cubre la superficie posterior del estoma y representa la membrana basal de la capa

de células endoteliales. Se adhiere pobremente al estroma y endotelio y termina como anillo de Schwalbe en la periferia.

El endotelio consiste en una capa de células hexagonales. La superficie apical está en contacto con la cámara anterior y la superficie basal con la membrana de Descemet. Típicamente las células endoteliales jóvenes tienen núcleos largos y abundantes mitocondrias. Estos organelos tienen un papel importante en el transporte activo y mantenimiento del estroma corneal normal. No ocurre mitosis del endotelio y las células endoteliales disminuyen con la edad.

### **1.1.2. Importancia y función**

La córnea juega un papel importante en la absorción tópica de medicamentos así como en la reparación de heridas de cirugía o trauma del segmento anterior.

Su función principal es actuar como un lente de gran poder y por lo tanto es de vital importancia mantener su transparencia.

Aberraciones en esta capa ocasionan una variedad de enfermedades que afectan la función del ojo.

En la exploración de la córnea es importante valorar forma, diámetro corneal, transparencia o la presencia de opacidades, vascularización, valorar la película lagrimal. Se emplean dos tinciones: fluoresceína y rosa de bengala, para diagnosticar enfermedades conjuntivales y corneales. La fluoresceína tiñe defectos epiteliales y la rosa de bengala las células epiteliales dañadas y moco.

Es importante valorar sensibilidad corneal, sobre todo cuando se encuentra disminuida. Lesiones del quinto nervio craneal de cualquier causa pueden ocasionar disminución de la sensibilidad corneal, pero probablemente herpes simple y herpes zoster son los más comunes.

Dentro de su importancia en la adaptación de los lentes de contacto están su transparencia y la lisura de su superficie, ya que así puede realizar de una manera adecuada su papel en la óptica del ojo; como dijimos anteriormente, está compuesta de diversas capas pero la más importante contactológicamente hablando es el epitelio, pues es la capa que se va a

contactar con la lentilla, dicha capa representa aproximadamente el 10% del espesor total de la córnea.

Las partículas de polvo y arenilla inevitablemente encuentran la manera de llegar hasta nuestros ojos irritándolos, lo cual estimula la producción de lágrimas para eliminar el cuerpo extraño del ojo.

La córnea está tan perfectamente diseñada que solo los lentes más costosos hechos por el hombre pueden igualar su precisión. La suavidad y forma de la córnea es tan importante para el funcionamiento propio como lo es su transparencia. Si la suavidad de la superficie o la claridad de la córnea sufre algún cambio, la visión va a distorsionarse.

Podemos tolerar grandes cicatrices en nuestro cuerpo sin ninguna preocupación excepto porque cosméticamente no es atractivo. Esto no se toma de la misma manera en el caso de la córnea. Tan solo una pequeña cicatriz puede disminuir la visión significativamente, no importa cuán bien esté funcionando el resto del ojo, si la córnea está distorsionada, nublada o con una cicatriz, la visión se verá afectada.

La córnea es la estructura más anterior del globo ocular y al ser transparente cumple dos funciones principales: proteger a las demás estructuras intraoculares y dejar pasar las imágenes hacia su destino final, la retina. De esta forma, para entender mejor la función de la córnea, la misma la comparamos a la mica de un reloj: tiene que ser resistente para proteger las otras estructuras del reloj y a la vez, transparente para poder dejarnos ver la hora. Si por alguna razón, la córnea pierde su transparencia, haciéndose opaca, el paciente no podrá tener una visión clara, incluso podría llegar a la ceguera.

Son muchas las causas que pueden causar pérdidas de la transparencia de la córnea, entre las cuales se encuentran:

- ✓ Infecciones
- ✓ Procesos inflamatorios
- ✓ Traumatismos
- ✓ Alteraciones congénitas o hereditarias

La capacidad de refracción de la córnea, función de su índice de refracción y su radio de curvatura, es mayor que la del cristalino (1.339). Se

divide en dos zonas: la **córnea** y el **limbo**, esta última zona es de transición y aproximadamente tiene 1 mm de ancho entre la córnea y la esclerótica, en la periferia de la misma.

## **1.2. Limbo Esclero Corneal**

### **1.2.1. Anatomía e importancia**

Es la región en donde se unen la córnea con la esclera y es una zona de gran importancia en contactología, ya que allí no solamente se producen modificaciones en lo que respecta a las estructuras histológicas, sino que también se producen cambios en la curvatura, pues el radio de curvatura corneal es más pequeño que el radio de curvatura escleral.

La importancia de la región límbica es la de contener vasos que tienen gran relevancia en la nutrición de la córnea.

**Esclerótica:** Es la cubierta fibrosa externa protectora del ojo. Es una capa densa, blanquecina y relativamente avascular que se continúa hacia delante con la córnea y hacia atrás con las vainas de la duramadre del nervio

óptico, tiene un grosor aproximado de 0.3 mm al nivel de la inserción de los músculos y en el resto tiene cerca de 1 mm de grosor.

El borde corneal de la región límbica es más neto que el borde escleral, pues este último no está señalado por ninguna formación. Se considera que este borde escleral debe ser colocado sobre una línea imaginaria que corresponde a la proyección del Canal de Schlemm sobre la conjuntiva.

A nivel del limbo el tejido ha perdido gran transparencia, siendo ésta un intermedio entre la córnea y la opacidad escleral. Este tejido de transición y su opacidad relativa es lo que dificulta la medición del diámetro corneal.

Uno de los elementos más manifiestos del cambio que experimenta la córnea a nivel del limbo y que se observa microscópicamente es la presencia de asas vasculares.

El microscopio pone en evidencia manifiestos cambios de las estructuras anatómicas a nivel del limbo, entre los que es preciso señalar

Esta actividad resulta muy destacada cuando se la compara con la región central de la córnea.

Entre las numerosas células existentes en esta región limbal hay que destacar fibrositos, hastiositos y más específicamente mastocitos.

Los mastocitos son células de inclusión que en gran cantidad existen en la región que estudiamos y que se disponen en ella en forma de corona. La importancia de estas células parece ser grande, produciéndose su degranulación por causas diversas, lo que parece indicar que juegan un papel activo en los primeros estadios de la inflamación de la córnea y en especial en el desenvolvimiento de una vascularización patológica a partir del limbo; todo lo cual confirma el papel tan importante de esta zona limbal en contactología.

El papel fundamental de la esclerótica es el de sostén y de protección. La esclerótica hace de un verdadero esqueleto para el globo ocular.

### **1.3. Conjuntiva**

#### **1.3.1. Anatomía e importancia**

La conjuntiva es la mucosa que recubre la cara interna de los párpados y la parte anterior del globo ocular, con excepción de la córnea. Representa una modificación del tegumento cutáneo o externo del que puede considerarse dependiente.

La conjuntiva es la membrana mucosa que reviste la cara interna de los párpados, a partir de la que se refleja en la cara anterior del globo ocular. Se continúa con el epitelio de la córnea en el borde corneal y con la piel en las márgenes palpebrales.

El epitelio de la conjuntiva varía con su situación, pero incluye una capa basal de células cúbicas, una capa superficial de células cónicas o cilíndricas y, especialmente, sobre el párpado inferior, de una a tres capas intermedias de células poligonales. Diseminadas entre las células epiteliales hay algunas células calciformes que secretan moco.

En contactología es sumamente importante, ya que ella interviene en muchos de los problemas de la adaptación de lentes de contacto, pues en la práctica la lente se encuentra en contacto con esta mucosa y de ahí lógicamente la presentación de problemas conjuntivales.

La conjuntiva, al igual que el resto de las mucosas del organismo humano, es una capa de revestimiento lisa y caracterizada por estar húmeda de una manera constante y permanente, lo que es necesario para que pueda fácilmente deslizarse sobre la córnea, a la que tiene la misión de humedecer y limpiar mediante los movimientos palpebrales.

## **1.4. Párpados**

### **1.4.1. Anatomía e importancia**

Los párpados son los órganos destinados a la protección y lubricación de los globos oculares. Una de las principales funciones de los párpados es impedir que los cuerpos extraños penetren al ojo, extienden las lágrimas sobre el ojo de tal manera que la córnea se mantiene siempre humedecida.

Son de particular importancia el parpadeo y el tono palpebral en lo que adaptación de lentillas se refiere, así como también en su función secretora. Cada párpado consiste en una capa central de sostén de tejido conectivo y músculo estriado cubierto por fuera por piel y por dentro por mucosa. La piel que reviste el párpado por fuera es delgada, con algunos pequeños pelos, glándulas sudoríparas y sebáceas, dermis de tejido conectivo fino en el que abundan fibras elásticas.

La dermis es más densa en el borde transversal y en este sitio contiene tres a cuatro hileras de pelos largos duros, las pestañas, que penetran profundamente. Entre las pestañas y por detrás de las mismas se encuentran glándulas sudoríparas grandes, que se caracterizan por sus conductos terminales rectos y no flexuosos (glándulas de Moll).

Por debajo de la piel se encuentra una capa de fibras de musculatura estriada, la zona palpebral del músculo orbicular de los párpados y las fibras de inserción del elevador palpebral superior. También se encuentran haces delgados de musculatura lisa, los músculos palpebrales de Muller. Por detrás de las capas musculares se encuentra una capa fibrosa que incluye una capa delgada de tejido fibroso en sentido periférico (tabique orbitario) y

la placa tarsal. Las placas tarsales son láminas de tejido conectivo denso, curvadas para adoptar la forma del globo ocular; la superior tiene forma de D con su borde horizontal inferior que corresponde al borde del párpado. La placa tiene 10 a 12 mm de ancho, pero la placa inferior es una banda estrecha (5 mm) que se encuentra en la región central del párpado inferior.

En ambas placas tarsales hay una hilera única de glándulas sebáceas grandes, las glándulas tarsales (de Meibomio) cuyos conductos se abren en el borde del párpado. De los conductos principales, numerosas ramificaciones laterales pasan para desembocar en alvéolos secretorios únicos o múltiples. La cara profunda posterior de cada placa tarsal se une con la conjuntiva, que se continúa con la epidermis, en el borde interno del borde palpebral.

Los párpados protegen igualmente a la retina de una iluminación excesivamente intensa. También pueden influir sobre la óptica ocular, ya que en las ametropías pueden actuar como un agujero o hendidura estenopeica. Durante el sueño los párpados ejercen su principal misión: la de proteger el globo ocular; en sus movimientos activan la circulación del ojo.

#### **1.4.2. Presión o tonicidad de los párpados**

Éste es un factor que también juega un importante papel en el empleo y adaptación de una lentilla de contacto.

Los párpados ejercen sobre la córnea y el globo ocular una presión radial y tangencial con una fuerza que varía mucho con el individuo. Esta presión es más importante en la parte superior de la córnea y se encuentra acentuada por el hecho de la relación vertical de los globos oculares.

Duke – Elder afirma que en los casos aumenta de 4 a 10 mm Hg, lo que estaría en relación con el aumento de la presión palpebral en este ángulo de mirada.

La existencia de una lentilla aunque sea muy delgada, va a llevar consigo un aumento de la presión ejercida por el párpado. En el caso de una tonicidad normal de los párpados, ésta no va a impedir los desplazamientos de la lentilla de contacto sobre la córnea en los movimientos del ojo y durante el parpadeo, lo que resulta necesario para la renovación del filme lagrimal.

Un párpado con una tonicidad elevada o grueso, o las dos cosas a la vez, lleva consigo un aumento de la presión sobre la lentilla, la cual tiende a inmovilizarse cuando está en posición elevada.

Al cabo de un tiempo más o menos largo, por lo general después de varios meses, en los casos que es tolerado, el párpado termina por aceptar el cuerpo extraño que es la lentilla, liberando la opresión y la depresión termina por desaparecer.

En el caso de párpados de tonicidad elevada o gruesos, si la lentilla está en posición baja, el borde de la lentilla va a encontrar gran dificultad para franquear el reborde palpebral y con ello se va a producir un desplazamiento de la lente hacia el fondo del saco conjuntival o hacia el exterior por la hendidura palpebral.

En el caso contrario de unos párpados de escasa tonicidad, éstos no van a participar en la relación de la lente, lo que se ha facilitado si el párpado es grueso; en este caso, aumentan más la posibilidad de pérdida de la prótesis.

El caso anterior se da con frecuencia en personas de edad avanzada, ocurre en sujetos que han sido intervenidos de catarata y su afaquia va a ser cogida con lentes de contacto.

Resumiendo, podemos decir que los párpados de tonicidad anormal presentan una dificultad para el empleo de lentes de contacto, por lo que la exploración de la tonicidad palpebral no debe ser nunca olvidada en el examen para todo candidato a las lentes de contacto.

Pese a la importancia de los párpados en la adaptación, en particular en lo que respecta a la abertura palpebral, parpadeo y tonicidad. Hasta la fecha no existe ningún aparato que nos mida de una manera precisa el valor de la presión o tonicidad palpebral, por lo que su determinación se la realiza de una manera empírica mediante la maniobra de evertir el párpado lo que permite juzgar la tonicidad parpadeo superior.

## **1.5. Aparato Lagrimal**

### **1.5.1. Anatomía e importancia**

Tiene la forma de una almendra y es de carácter tubuloalveolar y seroso, con células mioepiteliales notables. Los lóbulos separados de la glándula desembocan en conductos excretores en la zona externa del fondo del saco conjuntival superior. Hay numerosas glándulas lagrimales accesorias en la lámina propia de los párpados superior e inferior.

Después de entrar al saco conjuntival, las lágrimas se evaporan parcialmente. Sirven para conservar húmedo el epitelio conjuntival y los párpados extienden la secreción sobre la córnea a manera de los limpiadores de los cristales de un automóvil y arrastran las partículas extrañas nódulas que poseen

Está constituido por la glándula lagrimal, los canaliculos, el saco lagrimal y el conducto nasolagrimal, hay que tener en cuenta que una detenida exploración de la secreción lagrimal resulta siempre necesaria en todo examen previo a la prescripción del uso de lentes de contacto, dado que

la normalidad de las lágrimas, tanto en su calidad como en su cantidad es uno de los puntos que condicionan una magnífica adaptación.

La función principal de la película lagrimal es producir una superficie óptica, proveer oxígeno y nutrientes, además de lubricación durante el parpadeo y una acción antibacteriana mediada por lisozimas e inmunoglobulinas.

La película lagrimal está compuesta de tres capas: una capa superficial oleosa, producida predominantemente por las glándulas de Meibomio y por las de Zeis y Moll en los párpados; una capa acuosa media producida por el tejido lagrimal accesorio de las células de Goblet de la conjuntiva. El mantenimiento de la película lagrimal es vital para una función corneal normal.

# ***CAPÍTULO II***

## ***2. EXAMEN PREVIO***

## **CAPÍTULO II**

### **2. EXAMEN PREVIO**

El examen previo antes de prescribir una lente de contacto es un acto sumamente necesario e importante al mismo tiempo y va a permitir al paciente y al profesional que los adapta, contar con la información necesaria para prever si la adaptación de una lentilla de contacto es oportuna o no lo es, así como poner en evidencia una contraindicación que pondría en peligro el futuro ojo portador del lente.

Es necesario que el especialista reúna los conocimientos precisos para poder valorar todos y cada uno de los parámetros a considerar. En este punto y teniendo en consideración lo dicho anteriormente, el examen

optométrico previo a una adaptación, no debe ser omitido de ninguna manera en un candidato a una adaptación.

El examen previo consta fundamentalmente de dos partes: el interrogatorio y el examen físico.

El **interrogatorio** nos va a permitir ganar la confianza del paciente y aclarar sus dudas respecto a todo lo referente a los lentes de contacto; por otra parte, va a permitir ver las condiciones de higiene personal de la persona. También le serán explicadas diferentes situaciones particulares de su adaptación con relación a su sexo, edad, lugar de trabajo, profesión, antecedentes oculares anteriores, familiares, etc.

El **examen físico**, al explorar todas y cada una de las partes del aparato visual que intervienen en la adaptación, nos va a permitir determinar la conveniencia o no de adaptarse unas lentillas, así como la elección del tipo más adecuado para cada caso.

Si el paciente puede ser un buen usuario de los lentes de contacto, es de suma importancia realizar varios chequeos después de la adaptación,

dependiendo de diversos criterios, se recomienda un horario progresivo de uso de los lentes, empezando con dos horas de uso – dos horas de descanso – dos horas de uso, continuando al siguiente día con tres horas de uso – dos horas de descanso – tres horas de uso; al siguiente día con cuatro horas de uso – dos horas de descanso – 4 horas de uso y así progresivamente, hasta llegar a las ocho horas de uso continuo diariamente; además, por medio de este proceso se le da tiempo al ojo para adaptarse a su nuevo **visitante**, es de mucha utilidad para que el paciente aprenda a manipular el lente, para ponérselo y sacárselo.

Otro examen de suma importancia después de la adaptación es el examen de biomicroscopía, que sirve para evaluar vasculación, movimiento del lente, irrigación y distribución lagrimal, y en caso de existir complicaciones de tipo fisiológico, tomar medidas a tiempo.

En general, debemos admitir que unos lentes de contacto bien adaptados produce siempre menos lesiones que unos lentes mal adaptados; por lo tanto, si existe una buena adaptación existirá un paciente cómodo y feliz.

Pruebas de Función Visual: Explicaremos las realizadas durante el presente trabajo.

## **2.1. Agudeza Visual (AV)**

La determinación de la agudeza visual es una prueba de la función macular y debe ser parte de un examen rutinario en todos los pacientes capaces de dar respuestas subjetivas confiables (no solo en aquellos que se presentan con molestias oculares).

### **2.1.1. Equipo y Material**

El método habitual consiste en usar uno de los diversos tipos de cartillas o escalas especiales de letras, la cartilla de Snellen es la que se usa más comúnmente. Ésta debe colocarse, de ser posible, a una distancia de 6 m; la cartilla debe estar bien iluminada y sin luz concentrada ni deslumbrante. Se recomienda una iluminación de 80 a 100 bujías.

### **2.1.2. Técnica**

Se coloca al paciente de frente a la cartilla de optotipos a una distancia de 6 m. Si normalmente usa anteojos deberá quitárselos. Se coloca un ocluser o una tarjeta limpia por delante del ojo izquierdo sin presionar el globo ocular y se le indica que lea los tipos hasta donde le sea posible con el ojo derecho. Si es capaz de leer la línea que marca **20/20**, se registra este dato y se repite la misma prueba para determinar la agudeza visual en el ojo izquierdo. Si el paciente puede leer las letras más grandes situadas en la parte superior de la cartilla pero no alcanza a leer hasta la línea 20/20, se registrará el valor que corresponde a la línea más pequeña que pueda leer. Si no puede leer las letras más grandes de la parte superior de la cartilla, se le acercará progresivamente a ésta hasta que pueda leerlas registrándose la distancia a que se encuentra de la cartilla (en pies) sobre 200 ( $x/200$ ). Se deberá colocar un agujero estenopeico enfrente del ojo para ver si mejora su agudeza visual. Si los anteojos son usados normalmente, deberá repetirse la prueba y registrarse los resultados como **sin corrección y con corrección**.

A los niños de edad preescolar o a los analfabetos se deberá enseñar el juego de la E y luego examinárseles con la cartilla E para analfabetos. En esta prueba el paciente deberá señalar con la punta de su dedo la dirección de las barras de la letra E. Algunos niños hasta de tres años de edad son capaces de cooperar satisfactoriamente en esta prueba. Se han diseñado cartillas con dibujos como pruebas pero no son muy exactas.

### **2.1.3. Interpretación de los resultados**

Una agudeza visual de 20/20 indica una función macular normal. La disminución de la agudeza visual por debajo de 20/20 indica simplemente una alteración relativa de la agudeza visual a menos que se haya determinado la mejor agudeza visual posible con lentes correctivos (refracción). La mejoría de la agudeza visual a través del agujero estenopeico indica un vicio de refracción, que probablemente puede ser mejorado con anteojos. Una agudeza visual corregida a 20/200 o menos constituye en los E. U. A. Una ceguera legal.

## **2.2. Estructuras Oculares Externas**

La inspección de las estructuras oculares externas (párpados, conjuntiva, córnea, esclerótica y aparato lagrimal) debe incluir la eversión de los párpados superiores para examinar la superficie conjuntival. Esto se puede hacer fácilmente tomando las pestañas del párpado superior con una mano y jalando el mismo hacia abajo y adelante ligeramente, poniéndolo tenso y luego doblando el párpado hacia atrás sobre un aplicador colocado sobre el borde superior del tarso. Esta maniobra es menos molesta para el paciente si durante la misma se le hace mirar hacia abajo.

### **2.2.1. Equipo y material**

El examen se facilita notablemente con el uso de la buena fuente luminosa bien enfocada, como una lámpara de mano o un transiluminador y una lupa de aumento.

### **2.2.2. Técnica**

Las superficies expuestas son exploradas investigando defectos, cuerpos extraños, inflamación, secreción, espífora, resequedad, transparencia, color y otro tipo de anomalías.

Cuando existe el antecedente de una lesión que haya herido las capas del ojo, se deberá tener mucho cuidado al abrir los párpados evitando presionar el globo ocular. En presencia de mucho dolor y blefaroespasmo, será necesario aplicar unas gotas de solución anestésica local estéril, con objeto de poder examinar el ojo. En los niños será aún necesario aplicar anestesia general de corta duración y superficial.

### **2.3. Examen Oftalmoscópico**

El examen del segmento posterior del ojo se hace con la ayuda del oftalmoscopio; este examen es más fácil cuando se efectúa a través de una pupila dilatada, pero puede hacerse sin necesidad de ello cuando existe la práctica suficiente si no existen opacidades de los medios transparentes (acuoso, cristalino y vítreo). Deberá disminuirse la iluminación del cuarto de exploración durante el examen.

#### **2.3.1. Equipo**

Existen muchos tipos de oftalmoscopios, pero todos los aparatos modernos diseñados para la oftalmoscopia directa (oftalmoscopios de

mano), poseen una fuente luminosa que es proyectada por medio de un espejo o un prisma como un rayo luminoso, que casi coincide con la línea de mirada del observador a través de la abertura. Con la abertura colocada tan cerca como sea posible al ojo del observador al igual que al ojo del observado, será factible apreciar en foco todos los detalles de las estructuras del fondo si ambos ojos son emétopes (del explorador y del paciente). Si existe ametropía en cualquiera o de ambos, para observar los detalles del fondo con claridad y enfocados, el aparato posee una serie de lentes graduados convexos (más) y cóncavos (menos) los que podrán ser rotados a través de la abertura hasta lograr la claridad deseada.

### **2.3.2. Técnica**

El paciente deberá fijar su mirada en un objeto determinado y la dirección de la mirada dependerá del área del fondo a examinar. Se acostumbra examinar el ojo derecho primero, tomando el explorador el oftalmoscopio con la mano derecha y sentándose o parándose al lado derecho del paciente. Cuando se examina el ojo izquierdo, se tomará el oftalmoscopio con la mano izquierda colocándose el explorador a la izquierda del paciente.

Se dirige el rayo luminoso hacia el ojo del paciente rotando en la abertura del instrumento los lentes +10 a +12 y acercando el instrumento al ojo; primero se apreciarán aumentados los detalles del segmento anterior del ojo (córnea, iris y cristalino). Y a medida que disminuye gradualmente la fuerza de las lentes positivas, se extenderá gradualmente el foco de observación posteriormente, a través del vítreo, hasta que finalmente se verán los detalles de la retina.

Si la acomodación se relaja en el explorador emétrope y en el ojo del paciente (mirada a lo lejos), la fuerza de la lente a través de la cual se aprecian primero los detalles de la retina con claridad, deberá ser tomado como índice del vicio de refracción. Sin embargo, esto no explica pequeños astigmatismos.

En un astigmatismo grande se notará que los vasos sanguíneos retinianos estarán en foco en un meridiano con una lente de un poder determinado, pero se requerirá una lente de diferente poder para visualizar los vasos del meridiano opuesto.

## **2.4. Datos Clínicos**

Se descubrirán en esta forma opacidades corneales, del cristalino y del vítreo, al igual que se puede observar la patología ocular localizada y las alteraciones del fondo del ojo asociadas a las enfermedades generales. Se puede así mismo en forma ya descrita, estimar un vicio de refracción.

## **2.5. Biomicroscopía**

### **2.5.1. Examen con la lámpara de hendidura**

La biomicroscopía consiste en el examen del ojo y de los párpados por medio de un microscopio y una fuente luminosa especial (lámpara de hendidura). El examen está indicado en cualquier proceso ocular o palpebral que requiera una mejor iluminación y el aumento del área involucrada para elaborar un mejor diagnóstico y tratamiento (ejemplo: queratitis dentífrica, cuerpo extraño corneal y tumor del iris).

### **2.5.2. Técnica**

Se sentarán frente a frente el explorador y el paciente. Éste coloca su mentón sobre una mentonera y su frente contra un armazón, mientras que el explorador observa el ojo a través del microscopio. En la lámpara de hendidura modernas se puede enfocar con un solo control el microscopio y la iluminación.

Se pueden estudiar fácil y rápidamente los párpados, la córnea, la cámara anterior y el iris, moviendo el foco del microscopio y de la luz hacia delante y hacia atrás. Para estudiar el cristalino se utiliza un midriático que evite la contracción del iris ante la intensa iluminación de la lámpara de hendidura. Se puede estudiar el vítreo, la retina y el nervio óptico por medio del lente de Hruby (-40 dioptrías).

### **2.6. Medición de la Curvatura Corneal**

La medición de la curvatura corneal resulta esencial en el ajuste de las lentes de contacto y la evaluación del ojo para realizar cirugía refractiva, para corregir un excesivo astigmatismo o para calcular correctamente la potencia

de la lente intraocular. También es útil para controlar las patologías corneales, por ejemplo, el queratocono.

La curvatura corneal regular se mide con un queratómetro; existen dos tipos básicos (Schiotz o Helmholtz). El de Schiotz es esencialmente un microscopio con una distancia de trabajo fija, de forma que cuando la córnea está en el foco, el aparato está a una distancia fija de la misma. Existen dos objetivos iluminados (cuadro superior), verde y rojo; se disponen sobre un trazo curvo para mantenerlos equidistantes de la córnea a cada lado del telescopio central. Para impedir cualquier movimiento relativo de las imágenes cuando se observa la córnea, el instrumento incorpora un dispositivo doble, de forma que ambas imágenes se desplazan juntas. Cuando las imágenes de los dos objetivos coloreados se observan en aposición sobre la córnea, se ha alcanzado el punto final y la curvatura corneal se puede leer directamente a partir de la escala situada en los brazos que sostienen los objetivos, ya sea en milímetros de radio o en dioptrías. La alineación de las barras horizontales en las miras permite medir el eje de astigmatismo y la curvatura corneal en el otro meridiano, rotando los objetivos alrededor del eje del telescopio.

## **2.7. Aspectos Fisiológicos de la Óptica**

### **2.7.1. Emetropia, Hipermetropía, Miopía**

El ojo emétrope (normal es aquel en el que los rayos paralelos de luz son enfocados en la fovea sin utilizar la acomodación). Habitualmente un ojo hipermetrópe se le considera más pequeño que uno normal y no puede hacer que los rayos de luz converjan sobre la fovea sin hacer uso de la acomodación. El acto de la acomodación o la colocación de lentes biconvexas (más) frente al ojo, ayudan a que la luz converja a un foco en la fovea. Un ojo miope habitualmente se considera mayor que uno normal y tiende a enfocar la luz frente a la fovea. Una lente biconcava (menos) frente al ojo ayuda a que la luz diverja y enfoque en la fovea.

Puesto que el tamaño del globo ocular controla el foco en tal magnitud y ya que el globo ocular tiende a crecer durante el período de crecimiento corporal en la adolescencia, resulta fácil comprender por qué el ojo hipermetrópe de un niño de 10 años de edad puede volverse menos hipermetrópe o aún miope al llegar a la edad de 20 años y como un ojo normal o uno miope se vuelven aún más miopes. Éste es un fenómeno

normal del crecimiento, dispuesto por una tendencia hereditaria a la miopía y explica por qué los **ejercicios** o entrenamiento visual no ejercen ninguna influencia sobre una condición que se debe dar mentalmente al tamaño de un órgano. Aquí no se consideran las causas más raras de la miopía y la hipermetropía producidas por alteraciones anormales en la refracción de los medios ópticos.

# ***CAPÍTULO III***

## ***3. CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS***

## **CAPÍTULO III**

### **3. CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS**

El taxón superior lo constituye el reino *Procaryotae*, que se subdivide en dos:

I División: Cianobacterias

II División: Bacterias

Para la Microbiología Médica el mayor interés lo representa la II División, compuesta de 19 grupos que contiene la descripción de todas las familias, los géneros y las especies de bacterias patógenas y no patógenas.

Los primeros cuatro grupos (**I GRUPO: BACTERIAS FOTOTRÓFICAS;** **II GRUPO: BACTERIAS DESLIZABLES** (Reptadoras); **III GRUPO: BACTERIAS QUE FORMAN UNA ENVOLTURA MUCOSA** (Vagina) y **IV GRUPO: BACTERIAS QUE SE REPRODUCEN POR GEMACIÓN Y/O DEL TALLO**, reúnen bacterias no patógenas para el ser humano muy difundidas en la naturaleza que se diferencian por sus dimensiones y la forma. Habitan en el suelo, el agua dulce y del mar, las aguas negras ricas en sustancias orgánicas y en otros objetos del medio ambiente.

**V GRUPO: ESPIROQUETAS:** Se incluyen en la familia Spirochaetaceae, que agrupa las bacterias espiraliformes, no patógenas, habitantes del agua, el tracto gastrointestinal de los moluscos, así como las especies patógenas que provocan en el hombre y los animales numerosas enfermedades (*Treponema pallidum*, *Borrelia recurrentis* y *Leptospira interrogans*).

**VI GRUPO: BACTERIAS EN FORMA DE ESPIRAL Y CURVA.** Este grupo está constituido por una sola familia, la Spirillaceae, que incluye especies bacterianas no patógenas en forma curva y en espiral, habitan en

las aguas estancadas y contaminadas, sobre los animales y los residuos vegetales putrefactos. El *Spirillum* menor es patógeno para el ser humano.

Los representantes del género *Bdellovibrio* que pertenecen al mismo grupo, están muy difundidos en la naturaleza y se caracterizan por parasitar en el interior de las células de otras bacterias, causando su muerte.

#### **VII GRUPO: BACILOS Y COCOS AEROBIOS GRAMNEGATIVOS.**

Incluye cinco familias. Para la práctica médica representan gran interés la familia *Pseudomonadaceae* difundida ampliamente en la naturaleza y que se caracteriza por provocar diversos procesos inflamatorios en el hombre y los animales.

**VIII GRUPO: BACILOS GRAMNEGATIVOS AEROBIOS FACULTATIVOS.** Este grupo consta de dos familias: *Enterobacteriaceae* y *Vibrionaceae*.

La primera incluye 12 géneros a los cuales se refieren los agentes etiológicos de enfermedades del ser humano y los animales; *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Yersinia* y otros. La *Escherichia coli* es un

representante de esta familia, bien conocido y muy difundido. La segunda familia incluye el género *Vibrio*, al cual pertenece el *Vibrio Cholerae*, agente patógeno.

**IX GRUPO: BACTERIAS ANAEROBIAS GRAMNEGATIVAS.** Este grupo se compone de una sola familia *Bacteroidaceae*. Estas bacterias habitan en el intestino del hombre y los animales, provocando en ocasiones procesos inflamatorios del tracto gastrointestinal y el aparato urogenital.

**X GRUPO: COCOS Y COCOBACILOS GRAMNEGATIVOS.** Estas bacterias están reunidas en la familia *Neisseriaceae*, compuesta de cuatro géneros. Para la medicina tiene importancia el género *Neisseria*, cuyos miembros *N. Gonorrhoeae* y *N. Meningitidis* son patógenos para el hombre.

**XI GRUPO: COCOS ANAEROBIOS GRAMNEGATIVOS.** La familia *Veillonellaceae* incluye tres géneros de bacterias no patógenas muy diseminadas en la cavidad bucal, el tubo gastrointestinal y los pulmones del ser humano y los animales.

**XII GRUPO: BACTERIAS HEMOLITOTROFAS GRAMNEGATIVAS.** Las bacterias de este grupo están muy propagadas en la naturaleza y no tienen especies patógenas para el ser humano.

**XIII GRUPO: BACTERIAS PRODUCTORAS DEL METANO.** Su hábitat principal son los pantanos y las cloacas.

**XIV GRUPO: COCOS GRAMPOSITIVOS.** Este grupo se divide en tres familias: Micrococcaceae, Streptococcaceae y Peptococos, provocan diferentes enfermedades en el hombre.

**XV GRUPO: BACILOS Y COCOS FORMADORES DE ENDOSPORAS.** El grupo incluye una sola familia, la Bacillaceae, a la cual pertenecen cinco géneros. Dos de estos, las Bacillas y Clostridium tienen las especies patógenas, tanto para el ser humano como para los animales (Bac.) Anthracis, CL. Tetan, Cl. Botulinum y otros).

**XVI GRUPO: BACTERIAS BASTONADAS NO ESPERULADAS GRAMPOSITIVAS.** Las bacterias de este grupo se reúnen en una sola familia Lactobacillaceae, habitantes comunes del suelo, las plantas, la leche,

**XIX GRUPO: MICOPLASMAS.** Agrupan los microorganismos desprovistos de paredes celulares. Se han reunido en una clase aparte, el Mollicutes que incluye dos familias: Mycoplasmalaceae y Acholeplasmataceae. La primera familia tiene especies muy difundidas en la naturaleza (suelo, aguas negras, carbón mineral, etc.). Algunos micoplasmas constituyen agentes etiológicos de enfermedades del hombre.

La segunda familia no tiene especies patógenas para el hombre, reúne a los micoplasmas libres o parásitos de algunas especies de mamíferos y aves. En la Introducción de la octava edición del **Manual** se advierte que más adelante los taxones superiores serán cambiados de disposición, lo que permitirá exponer una clasificación de las bacterias:

**REINO:** Procaryotae

**I DIVISIÓN:** Procariotas fototrópicos (Photobacteria)

**CLASE 1:** Fotobacterias azul verdosas.

**CLASE 2:** Fotobacterias rosadas (1 grupo del presente esquema)

**CLASE 3:** Fotobacterias verdes.

**II DIVISIÓN:** Procariotas indiferentes a la luz (Scotobacteria)

**CLASE 1:** Bacterias (grupos 2-17 del presente esquema)

**CLASE 2:** Bacterias obligadas intracelulares (rickettsias) (Grupo XVIII del presente esquema)

**CLASE 3:** Bacterias desprovistas de paredes celulares o micoplasmas (Mollicutes) (Grupo XIX del presente esquema)

La clasificación de las bacterias con la indicación del género y la especie será expuesta en los apartados correspondientes de la Microbiología Especial.

### **3.1. Morfología y Ultraestructura de las Bacterias**

Las bacterias representan primordialmente organismos unicelulares desprovistos de clorofila. De acuerdo con sus propiedades biológicas se incluyen en las Procaryotae. Las dimensiones de las bacterias se miden en micrómetros (um) variando entre 0.1 – 0.15 um. La mayor parte de las bacterias patógenas tienen dimensiones de 0.2 – 10 um.

El tamaño y la forma de los microbios no son constantes. Alteraciones morfológicas se observan en la mayoría de las especies bacterianas y se deben a la acción del medio ambiente. Como regla, dichos cambios no son hereditarios y reciben el nombre de modificaciones. No obstante, bajo determinadas condiciones estables los microbios suelen conservar las propiedades (dimensión y forma) características para una especie dada, que adquieren en el proceso evolutivo.

Según su aspecto exterior, las bacterias se dividen en cuatro formas fundamentales: esféricas (cocos, bastonadas (bacterias, bacilos y clostridios), encorvadas (vibriones, espirilos y espiroquetas) y filiformes (clamidobacterias).

**COCOS:** (Del Lat. Coccus: grano, microorganismos esféricos). Son bacterias de forma esférica, oval (elipsoide), semejante a una judía o lanceolada. Según su disposición, el carácter de la división y sus propiedades biológicas, los cocos se subdividen en micrococos, diplococos, estreptococos, tetracocos, sarcinas y estafilococos.

**MICROCOCOS:** (Del gr. Micro, pequeño). Se caracterizan por distribución solitaria, par o desordenada de las células. Son saprofitos, distribución solitaria, par o desordenada de las células. Son saprofitos, habitantes del agua y del aire.

**DIPLOCOCOS:** (Del gr. Diplo, doble). Se dividen en un solo plano formando parejas. Entre los diplococos se incluyen el meningococo, agente etiológico de la meningitis epidérmica y el gonococo, causante de la gonorrea.

**ESTREPTOCOCOS:** (Del gr. Strepto, cadena). Se dividen en un solo plano agrupándose cadenas de distinta longitud. Existen estreptococos patógenos para el hombre que causan diferentes enfermedades.

**TETRACOCOS:** (Del gr. Tetra, cuatro) Se disponen en grupos de cuatro, dividiéndose en dos planos mutuamente perpendiculares. Como agentes etiológicos de las enfermedades humanas se presentan con suma rareza.

**SARCINAS:** (Del gr. Sarcio, reúno). Son de formas cocáceas que se dividen en tres planos perpendiculares entre sí, adquiriendo un aspecto de paquetes compuesto por 8, 16 o más células. Con frecuencia se hallan en el aire. No se conocen especies patógenas entre las sarcinas.

**ESTAFILOCOCOS:** (Del gr. Staphyle, racimos). Son cocáceas y se dividen en diferentes planos, formando cúmulos irregulares. Algunas especies de estafilococos poseen la capacidad de provocar enfermedades en los animales y el hombre.

**BASTONADOS:** Las formas bastonadas o cilíndricas se subdividen en bacterias, bacilos y clostridios.

A las bacterias corresponden aquellos microorganismos bastonados que, por regla general, no forman esporas (colibacilo, tifoidea, paratifoidea, disentérica, diftérica, tuberculosas y otras).

Entre los bacilos (del lat. Bacillus, bastoncitos) y los clostridios (del gr. Kloster, huso) se incluyen los microbios que en su mayoría forman esporas (del heno, del carbunco, del tétanos, de la infección anaerobia y otros).

Por su forma y tamaño, las bacterias suelen ser cortas (de la tularemia), largas (del carbunco) y con los extremos redondeados (la mayoría de las formas bastonadas) o puntiagudos (fusobacterias).

De acuerdo con la disposición recíproca, las formas bastonadas se subdividen en tres subgrupos:

1. Diplobacterias y diplobacilos, que se disponen en parejas a lo largo de la célula (Bacterias de la neumonía).
2. Estreptobacterias (agente del chancro blanco) y estreptobacilos (bacilos del carbunco).
3. Bacterias y bacilos que se distribuyen sin un sistema determinado (entre ellos se encuentra la mayor parte de las formas bastonadas).

Hay bacterias que presentan engrosamientos en sus extremos, que recuerdan la maza (agente de la difteria); otras especies pueden formar ramificaciones laterales (microbacterias tuberculosas y de la lepra). El

**BACTERIAS FILIFORMES:** Las bacterias filiformes (sulfobacterias y ferrobacterias) habitan en el agua. No existen formas patógenas para el hombre.

Además de las formas comunes antes mencionadas, se descubrieron bacterias que presentan forma de triángulo o estrella.

Los microorganismos se caracterizan por su polimorfismo – variabilidad individual- que se manifiesta en la diversidad de formas celulares e independientemente de la edad y el estadio de su desarrollo. Son muy plásticos, cambiándose fácilmente al someterse a la acción de diferentes factores: metabolitos, agentes desinfectantes, preparados farmacéuticos e inhibidores del organismo.

Con investigaciones de muchos años los microbiólogos demostraron convincentemente que las células de las primeras generaciones microbianas que se cultivan en un medio fresco y óptimo para su desarrollo, se diferencian de las generaciones sucesivas.

El polimorfismo en las bacterias se presenta con mayor frecuencia si éstas son cultivadas en medios artificiales. Como resultado de las reacciones de respuesta de las bacterias provocadas por las propiedades físicas y químicas del sustrato nutritivo, se forman células distintas por su forma y tamaño: muy aumentadas, abultadas, esféricas, conoideas o filiformes e incluso filtrables. Tales modificaciones morfológicas de las bacterias están vinculadas con la alteración de la síntesis de la membrana bacteriana o el mecanismo de regulación de su división celular. Según la intensidad y profundidad de la acción ejercida sobre la célula microbiana, las variaciones pueden ser hereditarias o no hereditarias.

La facultad de los microbios de variar bajo la influencia de diferentes factores del medio ambiente se tiene en cuenta al hacerse el diagnóstico de laboratorio de las enfermedades infecciosas, en la preparación de productos biológicos que se emplean con fines profilácticos y terapéuticos.

Por su estructura las bacterias (procariotas) se diferencian en lo esencial de las células de los vegetales y animales (eucariotas). Los procariotas son organismos haploides que contienen un genoma que no está separado del citoplasma por una membrana especial, carecen de

mitocondrias y del complejo laminoso (aparato de Golgi) y son incapaces de realizar movimientos ameboides. Están constituidos de un nucleoide, el citoplasma, que contiene diferentes inclusiones, la membrana y otras estructuras.

A pesar de la aparente simplicidad de su estructura, la célula bacteriana representa un ser vivo extraordinariamente complejo.

La ultra estructura de la bacteria se estudia con ayuda de investigaciones microquímicas y valiéndose del microscopio electrónico, ambos métodos se han perfeccionado mucho en los últimos años, lo que permite representar con bastante precisión la estructura y los componentes constitutivos de los microorganismos.

**NUCLEOIDE:** El nucleoide (nucleoplasma o carioplasma) de los procariotas constan de un ovillo de filamentos dobles de ADN, no está separado del citoplasma por membrana alguna y no se une a la proteína básica de la célula bacteriana.

A consecuencia de que el nucleóide bacteriano se diferencia por su estructura y la función de los núcleos de los hongos, protozoos, células vegetales y animales, para su denominación se ha propuesto el término de genóforo.

El nucleóide de las bacterias y los cianofitos (algas azulverdosas) tiene un carácter difuso y está lleno de fibrillas de ADN (de 3 – 5 mm de diámetro) dispuestos en forma de lazo cerrado. Está localizado en el centro del citoplasma, en contacto con la membrana citoplasmática, los mesosomas y los polisomas. Según la fase del desarrollo de la célula microbiana, el ADN del nucleóide puede tener aspecto de filamentos, cordones, retículo nudoso o fino o bien de acumulaciones gruesas.

Las células bacterianas que se encuentran en reposo tienen un solo nucleóide, las que están en la fase anterior a la división tienen dos y en la fase logarítmica, cuatro o más.

En las células de crecimiento activo el nucleóide tiene el mismo coeficiente de refracción de la luz que el del citoplasma. La correlación entre la sustancia del genoma y la del citoplasma oscila entre los límites 1:2 a 1:10.

La localización del nucleóide es posible mediante la reacción microquímica de Robinow y Feulgen para la determinación del ADN o por medio de investigaciones de los cortes ultrafinos bajo el microscopio electrónico.

**CITOPLASMA:** El citoplasma de las bacterias representa una mezcla dispersa de coloides que contiene agua, proteínas, hidratos de carbono, lípidos, compuestos minerales y otras sustancias.

El citoplasma tiene las inclusiones siguientes: gránulos de volutina, corpúsculos de lipoproteidos, glucógeno, granulosa, acumulaciones de pigmentos, azufre, calcio, etc.

Los gránulos de volutina contienen metafosfatos; tiene dimensiones oscilan entre 0.1 y 0.5  $\mu\text{m}$ .

Los corpúsculos de lipoproteidos se encuentran en forma de gotas de grasa con bastante frecuencia en diversos bacilos y espirilos. Su presencia en el citoplasma se revela mediante la coloración con sudán o fuscina.

La importancia biológica de los gránulos de volutina y las inclusiones lipoproteicas consiste en que estos sirven de material nutritivo de reserva, siendo utilizados por las bacterias al faltar sustancias alimenticias.

A las inclusiones intracelulares se refieren el glicógeno y la granulosa, cuya presencia se demuestra tratando las células con una solución de Lugol: el glicógeno se tiñe de color rojo pardo y la granulosa de azul grisáceo. En la composición de algunas bacterias se descubrieron inclusiones cristaloides de naturaleza proteica, que resultaron ser muy tóxicas para los insectos. En el citoplasma de las sulfobacterias (*Beggiatoa*) que oxidan el sulfuro de hidrógeno, el azufre se deposita en forma de gotas de estructura coloidal. El azufre tiene también importancia energética y se utiliza en la deshidrogenación anaerobia.

El citoplasma de las sulfobacterias pertenecientes al género *Achromatium* incluye granos de carbonato de calcio en estado amorfo cuya función fisiológica no se ha aclarado hasta el momento.

En el citoplasma hay vacuolas compuestas de distintas sustancias disueltas en agua y envueltas por una membrana (tonoplasto) de origen

lipoproteico. El número de vacuolas en una célula varía entre 6 y 10, llegando hasta 20 durante el período de crecimiento activo. La función biológica de las vacuolas hasta ahora permanece ignorada. Unos investigadores las interpretan como lugares en los cuales se depositan los productos nocivos del metabolismo (exotoxinas), mientras que otros les atribuyen la función de enzimas adicionales de la respiración. Es posible que las vacuolas representen formaciones que aparecen en presencia de exceso de agua.

El citoplasma de las microbacterias, estreptococos, Proteus, actinomicetos, Clostridium y de otros microorganismos contiene rapidosomas o microtubos. En las microbacterias cumplen la función de proporcionar movimiento, permitiendo deslizarse por un sustrato sólido. Por su estructura y dimensiones los microtubos de las bacterias se asemejan a los mismos de los protozoos, así como a los de las células vegetales y animales.

**ENVOLTURA:** La envoltura de las bacterias consta de una membrana citoplasmática, pared celular y de una capa capsular, que en algunas especies de bacterias se transforma en cápsula verdadera.

La membrana citoplasmática colinda estrechamente con la superficie interna de la pared celular. Su espesor es de 5 – 7.5 nm; representa una estructura altamente organizada y especializada.

Constituida por tres capas: lípida, proteica y polisacárida. Una pequeña cantidad de hidratos de carbono y otros compuestos. Cumple la función de un tabique separador a través del cual con ayuda de las enzimas (permeasas) se realiza el transporte continuo y activo de diferentes sustancias e iones indispensables para la actividad vital de la célula. En las membranas celulares están localizados receptores de elevada sensibilidad mediante los cuales las células reciben y transforman las señales que llegan desde el medio circundante, diferenciando las sustancias nutritivas y los diversos compuestos antibacterianos. La superficie de la membrana citoplasmática incluye sistemas enzimáticos activos que intervienen en la síntesis de las proteínas, toxinas, fermentos, ácidos nucleicos y otras sustancias y en la fosforilación oxidante.

La pared celular de las bacterias tiene un espesor de 10 a 35 nm. El material básico que compone la pared celular de las bacterias lo constituye la capa glucopéptida (peptidoglicano, mureína y mucopéptido). En las paredes

celulares de las bacterias grampositivas existe una capa de glucopéptidos con ácido teicoico localizado más próximo a la superficie. Una de las funciones principales de este ácido es la fijación de iones de magnesio y conservar una concentración elevada de cationes en la superficie de la pared. En las células grampositivas la capa de glucopéptidos está ligada a otros componentes de la pared celular: lipoproteínas, fosfolípidos y lipopolisacáridos. La pared de las bacterias grampositivas consta de una capa de mureína que contiene ácido teicoico, M-proteína y glucopéptidos. La rigidez de la mureína proporciona a la bacteria una determinada forma. En las bacterias gramnegativas la pared consta de tres capas: externa (lipopolisacárida), intermedia (lipoproteica) e interna (glucopeptídica).

La pared celular es propia a las bacterias, actinomicetos, cianofitos (algas azul verdosas) y rickettsias, faltando en las espiroquetas, mixobacterias y micoplasmas. Gracias a la presencia de una pared sólida las bacterias poseen la capacidad de conservar una determinada forma.

**CÁPSULA:** Bajo el efecto de diversos factores del medio algunos microbios poseen la capacidad de formar, en la superficie de su cuerpo, alrededor de la pared celular, una capa mucosa más gruesa, que ha recibido

la denominación de cápsulas se considera como una función de adaptación de los microorganismos. Los microorganismos patógenos provistos de cápsula son más resistentes a la fagocitosis, la acción de los factores de defensa del organismo y del medio exterior. La cápsula no es un componente imprescindible de la célula. Con ayuda de los fermentos la capa mucosa puede ser eliminada sin causar daño alguno a la célula aunque reduciendo sus propiedades patógenas.

La sustancia capsular de algunas bacterias determina su especificidad de tipo, la cual está condicionada por la presencia del complejo polisacárido.

La mayoría de los microorganismos tiene la capacidad potencial de formar cápsula sobre todo al cultivarlos en medios nutritivos que contienen gran cantidad de hidratos de carbono. En las bacterias saprofiticas se observa la formación de una cápsula común que rodea varias células. Tales acumulaciones de microorganismos agrupados dentro de una sola cápsula se llaman zoogleas.

**FLAGELOS:** Las bacterias movibles se dividen en retadoras (deslizables) y nadadoras (flotantes). Las bacterias del primer grupo se desplazan con lentitud (se arrastran) por una superficie de apoyo mediante contracciones ondulantes del cuerpo cambiando periódicamente la firma celular. A éste se refieren *Myxococcus*, *Beggiatoa* y *Thiothrix*.

Las bacterias nadadoras se mueven libremente en medios líquidos. Están provistas de flagelos, que representan unas estructuras en forma de hilos finos con un espesor que varía entre 0.02 y 0.06  $\mu\text{m}$  y una longitud entre 6 y 9  $\mu\text{m}$ , alcanzando en algunos espirilos hasta 80 y 90  $\mu\text{m}$ .

Los flagelos están constituidos por sustancias proteicas de tipo flagelina, que pertenece a la clase de proteínas contráctiles (queratina, miosina y fibrinógeno), diferenciándose considerablemente de las proteínas del propio organismo bacteriano. En la sustancia que compone un flagelo se ha relevado lisina, ácidos aspártico y glutámico, alanina y otros aminoácidos. Los flagelos se fijan al cuerpo de la célula de la pared celular y el interior, en la membrana citoplasmática.

Con el microscopio electrónico permitió revelar la forma espiral de los flagelos y su estructura helicoidal. El filamento axial del flagelo consta de finísimos hilos entrelazados y cubiertos con una funda proteica.

Según la disposición de los flagelos, los microorganismos móviles se dividen en cuatro grupos:

1. **Monótricos**, bacterias que poseen un solo flagelo en su extremo (vibrión colérico y bacilo del pus azul).
2. **Anfítricos** bacterias con dos flagelos situados en los dos polos o que tienen un haz de flagelos en ambos extremos (*Spirillum volutans*).
3. **Lofótrico**, bacterias que tienen un haz de flagelos en un solo extremo (bacilos de la leche verdiazulada y *Alcaligenes faecalis*).
4. **Perítricos**, bacterias que poseen flagelos distribuidos por toda la superficie celular (*E. Coli*, salmonellas tifoidea y paratifoideas A y B).

La clasificación expuesta es condicional. Al estudiar los flagelos con el microscopio electrónico se ha comprobado que en algunos monótricos el flagelo no se sitúa en el extremo, sino en el lugar de transición de la superficie lateral a la polar. Como se ha establecido, las bacterias que antes se consideraban monótricas tienen varios flagelos. Con respecto a los anfítricos su existencia independiente es discutible. Se supone que no son otra cosa que dos células que no se dividieron definitivamente y sus flagelos están localizados en los extremos distales.

El carácter del movimiento bacteriano depende del número de flagelos, edad y propiedades del cultivo, temperatura, composición química y otros factores. La movilidad máxima la presentan los monótricos (60  $\mu\text{m/s}$ ).

Existen ciertas especies microbianas dotadas de cilios (pestañas, fimbrias y filamentos), que representan estructuras mucho más cortas y más finas que los flagelos. Estos cilios cubren todo el cuerpo celular. Su cantidad oscila entre 100 y 400 en cada célula. El tamaño de los cilios es de 0.3 a 1.0  $\mu\text{m}$  de longitud y 0.01  $\mu\text{m}$  de espesor. Se supone que no son órganos de locomoción, sino que aseguran la fijación de las células microbianas a la superficie de ciertos sustratos. Se conocen 9 diferentes

tipos de cilios. Se componen de proteínas. Los cilios, al igual que los flagelos, no son estructuras imprescindibles de las células bacterianas.

**ESPORAS Y ESPORULACIÓN:** Las esporas SON FORMACIONES ESFÉRICAS U OVALES. La Esporulación es uno de los estadios del ciclo de desarrollo de determinados microorganismos que apareció como resultado del proceso evolutivo en la lucha por la supervivencia de la especie. La formación de esporas es propiedad de algunos microorganismos, preferentemente de los bastonados (bacilos y clostridios). A éstos pertenecen los agentes del carbunco, tétanos, infección anaerobia, botulismo, así como las especies saprofiticas que habitan en el suelo, el agua y el organismo animal. Es relativamente raro el fenómeno de la esporulación en los cocos (*Sarcina lutea* y *Sarcina urea*) y en las formas curvas (*Desulfovibrio desulfuricans*).

La esporulación tiene lugar en el medio ambiente (en el suelo y los medios de cultivo) y nunca se observa en los tejidos del cuerpo humano o de los animales. Este proceso transcurre en cuatro estadios consecutivos:

1. Preparatorio

2. De prespora
3. De formación de la envoltura
4. De maduración

Según el carácter de su localización en la célula de los bacilos y los clostridios, las esporas se distinguen:

1. Centrales: situadas en el centro de la célula (agente del carbunco).
2. Subterminales: está próxima al extremo (agente de botulismo, infección anaerobia, etc.).
3. Terminales: situadas en el extremo del bacilo (agente del tétanos).

En ciertas especies de microorganismos esporógenos el diámetro de las esporas supera al de la célula vegetativa. Si la localización de la espora es subterminal, las bacterias adquieren la forma de huso, como sucede en los clostridios de la fermentación butílica (*Clostridium butyricum*) y otros.

En el clostridio del tétanos el diámetro de la espora también sobrepasa a su grosor, pero ésta se sitúa en un extremo, por lo que la bacteria adquiere la forma de un palillo de tambor.

La propiedad de formar esporas se utiliza en la sistematización de los microorganismos, así como para la elección de los métodos de desinfección de objetos, locales, productos alimenticios y otros. La esporulación puede desaparecer como resultado de pasajes frecuentes en medios frescos de cultivo o al incubar a temperaturas elevadas.

### **3.2. Fisiología de las Bacterias**

A raíz del rápido desarrollo de la Genética, Biofísica, Bioquímica y la Microscopía electrónica ha sido posible llevar a cabo investigaciones de los procesos fisiológicos de las bacterias en el ámbito molecular, valiéndose de los métodos morfológicos, fisicoquímicos y fisiológicos. El profundo análisis de los datos referentes a la morfología y fisiología de las bacterias demostró que éstas son organismos complejos de acuerdo con su estructura y reacciones bioquímicas.

Estos microorganismos se adaptan con bastante rapidez a las distintas condiciones del medio ambiente gracias a la propiedad de poner en marcha sus enzimas de adaptación que se activizan bajo la influencia de los sustratos del medio exterior. Todos los procesos vitales de las bacterias se determinan por complejas estructuras que aseguran una autorregulación, la cual se da tanto a nivel molecular como celular.

### **3.3. Composición Química de las Bacterias**

La célula bacteriana consta de los organógenos siguientes: nitrógeno, carbono, oxígeno e hidrógeno. Al nitrógeno corresponde del 8 al 15% del residuo seco, al carbono el 45% – 55%, al oxígeno el 30% y al hidrógeno el 6% – 8%.

A partir de los diferentes elementos y sus compuestos, los microorganismos sintetizan proteínas, nucleoproteidos, hidratos de carbono, lípidos, complejos gluco-lípidos y gluco-lípido-proteicos, ácidos nucleicos, enzimas, vitaminas, etc.

**AGUA:** El contenido de agua en el citoplasma de la mayoría de las especies de bacterias oscila entre el 75% (E. Coli) y el 85% (Corinebacteria diftérica, microbacterias tuberculosas y vibrión colérico). En las esporas de bacilos y clostridios la concentración de agua se halla entre los límites del 40% y 50%. Por su cantidad de agua constituye el componente principal de la célula bacteriana encontrándose tanto en estado libre como fijada con los demás componentes celulares. El agua fijada (combinada) en un componente estructural del citoplasma y no puede hacer las veces de disolvente.

El agua libre sirve de medio de dispersión para los coloides y de disolvente para las sustancias cristalizadas; es fuente de iones de hidrógeno e hidroxílicos y participa en las reacciones químicas. Por ejemplo, los procesos hidrolíticos de la desintegración de las proteínas, de carbono y lípidos tienen lugar como resultado de la fijación del agua a los mismos. También es muy grande el papel de agua en los procesos de la respiración.

**SUSTANCIAS MINERALES:** En la composición de las bacterias entran sustancias inorgánicas (fósforo, azufre, sodio, magnesio, potasio, calcio, hierro, silicio, cloro y otras) y microelementos (molibdeno, cobalto,

boro, manganeso, zinc, cobre y otros). El contenido total de sustancias minerales de las bacterias obtenidas en medios de cultivo comunes oscila entre el 2% y el 14% de la masa microbiana seca. Sobre el papel que juegan las sustancias inorgánicas en la actividad vital de las bacterias.

**RESIDUO SECO:** El componente orgánico en la materia seca de las bacterias consta de proteínas, ácidos nucleicos, hidratos de carbono, lípidos y otros compuestos.

**PROTEÍNAS:** Del 50% al 80% de la sustancia seca de la célula bacteriana está constituida por proteínas, distribuidas en el citoplasma, nucleóide, membrana citoplasmática y otras estructuras celulares.

Las proteínas se componen de nucleoproteidos, cuyo grupo prostético constituyen los ácidos nucleicos. El segundo componente de las proteínas lo integran los lipoproteidos, en cuyo grupo, en calidad de prostéticos, entran las grasas (lípidos) y sustancias similares a las mismas –los lipoides-. En la célula, los lipoproteidos se encuentran en forma de inclusiones de consistencia semilíquida. Los lípidos forman sobre la superficie

citoplasmática una membrana que regula el ingreso de sustancias al interior de la célula bacteriana.

Entre las proteínas se encuentran también los fermentos o enzimas que desempeñan un importante papel en la actividad vital de los microorganismos. Los fermentos poseen grupos prostéticos (activos).

El componente proteico del fermento (apofermento) desempeña la función de especificada, mientras que el grupo prostético determina el carácter de la reacción química. Algunos grupos prostéticos no están firmemente ligados a la porción proteica, por lo que pueden librarse con facilidad de la misma; otros tienen la propiedad de fijarse a diferentes proteínas. Este tipo de catalizadores no proteicos de reacciones bioquímicas, que existe libremente, ha recibido la denominación de cofermentos o coenzimas.

**ÁCIDOS NUCLEICOS:** El contenido de ácidos nucleicos en la célula bacteriana depende de la especie de éstas y del medio nutritivo y oscila entre los límites del 10% y 30% de la sustancia seca. Se conocen tres tipos de ácido: **ribosómico (ARNr), de transferencia (ARNt) y la matriz (ARNm)**. El

ARN ribosómico integra la composición de los ribosomas, el de transferencia transporta los aminoácidos a los ribosomas y la matriz asegura la secuencia de los aminoácidos al integrar la cadena polipéptida de la molécula proteica.

El ácido (ADN) se compone de adenina, guanina, citosina, timina, ácido fosfórico y desoxirribosa. En la composición del ARN se incluyen la adenina, guanina, citosina, uracilo, ácido fosfórico y ribosa. La diferencia entre ambos ácidos nucleicos consiste en que el ADN tiene una base nitrogenada, timina y desoxirribosa, mientras que en el ARN entran el uracilo y la ribosa.

No obstante, se ha establecido que existen desviaciones sustanciales de dicha regularidad. En el *B. Subtilis* se descubrió una nueva base nitrogenada – 5 – oximetiluracilo. En la composición del ADN del fago en transducción (véase “Transducción de las bacterias”, del *B. Subtilis* se reveló uracilo combinado con desoxirribosa en forma de ácido desoxiuridílico.

**HIDRATOS DE CARBONO:** El contenido de hidratos de carbono y de alcoholes polivalentes en los cuerpos bacterianos alcanza el 12% - 18% de la sustancia seca. Entre ellos se incluyen:

1. Alcoholes polivalentes
2. Oligósidos
3. Poliósidos
4. Oligopoliósidos neutros que contienen grupos N-acetilamínicos
5. Poliósidos ácidos
6. Obligo y poliósidos en cuya composición entra el ácido sálico

La masa principal de carbohidratos la compone el complejo de polisacáridos libres o fijados a las proteínas o lípidos que se contiene en las membranas celulares o la capa mucosa. El citoplasma de una serie de bacterias posee una cantidad relativamente grande de inclusiones que se asemejan al glicógeno a almidón según su composición química.

Los polisacáridos mediante hidrólisis ácida liberan galactosa. Glucosa, levulosa y otros monosacáridos. Las fracciones polisacáridas determinan la tipo especificidad microbiana, que tiene exclusiva importancia en el diagnóstico de laboratorio, elaboración de vacunas, sueros terapéuticos y diagnósticos.

**LÍPIDOS:** En las bacterias que no depositan grasa en forma de inclusiones, los lípidos constituyen cerca del 10% del residuo seco (en las orine bacterias diftéricas, el 5%). La cantidad de lípidos en las bacterias que depositan grasa dentro de inclusiones especiales, alcanza hasta el 40% (micobacterias tuberculosas). Los lípidos bacterianos están constituidos por ácidos grasos libres (26% - 28%, grasas neutras, ceras y fosfolípidos).

#### **3.4. Respiración de las Bacterias**

El aire atmosférico contiene aproximadamente el 78% de nitrógeno, el 20% de oxígeno y del 0.03% al 0.09% de ácido carbónico. El nitrógeno gaseoso puede ser utilizado exclusivamente por las bacterias fijadoras de nitrógeno, el ácido carbónico se usa como única fuente del carbono por las bacterias autotróficas. El oxígeno juega un papel muy importante en el metabolismo de la mayor parte de las especies bacterianas, tanto en la respiración como en la obtención de energía.

La respiración de las bacterias representa un complejo proceso que se acompaña del desprendimiento de energía que les es indispensable a los microorganismos para sintetizar diferentes compuestos orgánicos. A

semejanza con los animales superiores y las plantas. Las bacterias utilizan el oxígeno para su respiración.

El concepto de que la respiración es un proceso de oxidación de las sustancias orgánicas por el oxígeno, con la liberación de energía, ha sufrido grandes cambios con motivo del descubrimiento de las bacterias anaerobias, incapaces de existir en presencia del oxígeno. L. Pasteur demostró que la energía necesaria para la actividad vital de algunas especies de las bacterias se obtiene durante el proceso de fermentación.

Según el tipo de respiración los microorganismos se dividen en aerobios obligados, microaerófilos, anaerobios facultativos y anaerobios obligados.

Los **aerobios obligados** que se desarrollan en presencia del 20% del oxígeno en la atmósfera, crecen sobre la superficie de medios líquidos y sólidos (brucellas, micrococos, microbacterias tuberculosas, hidrógeno del sustrato oxidado al oxígeno atmosférico).

Los **microaerófilos** necesitan una cantidad mucho menor de oxígeno, por lo tanto, una elevada concentración de oxígeno aunque no los mata; sin embargo, detiene su crecimiento (actinomicetos, leptospiras, brucellas y otros).

Los **anaerobios facultativos** pueden reproducirse tanto en presencia como en ausencia de oxígeno molecular (la mayoría de los microorganismos patógenos y saprofitos).

Los **anaerobios obligados** son microorganismos para los cuales la presencia de oxígeno molecular es nociva, constituyendo un factor inhibitor de su crecimiento (clostridios del tétanos, de la infección anaerobia, del botulismo, etc.).

Durante el proceso de la respiración las bacterias aerobias oxidan distintas sustancias orgánicas (hidratos de carbono, proteínas, grasas, alcoholes, ácidos orgánicos y otros compuestos). La oxidación completa de una molécula gramo de glucosa libera una cantidad determinada de calorías, lo que corresponde a la reserva potencial de energía que se ha acumulado

en la molécula del hidrato de carbono mediante fotosíntesis en las plantas verdes a partir del ácido carbónico y del agua.

En la oxidación aerobia incompleta (parcial) se desprende una cantidad menor de energía, de acuerdo con el grado correspondiente de oxidación.

Un representante típico de los anaerobios facultativos de la E. Coli, la cual en los medios que contienen hidratos de carbono, al principio se desarrolla como bacteria anaerobia, desintegrando los hidratos de carbono mediante fermentación, para después comenzar a asimilar el oxígeno, creciendo como aerobia, oxidando los productos de la fermentación (ácido láctico) hasta formar ácido carbónico y agua.

Los **anaerobios facultativos** poseen importantes ventajas, puestos que pueden vivir tanto en presencia como en ausencia del oxígeno.

La respiración de los anaerobios se efectúa por medio de la fermentación del sustrato, con la formación de una cantidad reducida de energía. En la fermentación de una molécula gramo de glucosa se produce

una cantidad de energía mucho menor que en condiciones de la respiración aerobia.

### **3.5. Multiplicación y Crecimiento de las Bacterias**

Por multiplicación de las bacterias se entiende su capacidad de auto reproducción, aumento del número de individuos por unidad de volumen del medio. El crecimiento representa el incremento de la masa bacteriana mediante la síntesis del material celular.

Las bacterias se multiplican por simple división transversal (multiplicación vegetativa), que se efectúa en distintos planos formando numerosas variantes de combinaciones (racimos, cadenas, parejas, paquetes, etc.). Así como por gemación a través de la desintegración de los filamentos segmentados, la formación de células semejantes a las esporas o la producción de conidios móviles ínfimos.

# ***CAPÍTULO IV***

## ***4. BACTERIOLOGÍA ESPECÍFICA***

## **CAPÍTULO IV**

### **4. BACTERIOLOGÍA ESPECÍFICA**

#### **4.1. Cocos**

Entre las especies de cocos patógenos se incluyen los grampositivos (estafilococos y estreptococos) y los gramnegativos (gonococos y meningococos). Todos los casos mencionados poseen la propiedad de provocar en el hombre procesos inflamatorios que se acompañan de la formación de pus, es por eso que recibieron la denominación de cocos piógenos.

El grado de organotropismo en los cocos varía. Su mayor manifestación se observa en los meningococos y gonococos y la menor, en los estafilococos y estreptococos.

Los cocos pertenecen a las familias ***Micrococcaceae***, ***Peptococcaceae***, ***Streptococcaceae*** y ***Neisseriaceae***.

## **4.2. Cocos Grampositivos**

### **4.2.1. Estafilococos**

El *Staphylococcus aureus* fue descubierto por E. Koch (1878), aislado del pus de un furúnculo por L. Pasteur (1880) y estudiado detalladamente por F. Rosenbach (1884). Los estafilococos se han incluido en la familia *Micrococcaceae*.

**4.2.1.1. Morfología.-** Los estafilococos tienen forma esférica, su diámetro es de 0,8-1,0 (0,5-1,5)  $\mu\text{m}$ , situándose en acumulaciones desordenadas. En los frotis del cultivo y de pus se observan cadenas cortas, cocos aislados y formando pares.

**4.2.1.2. Cultivo.-** Los estafilococos son anaerobios facultativos. Se desarrollan perfectamente en los medios nutritivos comunes con pH 7,2-7,4 a la temperatura de 37°C, siendo sus límites extremos para el crecimiento de 10 a 45°C. A la temperatura ambiente, en condiciones de buena aireación, con una luz difusa, los estafilococos elaboran pigmentos dorados, blancos, amarillo limón y otros que son lipocromos. Los pigmentos son insolubles en agua, disolviéndose bien en éter, bencina, acetona, cloroformo y alcohol. La mejor producción de pigmentos tiene lugar en el agar lácteo y patata a una temperatura de 20-25°C.

En el agar de carne peptonado los estafilococos se desarrollan en forma de colonias convexas de bordes regulares que poseen un diámetro de 1 a 4 mm. Al examen microscópico las colonias tienen una estructura granulosa con el centro sólido y son opacas. Su coloración depende de la clase de pigmento elaborado por los microorganismos. Además de las formas de colonias típicas S, los estafilococos pueden elaborar otras formas: R, G y L.

Al crecer en el caldo de carne peptonado, los estafilococos producen un enturbiamiento difuso que se convierte en precipitado. En ciertos casos, al tener una aireación suficiente, los estafilococos forman una película sobre

la superficie del caldo. Crecen muy bien en la patata y el suero coagulado. Por lo común, al cabo de 1 ó 2 días a lo largo de los pinchazos hechos en la gelatina se observa junto al abundante crecimiento, la licuación del medio, el cual al cuarto o quinto día adquiere el aspecto de un embudo lleno de líquido. En el agar-sangre los estafilococos patógenos producen hemólisis. Los eritrocitos de conejo y carnero son los más sensibles a la acción de la hemotoxina estafilocócica.

**4.2.1.3. Propiedades Enzimáticas.-** Los estafilococos elaboran enzimas proteolíticas y sacarolíticas, no producen indol en los cultivos frescos, licuan la gelatina, coagulan la leche y a veces el suero, reducen los nitratos a nitritos, producen ureasa, catalasa, fosfatasa, segregan amoníaco, sulfuro de hidrógeno, fermentan la glucosa, levulosa, maltosa, lactosa, sacarosa, manita y glicerina formándose ácido. Los estafilococos patógenos producen arginasa, enzima capaz de desintegrar la arginina. Se ha demostrado la relación entre la actividad de elaborar la arginasa y el nivel de segregación de toxina  $\alpha$ .

**4.2.1.4. Toxicogénesis.-** Los estafilococos sintetizan más de 25 proteínas, toxinas y enzimas de patogenicidd. Las hemolisinas  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  y  $\gamma$  se

caracterizan por su acción hemolítica, letal y dermonecrótica. En los filtrados de caldos culturales de algunas especies de estafilococos se registra la presencia de enterotoxinas, sustancias que en el tracto gastrointestinal producen intoxicaciones alimentarias. Los estafilococos producen exofoliatinas que provocan el impétigo en los niños, el pénfigo del neonato, leucocidina, que destruye los leucocitos, mata a los hematoblastos de la médula ósea y a las células nerviosas. Además, los estafilococos poseen la propiedad de coagular el plasma sanguíneo. El carácter en lo tocante a la propiedad de coagular el plasma es relativamente estable y se utiliza para diferenciar las especies estafilocócicas patógenas de las no patógenas. La coagulasa es resistente al calentamiento y puede ser extraída del cultivo de caldo de estafilococos.

Los estafilococos producen fibrinolisisina, que al añadirse al coágulo sanguíneo provoca su disolución en 1 ó 2 días. Los estafilococos patógenos elaboran la enzima hialuronidasa, destructora del ácido hialurónico que entra en la composición de los tejidos conjuntivos.

La coagulasa, fibrinolisisina, lecitinasa, hialuronidasa, estafiloquinasa, desoxirribonucleasa, proteinaza, lipasa y fosfatasa pertenecen al grupo de

las enzimas de patogenicidad. La lecitinasa destruye la lecitina, sustancia que forma las envolturas de los eritrocitos humanos, de carnero y conejo. En los cultivos estafilocócicos se ha descubierto también un anticoagulante que impide la coagulación de la sangre. Esta sustancia se elabora en los exudados inflamatorios que surgen en las enfermedades por estafilococos. En los filtrados de los cultivos de estafilococos se han encontrado hemaglutininas que provocan la aglutinación de los eritrocitos de conejos. Los estafilococos virulentos inhiben la actividad fagocitaria de los leucocitos. Las sustancias que tienen tales propiedades son termostábiles, soportando el calentamiento de hasta 80-90°C. La inmunización de los individuos que padecen enfermedades estafilocócicas crónicas provoca la elaboración en la sangre de aglutininas, precipitinas y opsonias específicas para cada cepa de estafilococos en particular.

Muchas de las cepas de estafilococos producen penicilinasasa ( $\beta$ -lactamasa), que destruye los penicilinas.

La erotoxina estafilocócica neutralizada con una solución de formaldehído al 0,3-0,5% a la temperatura de 37°C durante 7-28 días provoca, al ser inyectada por vía parenteral, al hombre y los animales, la

síntesis de una antitoxina específica que tiene la propiedad de reaccionar con la toxina.

**4.2.1.5. Estructura antigénica.-** De los cultivos de estafilococos se han obtenido los polisacáridos A, B y C.

El polisacárido A se ha extraído a partir de las cepas aisladas en los enfermos con septicemia, furunculosis, osteomielitis, conjuntivitis aguda y otras. El polisacárido B se halla en las células avirulentas de cepas no patógenas. El polisacárido C contiene un antígeno especial. Los polisacáridos A y B se diferencian también entre sí por su composición química.

Los polisacáridos estafilocócicos tienen una especificidad muy marcada, lo que le permite dividir a los estafilococos en serovares; éstos, incluso en diluciones de 1:1 000 000, dan una reacción de precipitación bien visible. El antígeno proteico es común para todas las especies y tipos de estafilococos.

Mediante las reacciones de aglutinación con los sueros correspondientes se han distinguido varios serovares de estafilococos, no obstante para un gran número de cultivos es imposible determinar su tipo serológico.

De acuerdo con la clasificación moderna, los estafilococos se dividen en tres especies: *Staph. aureus*, *Staph. epidermidis* y *Staph. saprophyticus*.

Se distinguen más de 40 fagovares y 10 serovares de estafilococos. Algunas de las especies de la familia *Peptococcaceae* son estrictos anaerobios. El *Peptococcus Níger*, *Peptococcus anaerobius* y *Peptococcus asaccharolyticus* y otras representan, por lo general, especies condicionalmente patógenas para el hombre, habitando en las mucosas bucal, intestinal y de las vías urogenitales. En los individuos debilitados y en los pacientes con enfermedades crónicas los micrococcos anaerobios suelen provocar distintas complicaciones.

**4.2.1.6. Resistencia.-** Los estafilococos se caracterizan por una resistencia relativamente elevada a la desecación, congelación, radiación solar y sustancias químicas. En estado seco viven más de seis meses y en el polvo

de cincuenta a cien días. Las congelaciones y descongelaciones repetidas no los matan; tampoco sucumben bajo la acción de la radiación solar directa al estar expuestos a la misma durante muchas horas. Pueden resistir el calentamiento a la temperatura de 70°C más de una hora. A la temperatura de 80°C mueren a los 10-60 minutos y a la de ebullición, enseguida; la solución de fenol al 50% les causa la muerte a los 15-30 minutos. Los estafilococos tienen una sensibilidad muy alta a algunos de los colorantes de anilina, especialmente al verde brillante, el cual se emplea con éxito en el tratamiento de las afecciones purulentas superficiales de la piel. Los estafilococos poseen gran resistencia a los preparados antibacterianos. El 70-80% demuestra resistencia a unos cuatro o cinco preparados a la vez. Tienen una resistencia cruzada a los antibióticos del grupo de los macrolidos (eritromicina, oleandomicina y otras).

**4.2.1.7. Patogénesis en el hombre.-** Los estafilococos se introducen en el organismo humano a través de los tegumentos cutáneos y las mucosas por vía aérea, gotitas de Flügge y polvo aéreo. La infección se produce no con una variedad (variante), sino con dos o más.

La patogénesis de las enfermedades estafilocócicas está determinada, tanto por las exotoxinas, como por las propias bacterias.

En la génesis de las enfermedades por estafilococos tiene importancia también el estado alérgico, el cual en un serie de casos es la causa de formas clínicas de infección estafilocócica muy graves que no ceden ante el tratamiento. Prácticamente, todos los órganos y tejidos pueden afectarse por procesos inflamatorios debidos a los estafilococos.

En el hombre los estafilococos patógenos provocan hidroadenitis, abscesos, panadizos, blefaritis, furúnculos, carbunco, periostitis, osteomielitis, foliculitis, psicosis, dermatitis, eccemas, piodermias crónicas, peritonitis, meningitis, apendicitis, colecistitis, neumonías, enterocolitis, piomiositis, conjuntivitis y estafilodermatitis de los recién nacidos.

Al desarrollo de las lesiones purulentas de la piel y de la furunculosis contribuyen la diabetes mellitus, fenilcetonuria, avitaminosis, distrofia alimentaria, propensión a la sudoración profusa, pequeño traumatismo cutáneo de carácter profesional y las afecciones de la piel por sustancias químicas.

En muchos casos los estafilococos favorecen la aparición de enfermedades secundarias en la viruela, gripe, infección por herida, así como en las supuraciones postoperatorias. Entre las enfermedades que presentan un peligro especial se incluyen las sepsis por estafilococo y la neumonía estafilocócica en los niños.

Al ingerir productos alimenticios (requesón, queso, leche, tortas, pasteles, helado y otros) contaminados por los estafilococos patógenos aparecen las toxiinfecciones. La toxicogénesis ocurre con mayor rapidez en la leche,. Mezclas lácteas, crema cocida, carne picada, conservas de pescado y otros productos.

Los estafilococos juegan un gran papel en las infecciones mixtas: se hallan junto a los estreptococos en las infecciones por herida, difteria, tuberculosis, actinomicosis, anginas, gripe, paragripe y otras enfermedades respiratorias agudas.

Debido a la gran difusión de preparados antibacterianos, sobre todo de los antibióticos, los cuales condicionaron que se produjera la selección de las cepas resistentes, han tenido lugar grandes cambios en el grado de

gravedad y de la propagación de las afecciones por estafilococos. En todos los países del mundo se registra el incremento de la incidencia de dichas enfermedades, infecciones intrahospitalarias en los hospitales de maternidad, cirugía y de niños, así como el aumento del número de portadores entre el personal médico y la población. Se observan casos de contaminación de los niños por estafilococos que facilitan el desarrollo en éstos de la estafilodermatitis vesicopustulosa, pénfigo, infiltrados, abscesos, conjuntivitis, nasofaringitis, otitis, neumonías y otras enfermedades.

Se ha demostrado la rapidez con que los estafilococos adquieren resistencia a los preparados químicos y a los antibióticos, propiedad que se debe a la presencia en los estafilococos de las plasmidas R, las cuales se caracterizan por su transmisibilidad. La concentración elevada de los preparados medicamentosos en el organismo humano condujo a una importante alteración de su microflora y a la aparición de cepas resistentes, que además poseen una virulencia más alta, así como al surgimiento de las formas L de estafilococos.

#### 4.2.2. Estreptococos

El estreptococo patógeno (*Streptococcus pyogenes*) fue descubierto por T. Billroth (1874) en los tejidos en casos de erisipela y de las heridas infectadas, de sepsis, por L. Pasteur y colaboradores (1880) y aislado del pus por F. Rosenbach (1884). Los estreptococos forman parte de la familia de las *Streptococcaceae*.

**4.2.2.1. Morfología.-** Los estreptococos tienen forma esférica, sus dimensiones oscilan entre 0,6 y 1  $\mu\text{m}$ , se disponen en parejas o cadenas, son inmóviles, no forman esporas y son grampositivos. En los frotis de cultivos en medios sólidos lo más frecuente es que los estreptococos se dispongan en pares o cadenas cortas, mientras que en las extensiones de cultivo en caldo, en cadena largas o acúmulos.

En los cortes ultrafinos de los preparados se observa la microcápsula que se forma en las fases del crecimiento logarítmico y estacionario. Bajo la microcápsula se sitúan las tres capas de la pared celular, seguidas por las tres capas de la membrana citoplasmática, la cual forma invaginaciones hacia lo interior del citoplasma. La división celular comienza con la

invaginación de la membrana citoplasmática, formándose luego un tabique. Cada nueva división se inicia antes de que termine la anterior, a causa de lo cual se acumulan células periformes. El contenido de G + C en el ADN del nucleóide es del 34,5-38,5%.

**4.2.2.2. Cultivo.-** Los estreptococos son anaerobios facultativos, pero algunas variedades son anaerobias estrictas. La temperatura óptima requerida para su crecimiento es de 37°C, oscilando entre 10 y 45°C. En agar de carne peptonado el crecimiento de los estreptococos es dificultoso, mientras que se cultivan bien en agar azucarado, agar-sangre, de suero y caldo, siendo el pH del medio de 7,2 a 7,6. En los medios sólidos forman pequeñas colonias (0,5 - 1 mm) opacas, grisáceos o blanco-grisáceos, de consistencia granular y con bordes poco precisos. Las especies de los estreptococos varían según su propiedad de producir en agar-sangre hemólisis tipo  $\beta$  o tipo  $\alpha$  con la zona clara o verde respectivamente que rodea a la colonia, debido a la transformación de la hemoglobina en metahemoglobina. Algunas especies no producen la hemólisis. En el caldo azucarado se desarrollan formando un precipitado de microgránulos adherido a la pared o al fondo del recipiente y pocas veces provocan enturbiamiento del líquido.

a otros tejidos, especialmente las células hepáticas; su administración endovenosa causa la muerte rápida de los conejos y los ratones blancos.

4. Toxina eritrogénica termostábil, que tiene la propiedad de provocar una reacción cutánea inflamatoria en las personas, cuya sangre carece de antitoxinas.
5. Hemolisina  $\alpha$ , que es segregada en el medio nutritivo.

Ciertas cepas virulentas de los estreptococos del grupo A producen toxina cardiohepática y nefrotoxina, esta última condiciona una glomerulonefritis aguda.

Además, los estreptococos patógenos producen enzimas de la patogenicidad hialuronidasa, con cuya acción del germen penetra en los órganos y tejidos del organismo animal contaminado, así como fibrinolisisina, desoxirribonucleasa, ribonucleasa, neuraminidasa, proteínas, estreptocinasa, amilasa, lipasa y nucleotidasa difosfopiridínica.

Las propiedades patógenas de los estreptococos están condicionadas, además de la exotoxina y las enzimas de la patogenicidad, por las endotoxinas, las cuales se caracterizan por su termostabilidad.

**4.2.2.5. Estructura antigénica.-** El estudio de la estructura antigénica de los estreptococos consiste en los datos de las investigaciones serológicas. F. Griffith utilizó para este fin la reacción de aglutinación de los estreptococos. R. Lancefield empleó la reacción de precipitación con extracto del sedimento del cultivo en caldo.

Del cultivo de estreptococos se han extraído cuatro fracciones antigénicas. La sustancia M representa una proteína, con la cual se asocian la virulencia y la inmunogenicidad. La sustancia proteica T está compuesta por antígenos O, K y L y se caracterizan por la especificidad de variante. La sustancia C es un polisacárido, común para todo el grupo de los estreptococos hemolíticos. La sustancia P pertenece a la fracción nucleoproteica, no es típica para el grupo de los estreptococos hemolíticos, pero sí para los demás grupos de estreptococos y estafilococos. Ciertos estreptococos del grupo A y en parte del C sintetizan antígenos extracelulares (toxinas): estreptolisina O, que es una proteína y la S, la cual

está compuesta de un complejo lipoproteico, ambas poseen la propiedad de provocar hemólisis.

A base de la reacción de precipitación que revela los hidratos de carbono específicos del grupo, los estreptococos se clasifican en grupos designados con las letras mayúsculas desde la A hasta la H y desde la K hasta la T.

De las 21 especies conocidas de estreptococos, 5 no pertenecen a ninguno de los grupos antigénicos. Par la microbiología médica representan interés 6 especies, de las cuales se da una breve característica en la Tabla .

**Tabla . Caracteres principales que distinguen las especies de estreptococos**

Especie	Formación de hemolisina		Formación de fibrinolisisina	Desintegración				
	O	S		gelatina	almidón	hipurato	esculina	arginina
<i>Str. pyogenes</i>	+	+	+	-	-	-	+	+
<i>Str. equisimilis</i>	+	-	+	-	±	-	±	+
<i>Str. sanguis</i>	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>Str. pneumoniae</i>	+	-	-	-	0	0	0	0
<i>Str. anginosus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Str. faecalis</i>	-	-	-	-	-	+	+	+

**Observación:** + significa 90/100% de las cepas positivas; - 90-100% negativas; ± algunas de las cepas son positivas y otras negativas; 0 no se diferenció.

E. Griffith clasificó los estreptococos hemolíticos aislados en los enfermos en 51 serovares, de los cuales 47 los situó en el grupo A.

Este grupo es el que tiene mayor importancia en la patología infecciosa, ya que incluye 55 serovares M de estreptococos hemolíticos aislados en enfermos y de la nasofaringe de los individuos sanos. Estas serovares de estreptococos producen hemólisis de tipo  $\beta$ , elaboran una toxina soluble, no crecen en caldo de bilis al 40% ni en agar bilis-sangre, casi siempre fermentan la lactosa y la salicila constantemente la trehalosa y nunca la sorbita y la glicerina, desintegran con frecuencia la manita y con muy poca la rafinosa y la inulina. Se detectan en los casos de angina,

escarlatina, erisipela y de otros procesos inflamatorios. Entre las especies condicionalmente patógenas se incluyen los estreptococos hemolíticos  $\alpha$  (*Str. mitis*, *Str. salivarius*, *Str. sanguis* y otros) y el *Str. faecalis* (grupo D).

De acuerdo con la clasificación moderna de las bacterias, en la familia de las *Streptococcaceae* se incluyen el *Str. faecalis* y el *Str. pneumoniae*, de los cuales se da una breve característica más adelante.

**Streptococcus faecalis.-** El *Streptococcus faecalis* (enterococo) tiene células polimorfas, ovoides que se disponen en parejas o en cadenas cortas. Algunos de los cocos poseen en forma ovalada o lanceolada. Sus dimensiones oscilan entre 0,5 y 1  $\mu\text{m}$  de diámetro. Se encuentran cepas que contienen antígenos K (capsulares).

En los medios sólidos el *Streptococcus faecalis* se desarrolla formando colonias con bordes lisos. En caldo azucarado crecen provocando enturbiamiento y precipitado. Ciertas cepas tienen movilidad activa, producen un pigmento amarillo y elaboran fibrinolisisina. Los límites de la temperatura propensa para el crecimiento oscila entre 10 y 45°C y son resistentes a las temperaturas elevadas (30 minutos a 60°C. Se desarrollan

en un caldo de NaCl al 6,5% con pH de 9,6 en agar-sangre, con el 40% de bilis o la cantidad equivalente de sales de bilis.

Los *Str. Faecalis* habitan en el interior del intestino del hombre y los animales de sangre caliente. Tienen propiedades antagónicas con respecto de las bacterias de la disentería, fiebre tifoidea y paratifoidea, así como de la *E. coli*. En el intestino de los niños su cantidad excede a la de la *E. coli*. Su presencia se descubre en los casos de enfermedades del duodeno, la vesícula biliar y las vías urinarias. El hecho de encontrar los enterococos testimonia la contaminación con heces fecales del agua, pozos negros y alimentos.

**Streptococcus pneumoniae.-** El *Streptococcus pneumoniae* (*Diplococcus pneumoniae*) pertenece a la familia de los *Streptococcaceae*. Durante muchos años se le llamó neumococo. Son cocos lanceolados o que tienen forma poco alargada, alcanzan un diámetro de 0,5-1,25  $\mu\text{m}$ , disponiéndose en pares, pero a veces forman cadenas cortas o células aisladas. En el organismo humano o animal poseen una cápsula, son grampositivos, aunque los cultivos jóvenes y viejos son gramnegativos,

carecen de movilidad y no son esporulados. El contenido de G + C en el ADN del nucleóide constituye el 38,5-39%.

Estos cocos son anaerobios facultativos, la temperatura óptima en que se desarrollan es de 37°C, alcanzando los límites extremos entre 28 y 42°C.

Se cultivan con dificultad en los medios comunes, aunque lo hacen perfectamente en agar-suero o agar-sangre con pH de 7,2 a 7,6, formando colonias diminutas con un diámetro de 1 mm. En agar-sangre presentan pequeñas colonias, redondeadas, húmedas con la presencia de la hemolisina  $\alpha$  (zona verde). En caldo azucarado producen enturbiamiento y precipitado. Crecen bien en caldo al añadir 0,2% de glucosa. No forman cápsulas en los medios artificiales, pero al añadirle proteína animal al medio líquido contribuye a la aparición de la cápsula.

Dentro de la especie *Str. Pneumoniae* se incluyen 84 serovares que solo se aglutinan con los sueros de tipo correspondiente.

Entre el ganado agrícola se enferma de neumonía preferentemente los animales jóvenes: terneras, cochinitos y corderos. Entre los animales de

laboratorio los más susceptibles son los ratones blancos, cobayos y conejos. En el hombre el *Streptococcus pneumoniae* de los serovares I, II y III provocan neumonía crupal, que se caracteriza por un curso agudo y por el carácter cíclico. Los neumococos pueden causar septicemia, meningitis, lesión articular, endocarditis, otitis, peritonitis, rinitis, sinusitis maxilar, úlcera serpigínea de la córnea, anginas y catarros agudos de las vías respiratorias superiores.

Son de gran interés los estreptococos  $\alpha$  (*Str. Viridans*), habitantes permanentes de la boca y las fauces de los individuos sanos. En agar-sangre producen la coloración verde del medio, fermentan, por lo general, la rafinosa y no fermentan la manita. Para el hombre y los animales su virulencia es baja. Los estreptococos del grupo *viridans* se descubren en las afecciones purulentas e inflamatorias de los dientes y las encías y provocan endocarditis subaguda.

**Estreptococos anaerobios.-** Los estreptococos anaerobios (*Peptostreptococcus putridus*, *Peptostreptococcus anaerobius*, etc.) son agentes etiológicos de las enfermedades puerperales sépticas (sepsis

puerperal), se aíslan también en diferentes afecciones purulentas y gangrenosas con olor a pútrido.

**4.2.2.6. Resistencia.-** Los estreptococos se conservan largo tiempo a bajas temperaturas, son resistentes a la desecación y se mantienen vivos durante varios meses en el pus y el esputo. A la temperatura de 70°C perecen al cabo de una hora. La solución de fenol al 3-5% los mata a los 15 minutos.

**4.2.2.7. Patogénesis en el hombre.-** La patogénesis de la infección estreptocócica se determina tanto por la acción de la exotoxina, como por las propias células bacterianas. Para la aparición y la génesis del proceso estreptocócico juega un enorme papel la sensibilización previa. Tales enfermedades como las endocarditis, poliartritis, sinusitis maxilares, tonsilitis crónicas y erisipela están relacionadas con el estado general del organismo, su reactividad variable, la cual en muchos casos se conserva por largo tiempo, siendo una condición primordial para que se desarrollen enfermedades estreptocócicas de evolución crónica.

La contaminación exógena por estreptococos (de individuos o animales enfermos, alimentos u objetos infectados) tiene lugar a través de

los tegumentos cutáneos o las mucosas, así como con el alimento que llega al intestino. La vía principal de contagio por estreptococos es la aérea y a través de gotitas de Flüge.

En el caso de la infección endógena, los estreptococos condicionalmente patógenos que habitan en el organismo humano, al debilitarse la resistencia natural de éste, provocan el desarrollo de procesos purulentos e infecciosos: estreptodermatitis, abscesos, flemones, linfodenitis, cistitis, linfangitis, pielitis, colecistitis, peritonitis, faringitis y catarros.

Las infecciones estreptocócicas se clasifican en supuradas y no supuradas. Entre las enfermedades supuradas provocadas por los estreptococos se incluyen las infecciones agudas de las vías respiratorias superiores, en particular, las neumonías, inflamación eritematosa o erisipela (inflamación de las vías linfáticas), impétigo (infección cutánea muy contagiosa) y angina (inflamación de las mucosas de la faringe y las amígdalas). Al penetrar en el torrente sanguíneo, los estreptococos provocan un proceso séptico que evoluciona en forma grave. Estos microorganismos, con más frecuencia que otros, son causantes de la sepsis

puerperal. Dentro del grupo de las enfermedades no supuradas se encuentran la escarlatina, el reumatismo, etc.

Los estreptococos provocan infección secundaria en la difteria, viruela, tos ferina, sarampión y otras enfermedades. En los casos de las tonsilitis crónicas, además de estreptococos desempeñan un cierto papel los adenovirus.

En tiempos de guerra al haber traumatismos los estreptococos se infiltran en las heridas y favorecen el desarrollo de abscesos, flemones y sepsis traumática.

### **4.3. Cocos Gramnegativos**

#### **4.3.1. Gonococos**

El agente etiológico de la gonorrea (*Neisseria gonorrhoeae*) fue descubierto por A. Neisser en 1879 en los picocitos de la blenorragia y aislado en un cultivo puro y estudiado detalladamente por E. BMU en 1885. Los

gonococos se incluyen en el género *Neisseria* de la familia de las Neisseriaceae.

**4.3.1.1. Morfología.-** El gonococo es un diplococo. Su longitud es de 1,25  $\mu\text{m}$  y el diámetro, de 0,7 a 0,8  $\mu\text{m}$ . Constituye cocos pares, en forma de semilla de judía, es gramnegativo, se sitúa intra o extracelularmente, no forma esporas y está desprovisto de flagelos. El microscopio electrónico permite observar alrededor de los gonococos una pared celular de un grosor de 0,3-0,4  $\mu\text{m}$ . El contenido de G + C en el ADN del nucleoide es de 49,5 – 49,6%.

Los gonococos se caracterizan por su polimorfismo. Se modifican con relativa rapidez bajo la acción de preparados medicamentosos, perdiendo su morfología típica y haciéndose más grandes, a veces se convierten en grampositivos, se disponen fuera de las células y adquieren formas L bajo el influjo de la penicilina.

Si la enfermedad toma un curso crónico tiene lugar la autólisis de los gonococos formándose células diferentes por su tamaño y forma (de tipo Asch). La tendencia que tienen los gonococos a cambiarse

morfológicamente debe tomarse en consideración al efectuar el diagnóstico de laboratorio.

**4.3.1.2. Cultivo.-** El gonococo es aerobio o anaerobio facultativo, no se desarrolla en los medios comunes, pero sí crece bien en los medios compuestos por proteína humana (sangre o suero) con un pH del medio entre 7,2 y 7,6; la temperatura óptima para el crecimiento es de 35 a 36°C aunque se incuba a temperaturas desde 25 hasta 42°C.

Los mejores medios son el de agar-suero y el medio de Bayle. Con el propósito de suprimir el crecimiento de la microflora concomitante a los medios nutritivos se añaden polimixina o ristomicina. En los medios sólidos los gonococos forman colonias transparentes y redondas de un diámetro de 1 – 3 mm. Los gonococos forman cuatro tipos de colonias: las colonias T1 y T2 son pequeñas y las colonias T3 y T4 son grandes; las células de las primeras son más virulentas que las de las segundas.

**4.3.1.3. Propiedades enzimáticas.-** Desde el punto de vista bioquímico el gonococo es poco activo, no tiene propiedades proteolíticas, fermenta la glucosa formando ácido y da reacción positiva con la citocromooxidasa.

**4.3.1.4. Toxicogénesis.-** El gonococo no segrega exotoxina, pero sí endotoxina, que se elabora como resultado de la destrucción de las células bacterianas. Esta toxina es tóxica para el hombre y los animales experimentales.

**4.3.1.5. Estructura antigénica.-** Los gonococos constan de dos complejos antigénicos: proteico, común con los antígenos proteicos del meningococo y *Str. Pneumoniae* y los polisacáridos específicos del serovar.

**4.3.1.6. Resistencia.-** Los gonococos tienen una gran sensibilidad al enfriamiento, no soportan la desecación, aunque estando dentro de una espesa capa de pus o sobre objetos húmedos viven hasta 24 horas. A la temperatura de 56°C sucumben a los cinco minutos, mientras que bajo la acción de una solución de nitrato de plata de 1 : 1 000 y de fenol al 1% en unos minutos.

**4.3.1.7. Patogénesis en el hombre.-** La fuente de infección es la persona que padece la gonorrea. La enfermedad se transmite por vía sexual y a veces a través de los objetos de uso corriente (pañales, esponjas, toallas y otros). Las vías de penetración del agente etiológico son la mucosa uretral y

en las mujeres la uretra y el cuello uterino. La gonorrea se acompaña de la inflamación purulenta aguda de la uretra, del cuello uterino y las glándulas de las porciones inferiores de los órganos. Genitales. No obstante, en el proceso patógeno pueden involucrarse también los otros órganos urogenitales que se sitúan más arriba. En las mujeres se presenta la inflamación del útero, las tubas uterinas y los ovarios y en niñas se desarrolla la vulvovaginitis. En los varones se inflaman las vesículas seminales y la próstata, con la particularidad de que la enfermedad puede tomar un curso crónico. Del cuello uterino los gonococos suelen pasar al recto. Entre las formas extragenitales se incluyen la endocarditis, meningitis, artritis, estomatitis, conjuntivitis y septicemias. El gonococo provoca conjuntivitis gonocócica – blenorrea de los adultos y los recién nacidos. A menudo en las pacientes se observan simultáneamente los gonococos y las *Tricomonas vaginalis*, encontrándose los gonococos protegidos con sus membranas contra la acción de preparados medicamentosos, en los fagosomas de las tricomonas. Las uretritis parecidas a las gonocócicas pueden deberse a los estafilococos, *E. coli* y otros microorganismos. El 30% de los casos de blenorrea en los recién nacidos es provocado por los estreptococos, *E. coli*, clamidozoos y otros.

**4.3.1.8. Diagnóstico de laboratorio.-** Para el estudio microscópico se disponen de la secreción de la uretra, vagina, vulvo, cuello uterino, próstata, mucosa del recto y conjuntiva, así como el precipitado y los filamentos de la orina y el semen. Los frotis se colorean por el método de Gram y con azul de metileno según el método de Löffler.

La microscopia de los frotis no permite establecer con mucha frecuencia el diagnóstico, puesto que el material a investigar suele contener otras bacterias gramnegativas del género *Veillonella*, parecidas a los gonococos. Los métodos de inmunofluorescencia (directo e indirecto) son de mayor especificidad. En el método directo los microorganismos aislados se tratan con los anticuerpos antigonocócicos fluorescentes y en el indirecto se utiliza el cultivo de gonococos que se trata con el suero del enfermo. El complejo antígeno – anticuerpo se hace visible al añadir el antisuero fluorescente.

Si la investigación microscópica no permite establecer el diagnóstico, se acuden a obtener el cultivo. Con este fin se hace la siembra del material a investigar (pus, secreción de la conjuntiva, sedimento de la orina, etc.). En los casos de las formas crónicas o complicadas de la gonorrea se practican

las reacciones de fijación del complemento en frío, de hemaglutinación indirecta y la prueba alérgica.

Para prevenir la blenorrea en los recién nacidos se introducen 1 ó 2 gotas de una solución de nitrato de plata al 2% en el saco conjuntival en todos los recién nacidos. En algunos casos (en los niños prematuros) la aplicación de nitrato de plata no da buenos resultados. Surte buen efecto la administración de una solución oleosa de penicilina al 3% en dosis de 2 gotas en el saco conjuntival. Los gonococos perecen a los 15 – 30 minutos.

A pesar del empleo de antibióticos de mucha eficacia, la morbilidad por gonorrea tiende a incrementarse en todos los países del mundo (África, América, Sudoeste asiático, Europa y otros). Además, aumentó el número de complicaciones: oftalmia gonocócica de los recién nacidos (blenorrea), vulvovaginitis en las niñas, inflamaciones de los órganos pelvianos (salpingitis) y esterilidad en las mujeres.

La causa del crecimiento de la morbilidad por gonorrea depende de factores sociales (prostitución, homosexualismo, etc.), del registro incompleto

de los enfermos, el tratamiento incorrecto y la elaboración de la resistencia a los medicamentos de los gonococos.

El Comité de Expertos de la OMS recomienda incluir la infección gonocócica en la lista de las enfermedades infecciosas sujetas a registro obligatorio, estudiar con detalle la causa de la propagación de las enfermedades por gonococos en algunos países de África, intensificar las medidas referentes a la profilaxis de la blenorrea, elaborar criterios únicos del diagnóstico clínico y de laboratorio de la infección y los métodos para determinar la sensibilidad de las cepas de gonococos difundidas con respecto a distintos medicamentos.

#### **4.3.2. Meningococos**

El meningococo (*Neisseria meningitidis*) fue aislado del líquido cefalorraquídeo de enfermos de meningitis y sometido a un estudio detallado por A. Weichselbaum (1887). El meningococo pertenece al género *Neisseria* y la familia de las *Neisseriaceau*.

**4.3.2.1. Morfología.-** El meningococo es un diplococo que mide 0,6 – 1  $\mu\text{m}$  de diámetro, tiene forma de una semilla de judía o de grano de café, cada pareja de cocos se une entre sí por su eje longitudinal por sus caras cóncavas, mientras que sus lados externos son convexos, no forma esporas, es desprovisto de cápsula, flagelos, en los cultivos puros se dispone por tétradas, en el exudado de pus se encuentra con más frecuencia en el interior de los leucocitos y con menos, fuera de los mismos. En los cultivos frescos de la mayoría de las cepas los cocos tienen cápsulas. El contenido de G + C en el ADN de nucleoide es del 50,5 – 51,3%.

En el frotis de cultivo se hallan cocos pequeños y muy grandes que se sitúan aisladamente, en parejas o de a cuatro. Los meningococos pueden cambiar no solo su forma, sino también el carácter de la tinción según el método de Gram: en un mismo frotis entre los diplococos gramnegativos se observan también las células grampositivas.

**4.3.2.2. Cultivo.-** El meningococo es aerobio o anaerobio facultativo, no prolifera en cultivos comunes, pero sí crece bien en medios con pH 7,2 – 7,4 a los que se añade suero. La temperatura óptima para su desarrollo es de 36 - 37°C y a 22°C no se desarrollan. En los medios sólidos forma colonias

débiles y transparentes que miden de 2 a 3 mm y en el caldo con suero produce enturbiamiento dejando un precipitado en el fondo, al cabo de 3 – 4 días en la superficie del liquido aparece una película.

**4.3.2.3. Propiedades Enzimáticas.-** Los meningococos no licuan la gelatina, no coagulan la leche, fermentan la glucosa y maltosa formando ácido, poseen la actividad de oxidasa y no reducen los nitratos. Cabe mencionar que las propiedades sacarolíticas indicadas y otras no están bien expresadas en el meningococo.

**4.3.2.4. Patogénesis en el hombre.-** La fuente de infección la constituyen los enfermos o portadores. La infección se transmite por vía aérea y gotitas de Flügge. Las formas clínicas más típicas de la infección meningocócica son la nasofringitis, meningococemia y la meningitis séptica.

# ***CAPÍTULO V***

## ***5. SUGERENCIAS Y NORMAS PARA TRABAJAR EN UN LABORATORIO***

## **CAPÍTULO V**

### **5. SUGERENCIAS Y NORMAS PARA TRABAJAR EN UN LABORATORIO**

#### **5.1. Sugerencias Generales e Información**

1. Lleve puesta una bata para proteger su ropa.
2. Antes de entrar a trabajar al laboratorio, léase el texto de los ejercicios que va a realizar y haga el plan de trabajo con todo cuidado. Aprenda cómo hay que hacer cada ejercicio y cuáles son los principios fundamentales que se tratan de poner de relieve.

3. Cada sesión de laboratorio deberá iniciarse con una corta explicación y período de instrucciones. No empiece a trabajar hasta que haya recibido las instrucciones. Pregunte cuando no entienda el método o la finalidad de algún experimento. La buena técnica de laboratorio depende primordialmente de que se sepa lo que se va a hacer.
4. Anote cuidadosamente todas sus observaciones, en el momento de hacerlas. El examen de prácticas se referirá no solo a la información proporcionada en este manual sino también a sus propias observaciones y deducciones. Responda a las preguntas que hay al final de cada ejercicio, utilizando las hojas para resultados.

## **5.2. Normas a seguir en el Laboratorio**

1. Limpie la superficie de su mesa con una solución de germicida, al principio y al final de cada sesión de laboratorio.
2. Mantenga la mesa libre de todo lo que no sea esencial y al final de la sesión déjela limpia y libre de material y equipo.

3. Ponga todo el material sólido usado en los cubos para este fin y el material de vidrio, en bandejas. El beneficio que obtenga en el laboratorio dependerá en cierta medida de su técnica, orden y limpieza.
4. Debido a que algunos de los microorganismos con que va a trabajar son patógenos en potencia, es necesario desarrollar técnicas de asepsia al manejarlos y transferirlos. Evite el contacto de la boca con las manos y las operaciones como fumar, comer o humedecer las etiquetas con la lengua.
5. Dé cuenta inmediatamente al instructor de cualquier accidente tal como cortaduras, quemaduras o derramamiento de cultivos. Tome todas las precauciones posibles para evitar estos accidentes.

### **5.3. El Microscopio**

La Microbiología es la ciencia que se ocupa de los organismos vivos demasiado pequeños para poder apreciarse a simple vista; por eso la Microbiología se desarrolló a partir de la intervención del microscopio. Un **microscopio simple** no es más que una lente biconvexa, pero el

**microscopio compuesto** emplea dos sistemas de lentes separados, consiguiendo con ello mayores aumentos. Al ser el microscopio compuesto un instrumento fundamental en microbiología, el conocer los principios básicos de la microscopía y la pericia en el empleo y manipulación de este instrumento, son requisitos imprescindibles para cualquier estudio en esta ciencia.

Existen muchos tipos de microscopios compuestos en cuanto a su construcción y manejo, pero todos se basan en los mismos principios fundamentales. El microscopio, básicamente, consta de un sistema óptico (para aumentar) y un sistema de iluminación (para visualizar adecuadamente el objeto). Para comprender el funcionamiento de los sistemas ópticos y de iluminación hay que saber qué son la amplificación, el poder de resolución y la iluminación, así como también las relaciones que existen entre ellos.

### **5.3.1. Amplificación**

La amplificación es un microscopio compuesto, se obtiene mediante dos sistemas de lentes. El situado más cerca de la muestra, llamado **objetivo**, la amplifica y produce una **imagen real**. El **ocular** o sistema de

lentes ocular, amplifica esta imagen real, dando una **imagen virtual** que es vista por el ojo. La amplificación total es igual al producto de las amplificaciones producidas por el ocular y el objetivo.

El sistema de lentes objetivo es una combinación de lentes convexas y cóncavas, de tipos distintos de vidrio que corrigen las aberraciones cromáticas y esféricas, inherentes a las lentes convexas simples. Los microscopios de la mayoría de los laboratorios de bacteriología poseen tres objetivos: el **objetivo seco de pocos aumentos** (16 mm), el **objetivo seco de muchos aumentos** (4 mm) y el **objetivo de inmersión** (1.8 mm). (El objetivo que se desea emplear se coloca en su sitio, girando la pieza llamada **revólver**). Los 16, 4 y 1.8 mm indican la distancia focal de cada objetivo. Cuanto más corta es la distancia focal del objetivo, es más corta también la **distancia de trabajo**, es decir, la que hay entre la muestra y el objetivo.

La lente objetivo enfoca los rayos de luz procedentes de la muestra, formando una imagen real dentro del tubo del microscopio. La imagen real se amplifica posteriormente por el sistema de lentes oculares, el cual está situado en el extremo del tubo y está formado por dos lentes. La más baja o **lente de campo**, coloca la imagen real en el plano focal de la más alta o

### **5.3.2. Empleo del microscopio**

1. Con la muestra en la parte superior, coloque un portaobjetos en la platina y sitúe cuidadosamente, sobre el agujero que hay en el centro de la platina, la parte que se vaya a examinar.
2. Ajuste la fuente de iluminación hasta que pase la mayor cantidad de luz a través de la muestra. Aproxime al portaobjetos el tubo del microscopio, que tiene seleccionado el objetivo de pocos aumentos, con ayuda del tornillo de enfoque grosero, hasta que les separe una distancia de aproximadamente 0.60 centímetros.
3. Observe por el ocular y levante lentamente el objetivo, con ayuda del tornillo de enfoque fino, hasta enfocar groseramente la muestra. *No intente nunca enfocar bajando el objetivo mientras está mirando por el ocular.* Enfoque totalmente la muestra con el tornillo de enfoque fino. Ajuste el diafragma iris y el dispositivo condensador hasta que la intensidad de la luz sea la mejor, ni demasiado brillante ni demasiado apagada.

4. Después de examinar la muestra con el objetivo de pocos aumentos, coloque el objetivo seco de muchos aumentos, girando el revólver hasta que el objetivo encaje en su sitio se oirá un golpe eco). Antes hay que asegurarse de que la porción de la muestra que se desea observar está exactamente en el centro del campo que abarca el objetivo de pocos aumentos. Esto es necesario porque el diámetro del campo del microscopio, en grandes ampliaciones, es proporcionalmente menor que bajo pocos aumentos. *Advertencia:* no toque las lentes de los objetivos.
  
5. Observando a través del ocular, levante lentamente el tubo del microscopio con el tornillo de enfoque grosero hasta enfocar, aproximadamente, la muestra. Después, enfoque claramente por medio del tornillo de enfoque fino. Recuerde que nunca debe intentarse enfocar la muestra bajando el tubo del microscopio mientras se está mirando por el ocular. Siempre hay que bajarlo observando lateralmente las lentes objetivo y después se enfoca levantando lentamente el tubo. Una vez enfocada la muestra, ajuste el espejo y el diafragma iris para conseguir una imagen lo más clara posible.

6. El enfoque con el objetivo de inmersión debe ser más cuidadoso que con los otros objetivos, pero el procedimiento es esencialmente el mismo. Emplee primero el objetivo de pocos aumentos para localizar la parte de la muestra que va a examinar. Hay que procurar, en este caso, que la colocación de la parte que se va a observar en el centro del campo del objetivo de pocos aumentos sea lo más exacta posible, puesto que el diámetro del campo es mucho menor con el objetivo de inmersión que con cualquiera de los otros objetivos. Levante el tubo y coloque el objetivo de inmersión girando el revólver hasta que encaje este objetivo. Coloque ahora en el portaobjetos una gota de aceite de inmersión, en la parte que está debajo del objetivo. Baje cuidadosamente el objetivo, observando lateralmente, hasta que se sumerja en el aceite. *Precauciones:* el objetivo no debe tocar el portaobjetos. Enfoque mirando por el ocular y empleando el tornillo de enfoque fino, levantando el objetivo hasta que aparece la imagen, la cual lo hará enseguida, puesto que la distancia de trabajo del objetivo de inmersión es relativamente corta. Una vez obtenida, trate de conseguir una imagen, lo más nítida posible, enfocando mejor con el tornillo de enfoque fino y ajustando también el espejo y el diafragma iris hasta lograr la iluminación óptima.

Después de emplear cada vez el objetivo de inmersión, hay que limpiar el aceite que queda en las lentes del objetivo, con un papel especial (puede servir papel de fumar).

### **5.3.3. Precauciones especiales**

Para mantener limpio el microscopio y las lentes:

1. *No tocar nunca las lentes:* si se ensucian éstas, limpiarlas suavemente con el papel de fumar.
2. No dejar el portaobjetos puesto, cuando no se está usando el microscopio.
3. Limpiar siempre el objetivo de inmersión después de usarlo. Si, involuntariamente, los objetivos de pocos aumentos se manchan de aceite, limpiarlos inmediatamente con papel de fumar. Si el aceite se ha secado o endurecido en las lentes, se puede limpiar con el papel humedecido con xilol. *Precauciones:* un exceso de xilol puede disolver el cemento que une las lentes.

4. Mantener seca y limpia la platina del microscopio. Si se derrama sobre ella algún líquido, secarla con un paño. Si se mancha con aceite, limpiarla con un paño humedecido con xilol.
5. No inclinar el microscopio cuando se está trabajando con aceite de inmersión. Éste puede caer al sistema mecánico de la platina de donde es difícil limpiarlo, o puede gotear al condensador y allí solidificarse.
6. Cuando no se usa el microscopio, guardarlo cubierto y en su caja.

Para evitar la rotura del microscopio:

1. No forzarlo nunca. Todas las conexiones deben funcionar suave y fácilmente. Si algo no funciona bien, no intentar fijarlo uno mismo, sino llamar inmediatamente al instructor.
2. Las lentes objetivo no deben tocar nunca los portaobjetos.
3. No bajar el tubo del microscopio con el tornillo de enfoque grosero mientras se está mirando por el ocular.

4. No intercambiar los objetivos o los oculares de microscopios distintos y, bajo ninguna circunstancia, se deben separar las lentes frontales de los objetivos.
  
5. Cuando no se usa, guardar el microscopio en su caja. Dejarlo con el objetivo de pocos aumentos colocado y asegurarse que la parte mecánica de la platina no sobresalga del borde de la misma.

# ***CAPÍTULO VI***

## ***6. EL CULTIVO DE LOS MICROORGANISMOS***

## **CAPÍTULO VI**

### **6. EL CULTIVO DE LOS MICROORGANISMOS**

En la naturaleza, los microorganismos se encuentran formando poblaciones mixtas de una gran variedad de tipos diferentes. Sin embargo, el desarrollo de la microbiología se ha conseguido mediante el estudio de especies aisladas, crecidas en medios desprovistos de cualquier otra forma de vida contaminante. Estas técnicas no son generalmente necesarias para el estudio de las plantas superiores y de los animales, sino que son propias del estudio del mundo microbiano.

Al igual que los demás seres vivos, los microorganismos necesitan nutrientes apropiados así como condiciones ambientales favorables. En primer lugar, el **medio de cultivo** debe contener aquellos nutrientes

esenciales para el crecimiento de una determinada especie microbiana. En segundo lugar, el medio debe suministrar, así mismo, las condiciones ambientales necesarias para el crecimiento, es decir, el pH adecuado, presión osmótica, oxígeno, etc. Si pensamos en la gran variedad de materiales que los microorganismos pueden alterar, comprenderemos que muchas sustancias diferentes les servirán como medio de cultivo. Esencialmente todos los medios de cultivo se encuentran en una de estas dos formas: **caldo o medio líquido y medio sólido.**

Como la mayor parte de nuestros estudios en el laboratorio se realizan con cultivos puros –es decir, con una sola especie microbiana-, debemos ser capaces de esterilizar un medio de cultivo y conservarlo en condiciones estériles, desprovisto de cualquier otra forma de vida. Al mismo tiempo debemos ser capaces de inocular este medio estéril con un cultivo puro de microorganismos, evitando las contaminaciones externas. Este último procedimiento se denomina comúnmente **técnica aséptica.**

Ya que cualquier medio inmediatamente después de su preparación contiene microorganismos procedentes de los ingredientes, de las superficies de los utensilios y del material de vidrio debe esterilizarse –es decir, tratarse

Durante la siembra, se mantiene el tubo en la mano izquierda y se sostiene el tapón o capuchón entre los dedos de la mano derecha. *Precaución:* no debe depositarse nunca un tapón. Mantener el tubo lo más cerca posible de la horizontal durante la siembra. Las bocas de los tubos de donde tomamos los cultivos y las de aquellos donde van a ser transferidos, deben también flamearse inmediatamente *antes y después* de que la aguja sea introducida y sacada. Además de destruir cualquier organismo del borde del tubo, el flameado tiende a crear corrientes de convección hacia fuera, decreciendo así el riesgo de contaminación.

Ya que la mayor parte del trabajo del bacteriólogo se efectúa con cultivos puros, debemos subrayar la importancia de las técnicas utilizadas para la inoculación y dominarlas.

Después de inoculado, un cultivo bacteriano es conservado o incubado en un lugar apropiado para el crecimiento. En nuestro caso, **crecimiento** significa el desarrollo de una población de células a partir de una o pocas células. La masa de las células hijas llega a ser visible a simple vista, bien como una opacidad —**enturbiamiento**— en medio líquido, o como

una población aislada –una **colonia**- en medio sólido. El aspecto del crecimiento ofrece un medio para diferenciar especies microbianas.

Una manera fácil y cómoda de hacer un medio sólido es añadir un agente solidificante a un medio líquido, el cual se solidificará al enfriarse. El agente solidificante empleado más frecuentemente, con una gran diferencia, es el **agar**, sustancia obtenida a partir de un alga marina y disponible en estado de pureza en forma de polvo seco. El agar puede deshidratarse fácilmente, añadirse al medio antes de la esterilización por el calor y el medio sólido resultante puede conservarse en tubos de ensayo o en matraces. Es de fácil manejo en el laboratorio y, verdaderamente, parece estar hecho a medida para uso del bacteriólogo. Aunque las diferentes clases de agar varían considerablemente en sus propiedades físicas, el punto de fusión es generalmente de 97°C - 100°C. Así, medios de agar sólidos pueden licuarse para su uso hirviéndolos. Al enfriarse, los medios conteniendo agar se solidifican alrededor de los 42°C. Si deben inocularse antes de su solidificación, se enfrían corrientemente hasta 45°C - 47°C, temperatura que por un corto tiempo no afecta a la mayoría de las bacterias. Una vez solidificado, el medio con agar puede incubarse a cualquiera de las

diferentes temperaturas que utilizan corrientemente los bacteriólogos (hasta 70°C) sin licuarse.

Químicamente, el agar es un galactano, un carbohidrato complejo, formado por moléculas de galactosa y resistente a la acción degradativa de la mayoría de las bacterias. Generalmente se utiliza a una concentración de 1.5 por 100. Sin embargo, cuando se utiliza para sembrar por estria, una concentración de 1.8 por 100 da un medio más duro, más fácil de inocular. El agar no se añade a los medios como alimento, sino solamente como un agente solidificante. Otros agentes solidificantes empleados para fines especiales son la **gelatina** –que se usa a una concentración de 12 – 15 por 100, es líquida por encima de los 25°C y es **hidrolizable** (licuable) por muchas bacterias- y el **gel de sílice** –una sustancia utilizada para el cultivo de organismos autótrofos, cuando debe excluirse la presencia de materia orgánica en el medio.

Las siguientes series de ejercicios pretenden familiarizarle con las formas más comunes de los medios de cultivo –caldo común y agar nutritivo- y su uso en el cultivo de las bacterias. Al mismo tiempo aprenderá a

resembrar asépticamente los cultivos microbianos, así como los métodos de aislar cultivos puros y de contar poblaciones microbianas.

### **6.1. Tubos con Agar Inclinado**

El **agar inclinado** es simplemente un tubo de ensayo conteniendo un medio con agar que, durante su enfriamiento, se colocó inclinado. El contenido de un tubo así tratado se solidifica con una superficie inclinada, que se puede inocular fácilmente con una aguja o asa. El agar inclinado constituye un medio adecuado para el cultivo de microorganismos, especialmente de aquellos aerobios y anaerobios facultativos. Algunas características de los cultivos como la formación de pigmentos, se observan más fácilmente sobre cultivos inclinados.

El método de agar inclinado y otro método para el cultivo de microorganismos sobre medio sólido, el **agar para siembra por picadura**, se utilizan corrientemente para la conservación de **stocks de cultivo**. El último método es preferible cuando se necesitan condiciones más anaerobias.

En la segunda técnica, se comienza nuevamente con la gota, se hacen dos o tres estrías paralelas, se flamea el asa, se hacen dos o tres estrías en ángulo recto con las primeras, se flamea nuevamente el asa y se repite el proceso. Así se obtienen los mismos resultados que antes, es decir, la dilución del cultivo. En algún lugar a lo largo de la extensión, deberán aparecer colonias aisladas.

## **6.2. Incubación de las Placas de Agar**

Debido a la elevada concentración de agua en el agar, se forma algo de agua de condensación durante la incubación de las placas de Petri. La humedad puede resbalar desde la tapa a la superficie del agar y extenderse, provocando una masa de crecimiento confluyente, impidiendo la formación de colonias individuales. Para evitar esto, las placas de Petri se incuban rutinariamente *invertidas*.

### **6.2.1. Observación**

Se estudia el crecimiento en las placas de agar durante la incubación. Se observan las diferencias en el tamaño, forma y aspecto de las colonias.

El operador debe verificar si su técnica para obtener colonias aisladas fue eficaz. La placa control sirve como medida de la esterilidad del medio y de la eficacia de la técnica; no deberá presentar colonias.

### **6.3. Aislamiento de un Cultivo Bacteriano**

Habiendo preparado con éxito placas para siembra por estría y para siembra en masa, se pueden transferir ahora las células de diferentes y bien separadas colonias, a tubos con caldo estéril. Estas células, después de incubación, darán en cultivo puro, esto es, células de una sola especie. La pureza de este cultivo debe comprobarse sembrándolo por estría en una segunda placa. Si todas las colonias que crecen sobre esta segunda placa tienen el mismo aspecto, tenemos probablemente un cultivo puro.

### **6.4. Conservación de los Cultivos de Laboratorio**

Un cultivo microbiano se puede conservar para evitar la necesidad de hacer subcultivos o de transferirlo a medios frescos a intervalos frecuentes. Para ser apropiado, cualquier medio de conservación debe permitir el máximo de supervivencia de la población con poco o ningún cambio genético

y fisiológico. En principio, todos los métodos están basados en la bacteriostasis, es decir, en el mantenimiento del cultivo sin crecimiento o reproducción. La mayoría de los métodos emplean la refrigeración o la desecación (o ambos) para lograr este estado latente.

La conservación a corto plazo puede conseguirse mediante una gran variedad de métodos diferentes, según las características de cada especie particular. Los microorganismos aerobios pueden conservarse durante meses sobre tubos de agar inclinado refrigerados. Con algunos anaerobios facultativos, para los cuales el oxígeno puede ser nocivo, es más adecuada la conservación en cultivos refrigerados sembrados mediante la técnica de agar picadura. El agar picadura se prepara como se ilustra. Un tubo de agar fundido estéril se solidifica en posición vertical y seguidamente el medio se inocula introduciendo la aguja de inoculación en el centro del agar. Durante la incubación, se desarrolla un núcleo de crecimiento. Para excluir el oxígeno aún más y evitar la evaporación, puede aplicarse sobre la superficie del agar una capa de aceite mineral estéril, después de lo cual el cultivo se conserva en el frigorífico. Los anaerobios estrictos se cultivan y conservan en medios fuertemente reducidos, tales como el caldo tioglicolato o el medio de carne picada. Si el organismo que se conserva libera ácido como un

producto metabólico, el medio empleado deberá estar siempre bien taponado.

Aunque los cultivos refrigerados, según acabamos de describir, permanecen viables durante varios meses, los métodos por refrigeración no son apropiados para la conservación a largo plazo porque tales stocks deberían ser resembrados periódicamente y, lo que es más importante, por la posibilidad de que cultivos refrigerados durante largos períodos experimenten mutaciones. Estas dificultades pueden ser superadas en gran parte. Por ejemplo, aquellas células que pueden resistir la congelación o la deshidratación, pueden mantenerse en un estado latente durante largos períodos congelándolas o desecándolas. Desgraciadamente, muchas especies microbianas no sobreviven a la congelación o a la deshidratación ordinaria. El método más utilizado para una conservación de microorganismos, a largo plazo, es la técnica de congelación-desección llamada **liofilización**. En este proceso el cultivo microbiano se suspende en leche estéril, suero sanguíneo, o alguna sustancia **protectora** equivalente en un frasco o tubo de vidrio, se congela rápidamente con una mezcla de nieve carbónica y alcohol y, a continuación, se deseca completamente, estando

aún congelado. Finalmente, el recipiente conteniendo el cultivo desecado se cierra a la llama.

Estos cultivos desecados pueden conservarse en los frascos durante varios años. Con la liofilización sobrevive un elevado porcentaje de la población microbiana; de este modo hay poca o ninguna selección de las variantes genéticas más resistentes de la población. La relativamente elevada supervivencia que proporciona esta técnica en comparación con otros métodos de conservación, es consecuencia de una combinación de los efectos protectores del medio de suspensión y de la desecación del cultivo en estado congelado.

# ***CAPÍTULO VII***

## ***7. TINCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS***

se las da contraste en color respecto al medio que las rodea, con lo cual son más visibles. Algunos colorantes sirven para demostrar estructuras internas de las células, que de otra manera serían invisibles. Además, para emplear el objetivo de inmersión del microscopio y, así conseguir las mayores ampliaciones, conviene usar preparaciones teñidas, más que montajes húmedos.

Aunque las bacterias no aparecen muy distintas del medio que las rodea, difieren mucho **químicamente**. Esta diferencia química es lo que permite distinguir las bacterias por tinción, pues generalmente el colorante reacciona con la célula bacteriana pero no reacciona con su medio externo.

Por eso, las ventajas principales de la tinción son:

1. Proporciona contraste entre el microorganismo y el medio que le rodea, permitiendo diferenciar varios tipos morfológicos.
2. Permite el estudio de estructuras internas de la célula bacteriana, tales como paredes celulares, vacuolas o cuerpos nucleares.

3. Permite al bacteriólogo emplear mayores amplificaciones.

La amplia gama de colorantes de que dispone actualmente el bacteriólogo, se emplea en métodos que son modificaciones de las técnicas de tinción básica.

#### **A. Tinción simple**

1. Colorantes básicos
2. Colorantes ácidos
3. Colorantes indiferentes

#### **B. Tinciones diferenciales**

1. Tinción de Gram
2. Tinción de ácido-resistentes

#### **C. Tinciones de estructuras**

1. Feulgen (para material nuclear)

2. Tinción de endosporas
3. Tinción de pared celular
4. Tinción de flagelos
5. Tinción de cápsulas

#### **D. Pruebas microquímicas para materiales de reserva**

1. Glucógeno
2. Lípidos
3. Volutina

##### **7.1.1. Técnicas de Tinción Diferencial**

La tinción simple se basa en que las células bacterianas difieren, desde el punto de vista químico, de su medio externo y por eso se tiñen contrastando con su alrededor. Los microorganismos también difieren química y físicamente entre sí y por eso reaccionan de una manera distinta frente a un determinado procedimiento de tinción. Este es el fundamento de las tinciones diferenciales. Así se puede definir la **tinción diferencial** como un método para distinguir tipos de bacterias.

**7.1.1.1. La Tinción de Gram.-** La tinción de Gram, la más empleada en bacteriología, es una tinción diferencial. Por este método se pueden separar las bacterias en dos grupos: Gram positivas y Gram negativas.

El distinto comportamiento en la tinción se cree que es debido a diferencias en las capas superficiales o pared de los dos tipos de células. En general, los organismos Gram positivos reaccionan de manera diferente que los Gram negativos frente a muchos agentes físicos y químicos.

En la técnica de Gram se emplean cuatro soluciones: un colorante básico, un mordiente, un agente decolorante y un colorante de contraste.

Se ha visto anteriormente lo que es un colorante básico. Un **mordiente** es una sustancia que aumenta la afinidad o atracción entre la célula y el colorante, es decir, de alguna manera ayuda a que se fije el colorante a la célula. Ejemplos de mordientes son los ácidos, bases, sales, sales metálicas y la solución yodo yodurada (lugol). Una célula se tiñe más intensamente bajo la acción del mordiente. También es mucho más difícil lavar el colorante después de aplicar el mordiente.

Un **agente decolorante**, como el nombre indica, es una sustancia que retira el colorante de la célula teñida. Algunas células teñidas se decoloran más fácilmente que otras. En la tinción de Gram y en otras tinciones diferenciales, es el distinto comportamiento en la decoloración, lo que sirve para diferenciar las bacterias.

El **contraste** es un colorante de color distinto al del principio. La misión del contraste es dar a las células decoloradas un color diferente al de las células que no se han decolorado. Los organismos que no se decoloran fácilmente retienen el color del colorante básico inicial. Los que se decoloran fácilmente, toman el color de contraste.

En resumen, la tinción de Gram comprende los siguientes pasos. Primero, se tiñen las células con un colorante básico. Seguidamente se tratan con un mordiente, por ejemplo, lugol. Después se tratan las células con un agente decolorante, como el alcohol. Las células que retienen el colorante básico después de este tratamiento se llaman **Gram-positivas** y aquellas que se decoloran son las **Gram negativas** y pueden volverse a teñir con un colorante de contraste.

**Tabla . Etapas en la Tinción de Gram**

PASO	MÉTODO	RESULTADOS	
		Gram +	Gram -
Tinción inicial	Cristal violeta durante 30 segundos	Se tiñen de violeta	Se tiñen de violeta
Mordiente	Lugol durante 30 segundos	Permanecen violeta	Permanecen violeta
Decoloración	Alcohol de 95%, durante 10-20 segundos	Permanecen violeta	Se decoloran
Contraste	Safranina durante 20-30 segundos	Permanecen violeta	Se tiñen de rosa

# ***CAPÍTULO VIII***

## ***8. PREPARACIÓN DE MEDIOS Y MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN***

## **CAPÍTULO VIII**

### **8. PREPARACIÓN DE MEDIOS Y MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN**

#### **8.1. Medios**

En microbiología se usan muchos tipos de medios. Estos medios varían ampliamente, de acuerdo con las necesidades particulares de los organismos estudiados. A veces, se hace una distinción entre medios complejos y medios definidos.

##### **8.1.1. Medios complejos**

Contienen lo necesario para el crecimiento, en forma cruda, es decir, que no se conocen todos los componentes de los medios ni se sabe las

cantidades exactas en que están presentes. Muchos de los componentes de los medios complejos son digeridos ácidos o enzimáticos de diversos tejidos vegetales, carnes, caseína y células de levadura que, según la sustancia de que se trate, proporcionan fuentes ricas en polipéptidos, aminoácidos, vitaminas o sales minerales. Ejemplos específicos de tales componentes de los medios son las peptonas o triptonas, que son hidrolizados enzimáticos de proteínas animales; y, el extracto de levadura, que es autolisado de levadura, rico en vitaminas del complejo B. En estos digeridos crudos suelen estar presentes algunos carbohidratos, aunque muchos de los medios complejos se suplementan luego con un azúcar adicional, generalmente glucosa.

### **8.1.2. Medios definidos**

Son aquellos que ofrecen lo que se requiere para el crecimiento, en forma de productos químicos relativamente puros y a una concentración conocida. Varían de acuerdo con las necesidades nutricionales de cada organismo en particular. Los componentes esenciales de un medio para el crecimiento de heterótrofos que no sean muy exigentes, tales como *Escherichia coli*, son sales inorgánicas y fuentes de carbono y de nitrógeno. Un medio definido adecuado para *E. Coli* podría contener  $\text{CINH}_4$ ,  $\text{SO}_4\text{Mg}$ ,

POH<sub>2</sub>K, PO<sub>4</sub>Hna<sub>2</sub> y glucosa. Otros elementos esenciales tales como el hierro, manganeso y cobre, en general están presentes en cantidades suficientes para el crecimiento, como contaminantes de los productos químicos. La glucosa proporciona energía y una fuente de carbono y el cloruro armónico sirve de fuente de nitrógeno. Un heterótrofo más exigente, carente de las posibilidades sintéticas de *E. Coli*, podría requerir la adición de varias vitaminas, aminoácidos, purinas y pirimidinas.

Los medios de cultivo deben estar ajustados a un pH adecuado. Esto se suele hacer antes de la esterilización, aunque a veces debe realizarse a continuación de la esterilización.

La esterilización de los medios de cultivo se logra generalmente calentándolos en un autoclave a 121°C a una atmósfera de presión de vapor, durante 15 - 30 minutos.

### **8.1.3. Método**

#### **8.1.3.1. Manejo del esterilizador con presión a vapor o autoclave**

1. Llène el esterilizador con los matraces de caldo nutritivo preparados en el ejercicio.
2. Cierre bien la puerta o tapa.
3. Abra la válvula (salida del aire) para permitir que el aire existente en el recinto salga empujado por el vapor que se produce.
4. Abra la válvula de suministro de vapor. Ésta deja pasar el vapor a la cámara de esterilización, a través de una conducción de vapor.
5. Vigile el termómetro hasta que la temperatura se acerque a los 100°C (212°F) y luego cierre la válvula primera. Casi todo el aire y el agua condensada deberían haber sido expulsados de la cámara al llegar este momento. (Nota: En algunos modelos la válvula se cierra automáticamente, por control termostático).

6. Continúe vigilando el termómetro, comprobando que la temperatura sigue subiendo. El vapor puro a una atmósfera de presión no puede pasar de 100°C; debe estar a presión para sobrepasar los 100°C. La mayoría de los modernos autoclaves poseen, sin embargo, reguladores de presión ajustables, mediante los cuales puede ser controlada la presión máxima y en consecuencia la temperatura máxima.

Los autoclaves para la esterilización de rutina en el laboratorio suelen ser de una atmósfera de presión, dando una temperatura de 121°C (250°F). Ésta sirve para la esterilización si se mantiene durante quince minutos. Cuando la temperatura alcanza los 121°C, se empieza a contar el tiempo de esterilización.

Observe que el termómetro mida la temperatura del vapor en la línea de descarga. Si el aire no ha sido totalmente eliminado del autoclave, aún cuando el manómetro marque 15 lb de presión, la temperatura no habrá alcanzado los 121°C. Por ello, es esencial medir el tiempo de esterilización a partir del momento en que el termómetro alcanza los 121°C, en lugar de cuando se tiene una lectura correspondiente a 15 libras de presión (1 atmósfera).

7. Para abrir el autoclave al final de la esterilización, todo lo que hay que hacer es cerrar la válvula de entrada de vapor y esperar a que la presión que marque el manómetro, sea cero. Si los materiales que se estaban esterilizando no contenían líquidos, pero *solamente si no contenían*, se puede abrir la válvula para eliminar la presión más rápidamente. Si dentro del recinto del autoclave hay líquidos, esta repentina liberación de la presión los hace hervir dentro de los recipientes, humedeciendo los tapones y haciéndolos salir lanzados. Por tanto, cuando se están esterilizando líquidos es siempre necesario dejar que la presión baje gradualmente. La mayoría de los autoclaves modernos, muchos de los cuales son totalmente automáticos, están equipados con mecanismos automáticos de cierre en las puertas, los cuales no permiten abrir éstas hasta que la presión ha bajado.
  
8. Cuando el manómetro indica que ya no hay presión de vapor, puede abrir la puerta y sacar el material. Si éste puede alterarse debido a un calentamiento prolongado o por evaporación, debe enfriarse enseguida.

#### **8.1.4. Algunos factores de la esterilización con vapor a presión**

**Temperatura.-** Las endosporas bacterianas son las formas de vida más resistentes a la muerte por el calor y solo puede alcanzarse una temperatura que sea mortal si el vapor está sometido a presión. Una temperatura de 121°C proporciona un buen margen de seguridad si se mantiene durante el periodo de tiempo conveniente.

**Humedad.-** La coagulación del protoplasma bacteriano (proteínas, enzimas, etc.) a temperaturas moderadas, requiere humedad y cuando ésta se elimina, la temperatura requerida para la coagulación se eleva rápidamente. A medida que el vapor se halla sobrecalentado se hace también más seco y por ello las temperaturas y los tiempos de exposición requeridos para la esterilización deben aumentar par acercarse a los de la esterilización con aire caliente (170°C durante una hora). Por tanto, el vapor excesivamente calentado puede perder parte de su eficacia como agente letal. Además, las temperaturas más elevadas pueden causar detrimento en los materiales que se van a esterilizar.

# ***CAPÍTULO IX***

## ***9. METODOLOGÍA***

## **1. Agua Peptonada**

### **Ingredientes:**

- ✓ Bacto peptona
- ✓ Cloruro de sodio (Cl Na)
- ✓ Agua destilada

### **Preparación:**

En un matraz tenemos 100 ml de agua destilada, se adicionan 1 gramo de la Bacto peptona y 2 gramos de Cloruro de sodio.

## **2. Saboraud**

### **Ingredientes:**

- ✓ Agar Saboraud
- ✓ Agua destilada
- ✓ Papel aluminio
- ✓ Espátula
- ✓ Balanza
- ✓ Cocineta
- ✓ Agitador
- ✓ Autoclave

### **Preparación:**

Teniendo en cuenta que el peso especificado en el medio de cultivo es de 1 000 ml = 65 g, se realiza el cálculo correspondiente y se pesa 9.75 g de agar saboraud, en un papel aluminio, ayudada por una espátula esterilizada; en un matraz colocamos 150 ml de agua destilada y adicionamos los 9.75 g de saboraud. Revolvemos con el agitador mientras esperamos que hierva, agitando constantemente.

Sacamos la preparación y le damos un tratamiento térmico de esterilización de 121°C a 15 PSI.

## **PROCESO DE LA TOMA DE MUESTRA**

### **Materiales:**

- ✓ Fenol
- ✓ Mechero de Bunsen
- ✓ 20 tubos de ensayo con 3 ml de H<sub>2</sub>O peptonada cada uno
- ✓ 1 caja de hisopos
- ✓ 1 tubo de ensayo con 2 ml de H<sub>2</sub>O peptonada
- ✓ 20 tubos de ensayo con 10 ml de agar saboraud
- ✓ 20 pipetas
- ✓ 20 cajas Petri con agar sangre en un lado y agar chocolate en el otro lado

### **Procedimiento:**

Esterilizamos la cámara de asepsia con fenol, prendemos el mechero de Bunsen; los pacientes ingresan a la cámara de asepsia uno a uno, cuidadosamente con el hisopo tomamos una muestra de la conjuntiva bulbar y tarsal de un ojo al azar; ese hisopo se le coloca en el tubo de ensayo previamente rotulado y se le agita para que la muestra se desprenda y se le deja en reposo por 30 minutos.

Después de tomadas todas las muestras, con las pipetas se toma 1 ml de la muestra diluida en el H<sub>2</sub>O peptonada, se vierten 0.50 ml en el agar sangre y 0.50 ml en el agar chocolate; lastimosamente no todas las cajas petri contaban con el agar chocolate, sino con el agar Maconkey y son las siguientes: , M7, M10, M15, M16 y posteriormente se toman otros 0.50 ml para verter en el medio de cultivo saboraud.

### **INCUBACIÓN DE LAS MUESTRAS**

Tomamos las cajas Petri y los tubos con las siembras y les colocamos en la incubadora a 37°C; pasadas 24 horas se realiza el volteo de las cajas y se les deja por 48 horas más para que cumplan con su ciclo de crecimiento.

## **CONTEO DE COLONIAS**

Con el cuenta colonias se determina el número de colonias, forma, tamaño, superficie y borde existentes en cada medio de cultivo.

Las tinciones realizadas para establecer especies bacterianas fueron explicadas en el Capítulo VII.

## **HIPÓTESIS**

### **Enunciado:**

La flora bacteriana ocular sufre cambios, como consecuencia del uso de lentes de contacto de uso programado, por un tiempo mayor al determinado por el fabricante.

### **Variables:**

**VI :** Uso de lentes de contacto de uso programado

**VD:** Comportamiento de la flora bacteriana ocular.

CUADRO 1. CUANTIFICACIÓN DE COLONIAS BACTERIANAS

Flora Normal		Toma Primer Mes		Toma Segundo Mes	
<u>M</u>	CC	<u>M</u>	CC	<u>M</u>	CC
1	2	1	4	1	8
2	16	2	20	2	22
3	4	3	7	3	10
4	1	4	1	4	3
5	-	5	-	5	-
6	89	6	100	6	100
7	100	7	100	7	110
8	24	8	30	8	42
9	84	13	80	13	100
10	32	16	24	16	30
11	5	10	9	15	20
12	100	11	100	20	9
13	61	12	70	17	18
14	31	14	18	19	30
15	19	18	7	9	100
16	18				
17	48				
18	26				
19	4				
20	100				

FUENTE: Datos obtenidos de 20 pacientes en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería en Alimentos de la U.T.A.

ELABORADO POR: Soledad Saltos Ibarra

**CUADRO 2. DESCRIPCIÓN DE LAS COLONIAS DE LAS BACTERIAS**

**BORDES Y SUPERFICIES**

GRUPO TOTAL		PRIMERA TOMA		SEGUNDA TOMA	
AGAR SANGRE	AGAR CHOCOLATE	AGAR SANGRE	AGAR CHOCOLATE	AGAR SANGRE	AGAR CHOCOLATE
M1 circular entero lisa	circular entero elevada	M1 circular entero lisa	circular entero lisa	V1 circular entero lisa	circular entero lisa
M2 circular entero lisa	circular ondulado lisa	M2 circular entero lisa	circular entero lisa	V2 circular entero lisa	circular entero lisa
M3 circular entero lisa	circular entero lisa	M3 circular lobulado lisa	circular entero lisa	V3 circular entero lisa	circular entero lisa
M4 circular entero lisa	circular irregular lisa	M4 circular entero lisa	circular entero lisa	V4 circular entero lisa	circular entero lisa
M5 puntiforme entero lisa	puntiforme entero lisa	M5		M5	
M6 fusiforme entero lisa	fusiforme entero lisa	M6 circular entero lisa	circular entero lisa	M6 circular entero lisa	circular entero lisa
M7 fusiforme entero lisa	fusiforme entero lisa	M7 circular entero lisa *	circular entero lisa	M7 circular entero lisa	circular entero lisa
M8 fusiforme entero seca	puntiforme entero seca	M8 circular entero lisa	fusiforme entero lisa	M8 circular entero lisa	circular entero lisa
M9 circular entero lisa	circular entero lisa	M13 circular entero lisa	circular entero lisa	M13 circular entero lisa	circular entero lisa
M10 fusiforme lobulado lisa	fusiforme lobulado lisa	M16 fusiforme entero lisa	circular entero lisa	M16 circular entero lisa *	circular entero lisa
M11 fusiforme lobulado lisa	fusiforme lobulado lisa	M10 circular entero lisa *	circular entero lisa	M15 circular entero lisa *	circular entero lisa
M12 irregular ondulado rugosa	circular entero lisa	M11 circular entero lisa	circular entero lisa	V20 circular entero lisa	circular entero lisa
M13 puntiforme lobulado lisa	puntiforme lobulado lisa	M12 puntiforme entero lisa	circular entero lisa	M17 circular entero lisa	circular entero lisa
M14 circular entero lisa	circular entero lisa	M14 circular entero lisa	circular entero lisa	M19 circular entero lisa	circular entero lisa
M15 irregular ondulado lisa	irregular ondulado lisa	M18 circular entero lisa	circular entero lisa	M9 puntiforme entero lisa	circular entero lisa
M16 circular entero lisa	circular entero lisa				
M17 puntiforme entero lisa	puntiforme entero lisa				
M18 puntiforme circular rugosa	puntiforme circular rugosa				
M19 círculo entero lisa	circular entero lisa				
M20 irregular ondulado rugosa	irregular ondulado lisa				

FUENTE: Datos obtenidos de 20 pacientes en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería en Alimentos de la U.T.A.

ELABORADO POR: Soledad Saltos Ibarra

NOTA: Por un error involuntario las muestras 7, 10 se cultivaron en agar Maconkey en vez de agar chocolate, en la primera toma y en las muestras 15 y 16 en la segunda toma.

### CUADRO 3. DESCRIPCIÓN DE COLONIAS DE LAS BACTERIAS COLORES

GRUPO TOTAL		PRIMERA TOMA		SEGUNDA TOMA	
AGAR SANGRE	AGAR CHOCOLATE	AGAR SANGRE	AGAR CHOCOLATE	AGAR SANGRE	AGAR CHOCOLATE
M1 blanco crema	blanco amarillo tomate	M1 crema rosado	blanco tomate	M1 negro crema blanco	blanco negro
M2 blanco	blanco	M2 rosado blanco	rosado amarillo	M2 rosado blanco	crema blanco
M3 blanco amarillo tomate	blanco amarillo	M3 blanco amarillo	tomate blanco	M3 amarillo tomate blanco	blanco amarillo
M4 blanco	blanco	M4 blanco	blanco amarillo	M4 crema blanco	blanco tomate
M5 blanco crema		M5 "		M5	
M6 blanco amarillo	blanco rosado	M6 amarillo tomate	tomate blanco rosado	M6 blanco tomate crema	tomate crema blanco
M7 blanco rosado amarillo	blanco rosado amarillo	M7 blanco rosado *	amarillo blanco	M7 rosado amarillo tomate	rosado amarillo blanco
M8 blanco rosado amarillo negro	crema blanco	M8 blanco amarillo	crema negro blanco	M8 negro blanco tomate	blanco rosado
M9 blanco amarillo	blanco amarillo	M9 rosado tomate	blanco rosado	M9 amarillo blanco tomate	tomate crema blanco
M10 blanco amarillo rosado	crema blanco rosado	M10 blanco amarillo	amarillo rosado	M10 blanco rosado amarillo *	amarillo blanco
M11 amarillo	crema blanco rosado	M11 blanco *	blanco crema	M11 amarillo crema *	amarillo crema
M12 crema blanco amarillo	crema blanco	M12 amarillo rosado	amarillo blanco	M12 rosado blanco	blanco tomate
M13 blanco	blanco tomate	M13 crema blanco	rosado blanco	M13 crema tomate blanco	crema tomate blanco
M14 tomate amarillo blanco	tomate amarillo	M14 tomate blanco	blanco negro crema	M14 blanco amarillo	blanco amarillo
M15 blanco tomate amarillo	crema blanco	M15 rosado blanco	blanco tomate	M15	tomate blanco
M16 blanco	blanco				
M17 blanco	blanco				
M18 blanco tomate	blanco				
M19 blanco rosado crema	rosado amarillo				
M20 blanco	blanco amarillo				

FUENTE: Datos obtenidos de 20 pacientes en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería en Alimentos de la U.T.A.

ELABORADO POR: Soledad Saltos Ibarra

NOTA: Por un error involuntario las muestras 7, 10 se cultivaron en agar Maconkey en vez de agar chocolate, en la primera toma y en las muestras 15 y 16 en la segunda toma.

## CUADRO 4. CLASES DE BACTERIAS

GRUPO TOTAL	PRIMERA TOMA	SEGUNDA TOMA
M1 Staf. (---) tetra (-) diplo (-)	M1 Staf. (---) tetra (-) diplo (-)	M1 Staf. (---) tetra (---) diplo (---) micro (+)
M2 Streptob (---) micro (+)	M2 Streptob (---)	M2 Streptob (---) micro (+++)
M3 Staf. (+++) micro (++) strepto (+) diplo (+)	M3 Staf. (+++) strepto (++) diplo (+)	M3 Staf. (++++) strepto (++) diplo (+)
M4 micro (+++) celular ooo	M4 Staf. (+) micro (+++)	M4 Staf. (+) micro (+++)
M5	M5	M5
M6 Staf. (+++) diplo (-)	M6 Staf. (+++) diplo (---)	M6 Staf. (++++) diplo (---) micro (+)
M7 Staf. (+++) strepto (+) diplo (+)	M7 Staf. (+++) strepto (++)	M7 Staf. (+++) strepto (++)
M8 Staf. (++) diplo (+)	M8 Staf. (++) diplo (++)	M8 Staf. (++++) diplo (++)
M9 Staf. (++) micro (+)	M13 Staf. (-+) micro (++)	M13 Staf. (++) micro (+++)
M10 Staf. (+++) diplo (++)	M16 Staf. (-++)	M16 Staf. (++++)
M11 Staf. (++) strepto (+)	M10 Staf. (-+) strepto (+)	M15 Staf. (+++) strepto (+)
M12 Staf. (+++) micro (++)	M11 Staf. (-++) micro (+)	M20 Staf. (+++) micro (+)
M13 Staf. strepto (++) diplo (+)	M12 strepto (++) diplo (++) micro (+)	M17 strepto (++) diplo (++++) micro (+)
M14 diplo (++)Staf. (++)	M14 diplo (++)Staf. (++++)	M19 diplo (++) Staf. (++++)
M15 strepto (+) micro (+)	M18 strepto (++) diplo (++)	M9 strepto (+++) diplo (+) micro (+)
M16 tetra (++) diplo (+)Staf. (++)		
M17 diplo (++) micro (+++)		
M18 Staf. (++) strepto (++)		
M19 Staf. (++++) diplo (++)		
M20 Staf. (++) strepto (+++) micro (++)		

FUENTE: Datos obtenidos de 20 pacientes en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería en Alimentos de la U.T.A.

ELABORADO POR: Soledad Saltos Ibarra

**CUADRO 5. NÚMERO DE COLONIAS HONGOS**

TOMA GENERAL		PRIMERA TOMA		SEGUNDA TOMA	
M1	-	M1	-	M1	1
M2	6	M2	5	M2	6
M3	3	M3	4	M3	2
M4	2	M4	4	M4	8
M5	40	M5	32	M5	42
M6	19	M6	16	M6	22
M7	5	M7	7	M7	15
M8	2	M8	2	M8	6
M9	3	M13	-	M13	5
M10	lisis	M16	20	M16	lisis
M11	-	M10	70	M15	15
M12	lisis	M11	lisis	M20	lisis
M13	-	M12	36	M17	90
M14	36	M14	38	M19	40
M15	6	M18	lisis	M9	lisis
M16	MNPC				
M17	MNPC				
M18	MNPC				
M19	-				
M20	-				

**CUADRO 6. DESCRIPCIÓN DE COLONIAS DE HONGOS FORMA Y COLOR**

TOMA GENERAL			PRIMERA TOMA			SEGUNDA TOMA		
M1	redondo	negro	M1	redondo	gris	M1	redondo	negro
M2	ovalado	negro	M2	redondo	gris	M2	redondo	negro
M3	redondo	negro	M3	redondo	negro	M3	redondo	negro
M4	redondo	blanco	M4	redondo	negro	M4	redondo	negro
M5	redondo	negro	M5	redondo	amarillo	M5	redondo	blanco
M6	redondo	blanco	M6	redondo	blanco	M6	redondo	negro
M7	redondo	blanco	M7	redondo	gris	M7	redondo	negro
M8	redondo	negro	M8	redondo	negro	M8	redondo	negro
M9	redondo	negro	M13	redondo	negro	M13	redondo	negro
M10	redondo	blanco	M16	redondo	negro	M16	redondo	amarillo
M11	ovalado		M10	ovalado	negro	M15	redondo	blanco
M12	alargado	blanco	M11	lisos	blanco	M20	redondo	negro
M13	redondo		M12	redondo	negro	M17	redondo	negro
M14	redondo	amarillo	M14	redondo	negro	M19	redondo	negro
M15	redondo	blanco	M18	redondo	negro	M9	redondo	negro
M16	redondo	negro						
M17	redondo	negro						
M18	redondo	blanco						
M19	redondo							
M20	redondo							

FUENTE: Datos obtenidos de 20 pacientes en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería en Alimentos de la U.T.A.

ELABORADO POR: Soledad Saltos Ibarra

# ***CAPÍTULO X***

## ***10. RESULTADOS***

## CAPÍTULO X

### 10. RESULTADOS

**CUADRO 7. NÚMERO DE COLONIAS BACTERIANAS OBTENIDAS EN EL PRIMERO Y SEGUNDO MESES**

	A	D	D	D <sup>2</sup>
1	4	8	- 4	16
2	20	22	- 2	4
3	7	10	- 3	9
4	1	3	- 2	4
6	100	100	0	0
7	100	110	- 10	100
8	30	42	- 12	144
13	80	100	- 20	400
16	24	30	- 6	36
	366	425	- 59	713

FUENTE: Datos obtenidos de 9 pacientes en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería en Alimentos de la U.T.A.

ELABORADO POR: Soledad Saltos Ibarra

$$\bar{X}_A = 366/9 \quad \bar{X}_D = 425/9 \quad \bar{d} = -59/9$$

$$\bar{X}_A = 40,66 \quad \bar{X}_D = 47,22 \quad \bar{d} = -6,55$$

$$S^2\bar{d} = [\sum D^2 - (\sum D)^2/N] / N (N - 1) = [713 - (-59)^2/9] / 9 (9 - 1)$$

$$= (713 - 386,77) / 72$$

$$S^2\bar{d} = 326,23 / 72 = 4,53$$

$$S\bar{d} = \sqrt{4,53} = 2,128$$

$$t_c = \bar{d} / S\bar{d} = - 6,55 / 2,128 = - 3,07$$

$$gl = N - 1 = 9 - 1 = 8$$

$$t_t (\alpha = 0.05) = \pm 2,306$$

Regla de Decisión:

$$t_c \leq - 2,306 \quad \sigma$$

$$t_c \geq 2,306$$

Entonces se rechaza la  $H_0$ .

Decisión:

$$t_c = -3,07 < t_t = -2,306$$

Entonces se rechaza la  $H_0$ , es decir: la flora bacteriana ocular sí se altera con el uso prolongado de lentes de contacto de uso programado.

### CUADRO 8. NÚMERO DE COLONIAS BACTERIANAS OBTENIDAS EN EL PRIMER MES

	X	X <sup>2</sup>		X	X <sup>2</sup>
1	4	16	10	9	81
2	20	400	11	100	10 000
3	7	49	12	70	4 900
4	1	1	14	18	324
5	-	-	18	7	49
6	100	10 000			
7	100	10 000			
8	30	900			
13	80	6 400			
16	24	576			
	366	28 342		204	15 354

FUENTE: Datos obtenidos de 14 pacientes en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería en Alimentos de la U.T.A.

ELABORADO POR: Soledad Saltos Ibarra

$$1) \quad \bar{X}_1 = \sum X / N$$

$$\bar{X}_2 = \sum X / N$$

$$\bar{X}_1 = 366 / 9$$

$$\bar{X}_1 = 40,66$$

$$\bar{X}_2 = 204 / 5$$

$$\bar{X}_2 = 40,8$$

$$2) S_1 = \sqrt{(\sum X^2 / N) - \bar{X}^2}$$

$$S_2 = \sqrt{(\sum X^2 / N) - \bar{X}^2}$$

$$S_1 = \sqrt{(28\ 342 / 9) - (40,66)^2}$$

$$S_2 = \sqrt{(15\ 354 / 5) - (40,8)^2}$$

$$S_1 = \sqrt{3\ 149,11 - 1\ 653,23}$$

$$S_2 = \sqrt{3\ 070,8 - 1\ 664,64}$$

$$S_1 = \sqrt{1\ 495,88}$$

$$S_2 = \sqrt{1\ 406,16}$$

$$S_1 = 38,67$$

$$S_2 = 37,49$$

$$3) \sigma \bar{X}_1 = S / \sqrt{N - 1}$$

$$\sigma \bar{X}_2 = S / \sqrt{N - 1}$$

$$\sigma \bar{X}_1 = 38,67 / \sqrt{9 - 1}$$

$$\sigma \bar{X}_2 = 37,49 / \sqrt{5 - 1}$$

$$\sigma \bar{X}_1 = 38,67 / 2,82$$

$$\sigma \bar{X}_2 = 37,49 / 2$$

$$\sigma \bar{X}_1 = 13,71$$

$$\sigma \bar{X}_2 = 18,74$$

$$4) \sigma \text{ dif} = \sqrt{\sigma \bar{X}_1^2 + \sigma \bar{X}_2^2}$$

$$\sigma \text{ dif} = \sqrt{(13,71)^2 + (18,74)^2}$$

$$\sigma \text{ dif} = \sqrt{187,97 + 351,18}$$

$$\sigma \text{ dif} = \sqrt{539,14}$$

$$\sigma \text{ dif} = 23,21$$

$$5) t = X_1 - X_2 / \sigma \text{ dif}$$

$$t = 13,71 - 18,74 / 23,21$$

$$t = - 5,03 / 23,21$$

$$t = - 0,21$$

$$6) gl = N_1 + N_2 - 2$$

$$gl = 9 + 5 - 2$$

$$gl = 12$$

$$t_{\alpha} = (\alpha = 0,05) = \pm 2,179$$

Regla de Decisión:

Si la  $t_c$  está entre  $\pm 2,179$ , entonces se acepta la  $H_0$ .

$- 2,179 \leq t_c \leq 2,179 \rightarrow$  se acepta  $H_0$

Decisión:

$$t_c = -0,21 < t_t = 2,179 \text{ y}$$

$$t_c = -0,21 > -2,179$$

Entonces, se acepta  $H_0$ , es decir que la flora bacteriana ocular de los pacientes que utilizaron los lentes de contacto por un mes es igual.

**CUADRO 9. NÚMERO DE COLONIAS BACTERIANAS OBTENIDAS A LOS DOS MESES**

	X	X <sup>2</sup>
1	8	64
2	22	484
3	10	100
4	3	9
5	-	-
6	100	10 000
7	110	12 100
8	42	1 764
13	100	10 000
16	30	900
	<b>425</b>	<b>35 421</b>

	X	X <sup>2</sup>
15	20	400
20	9	81
17	18	324
19	30	900
9	100	10 000
	<b>177</b>	<b>11 705</b>

FUENTE: Datos obtenidos de 14 pacientes en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería en Alimentos de la U.T.A.

ELABORADO POR: Soledad Saltos Ibarra

$$1) \bar{X}_1 = \sum X / N$$

$$\bar{X}_2 = \sum X / N$$

$$\bar{X}_1 = 425 / 9$$

$$\bar{X}_2 = 177 / 5$$

$$\bar{X}_1 = 47.22$$

$$\bar{X}_2 = 35.4$$

$$2) S_1 = \sqrt{(\sum X^2 / N) - \bar{X}^2}$$

$$S_2 = \sqrt{(\sum X^2 / N) - \bar{X}^2}$$

$$S_1 = \sqrt{(35\,421 / 9) - (47,22)^2}$$

$$S_2 = \sqrt{(11\,705 / 5) - (35,4)^2}$$

$$S_1 = \sqrt{3\,935,66 - 2\,229,72}$$

$$S_2 = \sqrt{2\,341 - 1\,253,16}$$

$$S_1 = \sqrt{1\,705,93}$$

$$S_2 = \sqrt{1\,087,84}$$

$$S_1 = 41,30$$

$$S_2 = 32,98$$

$$3) \alpha df = \sqrt{[(NS_1^2 + NS_2^2) / (N_1 + N_2 - 2)] (1/N_1 + 1/N_2)}$$

$$\alpha df = \sqrt{[9(41,30)^2 + 5(32,98)^2] / (9 + 5 - 2)} (1/9 + 1/5)$$

$$\alpha df = \sqrt{[(15\,351 + 5\,438) / 12]} (0,11 + 0,2)$$

$$\alpha df = \sqrt{(20\,789 / 12) \times 0,31}$$

$$\alpha df = \sqrt{1\,732,41 \times 0,31}$$

$$\alpha df = \sqrt{537}$$

$$\alpha df = 23,17$$

$$4) t = (\bar{X}_1 - \bar{X}_2) / \alpha df$$

$$t = [47,23 - 35,4] / 23,17$$

$$t = 11,82 / 23,17$$

$$t = 0,51$$

$$5) gl = N_1 + N_2 - 2$$

$$gl = 9 + 5 - 2$$

$$gl = 12$$

$$tt = (\alpha = 0,05) = \pm 2,179$$

Regla de Decisión:

$$\text{Si } -2,179 \leq t_c \leq 2,179$$

Entonces se acepta  $H_0$ .

Decisión:

$$t_c = 0,51 < tt = 2,179 \text{ y}$$

$$t_c = 0,51 > t_t = - 2,179$$

Entonces, se acepta la  $H_0$ , es decir, que la flora bacteriana ocular de los pacientes que usaron lentes de contacto por dos meses es igual.

**CUADRO 10. NÚMERO DE COLONIAS BACTERIANAS OBTENIDAS EL INICIO / PRIMER MES**

	Antes	Después	D	D <sup>2</sup>
1	2	4	- 2	4
2	16	20	- 4	16
3	4	7	- 3	9
4	1	1	0	0
6	89	100	- 11	121
7	100	100	0	0
8	24	30	- 6	36
13	61	80	- 19	361
16	18	24	- 6	36
	315	366	- 51	583

FUENTE: Datos obtenidos de 9 pacientes en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería en Alimentos de la U.T.A.

ELABORADO POR: Soledad Saltos Ibarra

$$\bar{X}_1 = 35 \quad \bar{X}_2 = 40,66 \quad \bar{D} = - 5,66$$

$$S^2\bar{D} = [\sum D^2 - (\sum D)^2/N] / N (N - 1) = [583 - (-51)^2/9] / 9 (9 - 1)$$

$$S^2\bar{D} = [583 - 289] / 72 = 4,08$$

$$SD = \sqrt{4,08} = 2,02$$

$$t_c = \bar{D} / SD = - 5,66 / 2,02 = - 2,8$$

$$gl = 9 - 1 = 8 \longrightarrow t_t (\alpha = 0,05) = \pm 2,306$$

Regla de Decisión:

$$t_c = \leq - 2,306 \text{ ó}$$

$$t_c = \geq 2,306 \longrightarrow \text{se acepta la Hipótesis de Investigación}$$

Decisión:

$$t_c = - 2,80 < t_t = - 2,306$$

Entonces, se acepta la Hipótesis de Investigación, es decir, que la flora bacteriana nativa del ojo se altera con el uso, durante un mes, de lentes de contacto de uso programado.

**CUADRO 11. NÚMERO DE COLONIAS BACTERIANAS OBTENIDAS AL INICIO / SEGUNDO MES**

	Antes	Después	D	D <sup>2</sup>
1	2	8	- 6	36
2	16	22	- 6	36
3	4	10	- 6	36
4	1	3	- 2	4
6	89	100	- 11	121
7	100	110	- 10	100
8	24	42	- 18	324
13	61	100	- 39	1 521
16	18	30	- 12	144
	315	425	- 110	2 322

FUENTE: Datos obtenidos de 9 pacientes en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería en Alimentos de la U.T.A.

ELABORADO POR: Soledad Saltos Ibarra

$$\bar{X}_A = 315/9 \quad \bar{X}_B = 425/9 \quad \bar{d} = -110/9$$

$$\bar{X}_a = 35 \quad \bar{X}_B = 47,22 \quad \bar{d} = - 12,22$$

$$S^2\bar{d} = [\sum D^2 - (\sum D)^2/N] / N (N - 1)$$

$$S\bar{d} = \sqrt{13,57} = 3,68$$

$$t_c = \bar{d} / S\bar{d} = - 12,22 / 3,68 = - 3,32$$

$$gl = N - 1 = 9 - 1 = 8$$

$$t_t = (\alpha = 0,05) = \pm 2,306$$

Regla de Decisión:

Si la  $t_c$  está entre  $\pm 2,306$  se acepta la  $H_0$  –  $2,306 \leq t_c \leq 2,306$  → se acepta la  $H_0$ .

Decisión:

$$t_c = - 3,32 < t_t = - 2,306$$

Entonces, se rechaza la  $H_0$  y se acepta la hipótesis de investigación, es decir, que la flora bacteriana nativa del ojo, se altera con el uso durante dos meses de los lentes de contacto de uso programado.

***CONCLUSIONES Y  
RECOMENDACIONES***

## **CONCLUSIONES**

Del presente trabajo se puede obtener las siguientes conclusiones:

1. Existe una relación directamente proporcional entre el uso de lentes de contacto programados y la alteración de la flora bacteriana nativa ocular.
2. Aún existiendo una alteración de la flora bacteriana ocular, no se produjo alteraciones patógenas en los pacientes.
3. Teniendo el debido cuidado en cuanto a higiene y manutención de los lentes de contacto, se puede lograr el uso prolongado de éstos por un mes más sin peligro de que se produzcan alteraciones bacteriológicas patológicas.

## **RECOMENDACIONES**

1. Se debe utilizar los lentes de contacto de uso programado, durante el mes recomendado por el fabricante, ya que al utilizarlos más tiempo se incrementa la flora bacteriana.
2. Como no se produjeron cambios patógenos en la flora bacteriana de los pacientes que utilizaron los lentes durante dos meses, no se descarta la posibilidad de alargar el tiempo de uso de los lentes de contacto, si la situación lo amerita.

# ***BIBLIOGRAFÍA***

## **BIBLIOGRAFÍA**

ASTI VERA, Armando. (1978): Metodología de la Investigación. Ambato, Editorial Universitaria.

BERNIS, Mateu. (1968): Atlas de Microbiología. Barcelona, Ediciones Jover.

BURNETT, George. (1986): Microbiología y Enfermedades Infecciosas de la boca. México, Editorial Limusa.

CARRILLO, Francisco. (1969): Cómo hacer la Tesis y el Trabajo de Investigación Universitaria. Lima, Editorial Universitaria.

DOWNIE, N. M. y HEATH, R. W. (1986): Métodos Estadísticos Aplicados. 5ta. Edición. México, Editorial Marla.

FUCHS, Adalbert: Oftalmología. 3ra. Edición, Editorial Labor, México.

GIFFORD, Sanford, (1947): Manual de Oftalmología. 3ra. Edición, España.

*Soledad Saltos Ibarra*

*Comportamiento de la Flora Bacteriana Ocular, utilizando lentes de contacto de uso programado por un tiempo mayor al determinado por el fabricante, en la ciudad de Ambato*

LEIVA ZEA, Francisco. (1979): *Nociones de Metodología de Investigación Científica*, Quito, Editorial Ortiz.

MILLER, David y WHITE, Paúl: *Complicaciones de las lentes de contacto*. Salvat, Santiago de Chile.

PIATKIN, K. (1986): *Microbiología*. Moscú, Editorial MIR.

SEELEY, Harry. (1988): *Microbios en Acción*. Madrid, Editorial Blume.

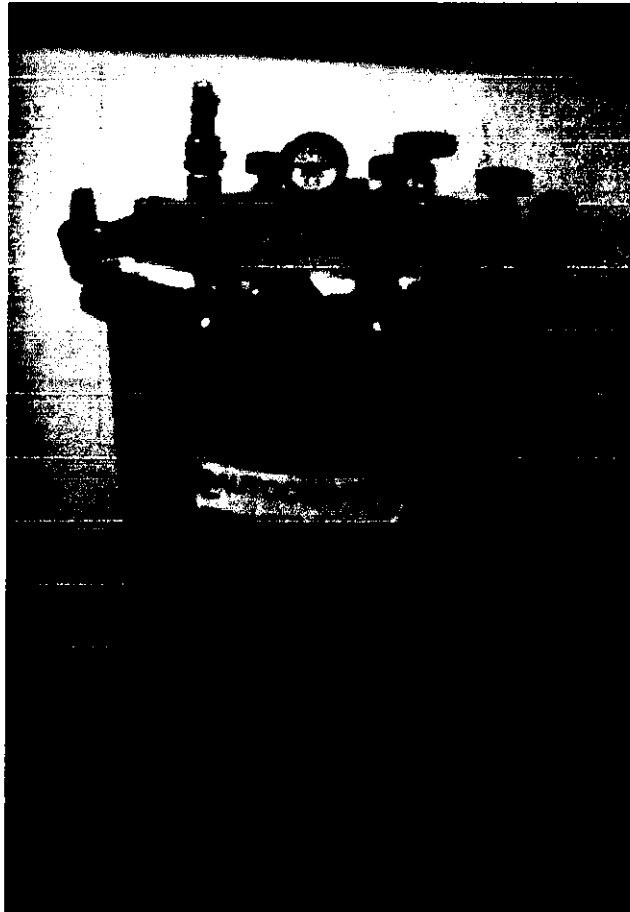
VILLEE, Claude. (1996): *Biología de Villee*, 3ra. Edición, México.

YAMANE, Taró. (1979): *Estadística*, 3ra. Edición. México, Editorial Marfa.

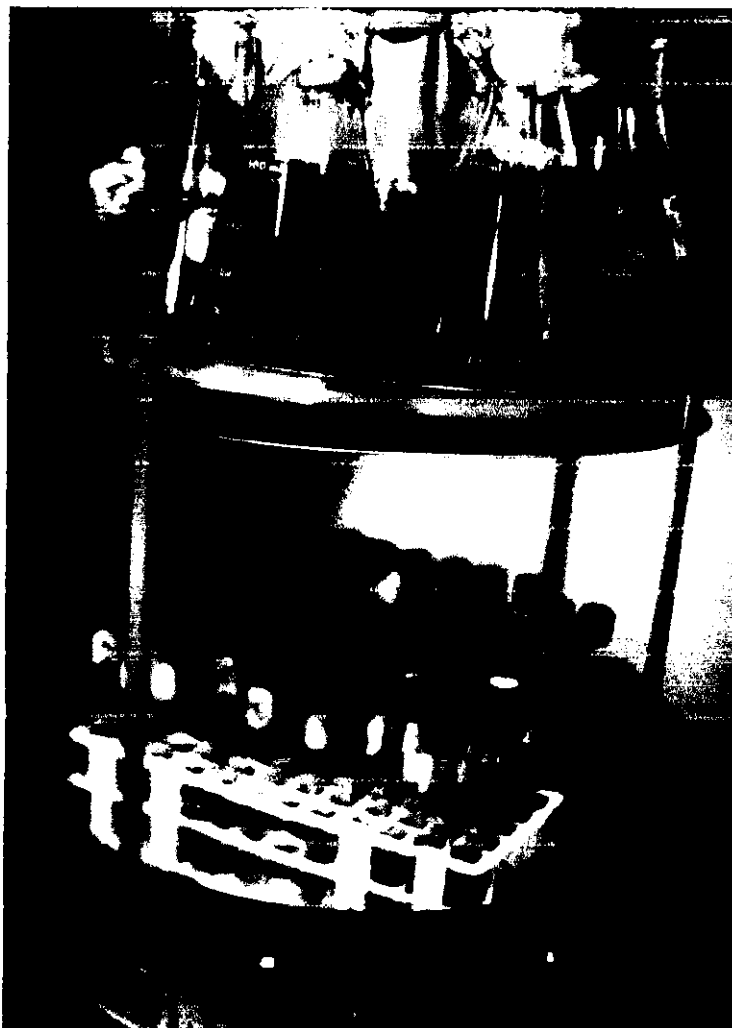
***ANEXOS***



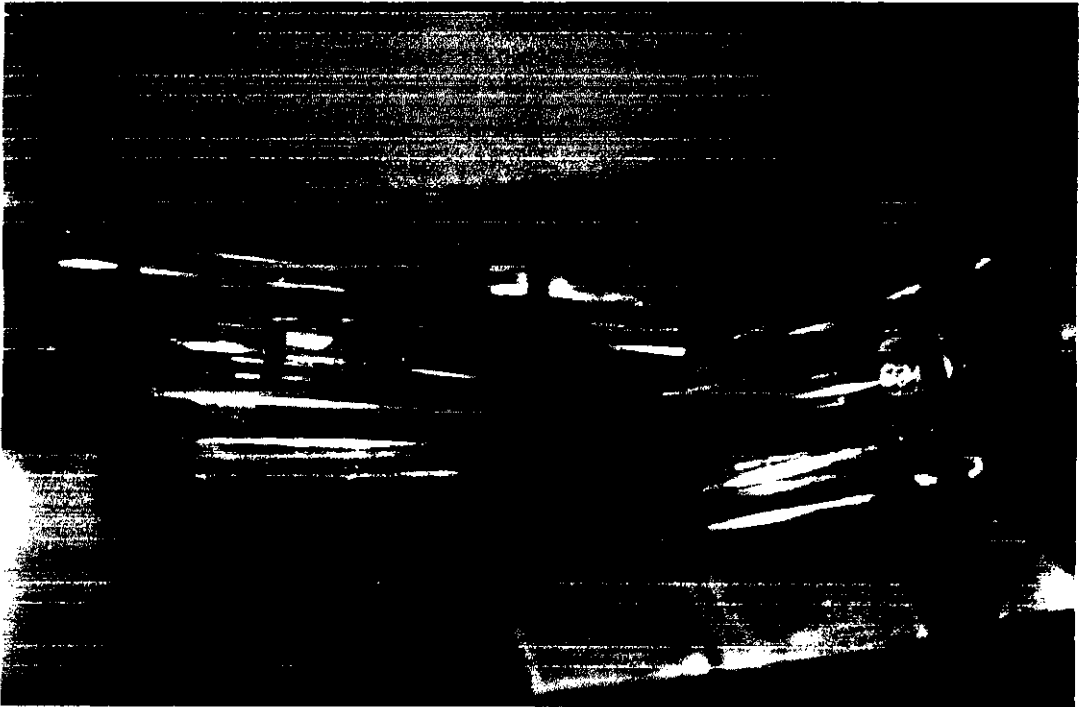
**ANEXO 2. MATERIALES, TÉCNICAS Y MOMENTOS DEL TRABAJO DE  
INVESTIGACIÓN**



**Autoclave: Se utiliza para esterilizar los medios de cultivo**



Medios de cultivo en el autoclave después de haber sido esterilizados



**Agar Saboraud en tubos de ensayo inclinados, dentro de la estufa**



**Selección de las mejores colonias**



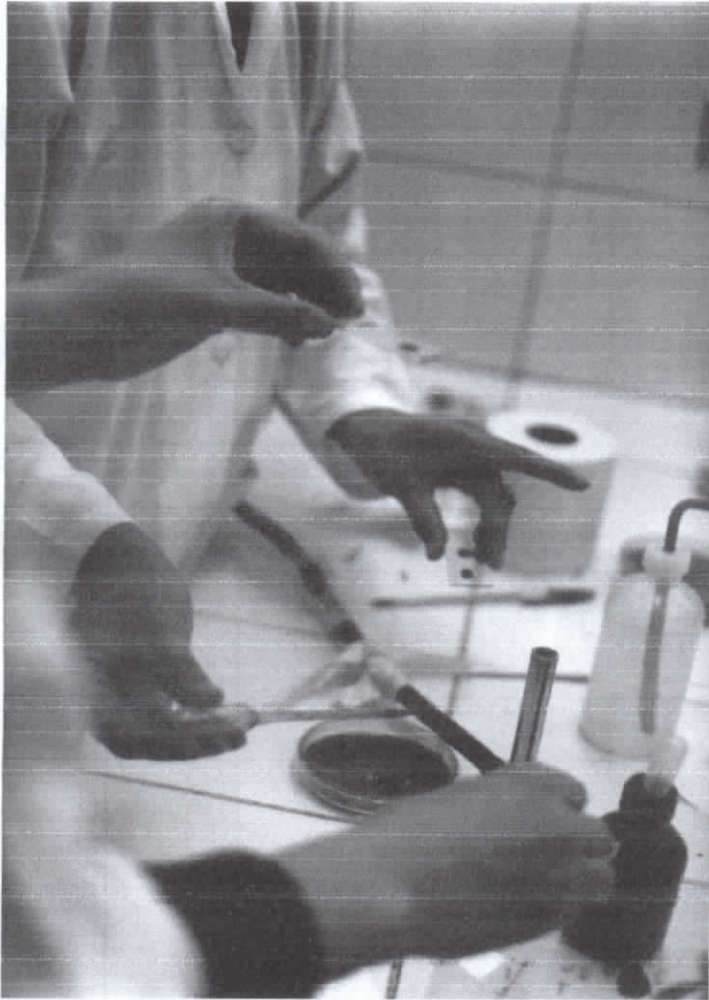
**Esterilización de la aza hojal para recolección de la muestra de la colonia escogida**



Toma de la muestra



Preparación de la muestra para las tinciones



Utilización de colorantes



Placas terminadas, listas para la observación en el microscopio



*Esta Monografía se concluyó el 31 de Agosto del 2001, para su entrega en la Secretaría e la Pontificia Universidad Católica del Ecuador – Sede Ambato, para su aprobación.*

---

*Soledad Saltos Ibarra*