

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
REPUBLICA DE GUATEMALA

**CULTIVO Y BACILOSCOPIA
DE LA
SECRECION LAGRIMAL**



TESIS

PRESENTADA A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS MEDICAS DE LA UNIVERSIDAD DE
SAN CARLOS DE GUATEMALA,

FOR:

CARLOS ENRIQUE BERMEJO GONZALEZ

EN EL ACTO DE SU INVESTIDURA DE:

MEDICO Y CIRUJANO



GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 1963.

PLAN DE TESIS

- 1—INTRODUCCION.
- 2—CONSIDERACIONES GENERALES.
- 3—METODO DE TINCION EMPLEADO.
- 4—MEDIO DE CULTIVO EMPLEADO.
- 5—SENSIBILIDAD A LOS ANTIBIOTICOS.
- 6—ESTADISTICA.
- 7— CONCLUSIONES.
- 8—BIBLIOGRAFIA.



INTRODUCCION:

La prevalencia de infecciones oculares en pacientes que sin causa aparente la presentan en un determinado momento, hizo pensar que los microorganismos que la producían no solo provenían del exterior como en la mayoría de infecciones de otros lugares del organismo humano, sino que también residían en los fondos de Saco Conjuntivales, aprovechando determinados momentos en que las defensas del organismo bajaban y convertirse en seres patógenos.

Dicha hipótesis fué comprobada como se verá más adelante de éste trabajo en que pacientes completamente asintomáticos presentan bacterias del mismo tipo y con las mismas características que en las que se encontraron en pacientes sintomáticos y con francas infecciones oculares.

Se completó el estudio comparativo con la sensibilidad a los antibióticos notándose que tanto las bacterias de los pacientes sintomáticos y asintomáticos presentaban casi idéntica sensibilidad.

CONSIDERACIONES GENERALES

Después de haber leído las opiniones versadas en la introducción de éste trabajo y antes de entrar de lleno en la descripción del medio de Cultivo y Método de Tinción empleados es conveniente hacer un pequeño recordatorio sobre la Anatomía y Fisiología del Aparato Lagrimal.

El Aparato Lagrimal consta de dos partes: Una Secretora que es propiamente la Glándula Lagrimal y otra Excretora que consta de los puntos Lagrimales, de los Canaliculos, del Saco y del Conducto Nasal, todos destinados a recoger las Lágrimas y conducir las al meato inferior de la Nariz.

La Glándula Lagrimal que es propiamente la parte Secretora del Aparato Lagrimal es un pequeño cuerpo oblongo, que se encuentra alojado en la región Súpero-externa de la Orbita; dicha Glándula se encuentra dividida en dos porciones, la porción Superior que es la mayor, se encuentra alojada en una pequeña depresión de la Cara Inferior del Frontal, llamada Fosa Lagrimal, a la cual se fija por tejido Conjuntivo. La porción Inferior, más pequeña, se le llama Glándula Lagrimal Accesorio, se encuentra situada inmediatamente debajo de la Conjuntiva de la porción Externa del fondo de Saco Superior. Además de las dos porciones principales de la Glándula Lagrimal ya descritas existen también Glándulas microscópicas extendidas a lo largo del fondo de Saco Conjuntival especialmente a los lados y son las Glándulas llamadas de Krause.

CONSIDERACIONES GENERALES

Después de haber leído las opiniones versadas en la introducción de éste trabajo y antes de entrar de lleno en la descripción del medio de Cultivo y Método de Tinción empleados es conveniente hacer un pequeño recordatorio sobre la Anatomía y Fisiología del Aparato Lagrimal.

El Aparato Lagrimal consta de dos partes: Una Secretora que es propiamente la Glándula Lagrimal y otra Excretora que consta de los puntos Lagrimales, de los Canaliculos, del Saco y del Conducto Nasal, todos destinados a recoger las Lágrimas y conducir las al meato inferior de la Nariz.

La Glándula Lagrimal que es propiamente la parte Secretora del Aparato Lagrimal es un pequeño cuerpo oblongo, que se encuentra alojado en la región Súpero-externa de la Orbita; dicha Glándula se encuentra dividida en dos porciones, la porción Superior que es la mayor, se encuentra alojada en una pequeña depresión de la Cara Inferior del Frontal, llamada Fosa Lagrimal, a la cual se fija por tejido Conjuntivo. La porción Inferior, más pequeña, se le llama Glándula Lagrimal Accesorio, se encuentra situada inmediatamente debajo de la Conjuntiva de la porción Externa del fondo de Saco Superior. Además de las dos porciones principales de la Glándula Lagrimal ya descritas existen también Glándulas microscópicas extendidas a lo largo del fondo de Saco Conjuntival especialmente a los lados y son las Glándulas llamadas de Krause.

Ambas porciones de la Glándula Lágrimal tienen sus conductos excretores llamados Conductos Lagrimales que en número variable desde seis hasta doce se dirigen hacia abajo y se abren por orificios separados en la mitad externa del fondo de Saco Superior de la Conjuntiva.

Histológicamente la estructura de la Glándula Lagrimal se asemeja a la de las Glándulas Salivales, consistiendo en Acinos que contienen Células Cuboideas.

La secreción lagrimal es un líquido ligeramente alcalino que contiene una proporción relativamente grande de Cloruro de Sodio y una Enzima la Lisozima, que está dotada de poder antibacteriano. Normalmente la Glándula Lagrimal secreta la cantidad suficiente para humedecer el Globo Ocular y que se pierde por evaporación. La conducción de la secreción lagrimal de la conjuntiva al saco lagrimal se efectúa por medio del Parpadeo; la lubricación de los bordes palpebrales por una sustancia grasa impide normalmente el desbordamiento de las lágrimas.

La Glándula Lagrimal puede tener una hiposecreción del líquido lagrimal dando por resultado sequedad de los ojos y alteraciones Corneales consistentes en zonas de afección superficial; las principales causas de la deficiencia de secreción lagrimal son la extirpación de la Glándula Lagrimal, las cicatrices conjuntivales consecutivas al Tracoma o a Hipovitaminosis A; además en la Queratoconjuntivitis Seca se comprueba una secreción disminuida por una baja producción del líquido lagrimal asociado a menudo con una secreción defectuosa de las Glándulas Salivales y de Artritis. Los síntomas principales de la hiposecreción del líquido Lagrimal son: Sensación de sequedad y ardor en los ojos, fotofobia y reducción de la visión.

Así como existe hiposecreción del líquido Lagrimal hay también lagrimeo o abundante secreción lagrimal que puede ser debida a influencias psíquicas, a parálisis del Facial, a irritación de las ramas terminales del Trigémino por cuerpos extraños, a inflamaciones oculares, al viento y al humo, a afecciones de la Nariz o a irritaciones de la Retina por luz muy viva; es achaque frecuente en las personas ancianas, sobre todo al aire libre en tiempo frío, a menudo sin lesión manifiesta de la conjuntiva o las vías lagrimales.

La composición química de las lágrimas es la siguiente según Ridley:

Agua	98.2	%
Residuo sólido	1.8	%
Proteínas totales	0.67	%
Glucosa	0.65	%
Cloro	0.66	%
Sodio	0.44	%
Potasio	0.12	%

METODO DE TINCION EMPLEADO

Las bacterias pueden ser estudiadas vivas y sin teñir, o después de la aplicación de colorantes; en los 200 casos presentados en éste trabajo

se usó el método de Gram para la tinción de las bacterias.

Los colorantes usados para tinción de las bacterias son en su mayor parte, colorantes básicos de Anilina, tales como Azul de Metileno, Violeta de Genciana y Fucsina. Para tinción simple suelen emplearse en solución acuosa al 5%, preparada generalmente a partir de soluciones alcohólicas saturadas filtradas.

La coloración de Gram divide a las bacterias en dos grupos:

- 1—Gram Positivas.
- 2—Gram Negativas.

Las bacterias Gram Positivas son aquellas que toman el color Violeta y las bacterias Gram Negativas son aquellas que toman el color Rojo de contraste.

Los colorantes y reactivos usados para la coloración de Gram son los siguientes:

- a) Violeta de Genciana Fenicada,
- b) Lugol,
- c) Alcohól Acetona,
- d) Fucsina Acuosa.

Para el método de tinción de Gram se deben seguir los siguientes pasos:

- 1—Hecho el frote con la secreción lagrimal en el porta objetos se debe éste fijar a la llama.

- 2—Teñir con Violeta de Genciana durante 30 segundos.

- 3—Lavar con agua.

- 4—Cubrir el Frote con Lugol durante 30 segundos.

- 5—Decolorar con alcohol Acetona hasta que ya no salga colorante violeta.

- 6—Lavar con agua.

- 7—Teñir con Fucsina Acuosa durante un minuto.

- 8—Lavar secar, y ver a inmersión.

MEDIO DE CULTIVO EMPLEADO

Se designa con el nombre de Medio de Cultivo a toda aquella substancia empleada ya sea sólida o fluida dentro de la cual se propagan artificialmente los microorganismos.

Los medios de cultivo pueden ser:

- a—Líquidos.
- b—Sólidos.

Ambos pueden ser:

- 1—Simples.
- 2—Enriquecidos.

Los medios comunes de cultivo son:

- 1—Caldo de extracto de carne o caldo de Pasteur.

2—Gelosa Nutritiva.

3—Gelatina Nutritiva.

En los 200 casos reportados se empleó siempre un medio de cultivo sólido enriquecido que fué Agar Sangre que es una Gelosa Nutritiva enriquecida con 5% de sangre humana desfibrinada.

Los tres medios comunes de cultivo se pueden enriquecer con la adición de las siguientes substancias:

1—Sangre desfibrinada de carnero, conejo o Humana 5 al 10 %

2—Líquido ascítico, suero o plasma de Carnero, conejo o humana 5 al 10 %

3—Azúcares 1 al 10 %

4—Vitaminas etc.

O bien se le adicionan substancias inhibidoras selectivas del crecimiento bacteriano o substancias disgenéticas:

1—Sales Biliares y otras sales.

2—Colorantes.

3—Antibióticos.

El caldo extracto de carne es por así decirlo la base de los otros medios comunes de cultivo y sus componentes son los siguientes:

Extracto de Carne 3 grs.

Peptona 10 grs.

Cloruro de Sodio 5 grs.

Agua destilada 1000 cc.

La técnica seguida para su preparación es la siguiente:

1—En un frasco de precipitación o en un Erlenmeyer se ponen los 1000 cc. de agua destilada y se agregan los ingredientes previamente pesados.

2—Se calienta el medio en una hornilla para disolver los ingredientes.

3—Se deja enfriar el medio y se ajusta el pH a 7.

4—Se hierve el medio de cultivo durante algunos minutos.

5—Se completa a 1000 cc. con agua destilada.

6—Si el Caldo no está claro se filtra sobre papel.

7—Si se desea se reparte el caldo en tubos de ensayo.

8—Se esteriliza al Autoclave a 15 lbs. (121°C) durante 20 minutos.

Como ya se dijo el medio de cultivo usado en los 200 casos fué la Gelosa Nutritiva enriquecida con 5% de sangre humana desfibrinada; los componentes de la Gelosa Nutritiva son los siguientes:

Agar-Agar 15 a 20 gr.

Caldo extracto de carne 1000cc.

La técnica seguida para su preparación es la siguiente:

- 1—Disolver por calentamiento el Agar en el caldo, ajustar el pH a 7.5.
- 2—Si la Gelosa Nutritiva está turbia filtrar en caliente sobre algodón no absorbente.
- 3—Distribuir en tubos o en cajas de Petri y esterilizar al Autoclave a 15 lbs. (121° C) durante 20 minutos.

En todos los casos presentados en éste trabajo se siguió la misma norma que consistió en lo siguiente:

- 1—Toma de la secreción lagrimal con un hisopo estéril.
- 2—Cultivo de la secreción lagrimal en las cajas de Petri que contienen Agar-Sangre.
- 3—Mantenimiento de dichas cajas de Petri en una estufa a 37° C. durante 24 horas en espera del crecimiento de colonias de bacterias; en caso a las 24 horas no hay crecimiento, se dejan durante 24 horas más.
- 4—Identificación de las colonias bacterianas.

SENSIBILIDAD A LOS ANTIBIOTICOS

En todos los órganos de la Economía pueden surgir infecciones y en la época actual teniendo la gran ventaja de contar con sustancias potentes que las puedan combatir es indispensable saber con certeza que antibiótico es capaz de inhibir el crecimiento o destruir los gérmenes patógenos en el organismo que son los causantes específicos de tal o cual infección.

Los antibióticos son sustancias químicas, producidas por microorganismos que tienen la facultad de inhibir el desarrollo y aún destruir las bacterias y otros microorganismos. Se caracterizan por ciertas propiedades físicas, químicas y biológicas que los hacen, muchas veces de elección para el tratamiento de las infecciones.

En forma breve se describirán algunas, de las principales propiedades de los antibióticos:

- 1—Los antibióticos tienen acción selectiva en su efecto sobre los diferentes microorganismos; su acción es específica no solo contra géneros y especies, sino hasta contra cepas y células individuales. Algunos de estos agentes obran principalmente sobre las bacterias Gram Positivas mientras que otros inhiben las bacterias Gram Negativas. Otros atacan de igual manera a varios tipos de bacterias independientemente de sus afinidades tintoriales. Ciertos antibióticos no tienen acción sobre los hongos, mientras que otros, aunque demasiado tóxicos para tener utilidad clínica son fungistáticos activos. Algunos antibióticos son efectivos contra las Rickettsias y contra unos cuantos de los virus mayores. Las variaciones en la acción de éstos medicamentos sobre diferentes bacterias y otros parásitos son a la vez cuantitativas y cualitativas; esto ha conducido a desarrollar el concepto del «Espectro-Antibiótico» que resume la acción selectiva de un antibiótico dado sobre cierto número de bacterias y otros microorganismos representativos.

- 2—Los antibióticos varían mucho en lo que respecta a su estructura química; éstas subs-

tancias representan un gran número de compuestos químicos, desde sustancias simples que solo contienen carbono, hidrógeno y oxígeno, hasta las formas más complejas que contienen nitrógeno, azufre y aún cloro.

- 3—Ciertos microorganismos son capaces de producir más de un antibiótico, tal es el caso por ejemplo del *Streptomyces Griseus* que produce la estreptomycin y otras sustancias con poderes fungicidas y antitricomónicas.
- 4—Algunos antibióticos son producidos por diferentes microorganismos, así, varias penicilinas son elaboradas por diferentes cepas de *Penicillium*.
- 5—La manera de actuar de los antibióticos sobre los microorganismos es variable. Algunos producen interferencia con el crecimiento y la división celular; otros actúan sobre la respiración microbiana o sobre la utilización de metabolitos esenciales.
- 6—Las sales y las proteínas séricas, entre otros factores, pueden reducir la efectividad de un antibiótico, por acciones neutralizantes, adsorbentes o inactivantes.
- 7—Algunos antibióticos, como la Penicilina, son destruidos rápidamente por varias bacterias, mientras que otros son sumamente resistentes a la acción microbiana.
- 8—Las bacterias que son sensibles al antibiótico pueden desarrollar de un modo gradual, resistencia, después de estar en contacto con él durante períodos variables. Los diferen-

tes antibióticos varían grandemente a este respecto.

- 9—La aplicación de los antibióticos en la quimioterapia de las infecciones pueden producir alteraciones notables en la flora bacteriana normal del organismo especialmente en la boca, la faringe y el tubo gastro-intestinal.
- 10—La acción tóxica de los Antibióticos en el hombre y en los animales es muy variable.
- 11—La mayoría de los agentes antibacterianos son potencialmente capaces de determinar varios tipos de reacciones de hipersensibilidad en los pacientes a quienes se les administra.

De los 200 casos presentados en éste trabajo solo fué posible por razones económicas practicar sensibilidad a los antibióticos a 42 cultivos que mostraron crecimiento bacteriano exuberante; los discos empleados para la sensibilidad a los antibióticos (Bacto-Unidisk) traen 8 diferentes clases cada uno con su respectiva cantidad:

Penicilina	5 Unidades.
Streptomycin	5 Mcg.
Eritromicina	5 Mcg.
Cloromicetina	10 Mcg.
Kanamicina	10 Mcg.
Tetraciclina	10 Mcg.
Novobiocina	10 Mcg.
Neomicina	10 Mcg.

La Sensibilidad y la resistencia a los 8 antibióticos empleados se detallan a continuación en el capítulo Estadística.

ESTADISTICA

Los 200 casos examinados fueron divididos en dos grandes grupos: Pacientes que presentaban alguna sintomatología ocular y pacientes completamente asintomáticos.

Entre los primeros se tomaron en cuenta los siguientes, síntomas: Secreción Purulenta, Ardor ocular, Sensación de sequedad, enrojecimiento de las conjuntivas y Prurito.

Los resultados del cultivo de éstos dos grandes grupos fueron los siguientes:

Negativos	55	casos	27.5 %
Staphylococcus albus no Hemolítico coagula- sa Negativa	78	"	39.0 %
Staphylococcus albus no Hemolítico coagula- sa Positiva	7	"	3.5 %
Staphylococcus Aureus no Hemolítico Coagu- lasa Negativa	18	"	9.0 %
Staphylococcus Aureus no Hemolítico coagula- sa Positiva	9	"	4.5 %
Staphylococcus Citreus no Hemolítico Coagu- lasa Negativa	1	"	0.5 %
Micrococcus Tetragenus	1	"	0.5 %
Bacilo de Koch-Weeks	5	"	2.5 %
Bacilo de Morax Axenfeld	24	"	12.0 %
Corynebacterium Xerose	2	"	1.0 %
T O T A L E S	200	casos	100.0 %

Los cultivos hechos a pacientes sintomáticos dieron los siguientes resultados en lo que se refiere a la clase de bacterias que estaban produciendo probablemente dicha sintomatología:

Staphylococcus albus no Hemolítico coagula- sa Negativa	31	casos	31.0 %
Staphylococcus albus no Hemolítico coagula- sa Positiva	6	"	6.0 %
Staphylococcus Aureus no Hemolítico Coagula- sa Negativa	11	"	11.0 %
Staphylococcus Aureus no Hemolítico Coagula- sa Positiva	3	"	3.0 %
Staphylococcus Citreus no Hemolítico coagula- sa Negativa	1	"	1.0 %
Bacilo de Koch-Weeks	1	"	1.0 %
Bacilo de Morax Axenfeld	17	"	17.0 %
Corynebacterium Xerose	1	"	1.0 %
Negativos	29	"	29.0 %
T O T A L E S	100	casos	100.0 %

Los cultivos hechos a pacientes sin ninguna sintomatología dieron los resultados siguientes:

Staphylococcus albus no Hemolítico coagula- sa Negativa	47	casos	47.0 %
Staphylococcus albus no Hemolítico coagula- sa Positiva	1	„	1.0 %
Staphylococcus Aureus no Hemolítico coagula- sa Negativa	7	„	7.0 %
Staphylococcus Aureus no Hemolítico coagula- sa Positiva	6	„	6.0 %
Micrococcus Tetragenus	1	„	1.0 %
Bacilo de Koch-Weeks..	4	„	4.0 %
Bacilo de Morax Axenfeld	7	„	7.0 %
Corynebacterium Xerose	1	„	1.0 %
Negativos	26	„	26.0 %

T O T A L E S 100 casos 100.0 %

La sensibilidad a los antibióticos fué practicada en un grupo menor comparada con el número de casos presentados habiendo sido seleccionados dichos casos por el grado de crecimiento bacteriano en los medios de cultivo.

A continuación exponemos los resultados obtenidos en las diferentes cepas bacterianas.

GRUPO STAPHYLOCOCCUS

Antibiótico	Sensibles	% de Sensibilidad
Kanamicina	18	31.6 %
Tetraciclina	14	24.6 %
Necmicina	11	19.1 %
Estreptomina	6	10.5 %
Cloromicetina	5	8.8 %
Penicilina	1	1.8 %
Eritromicina	1	1.8 %
Novobiocina	1	1.8 %
T O T A L	57	100.0 %

Resistentes a los antibióticos arriba enumerados 4...12.12 %.

CONCLUSIONES

- 1—Se presenta un estudio estadístico en pacientes sintomáticos y asintomáticos de la secreción Lácrimoconjuntival.
- 2—Se pretende con el presente trabajo dar a conocer la diversidad de microorganismos existentes en los fondos de Saco conjuntivales.
- 3—Se encuentran diferentes clases de microorganismos en pacientes asintomáticos que podríamos catalogarlos como «Portadores Sanos».
- 4—Los pacientes sintomáticos fueron tratados de manera selectiva constatando los beneficios de los estudios Cultivo-Baciloscópicos.
- 5—La inclusión de la sensibilidad a los antibióticos en el presente trabajo pretende canalizar la antibioticoterapia local.
- 6—De futuras estadísticas se efectuarán nuevas conclusiones.

Carlos Enrique Bermejo González.

Vo. Bo.
Dr. Wellington Amaya
Asesor.

Vo.Bo.
Dr. José Miguel Medrano.
Revisor.

Vo. Bo.
Dr. Carlos Armando Soto
Secretario.

Imprimase
Dr. Carlos M. Monsón Malice.

BIBLIOGRAFIA

- 1—Zinsser, Tratado de Bacteriología, 1951.
- 2—Houssay, Bernardo A. Fisiología Humana, tercera edición.
- 3—May. Manual de las Enfermedades de los Ojos Decimocuarta edición española.
- 4—Harrison T.R. Medicina Interna Segunda edición en Inglés.
- 5—Testut, L. y Latarjet, A. Tratado de Anatomía Humana Novena edición.
- 6—Kolmer, Spaulding, Robinson, métodos de Laboratorio, quinta edición.