

Lej: 28

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Ciencias



FRECUENCIA DE LA FLORA BACTERIANA ANAEROBIA
EN LA PATOLOGIA INFECCIOSA HUMANA.

T E S I S

Que para obtener el Título de:
B I O L O G O
P r e s e n t a:

OLGA CANSECO ROMAN

México, D. F.

1983



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

- I INTRODUCCION
- II ANTECEDENTES
- III OBJETIVOS
- IV MATERIAL Y METODO
- V RESULTADOS
- VI CONCLUSIONES
- VII DISCUSION
- VIII REFERENCIAS

FRECUENCIA DE LA FLORA BACTERIANA ANAEROBIA EN LA PATOLOGIA INFECCIOSA HUMANA

I INTRODUCCION

La presencia de microorganismos anaerobios estrictos o aerotolerantes en diversas localizaciones anatómicas del organismo humano es conocida como parte de la flora normal. Cuando existen condiciones que favorecen la contaminación de estas zonas o de un tejido que normalmente es aséptico, puede presentarse la infección y como consecuencia el estado de enfermedad el cual puede ser causado por la flora aerobia asociada a la anaerobia y con menos frecuencia por la flora anaerobia exclusivamente. (40)

Esta situación siempre ha existido, pero debido a la "relativa dificultad" de obtener aislamientos en las condiciones de anaerobiosis y microaerofilia, los microbiólogos y los médicos carecen de la información en los estudios de los productos biológicos de sus pacientes. Esta "limitación" es causada por muchos factores, que se inician desde la colección de la muestra, el medio de transporte, tiempo de exposición a la oxigenación antes de la siembra, empleo de medios de cultivo selectivos, uso del equipo adecuado que proporcione el ambiente anaerobio con hidrógeno y bióxido de carbono, tiempo de incubación necesario en el ambiente de anaerobiosis y finalizan con lo laborioso y meticuloso de la identificación de géneros, especies y en algunos casos subespecies de los aislamientos bacterianos.

A pesar de la presencia de estas "dificultades" es necesario y obligado que en el trabajo microbiológico de rutina, se practiquen estudios que permitan obtener microorganismos anaerobios, cuya presencia en el proceso infeccioso del paciente puede llegar a ser de lenta resolución clínica o condicionar a la cronicidad e incluso ser fatal.

II ANTECEDENTES

Berzelius, alrededor de 1837, reconoció que las fermentaciones de los azúcares se verificaban catalíticamente y Pasteur estudiando el mecanismo de tales reacciones observó la existencia de bacterias que aprovechaban la energía liberada en la descomposición de dichos azúcares, no necesitando oxígeno del medio para vivir, quedando así dividida la forma de respiración en aerobia y anaerobia. Fue el mismo Pasteur quien hace más de 100 años hizo la descripción original de las bacterias anaerobias (8).

Más tarde en 1884 los estudios de Loeffler sobre la difteria de terneras revelaron la presencia de bacterias del género Bacteroides como flora asociada; estos organismos fueron aislados y cultivados en los años subsecuentes a partir del tejido necrótico de otros animales. Veillon y Zuber 1897-98 aislaron bacilos Gram negativos anaeróbicos de infecciones humanas tales como: peritonitis, absceso pulmonar, absceso cerebral, así mismo Veillon obtuvo estreptococos anaerobios en las lesiones de angina de Ludwig, absceso perirenal y bartolinitis. (6)

De esta manera se han ido encontrando más casos en los cuales las bacterias anaerobias se ven involucradas en los procesos infecciosos, por lo tanto los hombres de ciencia se han tratado de explicar el mecanismo por el cual los organismos anaerobios son capaces de existir en completa ausencia de un elemento vital para el resto de los seres vivos.

Para aclarar el por qué de la susceptibilidad de las bacterias anaerobias al oxígeno, se ha argumentado simplistamente que la presencia de niveles de oxígeno lleva a la formación metabólica del peróxido de hidrógeno en cual tiene alta toxicidad para los microorganismos. La carencia de catalasa, enzima producida por muchas bacterias para degradar el H_2O_2 se interpreta como una especie de suicidio bacteriano.

Ahora en base a mayores investigaciones se ha dilucidado que esta explicación, en lugar de proveer de una respuesta clara, nos aleja de la real, ya que se ha observado que los grados de tolerancia de las bacterias anaerobias al oxígeno, peróxidos, así como a los diferentes potenciales de óxido - reducción -- (EH) varían. (19, 38, 40).

Se ha demostrado que en ocasiones no hay crecimiento anaerobio aún en presencia de catalasa añadida; también algunos de ellos crecen bien en cultivos que contengan oxígeno puro, si el sistema se conserva electroquímicamente reducido, aún sin catalasa.

La superóxido dismutasa es otra enzima, la cual se considera que juega un papel importante en el metabolismo anaeróbico. El radical O_2^- (superóxido) es formado por la reducción monovalente del oxígeno molecular que es el primer escalón en el metabolismo. La superóxido dismutasa cataliza la formación de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a partir de 2 moles de superóxido.

El radical superóxido es tóxico, y su presencia puede ser la responsable de la letalidad del oxígeno hacia los microorganismos anaerobios.

Los organismos aerobios tienen superóxido dismutasa y catalasa, rompen el H_2O_2 formado por la acción de la superóxido dismutasa, de aquí que el H_2O_2 tenga un nivel poco tóxico. Los anaerobios aerotolerantes, aunque no producen catalasa, elaboran superóxido dismutasa hacia un nivel cercano al 30% de los aerobios, ellos sobreviven porque producen H_2O_2 en muy bajo nivel. Los anaerobios obligados o estrictos no tienen ninguna enzima, y la aereación es casi siempre letal.

Es importante la incorporación de agentes reductantes a los medios microbiológicos para anaerobios porque ayudan a captar el O_2^- del medio, del cual resulta la formación del peróxido -

de hidrógeno (ambos tóxicos).

Al lograr una buena captación de superóxido y su unión con los (H+) del medio se evita la formación del H_2O_2 y se desvía la reacción hacia la formación de agua y oxígeno libre, para el último de los cuales los microorganismos anaerobios tiene una variable aceptación en un medio reducido. Además cuando se añade catalasa se logra un incremento en el potencial de crecimiento del medio para los anaerobios. [19, 27 38].

IMPORTANCIA DE LAS BACTERIAS ANAEROBIAS

Ahora además de que se reconoce a los microorganismos anaerobios como parte de la flora normal del organismo humano, se les confiere una gran importancia debido a las actividades que desempeñan dentro de la fisiología del mismo. Entre estas podríamos citar - la biosíntesis de vitamina K en el intestino a cargo de Bacteroides fragilis asociado con Escherichia coli en una proporción de 1000:1. Además se sabe que varias transformaciones de los ácidos biliares resultan de la acción bacteriana en el intestino, tales como la desconjugación y deshidroxilación, por eso se aprecia -- que alguna función debe tener la flora anaerobia en la absorción de grasas, formación de bilis, regulación del metabolismo del colesterol, que son funciones básicamente desempeñadas por los ácidos biliares. (40).

Por otra parte el dominio numérico de estos microorganismos entre la población autóctona ofrece una gran protección contra la invasión y colonización de los tejidos por bacterias potencialmente patógenas. (40).

Las bacterias anaerobias están confinadas por su fisiología a ciertos sitios y normalmente no pueden migrar para colonizar e invadir otras partes; a través de desplazamiento por traumatización, manipulación o degeneración de este confinamiento ellas pueden establecerse moderadamente o invadir y provocar severas infecciones, en heridas quirúrgicas, procesos instrumentales y facilitar enfermedades degenerativas, tales como carcinoma del intestino .

Como parte de la flora autóctona del suelo, agua y del medio - ambiente externo, las bacterias anaerobias no son un riesgo para el humano o huésped animal sano, sin embargo la introducción de suelo o agua del medio a una herida puede establecer un grave problema de infección anaerobia.

La ingestión de las toxinas preformadas elaboradas por un crecimiento exógeno del microorganismo anaerobio puede dar como resultado una severa enfermedad o muerte del huésped. En resumen, cuando las condiciones para el desarrollo de organismos anaerobios son las adecuadas se presenta el estado de enfermedad. (22,36).

Uno de los factores que influyen para que se presente dicho estado es la alteración en el organismo de los valores de potencial de óxido-reducción (EH). Estos valores normalmente son de + 120mv.; cuando se registran bajas en ellos se da lugar a la multiplicación de los microorganismos anaerobios en tejidos que normalmente están expuestos al aire. (40).

Bajo condiciones de anaerobiosis el sistema de gránulos fagocíticos no funciona efectivamente, la baja en el potencial de EH resultante empeora el suministro de sangre, lo cual causa necrosis en los tejidos y como consecuencia el aumento de bacterias saprofiticas en una herida. (40).

Los factores que pueden predisponer significativamente para una infección por anaerobios son:

- Infección aeróbica primaria
- Disminución en la circulación por enfermedades vasculares
- Presión por suturas y aún por ropas
- Compresión vascular por torniquetes o férulas
- Efecto del frío
- Trauma o edema

- Un factor muy importante común a cualquier proceso infeccioso es la presencia de condiciones causantes de inmunodepresión como :
Diabetes mellitus, arterosclerosis, alcoholismo, etc. (6,40).

Entre los signos clínicos y cuadros patológicos que sugieren una posible infección por anaerobios se encuentra:

- Pus fétido
- Necrosis en los tejidos
- Localización de la infección en la proximidad de superficies mucosas
- Procesos necrotizantes asociados a la circulación deficiente
- Tromboflebitis séptica
- Cuadro clínico sugestivo de infección anaeróbica (aborto séptico, infección posterior a cirugía - abdominal, etc.)
- Previa terapia con antimicrobianos del tipo de - los aminoglicósidos. (6,22,40).

Para que el microbiólogo pueda estar completamente seguro de que como resultado de sus investigaciones ha obtenido un microorganismo anaerobio - estricto, sus cultivos bacteriológicos deben tener las siguientes características:

- No haber desarrollado en presencia de aire
- Los frotis pueden tener morfología única con tinción de Gram
- Crecimiento en el fondo del tubo con medio líquido
- Fetidez que se presenta en ocasiones desde el momento de coleccionar la muestra
- Crecimiento en medios selectivos para anaerobios
- Gas, en ocasiones
- Coloración negra del medio agar gelosa, sangre

de borrego, estos aislamientos pueden presentar fluorescencia roja bajo la luz ultravioleta, en infecciones causadas por Bacteroides melanogenicus y Bacteroides asaccharolyticus. (6,40).

Las enfermedades en las cuales los anaerobios son patógenos importantes son entre otras:

- Abscesos cerebrales
- Otitis media crónica
- Infecciones dentales
- Neumonía secundaria o procesos obstructivos
- Abscesos pulmonares
- Bronquiectasis
- Empiema torácico
- Absceso sinusal
- Abscesos del hígado
- Flebitis
- Peritonitis
- Apendicitis
- Abscesos subfrénicos
- Otros abscesos intra-abdominales . . . (36,38,40).

Las enfermedades causadas por bacterias anaerobias se pueden dividir en base a su origen, de la siguiente manera:

I. Enfermedad de fuente exógena

El botulismo y las gastroenteritis, que son de origen alimentario y las producidas a partir de heridas infectadas como el tétanos, gangrena, celulitis crepitante, infecciones benignas superficiales, infección debida a mordedura animal o humana y aborto séptico (por instrumental contaminado). (6).

II Enfermedades de fuente endógena

Las del sistema nervioso central que incluyen absceso cerebral y meningitis; las localizaciones en la cavidad oral y tracto respirato-

rio que pueden ser infección periodontal, faringitis, absceso pulmonar, empiema, neumonía, infección pulmonar secundaria o proceso obstructivo y bronquiestasis. Los originados en el tracto gastrointestinal, por ejemplo: apendicitis, diverticulitis, colitis, síndrome de mala absorción, infección postquirúrgica, tétanos, gangrena, absceso de cualquier órgano y peritonitis. Las del tracto genito-urinario, - como endometritis, salpingitis, absceso ovárico, sepsis puerperal, - uretritis, nefritis y absceso de riñón. Finalmente infecciones del tipo de bacteremias, endocarditis bacteriana subaguda, osteomielitis, absceso perirectal, otitis media crónica, etc. (4), (6).

III OBJETIVOS

- III.1 *Determinar la incidencia de la asociación entre las bacterias anaerobias facultativas, así como las asociaciones entre las diversas bacterias anaerobias estrictas en padecimientos infecciosos.*
- III.2 *Objetivo complementario es determinar la frecuencia de aislamiento de gérmenes de la flora anaerobia, existentes en procesos infecciosos, en los que clínicamente se sospeche que estén involucrados.*

IV MATERIAL Y METODO

VI.1 Se practicaron 165 estudios bacteriológicos seleccionados clínicamente, de productos biológicos obtenidos de pacientes internados en el Hospital General de México, de la -- S.S.A.; con cualquiera de los procesos infecciosos siguientes:

- Abscesos de miembros superiores e inferiores	77 casos
- Absceso de pared abdominal	16
- Bartolinitis	12
- Herida quirúrgica abdominal	10
- Absceso faríngeo	10
- Endometritis	6
- Absceso mandibular	6
- Escara de decúbito	6
- Secreción de oído	5
- Muñón de muslo	5
- Masa tumoral de cuello	3
- Absceso pulmonar	2
- Peritonitis	1
- Hemocultivo	1
- Líquido sinovial	1
- Fístula de isquión	1
- Secreción torácica	1
- Osteomielitis crónica	1
- Punción transcricoidea	1

T O T A L

165

Los estudios microbiológicos se llevaron a cabo en la Sección de Microbiología y Biodisponibilidad, del Departamento de Investigación del Hospital General de México, de la S.S.A.

IV.2 La toma de muestras para la búsqueda e identificación de aerobios y anaerobios se efectuó con cualquiera de las siguientes dos formas :

IV.2.1. La primera, cuando existían lesiones expuestas, consistió en tomar exudados por medio de un raspado de la zona afectada, previa limpieza a fondo con solución salina estéril. Dicho raspado se efectuó con un hisopo estéril que se introdujo en un tubo con medio de transporte semi sólido especial para anaerobios, Cary and Blair modificado (PRAS), el cual fue guardado al medio ambiente sin refrigerar. -- Fig. 1 .

Medio Cary y Blair modificado	(PRAS) Semi Sólido
Medio Cary y Blair BBL	2.5 g.
Solución 1% de cloruro de calcio	1.8 ML.
Hidrocloruro de L-cisteína	.1 g.
Agua destilada	198.0 ML.

IV.2.2. La segunda muestra, de colecciones purulentas, se obtuvo por punción en la zona afectada con una jeringa estéril y su contenido se colocó en el medio de transporte líquido específico para anaerobios caldo PRAS (PV). Fig. 1.

CALDO PRAS (PV)

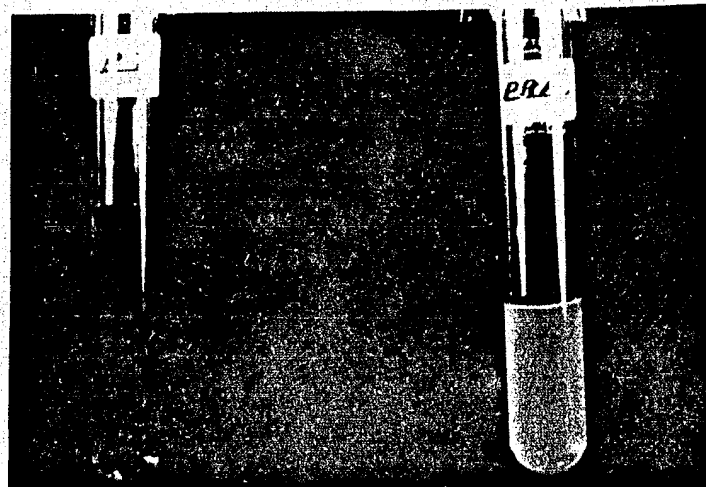
Peptona	1.0 g.
Extracto de levadura	1.0 g.
Agua destilada	100.0 ML.
Cloruro de L-cisteína	.05 g.
Solución de sales VPI*	4.0 ML.

FIGURA No. 1

Medios de Transporte utilizados

PV Líquido

Semi
Pras (Sólido)



***SOLUCION DE SALES VPI**

Cloruro de calcio anhidro	0.2 g.
Sulfato de magnesio anhidro	0.2 g.
Fosfato depotásico	1.0 g.
Fosfato monopotásico	1.0 g.
Bicarbonato de sodio	10.0 g.
Cloruro de sodio	2.0 g.

IV.3 Los productos en el laboratorio siguieron una marcha bacteriológica común; ambas se trabajaron en aerobiosis y anaerobiosis.

IV.3.1. Identificación de bacterias aerobias (Esquema No. 1).

Las bacterias, ya fueran del medio sólido PRAS o líquido - PV, se sembraron en los siguientes medios de cultivo:

En medio líquido de tioglicolato con dextrosa y con indicador (C/C) y sólidos, agar gelosa sangre, agar MacConkey y sal agar de manitol; se dejaron incubando a una temperatura de 37°C durante 24 hrs.; pasando este tiempo se revisaron y se hizo la resiembra del tioglicolato C/C en agar gelosa - sangre, agar MacConkey y sal agar de manitol. A las colonias que resultaron de las siembras de los medios sólidos se les practicó la identificación correspondiente. Con la técnica de Gram si se trataba de cocos Gram positivos en racimos tétradas o cadenas se les sometía a las siguientes pruebas para la identificación de géneros y especies: la catalasa, si ésta era negativa el microorganismo correspondía al género - Streptococcus Aerococcus y para identificar la especie se aplicaron las siguientes pruebas metabólicas: Bilis esculina, susceptibilidad a optoquina, crecimiento en infusión cerebro corazón (BHI) + NaCl 6.5%, susceptibilidad a bacitracina, arginina dehidrolasa, fermentación de sorbitol, manitol, trehalosa, lactosa, rafinosa y arabinosa, hemólisis y Vo-

ges Proskauer. Cuando la susceptibilidad optoquina resultaba positiva, se trataba de un Streptococcus pneumoniae y si era negativa podría ser cualquier otro streptococo. Cuando el resultado de la catalasa era positivo, se hacía la prueba en medio de OF glucosa; si en éste se llevaba a cabo una reacción de oxidación, nos indicaba que se trataba de un Micrococcus y para identificar la especie se aplicaban las siguientes pruebas: reducción de nitratos a nitritos ($\text{NO}_3 - \text{NO}_2$), - formación de pigmento, glucosa aeróbica; si la reacción que se llevaba a cabo en el OF glucosa daba como resultado una fermentación, nos indicaba que se trataba de un Staphylococcus y para conocer la especie se aplicaron las pruebas metabólicas siguientes: coagulasa, DNA asa, hemólisis, fermentación de trehalosa, manitol y maltosa.

A los bacilos entéricos Gram negativos se les identificó con urea de Christensen. SIM, Kligler, citrato de Simmons, arginina dehidrolasa, ornitina descarboxilasa, lisina descarboxilasa, fermentación de arabinosa, inositol y adonitol, malonato y Voges Proskauer .

Para la identificación de otros bacilos Gram negativos se aumentaron a los anteriores : indofenol oxidasa, OF glucosa, - OF lactosa, OF maltosa, pigmento en medio de pseudomonas F. pigmento en medio de pseudomonas P, hidrólisis de gelatina; esto cuando se trataba de pseudomonas pigmentadas. Pero cuando se trataba de pseudomonas apigmentadas, se usaban las pruebas comunes, más las de indofenol oxidasa, OF glucosa, OF lactosa, OF maltosa, OF fructosa, OF galactosa, OF manitol, hidrólisis de gelatina, reducción de nitratos o nitritos, acetato con MBM (mineral base medium), hidrólisis de esculina.

Después de la identificación o al mismo tiempo si estaba pura, se sometió a la colonia bacteriana a una prueba de susceptibilidad por el método de dilución seriada en tubo (DST), en el cual se puso al microorganismo en cuestión frente a diferentes valores de concentración de varios antimicrobianos; para llevar a cabo esto fue necesario primero hacer un inóculo, colocando cuatro o cinco colonias perfectamente aisladas en 2 ml. de caldo Muller Hinton (CMH) y se incubó a 37°C durante aproximadamente cuatro horas; transcurrido este tiempo se observó su turbidez y se estandarizó con la de un patrón de cloruro de bario y agua al 1.17% ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), que corresponde a la presencia de 1×10^5 unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ML.).

Las concentraciones que se emplearon en DST fueron:

		(mcg/ml)
Ampicilina	de 100	- a 0.39
Cloranfenicol	80	- 0.312
Gentamicina	20	- 0.078
* Dicloxacilina	80	- 0.312
** S + T	100	- 0.39
Carbenicilina	200	- 0.78

* Solamente para casos de Gram positivos

** Sulfametoxazol trimetoprim

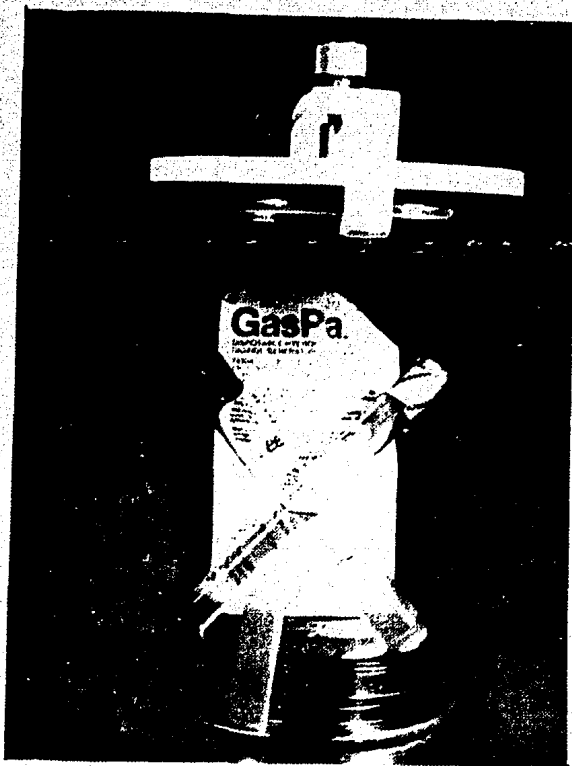
Una vez realizada la DST pudimos conocer la concentración inhibitoria mínima (CIM), es decir la mínima concentración del antimicrobiano capaz de inhibir el desarrollo bacteriano.

IV.3.2. Búsqueda de bacterias anaerobias.

Al mismo tiempo que la muestra fue sembrada en aire en los medios arriba mencionados, se sembró en tioglicolato con dextrosa y sin indicador (C/S) y en una placa de agar gelosa sangre hemina-menadiona (ASHM); ambas se incubaron en la jarra de anaerobiosis Sistema Gaspak 60475 (Fig. No. 2) a 37°C durante 48 horas como mínimo; después de este tiempo se revisó la caja de gelosa sangre y su contenido se comparó con el de las cajas de cultivo inicial en aire. Cuando la morfología colonial vista al microscopio estereoscópico difería, entonces las colonias diferentes se sembraban tanto en aire como en anaerobiosis en cajas previamente cuadrículadas de gelosa sangre (ASHM) y se colocaba un tipo colonial en cada cuadrado.

A las 24 horas se revisaba la caja cuadrículada que había sido puesta en aire; si había crecimiento de todas o de algunas de las colonias se descartaba la posibilidad de que fueran anaerobios y para saber si las colonias que no habían crecido lo eran se esperaba hasta las 48 horas y se sacaban los medios metidos en la cámara de anaerobiosis, se revisaban la caja de agar gelosa sangre cuadrículada, y si solamente se encontraba crecimiento en anaerobiosis se hacía un inóculo; es decir se pasaba a cada colonia que solamente hubiera crecido en anaerobiosis a un tubo con tioglicolato C/S previamente reducido y enfriado que se metía a la jarra de anaerobiosis de nuevo dejándolo incubando a 37°C hasta 72 horas; por último se llevaba a identificación con las pruebas metabólicas específicas las cuales se mencionarían posteriormente.

SISTEMA GAS-PAK (60465)



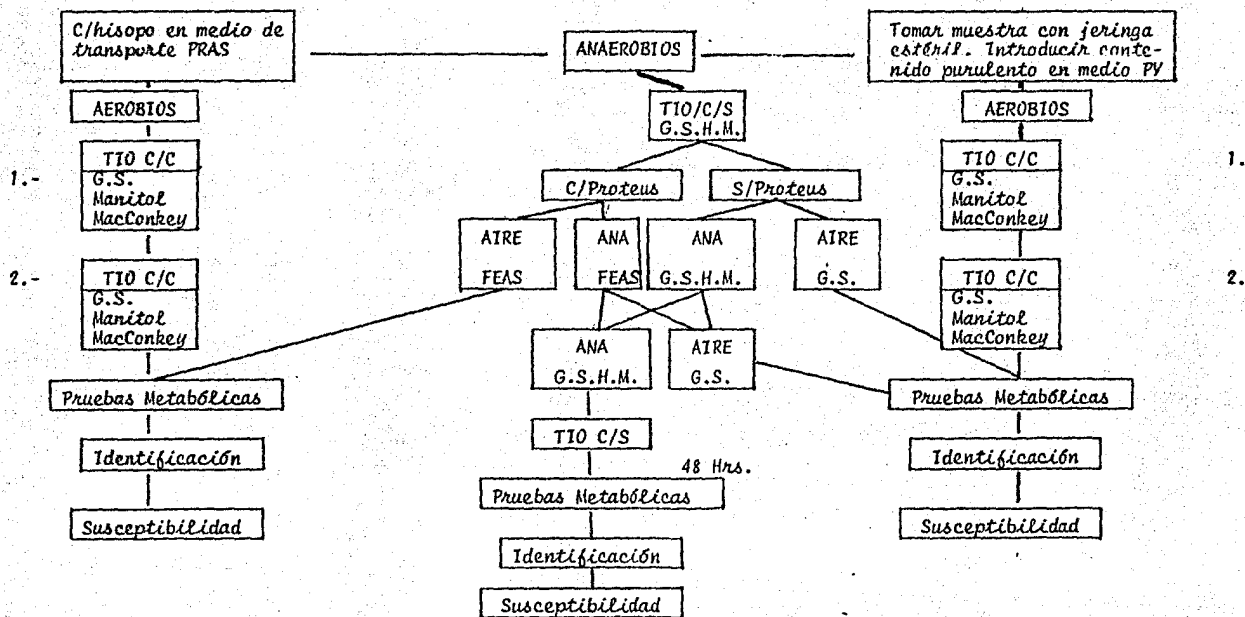
Jarra anaeróbica que utiliza un sobre generador de H_2 y CO_2 , el H_2 se combina con el O_2 del interior de la jarra, mediante un catalizador de paladio generalmente frío para formar agua. La reducción se lleva a cabo en una o dos horas, contiene una tira de papel filtro impregnada de azul de metileno que al virar nos indica que la reducción se ha logrado.

Si como resultado del cultivo inicial encontrabamos *Proteus* la resiembra del tioglicolato C/S en anaerobiosis se hacía el fenil estanol agar sangre de borrego, (FEAS) y la aeróbica en MacConkey, manitol, tergitol y FEAS.

Al mismo tiempo que se metía la caja de agar gelosa sangre cuadrículada, si no se encontraba *Proteus* en el estudio inicial se resembraba al tioglicolato C/S tanto aeróbica como anaeróticamente; aeróticamente en gelosa sangre, MacConkey, manitol, y si después de 24 horas en incubación a 37°C se encontraba colonias diferentes a las que anteriormente habían sido identificadas en el cultivo inicial en aire, -- se llevaba a estas nuevas colonias inmediatamente a identificación usando las pruebas metabólicas para organismos aerobios. Anaeróticamente en gelosa sangre hemina-menadiona - levadura y si sólo en este caso se encontraba colonias ya se sospechaba de un anaerobio involucrado. Para confirmar este hallazgo se hacía una nueva resiembra tanto en aerobiosis como en anaerobiosis en gelosa sangre. Si el crecimiento se registraba sólo en ambiente anaeróbico ya podíamos -- asegurar que se trataba de un anaerobio estricto, por lo -- cual la siguiente resiembra se hacía sólo en anaerobiosis, en tioglicolato C/S; después de 48 horas incubados a 37°C se sacaban los tubos listos ya para ser llevados a identificación de géneros y especies la cual se realizaba en el medio reducido de tioglicolato sin dextrosa y sin indicador (S/S) adicionado de los nutrientes requeridos. Las pruebas de --- susceptibilidad fueron realizadas en el medio de caldo Brucella. (Esquema No. 1).

ESQUEMA No. 1

DIAGRAMA DE FLUJO O MARCHA BACTERIOLÓGICA



- TIO C/C = Tioglicolato con dextrosa y con indicador
- TIO S/S = Tioglicolato sin dextrosa y sin indicador
- G.S.H.M. = Gelosa sangre hemina-menadiona

- TIO C/S = Tioglicolato con dextrosa y sin indicador
- G.S. = Gelosa sangre de borrego
- FEAS = Fenil etanol agar sangre

U.3.2.1. La identificación dependió de las pruebas metabólicas que fueron seleccionadas según la observación microscópica que presentaban los microorganismos anaerobios en la tinción de Gram.

Si se trataba de bacilos Gram positivos se hacía un frotis teñido con Schaeffer-Fulton o verde de malaquita, para determinar si se trataba de un bacilo esporulado o no esporulado; si eran bacilos esporulados se les sometía a las siguientes pruebas metabólicas: crecimiento aeróbico, posición de las esporas que podían ser subterminales (ST) o terminales (T), motilidad, lecitinasa, lipasa, (las dos últimas en agar yema de huevo), fermentación de glucosa, manitol, lactosa, sacarosa, maltosa, xilosa, arabinosa, (los azúcares en base de tioglicolato S/S, añadido con heminamenadiona y levadura), previamente reducido y enfriado, glicerol, caldo indol, hidrólisis de esculina, hidrólisis de gelatina y utilización de la leche. (tabla No. 1a).

Si se observaban bacilos Gram positivos no esporulados las pruebas a las que se les sometía eran: tolerancia al oxígeno, motilidad, fermentación de glucosa, manitol, lactosa, sacarosa, maltosa, salicina, xilosa, arabinosa (los azúcares en base de tioglicolato S/S, añadido con heminamenadiona y levadura), glicerol, hidrólisis de esculina, hidrólisis de gelatina, reducción de nitratos a nitritos, caldo indol, utilización de la leche catalasa. (tabla No. 1b).

En caso de tratarse de bacilos Gram negativos se aplicaron las siguientes pruebas: crecimiento en bilis de buey al 20%, formación de pigmento, caldo indol, lipasa y lecitinasa, (las últimas en agar yema de huevo), caldo urea, fermentación de glucosa, arabinosa, fructosa, maltosa, lactosa, ramosa, salicina, manosa, sacarosa, trehalosa y xilosa, (en base tioglicolato S/S), hidrólisis de esculina y licuación de la gelatina. (tabla 1c).

Cuando se observaban bacilos Gram negativos fusiformes se

realizaban las pruebas metabólicas siguientes: crecimiento en bilis al 20%, caldo indol, hidrólisis de esculina, fermentación de la glucosa, fructosa y manosa (tabla 1 d).

Por último si se observaban cocos ya sea Gram positivos o Gram negativos las pruebas utilizadas fueron: catalasa, -caldo indol, reducción de nitratos a nitritos, licuación de la gelatina, fermentación de celobiosa, glucosa, lactosa, fructosa, maltosa y sacarosa (los azúcares en base de tioglicolato S/S con hemina-menadiona y levadura) e hidrólisis de esculina. (tabla No. 1e).

TABLA No. 1 a
CLOSTRIDIUM

MICROORGANISMOS	CRECIMIENTO AEROBIO	ESPORAS	MOTILIDAD	LECTINASA	LIPASA	GLUCOSA	MANITOL	LACTOSA	SACAROSA	MALTOSA	SALICINA	GLICEROL	XILOSA	INDOL	HIDROLISIS DE ESCULINA	HIDROLISIS DE GELATINA	LECHE	ARABINOSA
<i>C. bifermentans</i>	-	ST	+	+	-	A	-	-	-	A	V	V	-	+	V	+	CD	-
<i>C. botulinum</i> A	-	ST	+	-/+	+	A	-	-	-	A/-	-/A	V	-	-	+	+	CD	-
B	-	ST	+	-	+	A	-	-	-/A	A	-/A	-/A	-	-	+/-	+	(C) (D)	-
C	-	ST	+	-	+	A	-	-	-/A	V	-	-/A	-	-	-	V	NC (C)	-
D	-	ST	+	-	+	A	-	-	-	V	-	V	-	-	V	V	NC	-
E	-	ST	+	-/+	+	A	-	-	A	A	-	V	-	-	-	-/+	NC	-
F	-	ST	+	-	+	A	-	-	V	A	V	V	-	-	V	V	(C) (D)	-
<i>C. botyricum</i>	-	ST	+	-	-	A	-	A	A	A	A	A/-	A	-	+	-	C G	A/-
<i>C. cadaveris</i>	-	T	+	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	+	-	V	C G	-
<i>C. chauvoei</i>	-	ST	+	-	-	A	-	A	A/-	A	-	-	-	-	+/-	+/-	(C)	-
<i>C. difficile</i>	-	ST	+	-	-	A	A	-	-	-	A/-	-	V	-	+	V	NC	-
<i>C. histolyticum</i>	+	ST	+	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	CD	-
<i>C. innocuum</i>	-	T	+	-	-	A	A	-/A	A/-	-/A	A	-	-	-	+	-	NC	-
<i>C. limosum</i>	-	ST	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	CD	-
<i>C. novyi</i> A	-	ST	+	+	+	A	-	-	-	A/-	-	A	-	-	V	+	(C) (G)	-
<i>C. paraputrificum</i>	-	T	+	-	-	A	-	A	A/-	A	A	-	-	-	+/-	-	(C) (G)	-
<i>C. perfringens</i>	-	ST	-	+	-	A	-	A	A	A	V	A	-	-	V	+	C G	-
<i>C. ramosum</i>	-	T	-	-	-	A	A/-	A	A	A	A	-	-	-	+	-	(C) (G)	-
<i>C. septicum</i>	-	ST	+	-	-	A	-	A	-	A	A	-	-	-	+	+	(C) (G)	-
<i>C. sordellii</i>	-	ST	+	+/-	-	A	-	-	-	A	-	A/-	-	+	-	+	CD	-
<i>C. sphenoides</i>	-	ST	+	-	-	A	V	A/-	V	A/-	A	-/A	A/-	V	+	-/+	(C) (G)	A/-
<i>C. sporogenes</i>	-	ST	+	-	+	A	-	-	-/A	A	V	V	-	-	+	+	CD	-
<i>C. subterminale</i>	-	ST	+	-/+	=	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-/+	+	CD	-
<i>C. tertium</i>	+	T	+	=	-	A	A	A	A	A	A	=	A/-	-	+	-	(C) (G)	-
<i>C. tetani</i>	-	T	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V	+	NC	-
<i>C. barati</i>	-	ST	-	+	-	A	-	A	A	A	A	-	-	-	+	-	NC	-
<i>C. cochlearium</i>	-	ST	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(C)	-
<i>C. glycolicum</i>	-	ST	+	-	-	A	-	-	-	A	-	V	V	-	-	-	NC	-
<i>C. hemolyticum</i>	-	ST	+	+	+	A	-	-	-	-	-	-	-	V	+	+	D	-
<i>C. malenominatum</i>	-	T	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	NC	-
<i>C. Perene</i>	-	T	-	+	-	A	-	A	A	A	A	-	-	-	+	-	C	-
<i>C. pseudotetanicum</i>	-	T	-	-	-	A	-	A	A	A	A	-	V	-	+	-	CG	-
<i>C. scatologenes</i>	-	T	+	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	(C)	-

Significados :

A = Reacción ácida

C = Coagulación de la leche

D = Digestión de la leche

G = Producción de gas

NC = No coagulación

ST = Subterminal

T = Terminal

A/- = reacción ácida en el 90% de cepas

-/A = reacción negativa en 90% de cepas

+ = reacción positiva en 90 - 100% de

- = reacción negativa en 90 - 100%

-/+ = reacción negativa en 90%

+/1 = reacción positiva en 90% de las cepas

() = Variable

TABLA No. 1 b
BACILOS ANAERÓBIOS GRAM POSITIVOS NO ESPORULADOS

MICROORGANISMOS	TOLERANCIA AL OXÍGENO	MOTILIDAD	GLUCOSA	MANITOL	LACTOSA	SACAROSA	MALTOSA	SALICINA	GLICEROL	RIBOSA	ARABINOSA	HIDROLISIS DE ESCULTINA	HIDROLISIS DE GELATINA	NO ₃ -NO ₂	INDOL	LECHE	CATALASA
<i>Actinomyces israelii</i>	mo An	-	A	V	A/-	A	A	V	-	A/-	V	+/-	-	V	-	(c)	-
<i>Actinomyces naeslundii</i>	F	-	A	-	A/-	A/-	A/-	V	V	-	-/A	+/-	-	+/-	-	(c)	-
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	mo An	-	A	-	A/-	A/-	A	A/-	A/-	V	V	V	-	+	-	(c)	-
<i>Arachmia propionica</i>	mo An	-	A	A	A	A	A	-/A	-/A	-	-	-/+	-/+	+	-	(c)	-
<i>Bifidobacterium eriksonii</i>	An	-	A	V	A	A	A	A	-	A	A	+/-	-	-	-	(c)	-
<i>Eubacterium alactolyticum</i>	An	-	A	A/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Nc	-
<i>Eubacterium lentum</i>	An	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V	-	Nc	-
<i>Eubacterium limosum</i>	An	-	A	A/-	-	-	-	-	-	-	-	V	-	-	-	Nc	-
<i>Propionibacterium acnes</i>	An	-	A	V	-	-	-	-	A	-	-	-	+/-	+	+/-	c(g)	+
<i>Propionibacterium granulosum</i>	o6 An	-	A	-	-	A	A	-/A	A/-	-	-	-	V	-	-	(c)	+/-
<i>Bifidobacterium breve</i>	An	-	A	A	A	A	A	A	-	-	-	V	-	-/+	-	c(g)	-
<i>Bifidobacterium longum</i> ss. Longum	An	-	A	-	A	A	A	-	-	A	A	V	-	-	-	c(g)	-
<i>Lactobacillus catenaforme</i>	An	-	A	-	V	A	V	V	-	-	V	-/+	-	-	-	Nc	-
<i>Propionibacterium arabinosum</i>	fo An	-	A	A	V	A	A	V	A	V	A	+	-	V	-	Nc	V
<i>Propionibacterium avium</i>	An	-	A	-	A	A	A	V	A	-	V	+	+	V	-	(c)	V
<i>Propionibacterium freudenreichii</i> SS <i>freudenreichii</i>	fo An	-	A	-	-	-	-/A	V	A	-/A	A/-	V	-	-	-	Nc	+
<i>Propionibacterium freudenreichii</i> SS. <i>Shermanii</i>	fo An	-	A	-	A	-	-	-/A	A	V	V	-/+	-	-	-	C	+

SIGNIFICADOS :

A = *Reacción ácida*
C = *Coagulación*
G = *Producción de gas*
F = *Facultativos*
M = *Microaerofílicos*
Nc = *No coagulación*
V = *Variable*

An = *Anaeróbicos*
A/- = *Reacción negativa en 90% de las cepas*
-/A = *Reacción negativa en 90% de las cepas*
- = *Reacción negativa en el 90 - 100% cepas*
+ = *Reacción positiva en el 90 - 100% cepas*
-/+ = *Reacción negativa en el 90% de cepas*
+/- = *Reacción positiva en el 90% de cepas*

TABLA No. 1 c
BACTEROIDES

97

MICROORGANISMOS	CREC. EN 20% DE BILIS	PIGMENTO	INDOL	LITPASA	CATALASA	UREASA	ARABINOSA	GLUCOSA	MALTOSA	LACTOSA	RAFANOSA	SALICINA	SUCROSA	TREHALOSA	XILOSA	N. DE ESCULINA	LICUACION LA GELATINA
<i>B. bivius</i>	-	-	-	-			-	+		+		-	-		-	-	+
<i>B. capillosos</i>	+	+	-	-			-	+		-		-	-		-	+	-
<i>B. disiens</i>	-	-	-	-			-	+		-		-	-		-	-	+
<i>B. oralis</i>	-	-	-	-			-	+		+		-	+		-	+	+
<i>B. praeacutus</i>	-	-	-	-			-	-		-		-	-		-	-	+
<i>B. putredinis</i>	-	-	+	-			-	-		-		-	-		-	-	+
<i>B. ruminicola</i> ss. <i>brevis</i>	+	-	-	-			+	+		+		+	+		+	+	+
<i>B. ruminicola</i> ss. <i>ruminicola</i>	+	-	-	-			-	+		+		-	+		V	+	+
<i>B. ureolyticus</i>	-	-	-	-			+	-		-		-	-		-	-	+
<i>B. asaccharolyticus</i>	-	+	+	-			-	-		-		-	-		-	-	+
<i>B. melaninogenicus</i> ss. <i>intermedius</i>	-	+	+	+/-			-	+		-/+		-	V		-	-	+
<i>B. melaninogenicus</i> ss. <i>melaninogenicus</i>	-	+	-	-			-	+		+		-	+		-	+/-	+
Grupo <i>B. fragilis</i>																	
<i>B. distasonis</i>	+		-		+/-			+			V	+	+	+			+
<i>B. fragilis</i>	+		-		+/-			+		-	-	+	-				+
<i>B. ovatus</i>	+		+		-			+		+	+	+	+				+
<i>B. thetaiotaomicron</i>	+		+		+			+		+	-/+	+	+				+
<i>B. uniformis</i>	+		+		-/+			+		-/+	+/-	+	-				+
<i>B. vulgatus</i>	+		-		-			+		+	-/+	+	-				-/+
Grupo <i>B. fragilis</i>																	
<i>B. eggerthii</i>	+		+		-			+	+		+/-	-	-	-			+
<i>B. aplanchnicus</i>	+		+		-			+	-		-	-	-	-			+

V = Variable
+/- = La mayoría positivo
-/+ = La mayoría negativo

TABLA No. 1 d

FUSOBACTERIUM

MICROORGANISMOS	CREC. EN BILIS	INDOL	GLUCOSA	FRUCTOSA	MANOSA	H. DE ESCULINA
<i>F. gonidia formans</i>	-	+	+	-	-	-
<i>F. naviforme</i>	-	-/+	-	-	-	-
<i>F. necrophorum</i>	-	+	-	-	-	-
<i>F. nucleatum</i>	-	+	-	+	-	-
<i>F. russii</i>	-	-	-	-	-	-
<i>F. mortiferum</i>	+	-	+	+	+	+
<i>F. varium</i>	+	+/-	+	+	+	-

+/- = La mayoría positivos

TABLA No. 1 e
COCOS GRAM POSITIVOS

MICROORGANISMOS	CATALASA	INDOL	NO ₃ - NO ₂	ESQUILINA	CELOBIOSA	GELATINA	GLUCOSA	FRUCTOSA	LACTOSA	MALTOSA	SACAROSA
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>		V					+	+			
<i>P. productus</i>				+	+		+	+	+	+	+
<i>P. parvulus</i>				+	+	+	+		+	+	
<i>P. micros</i> *											
<i>Streptococcus constellatus</i>				+	+		+			+	+
<i>S. intermedius</i>				+	+		+		+	+	+
<i>S. morbillorum</i>							+			+	+
<i>Peptococcus asacharolyticus</i>		+									
<i>P. saccharolyticus</i>	+		+				+	+			
<i>P. indolicus</i>		+	+								
<i>P. prevotii</i> *				-/+							
<i>P. magnus</i>						V					

+ = positivos

= negativos

V = variable

-/+ = la mayoría negativos (96%)

* = especies que no pueden identificarse bien

P. magnus es probablemente el mismo *P. anaerobius*

P. prevotii puede ser una variante de *P. asacharolyticus*

S. morbillorum y *S. intermedius* son aerotolerantes después de 1 o más subcultivos.

TABLA No. 1 e
 COCOS GRAM NEGATIVOS

MICROORGANISMOS	CATALASA	INDOL	NO ₃ - NO ₂	LICUACION DE LA GELATINA	CELOBIOSA	GLUCOSA	LACTOSA	FRUCTOSA	MALTOSA	SUCROSA	HIDROLISIS DE ESCULINA
COCOS GRAM NEGATIVOS											
<i>Acidaminococcus fermentans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Megasphaera elsdenii</i>	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-
<i>V. parvula</i>	V	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-

TABLA No. 2

PRUEBAS METABOLICAS UTILIZADAS EN LA IDENTIFICACION
DE LOS ANAEROBIOS AISLADOS

MEDIO	DETERMINACION	LECTURA
Caldo de tioglicolato sin dextrosa y sin indicador adicionado de carbohidratos y levadura.	Fermentación	En la prueba positiva vire del indicador del azul a amarillo. Reacción ácida *
Utilización de la leche	Proteólisis y producción de acidez	C= Coágulo D= Digestión G= Gas.
Caldo Indol Nitrato	Producción de Indol	+ = Coloración roja de la superficie del medio **
Caldo Indol Nitrato	Reducción de nitratos a nitritos	+ = Rojo con A y B *** - = Rojo con Zn. + = No rojo con A y B No rojo con Zn.
Caldo Urea	Producción de Ureasa	+ = Vire del indicador del rosa a morado
Hidrólisis de esculina	Hidrólisis de la hidroxycumarina	+ = Coloración oscura café ****
Hidrólisis de Gelatina	Presencia de gelatina sa	gelatina desnaturalizada licuación del medio
Motilidad	Determina si un microorganismo es móvil o no.	Crecimiento fuera de las picaduras
Catalasa	Presencia de enzima - catalasa	+ = Burbujeo - = No *****

Continúa la tabla No. 1

Lipasa	Presencia de la enzima Lipasa	+ Se observa una iridiscencia lustrosa sobre la superficie de crecimiento. - Hasta después de una semana.
lecitinasa	Producción de Lecitina	+ Zona opaca en el medio al rededor de las colonias.
Crecimiento en Bllis de buey 20%	Capacidad de crecimiento	Se ve turbio

Reactivos :

- * Azul de bromotimol
- ** Reactivo de Kovac's
- *** Reactivo A y B, Zn.
- **** Citrato ferrico amoniacal
- ***** Agua oxigenada (H₂ O₂)

Los reactivos que se usaron para observar las reacciones metabólicas fueron:

De tioglicolato S/S con los diferentes azúcares se usó el azul de bromotimol. Azul de bromotimol 1g. solución de -- Na OH IN 20 ml. H₂O 30 ml.

En la prueba de catalasa se usó el H₂O₂ al 3%.

En la producción de indol el reactivo de Kovac's

- | | |
|--------------------------------|---------|
| a) Alcohol isoanílico | 150 ml. |
| b) p-dimetilamino-benzaldehído | 10 g. |
| c) HCl (concentrado) | 50 ml. |

En la hidrólisis de la esculina el citrato férrico amoniacal al 1%.

En la reducción de nitratos a nitritos se usaron los reactivos A y B (Tabla No. I).

Reactivo A:

1. - naftilamina, 0.5%

Ingredientes :

1. - naftalina, 5 g.
2. Ac. acético (5N) 30% 1000 ml.

Reactivo B ácido sulfanílico 0.8%

- a) Acido sulfanílico (ácido paraaminobenzenosulfónico) 8g.
- b) Acido acético (5N) 30% 1000 ml.

IV.3.2.2. Las pruebas de susceptibilidad para anaerobios se realizan: tomando como inóculo el crecimiento obtenido en el tubo de tioglicolato, el cual había sido incubado previamente durante 72 horas. Se diluyó en caldo Brucella hasta lograr una turbidez visualmente comparable a la de un patrón preparado con 0.5 ml. de Ba Cl₂ 0.048 m. más de 99.5 ml. de H₂SO₄ 0.36 N. equivalente a una absorbancia de -- 0.64% de transmitancia leída a una longitud de onda de -- 600 nm. (mitad del tubo No. 1 del nefelómetro de Mac Farland). Fig. No. 4 .

Las concentraciones en dilución seriada en tubo, para el desarrollo del método con los microorganismos anaerobios fueron las siguientes:

Antimicrobiano	Intervalo de concentración	
	(mg/ml)	UI
Cloranfenicol	de 10 a	0.078
Clindamicina	de 10 a	0.039
* Penicilina	de 10 a	0.078
Metronidazol	de 8 a	0.0312
** ST	de 8 a	0.0312

* Para poder tratar estadísticamente este dato se hizo la conversión de mcg a UI

** Sulfametafazol-trimetoprim (ver tabla No. 2 a, b, c, d, e,)

T A B L A No. 3 a

PREPARACION DE LAS SOLUCIONES PARA EL METODO DE DILUCION
SERIADA EN TUBO

PENICILINA

Potencia biológica 1,660 UI/mg

1 mg = 1000 mcg : 1660 UI = 1000 mcg.

	Nivel hemático = 2 UI (mcg/ml)		concentración	UI (mcg/ml)
SM	10 mg	+	10 ml de H ₂ O	1000
SI	1 ml (SM)	+	9 ml de H ₂ O	100
S1	1 ml (sol 1)	+	9 ml de caldo Brucella	10
S2	5 ml (sol 1)	+	5 ml de caldo Brucella	5
S3	5 ml (sol 2)	+	5 ml de caldo Brucella	2.5
S4	5 ml (sol 3)	+	5 ml de caldo Brucella	1.25
S5	5 ml (sol 4)	+	5 ml de caldo Brucella	0.625
S6	5 ml (sol 5)	+	5 ml de caldo Brucella	0.312
S7	5 ml (sol 6)	+	5 ml de caldo Brucella	0.156
S8	5 ml (sol 7)	+	5 ml de caldo Brucella	0.078

TABLA No. 3 b

CLORANFENICOL

Potencia biológica 990 Ug/mg

Nivel hemático = 10 mcg/ml.

concentración mcg/ml.

SM	20 mg	+	20 ml de metanol	1000
SI	1 ml (SM)	+	9 ml de H ₂ O	100

			ml	(caldo Brucella)	Conc. mcg/ml
S1	1 ml (S1)	+	9 ml		10
S2	5 ml (S1)	+	5 ml		5
S3	5 ml (S2)	+	5 ml		2.5
S4	5 ml (S3)	+	5 ml		1.25
S5	5 ml (S4)	+	5 ml		0.625
S6	5 ml (S5)	+	5 ml		0.312
S7	5 ml (S6)	+	5 ml		0.156
S8	5 ml (S7)	+	5 ml		0.078

T A B L A No. 3 c

METRONIDAZOL

Potencia biológica 1,000 ug/mg

nivel hemático = 10 mcg/ml

				concentración	mcg/ml
SM	10	mg	+	10 ml de agua	1000
SI	.8	ml (SM)	+	9.2 ml de agua	80

	ml (caldo Brucella)			concentración	mcg/ml
S1	1 ml (S1)	+	9		8
S2	5 ml (S1)	+	5		4
S3	5 ml (S2)	+	5		2
S4	5 ml (S3)	+	5		1
S5	5 ml (S4)	+	5		0.5
S6	5 ml (S5)	+	5		0.25
S7	5 ml (S6)	+	5		0.125
S8	5 ml (S7)	+	5		0.0625
S9	5 ml (S8)	+	5		0.0312

T A B L A No. 3 d

Sulfametoxazol - trimetoprim
 Potencia biológica 1,000 ug/mg
 nivel hemático = 32 mcg/ml

			concentración	mcg/ml
SM	10 mg (pot. real)	+	10 ml de H ₂ O	1000
SI	.8 ml (SM)	+	9.2 ml de H ₂ O	80

	ml (caldo Brucella)		concentración	mcg/ml
S1	1 ml (SI)	+	9	8
S2	5 ml (Sol 1)	+	5	4
S3	5 ml (sol 2)	+	5	2
S4	5 ml (sol 3)	+	5	1
S5	5 ml (sol 4)	+	5	0.5
S6	5 ml (sol 5)	+	5	0.25
S7	5 ml (sol 6)	+	5	0.125
S8	5 ml (sol 7)	+	5	0.625
S9	5 ml (sol 8)	+	5	0.312

PREPARACION DE LAS SOLUCIONES PARA EL METODO DE DILUCION
SERIADA EN TUBO .

CLINDAMICINA

Potencia biológica 776 Ug/mg

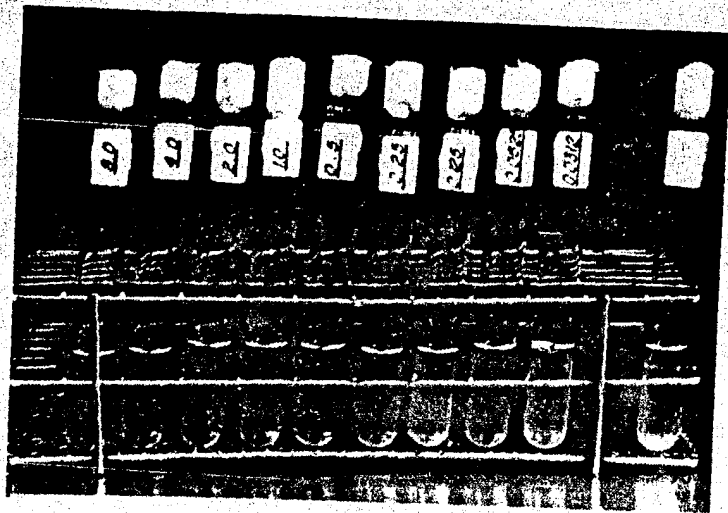
nivel hemático = 2 mcg/ml

				Concentración	mcg/ml
SM	10 mg		+	10 ml de H ₂ O	1000
SI	1 ml	(SM)	+	9 ml de H ₂ O	100

				ml (caldo Brucella)	concentración	mcg/ml
S1	1 ml	(sol 1)	+	9		10
S2	5 ml	(sol 1)	+	5		5
S3	5 ml	(sol 2)	+	5		2.5
S4	5 ml	(sol 3)	+	5		1.25
S5	5 ml	(sol 4)	+	5		0.625
S6	5 ml	(sol 5)	+	5		0.312
S7	5 ml	(sol 6)	+	5		0.156
S8	5 ml	(sol 7)	+	5		0.078
S9	5 ml	(sol 8)	+	5		0.039

FIGURA No. 3

DILUCION SERIADA EN TUBO



Dilución seriada en tubo : Aquí se puede leer la concentración inhibitoria mínima, CIM

V. RESULTADOS

V.1. De las 165 muestras tomadas hubo desarrollo de microorganismos en 156, lo cual corresponde a 94.54% (tabla No. 4); en 91 de estos casos desarrollaron sólo bacterias aerobias, lo que constituye un 58.33% (tabla No. 5), 54 mostraron desarrollo tanto de bacterias aerobias como de anaerobias equivalente a 34.61% (tabla No. 6).

Por último los casos en los que sólo desarrollaron bacterias anaerobias fueron 11, es decir un 7.05% (tabla No. 7).

En cuanto a los géneros de bacterias anaerobias con cierta importancia clínica, se encontró que hubo predominio de *Peptostreptococcus* con 33 aislamientos un 31.13%, siguiéndole en orden descendente *Bacteroides* con 23 (21.69%), *Peptococcus* con 21 (19.81%) *Clostridium* con 14 (13.20%), *Fusobacterium* con 8 (7.54%), *Propionibacterium* con 3 (2.83%), *Veillonella* con 2 (1.88%), *Actinomyces* con 1 (0.94%), *Eubacterium* con 1 (0.94%), haciendo un total de 106 aislamientos repartidos en 9 géneros. Con respecto al total de bacterias aisladas, las bacterias anaerobias ocuparon un 24.70% (tabla No. 8). Los géneros aerobios encontrados fueron 19 con un número total de aislamientos de 323 lo cual forma un 75.29% del total de bacterias aisladas que fue de 429 (tabla No. 8).

En la tabla número 9 se presenta una relación de frecuencia de aislamientos de acuerdo a la morfología tintorial de Gram, tanto de las bacterias aerobias como de las anaerobias.

Con respecto a la susceptibilidad de los aislamientos de bacterias anaerobias, se encontró por el método de dilución seriada en tubo que los cocos Gram positivos se inhibieron en mayor número a la concentración de 0.625 UI/ml de penicilina; de un total de 56 aislamientos se inhibie-

ron 23 lo que constituyó un 41.0% del total (tabla No. - 10a).

Los cocos Gram negativos fueron sólo 2, uno de ellos fue susceptible a 2.5 UI/ml. y el otro a 0.316 UI/ml de penicilina. (tabla No. 10a).

En cuanto a los bacilos Gram positivos esporulados se encontró mayor susceptibilidad a la concentración de 0.316 UI/ml de penicilina; con 8 aislamientos inhibidos, de un total de 14 que corresponde a 57.14% (tabla 10a). Los bacilos Gram positivos no esporulados correspondieron a 5 aislamientos, de los cuales 2 fueron susceptibles a 1.25, 1 a 0.316 y 1 a 0.625 UI/ml de penicilina (tabla No. 10a).

El número de aislamientos de los bacilos Gram negativos - susceptibles, fue mayor a la concentración de 0.316 UI/ml de penicilina, ya que de 29, 13 resultaron susceptibles, es decir un 44.82% (tabla No. 10a).

La susceptibilidad a cloranfenicol fue como sigue:

Los cocos Gram positivos fueron mayormente susceptibles a 0.625 mcg/ml, ya que de 56 casos se inhibieron 21, lo que constituyó un 37.5% (tabla No. 10b). Los bacilos Gram positivos esporulados mostraron susceptibilidad a 0.625 y - 0.316 mcg/ml. Cada uno con 5 aislamientos inhibidos, de - un total de 14 aislamientos (tabla No. 10b).

La susceptibilidad de los bacilos Gram positivos no esporulados fue mayor a 0.625 mcg/ml y a 0.316 mcg/ml con 2 - aislamientos de cada uno y 1 aislamiento susceptible a -- 0.078 mcg/ml (tabla No. 10b). Los bacilos Gram negativos mostraron mayor susceptibilidad a 0.316 mcg/ml. con 12 -- aislamientos inhibidos de 29, es decir un 41.37% (tabla - No. 10b).

Para sulfametoxazol-trimetoprim, los cocos Gram positivos mostraron mayor susceptibilidad a las concentraciones de 0.5 y 0.25 mcg/ml con 17 aislamientos inhibidos de cada uno (30.35%), de un total de 56. Se lograron 2 aislamientos de cocos Gram negativos, uno de ellos fue susceptible a 2.0 y el otro a 0.25 mcg/ml.

Los bacilos Gram positivos esporulados mostraron susceptibilidad a 0.5 y a 0.125 mcg/ml con 5 aislamientos inhibidos cada uno (35.71%).

Los bacilos Gram positivos no esporulados mostraron ser susceptibles a 0.5 mcg/ml. con 4 aislamientos de un total de 5 (80%).

La susceptibilidad de los bacilos Gram negativos fue mayor a 0.25 mcg/ml con 13 aislamientos inhibidos de 29 (44.82%) (tabla No. 10c).

El metronidazol mostró los siguientes resultados:

En cocos Gram positivos, a la concentración de 0.25 mcg/ml, de 56 aislamientos se inhibió a 18, lo que da un 32.14%.

Los cocos Gram negativos fueron mayormente susceptibles --

a 0.25 y 0.125 mcg/ml.

5 aislamientos de bacilos Gram positivos esporulados fueron susceptibles a 0.5 mcg/ml de un total de 14 (35.71%).

La concentración 0.125 fue más eficaz para inhibir a los ba cilos Gram positivos no esporulados ya que inhibió 3 aislamientos de 5 (60.0%).

12 bacilos Gram negativos fueron inhibidos a la concentración de 0.25 mcg/ml; el total fue de 29 por lo que constituyó el 41.38% (tabla 10 d).

La clindamicina inhibió más eficazmente a las siguientes concentraciones :

Cocos Gram positivos a 0.078 con 23 aislamientos inhibidos de 56 (41.07%).

Cocos Gram negativos con 2 aislamientos uno susceptible a 0.156 y otro a 0.078 mcg/ml.

Los bacilos Gram positivos esporulados a 0.312 mcg/ml. con 5 aislamientos inhibidos de un total de 14 (35.71%).

Los bacilos Gram positivos no esporulados a 0.39 mcg/ml - con 3 aislamientos inhibidos de 5 (60%).

Por último los bacilos Gram negativos que fueron un total de 29. A la concentración de 0.039 mcg/ml. se inhibieron - 13 (44.82%).

En la tabla No. 11 se muestra la proporción de aislamientos de los microorganismos anaerobios susceptibles a los antimicrobianos.

Por medio de los porcentajes acumulados de aislamientos in hibidos y las concentraciones de cada uno de los antimicrobianos (contenidas en esa tabla), se obtuvieron las gráficas 1, 2, 3, 4 y 5 . Las cuales muestran el comportamiento de los antimicrobianos. La barra en color indica el nivel hemático; es decir la máxima concentración que puede llegar a alcanzar el antimicrobiano en sangre del paciente, cuando se prescribe a dosis terapéuticas.

En cada una de las gráficas se puede observar que la concentración inhibitoria mínima encontrada fue menor que el nivel hemático, es decir que la inhibición - correspondió en todos los casos al 100% .

TABLA No. 4

TIPO DE MUESTRA	No. de casos positivos
Abscesos de miembros superiores e inferiores	71 casos
Abscesos de pared abdominal	15
Bartolinitis	12
Herida quirúrgica abdominal	9
Abscesos faríngeos	11
Escara decúbito	7
Abscesos de mandíbula	6
Endometritis	5
Secreción ótica	5
Huñón de muslo	5
Masa tumoral de cuello	3
Absceso pulmonar	2
Peritonitis	1
Líquido sinovial	1
Fístula de izquión	1
Secreción de torax	1
Ostiomielitis crónica	1
T O T A L	165 Porcentaje 94.54%

De los 165 casos trabajados sólo 9 resultaron negativos tanto para aerobiosis como para anaerobiosis.

TABLA No. 5

CASOS EN LOS QUE SOLO SE ENCONTRÓ BACTERIAS AEROBIAS

TIPO DE MUESTRA	No. MUESTRAS	BACTERIAS AEROBIAS	No. AISLAMIENOS
Abscesos de miembros superiores e inferiores	41	<u>Staphylococcus aureus</u>	13
		<u>Escherichia coli</u>	9
		<u>Proteus vulgaris</u>	7
		<u>Proteus mirabilis</u>	7
		<u>Citrobacter freundii</u>	7
		<u>Enterobacter cloacae</u>	4
		<u>Streptococcus grupo D no enterococo</u>	7
		<u>Staphylococcus epidermidis</u>	5
		<u>Klebsiella ozaenae</u>	4
		<u>Bacillus sp</u>	2
		<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	2
		<u>Citrobacter amalonaticus</u>	2
		<u>Staphylococcus haemolyticus</u>	2
		<u>Morganella morganii</u>	2
		<u>Enterobacter agglomerans</u>	2
		<u>Serratia rubidaea</u>	2
		<u>Providencia stuartii</u>	1
		<u>Citrobacter diversus</u>	1
		<u>Serratia marcescens</u>	1
		<u>Streptococcus agalactiae</u>	1
		<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	1
<u>Streptococcus equisimilis</u>	1		
<u>Pseudomonas putrefaciens</u>	1		
<u>Klebsiella oxytoca</u>	1		
<u>Pseudomonas pátida</u>	1		
<u>Pseudomonas pseudomallei</u>	1		
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	1		
<u>Enterobacter gergoviae</u>	1		

TOTAL

89

CONTINUA TABLA No. 5

Casos en los que sólo se encontró bacterias aerobias

TIPO DE MUESTRA	No. MUESTRA	BACTERIAS AEROBIAS	No. AISLAMIENTOS
Abscesos faríngeos	9	<u>Staphylococcus aureus</u>	5
		<u>Streptococcus</u> \sphericalangle <u>hemolítico grupo viridans</u>	3
		<u>Escherichia coli</u>	2
		<u>Klebsiella pneumoniae</u>	2
		<u>Branhamella catarrhalis</u>	1
		<u>Streptococcus sanguis I</u>	1
		<u>Pseudomonas stutzeri</u>	1
		TOTAL	15
Abscesos de pared abdominal	8	<u>Escherichia coli</u>	5
		<u>Klebsiella ozaenae</u>	2
		<u>Proteus vulgaris</u>	2
		<u>Staphylococcus aureus</u>	1
		<u>Bacillus sp.</u>	1
		<u>Staphylococcus epidermidis</u>	1
		<u>Klebsiella pneumoniae</u>	1
TOTAL	13		
Bartolinitis	6	<u>Escherichia coli</u>	4
		<u>Staphylococcus epidermidis</u>	3
		<u>Staphylococcus aureus</u>	2
		<u>Hafnia alvei</u>	1
		<u>Streptococcus grupo D no enterococo</u>	1
		<u>Bacillus sp.</u>	1
		<u>Proteus vulgaris</u>	1
		<u>Proteus mirabilis</u>	1
TOTAL	14		
Herida quirúrgica abdominal	5	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	2
		<u>Pseudomonas mendocina</u>	2
		<u>Escherichia coli</u>	2
		<u>Proteus mirabilis</u>	1
		<u>Staphylococcus aureus</u>	1
		<u>Streptococcus grupo D no enterococo</u>	1
		<u>Proteus vulgaris</u>	1
		<u>Klebsiella oxytoca</u>	1
TOTAL	11		
TOTAL	48	TOTAL	53

CONTINUA TABLA No. 5

Casos en los que sólo se encontró bacterias aerobias

TIPO DE MUESTRA	No. MUESTRAS	BACTERIAS AEROBIAS	No. AISLAMIENTOS
Secreción ótica	5	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	2
		<u>Streptococcus grupo D no enterococo</u>	1
		<u>Staphylococcus aureus</u>	1
		<u>Proteus mirabilis</u>	1
TOTAL			5
Escara decúbito	4	<u>Proteus mirabilis</u>	3
		<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	2
		<u>Enterobacter aerogenes</u>	1
		<u>Escherichia coli</u>	1
		<u>Staphylococcus aureus</u>	1
Muñón de muslo	4	<u>Escherichia coli</u>	2
		<u>Staphylococcus aureus</u>	1
		<u>Staphylococcus epidermidis</u>	1
Absceso mandibular	2	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	1
		<u>Streptococcus α hemolítico grupo viridans</u>	1
		<u>Klebsiella oxytoca</u>	1
Abscesos pulmonares	2	<u>Citrobacter freundii</u>	1
		<u>Enterobacter cloacae</u>	1
		<u>Streptococcus α hemolítico grupo viridans</u>	1
		<u>Escherichia coli</u>	1
		<u>Klebsiella oxytoca</u>	1
Masa tumoral de cuello	1	<u>Micrococcus luteus</u>	1
Peritonitis	1	<u>Escherichia coli</u>	1
Líquido sinovial	1	<u>Achromobacter odorans</u>	1
Fístula de izquión	1	<u>Proteus mirabilis</u>	1
		<u>Escherichia coli</u>	1

CONTINUA TABLA No. 5

CASOS EN LOS QUE SOLO SE ENCONTRO BACTERIAS AEROBIAS

<i>Osteomyelitis crónica</i>	1	<i>Proteus mirabilis</i>	1
	<hr/>	<i>Staphylococcus aureus</i>	1
	22	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1
TOTAL	91	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1
			<hr/>
			4
			<hr/>
PORCENTAJE 58.33%		TOTAL	176

TABLA No. 6

casos en los que aislaron tanto bacterias aerobias como anaerobias

TIPO DE MUESTRA	No. DE MUESTRA	BACTERIAS AEROBIAS	No.	BACTERIAS ANAEROBIAS	No. AISLAMIENOS
Abscesos de miembros sup. e inf.	25	<u>Escherichia coli</u>	11	<u>Bacteroides melaninogenicus</u>	8
		<u>Staphylococcus aureus</u>	8	<u>Peptostreptococcus anaerobius</u>	8
		<u>Proteus mirabilis</u>	7	<u>Peptococcus asaccharolyticus</u>	3
		<u>Staphylococcus epidermidis</u>	7	<u>Peptostreptococcus productus</u>	3
		<u>Klebsiella pneumoniae</u>	3	<u>Peptostreptococcus micros</u>	6
		<u>Klebsiella Ozaenae</u>	3	<u>Clostridium sphenoides</u>	1
		<u>Morganella morganii</u>	2	<u>Peptococcus magnus</u>	1
		<u>Klebsiella oxutoca</u>	4	<u>Fusobacterium russii</u>	1
		<u>Streptococcus D no enterococo</u>	2	<u>Bacteroides praeacutus</u>	2
		<u>Streptococcus hemolyticus v.</u>	7	<u>Fusobacterium naviforme</u>	1
		<u>Serratia marcescens</u>	2	<u>Clostridium cochlearium</u>	1
		<u>Citrobacter freundii</u>	2	<u>Clostridium subterminale</u>	1
		<u>Enterobacter aerogenes</u>	3	<u>Clostridium sp.</u>	1
		<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	1	<u>Peptococcus sp.</u>	1
		<u>Bacillus sp.</u>	1	<u>Propionibacterium acnes</u>	1
		<u>Enterobacter sakazaki</u>	1	<u>Bacteroides fragilis</u>	1
		<u>Streptococcus equisimilis</u>	1		
		<u>Providencia rettgeri</u>	1		
		<u>Proteus vulgaris</u>	1		
		<u>Enterobacter agglomerans</u>	1		
		<u>Providencia stuartii</u>	1		
		<u>Pseudomonas pickettii</u>	1		
		<u>Enterobacter cloacae</u>	1		
		<u>Citrobacter amalonaticus</u>	1		

CONTINUA TABLA No. 6

Casos en los que se aislaron tanto bacterias aerobias como bacterias anaerobias

TIPO DE MUESTRA	No. MUESTRAS	BACTERIAS AEROBIAS	No.	BACTERIAS ANAEROBIAS	No. AISLAMIEN- TOS		
Bartolinitis * 1 control	6	<u>Proteus mirabilis</u>	3	<u>Bacteroides fragilis</u>	2		
		<u>Staphylococcus epidermidis</u>	3	<u>Peptostreptococcus anaerobius</u>	2		
		<u>Escherichia coli</u>	3	<u>Eubacterium lentum</u>	1		
		<u>Staphylococcus aureus</u>	2	<u>Peptostreptococcus productus</u>	1		
		<u>Streptococcus hemolítico grupo</u> <u>viridans</u>	2	<u>Bacteroides melaninogenicus</u>	2		
		<u>Streptobacillus moniliformis</u>	1	<u>Clostridium chauvoei</u>	1		
		<u>Haemophilus vaginalis</u>	1	<u>Actinomyces naeslundii</u>	1		
		<u>Klebsiella pneumoniae</u>	1	<u>Peptostreptococcus micros</u>	1		
		<u>Proteus vulgaris</u>	1	<u>Peptococcus prevotii</u>	1		
		<u>Citrobacter amalonaticus</u>	1	<u>Clostridium hemolyticum</u>	1		
		<u>Citrobacter freundii</u>	1				
		Herida quirúrgica abdominal	5	<u>Alcaligenes odorans</u>	1	<u>Fusobacterium mortiferum</u>	2
				<u>Proteus mirabilis</u>	1	<u>Bacteroides melaninogenicus</u>	1
<u>Klebsiella oxytoca</u>	1			<u>Peptostreptococcus anaerobius</u>	1		
<u>Escherichia coli</u>	1			<u>Propionibacterium acnes</u>	1		
<u>Serratia rubidaea</u>	1			<u>Veillonella parvula</u>	1		
<u>Streptococcus durans</u>	1			<u>Peptostreptococcus micros</u>	1		
<u>Streptococcus mitis</u>	1						
<u>Staphylococcus aureus</u>	1						
Endometritis	4	<u>Escherichia coli</u>	3	<u>Bacteroides melaninogenicus</u>	2		
		<u>Staphylococcus aureus</u>	3	<u>Peptostreptococcus anaerobius</u>	1		
		<u>Staphylococcus epidermidis</u>	1	<u>Peptostreptococcus productus</u>	1		
		<u>Micrococcus luteus</u>	1	<u>Propionibacterium acnes</u>	1		

35

26

CONTINUA TABLA No. 6

Casos en los que se aislaron tanto bacterias aerobias como anaerobias

TIPO DE MUESTRA	No. MUESTRAS	BACTERIAS AEROBIAS	No. BACTERIAS ANAEROBIAS	No. AISLAMIENTOS	
Abscesos de Pared	4	<u>Escherichia coli</u>	3	<u>Peptostreptococcus anaerobius</u>	1
		<u>Morganella morganii</u>	1	<u>Fusobacterium russii</u>	1
		<u>Klebsiella ozaenae</u>	1	<u>Clostridium sp.</u>	1
		<u>Streptococcus hemolitico grupo viridans</u>	1	<u>Clostridium subterminale</u>	1
		<u>Serratia liquefaciens</u>	1	<u>Clostridium haemolyticum</u>	1
		<u>Staphylococcus epidermidis</u>	2	<u>Peptostreptococcus productus</u>	1
		<u>Micrococcus luteus</u>			
		<u>Streptococcus grupo D no enterococo</u>	1		
Abscesos mandibulares	3	<u>Streptococcus hemolitico grupo viridans</u>	1	<u>Peptostreptococcus asaccharolyticus</u>	1
		<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	1	<u>Peptococcus prevotii</u>	1
		<u>Klebsiella ozaenae</u>	1	<u>Bacteroides melaninogenicus</u>	1
		<u>Micrococcus luteus</u>	1		
		<u>Staphylococcus aureus</u>	1		
		<u>Escherichia coli</u>	1		
		<u>Citrobacter freundii</u>	1		
		<u>Proteus vulgaris</u>	1		
Abscesos FarIngeos	2	<u>Streptococcus hemolitico grupo viridans</u>	1	<u>Peptococcus magnus</u>	1
		<u>Escherichia coli</u>	1	<u>Peptococcus prevotii</u>	1
		<u>Enterobacter cloacae</u>	1		
		<u>Branhamella catarrhalis</u>	1		
		<u>Staphylococcus aureus</u>	1		
				11	

CONTINUA TABLA No. 6

Casos en los que se aislaron tanto bacterias aerobias como anaerobias

TIPO DE MUESTRA	No. MUESTRAS	BACTERIAS AEROBIAS	No.	BACTERIAS ANAEROBIAS	No. AISLAMIENOS
Escara decúbite	2	<u>Proteus mirabilis</u>	2	<u>Peptococcus magnus</u>	2
		<u>Citrobacter freundii</u>	1	<u>Clostridium haemolyticum</u>	1
		<u>Staphylococcus epidermidis</u>	1	<u>Tusobacterium mortiferum</u>	1
		<u>Morganella morganii</u>	1		
		<u>Streptococcus Dno enterococo</u>	1		
		<u>Streptococcus Dno enterococo</u>	1		
		<u>Escherichia coli</u>	1		
Masa tumoral de cuello	1	<u>Staphylococcus aureus</u>	1	<u>Peptococcus prevotii</u>	1
		<u>Streptococco hemolitico grupo viridans</u>			
Muñon de muslo	1	<u>Escherichia coli</u>	1	<u>Bacteroides melaninogenicus</u>	1
		<u>Proteus vulgaris</u>	1	<u>Peptococcus magnus</u>	1
		<u>Klebsiella ozaenae</u>	1	<u>Clostridium cochlearium</u>	1
Secreción de torax	1	<u>Pseudomonas pseudomallei</u>	1	<u>Peptostreptococcus asaccharoliticus</u>	1
		<u>Staphylococcus aureus</u>	1		
TOTALES	54		14		29
PORCENTAJE	34.61%	TOTAL	148	TOTAL	86

TABLA No. 7

Casos en los que se obtuvieron sólo bacterias anaerobias

TIPO DE MUESTRA	No.	BACTERIAS ANAERÓBIAS	No. AISLAMIEN- TOS
Abscesos en miembros sup. e inf. * 3 controles	5	<u>Peptostreptococcus asaccharolyticus</u>	1
		<u>Peptococcus indolicus</u>	1
		<u>Peptostreptococcus sp.</u>	1
		<u>Clostridium sphenoides</u>	1
		<u>Peptococcus magnus</u>	1
		<u>Fusobacterium naviforme</u>	1
		<u>Veillonella parvula</u>	1
		<u>Bacteroides melaninogenicus</u>	1
		<u>Peptostreptococcus productus</u>	2
		<u>Peptostreptococcus anaerobius</u>	1
Abscesos de Pared Abdominal	2	<u>Peptococcus sp.</u>	1
		<u>Peptococcus prevotii</u>	1
Endometritis	1	<u>Peptostreptococcus asaccharolyticus</u>	1
		<u>Peptostreptococcus anaerobius</u>	1
Masa tumoral de cuello	1	<u>Clostridium sp.</u>	1
		<u>Peptococcus sp.</u>	1
Absceso mandibular	1	<u>Peptococcus prevotii</u>	1
Escara decúbito * 1 control	1	<u>Peptococcus magnus</u>	1
T O T A L E S	11		20
PORCENTAJE	7.05 %		

TABLA No. 8

ANAEROBIOS ESTRICTOS

Género	Número de Casos	Porcentaje
<i>Peptostreptococcus</i>	33	31.13
<i>Bacteroides</i>	23	21.69
<i>Peptococcus</i>	21	19.81
<i>Clostridium</i>	14	13.20
<i>Fusobacterium</i>	8	7.54
<i>Propionibacterium</i>	3	2.83
<i>Veillonella</i>	2	1.88
<i>Actinomyces</i>	1	0.94
<i>Eubacterium</i>	1	0.94
T O T A L	106	24.70%

AEROBIOS Y AEROTOLERANTES

Género	Número de Casos	Porcentaje
<i>Staphylococcus</i>	81	25.07
<i>Escherichia</i>	53	16.40
<i>Proteus</i>	46	14.24
<i>Streptococcus</i>	38	11.76
<i>Klebsiella</i>	30	9.28
<i>Citrobacter</i>	17	5.26
<i>Enterobacter</i>	16	4.95
<i>Pseudomonas</i>	11	3.40
<i>Morganella</i>	6	1.86
<i>Serratia</i>	6	1.86
<i>Bacillus</i>	5	1.54
<i>Micrococcus</i>	4	1.23
<i>Providencia</i>	3	0.92
<i>Branhamella</i>	2	0.61
<i>Hafnia</i>	1	0.31
<i>Alcaligenes</i>	1	0.31
<i>Streptobacillus</i>	1	0.31
<i>Achromobacter</i>	1	0.31
<i>Haemophilus</i>	1	0.31
T O T A L	323	75.29%

FRECUENCIA DE AISLAMIENTOS DE ACUERDO A SU MORFOLOGIA Y
Y CAPACIDAD TINTORIAL DE GRAM

TABLA No. 9

BACTERIAS ANAEROBIAS	TOTAL DE AISLAMIENTOS	PORCENTAJE
<i>COCOS Gram positivos</i>	56	52.83%
<i>Cocos Gram negativos</i>	2	1.88
<i>Bacilos Gram positivos esporulados</i>	14	13.20
<i>Bacilos Gram positivos no esporulados</i>	5	4.72
<i>Bacilos Gram negativos</i>	29	27.35
T O T A L	106	100.00%
BACTERIAS AEROBIAS		
<i>Cocos Gram positivos</i>	123	38.08%
<i>Cocos Gram negativos</i>	2	.61%
<i>Bacilos Gram positivos</i>	1	.30%
<i>Bacilos Gram negativos</i>	197	60.99%
T O T A L	323	100.00%

TABLA No. 10 a

Forma-Gram	Género y especie	No. de aislamientos	Susceptibilidad a Penicilina conc. UI/(mcg/mL)							
			10	5	2.5	1.25	0.625	0.316	0.156	0.078
Cocos Gram ⁺	<u>Peptostreptococcus anaerobius</u>	15			1	3	5	4	2	
	<u>Peptostreptococcus micros</u>	8					6		2	
	<u>Peptococcus asaccharolyticus</u>	7				3	3	1		
	<u>Peptostreptococcus productus</u>	8				2	3	2	1	
	<u>Peptococcus prevotii</u>	6					3	3		
	<u>Peptococcus magnus</u>	7				2	3	2		
	<u>Peptococcus sp.</u>	3				3				
	<u>Peptococcus indolicus</u>	1							1	
<u>Peptostreptococcus sp.</u>	1				1					
		56	TOTAL			1	14	23	13	5
Cocos Gram ⁻	<u>Veillonella parvulus</u>	2	TOTAL			1			1	
Bacilos G ⁺ Esporulados	<u>Clostridium haemolyticum</u>	3				1		2		
	<u>Clostridium sphenoides</u>	2							2	
	<u>Clostridium cochlearium</u>	2							2	
	<u>Clostridium sp.</u>	3					1	2		
	<u>Clostridium subterminale</u>	2							2	
	<u>Clostridium tertium</u>	1							1	
	<u>Clostridium chauvoei</u>	1							1	
		14	TOTAL			1	1	4	8	
Bacilos G ⁺ no esporulados	<u>Propionibacterium acnes</u>	3					2		1	
	<u>Eubacterium lentum</u>	1							1	
	<u>Actinomyces naeslundii</u>	1						1		
		5	TOTAL				2	1	2	

TABLA No. 10 b

Forma-Gram	Género-especie	No. de aislamientos	Susceptibilidad a cloranfenicol conc. mcg/ml							
			10	5	2.5	1.25	0.625	0.316	0.156	0.078
Cocos G ⁺	<u>Peptostreptococcus anaerobius</u>	15				1	3	5	2	
	<u>Peptostreptococcus micros</u>	8					6		2	
	<u>Peptococcus asaccharolyticus</u>	7				2	1	3	1	
	<u>Peptostreptococcus productus</u>	8					4	3	1	
	<u>Peptococcus prevotii</u>	6				2	2	2		
	<u>Peptococcus magnus</u>	7					2	3	2	
	<u>Peptococcus sp.</u>	3					3			
	<u>Peptococcus indolicus</u>	1						1		
<u>Peptostreptococcus sp.</u>	1							1		
		<hr/>				<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>	
		56				9	21	18	8	
Cocos G ⁻	<u>Veillonella parvula</u>	2				1	1			
Bacilos G ⁺ Esporulados	<u>Clostridium haemolyticum</u>	3				2	1			
	<u>Clostridium sphenoides</u>	2					2			
	<u>Clostridium cochlearium</u>	2							2	
	<u>Clostridium sp.</u>	3					1	2		
	<u>Clostridium subterminale</u>	2						2		
	<u>Clostridium tertium</u>	1					1			
	<u>Clostridium chauvoei</u>	1						1		
			<hr/>				<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>
		14				2	5	5	2	
Bacilos G ⁺ No esporulados	<u>Propionibacterium acnes</u>	3					2			1
	<u>Eubacterium lentum</u>	1						1		
	<u>Actinomyces naeslundii</u>	1						1		
		<hr/>				<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>	
		5				2	2		1	

TABLA No. 10 b

Bacilos G ⁻	Género-especie	No. de aislamientos	Susceptibilidad a cloranfenicol conc. mcg/ml						
			10	5	2.5	1.25	0.625	0.316	0.156
	<u>Bacteroides melaninogenicus</u>	16			1	6	4	3	2
	<u>Fusobacterium mortiferum</u>	4					3	1	
	<u>Bacteroides fragilis</u>	3				1	2		
	<u>Bacteroides praecutis</u>	2					2		
	<u>Fusobacterium russii</u>	2						2	
	<u>Fusobacterium naviforme</u>	2				1	1		
		<hr/> 29			<hr/> 1	<hr/> 8	<hr/> 12	<hr/> 6	<hr/> 2
	TOTAL DE AISLAMIENTOS	106			13	37	37	16	3

T A B L A No. 10 c

Forma-Gram	Género-especie	No. de ais- lamientos	Susceptibilidad a sulfametoxazol-trimetoprim								
			8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.0312
Cocos G ⁺	<u>Peptostreptococcus anaerobius</u>	15			1	3	7	3	1		
	<u>Peptostreptococcus micros</u>	8				2	3	3			
	<u>Peptococcus asaccharolyticus</u>	7		1		4	1	1			
	<u>Peptostreptococcus productus</u>	8				3	3	2			
	<u>Peptococcus prevotii</u>	6				2		4			
	<u>Peptococcus magnus</u>	7			1			4	2		
	<u>Peptococcus sp.</u>	3					2				
	<u>Peptococcus indolicus</u>	1			1		1				
	<u>Peptostreptococcus sp.</u>	1				1					
			56	TOTAL	1	3	15	17	17	3	
Cocos G ⁻	<u>Veillonella parvula</u>	2			1			1			
Bacilos G ⁺ Esporulados	<u>Clostridium haemolyticum</u>	3				1	2				
	<u>Clostridium sphenoides</u>	2					2				
	<u>Clostridium cochlearium</u>	2							2		
	<u>Clostridium sp.</u>	3			1	2					
	<u>Clostridium subterminale</u>	2							2		
	<u>Clostridium tertium</u>	1					1				
	<u>Clostridium chauvoei</u>	1								1	
		14			1	3	5		5		
Bacilos G ⁺ no esporula dos	<u>Propionibacterium acnes</u>	3		1			2				
	<u>Eubacterium lentum</u>	1					1				
	<u>Actinomyces naestlundi</u>	1						1			
		5		1			4				

T A B L A No. 10 c

Bacilos G ⁻	Género-especie	No. de aislamientos	Susceptibilidad a sulfametoxazol-trimetoprim								
			8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.0312
	<u>Bacteroides melaninogenicus</u>	16				6	4		6		
	<u>Fusobacterium mortiferum</u>	4							4		
	<u>Bacteroides fragilis</u>	3		1			1		1		
	<u>Bacteroides praeacutus</u>	2					1			1	
	<u>Fusobacterium russii</u>	2				1			1		
	<u>Fusobacterium naviforme</u>	2				1			1		
		<hr/>				<hr/>			<hr/>		<hr/>
		29		1		8	6		13		1
	TOTAL DE AISLAMIENTOS	106	2	2	4	26	32		31		9

T A B L A No. 10 d

Forma-Gram	Género-especie	No. de ais- lamientos	Susceptibilidad a metronidazol conc. mcg/ml								
			8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.0312
Cocos G ⁺	<u>Peptostreptococcus anaerobius</u>	15					3	6	4	1	1
	<u>Peptostreptococcus micros</u>	8					2		4	1	
	<u>Peptococcus asaccharolyticus</u>	7					4	3			
	<u>Peptostreptococcus productus</u>	8					2	2	2		2
	<u>Peptococcus prevotii</u>	6					2	1	3		
	<u>Peptococcus magnus</u>	7					1	4	2		
	<u>Peptococcus sp.</u>	3					2	1			
	<u>Peptococcus indolicus</u>	1					1				
	<u>Peptostreptococcus sp.</u>	1						1			
	TOTAL	56					17	18	15	3	3
Cocos G ⁻	<u>Veillonella parvula</u>	2						1	1		
Bacilos G ⁺	<u>Clostridium haemolyticum</u>	3			2			1			
Esporulados	<u>Clostridium sphenoides</u>	2				2					
	<u>Clostridium cochlearium</u>	2								2	
	<u>Clostridium sp.</u>	3						1	2		
	<u>Clostridium subterminale</u>	2					2				
	<u>Clostridium tertium</u>	1					1				
	<u>Clostridium chauvoei</u>	1								1	
	TOTAL	14			2	5		2	3		2
Bacilos G ⁺ no esporula- dos	<u>Propionibacterium acnes</u>	3						1	2		
	<u>Eubacterium lentum</u>	1						1			
	<u>actinomyces naeslundii</u>	1							1		
	TOTAL	5						2	3		

T A B L A No. 10 d

Bacilos G ⁻	Género-especie	No. de aislamientos	Susceptibilidad a metronidzol conc. mcg/ml								
			8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.0312
	<u>Bacteroides melaninogenicus</u>	16					5	8	2	1	
	<u>Fusobacterium mortiferum</u>	4						1	3		
	<u>Bacteroides fragilis</u>	3					1	1	1		
	<u>Bacteroides praeacutus</u>	2					1	1			
	<u>Fusobacterium russii</u>	2				1		1			
	<u>Fusobacterium naviforme</u>	2					2				
		<hr/>					<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>
		29				1	9	12	6	1	
	TOTAL DE AISLAMIENTOS	106				3	31	35	28	6	3

T A B L A No. 10 e

Forma-Gram	Género-Gram	No. de ais- lamientos	Susceptibilidad a Clindamicina conc. mcg/ml								
			10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	0.156	0.078	0.039
Cocos G ⁺	<u>Peptostreptococcus anaerobius</u>	15					2	2	7	4	
	<u>Peptostreptococcus micras</u>	8						2	4	2	
	<u>Peptococcus asaccharolyticus</u>	7				1	3		2	1	
	<u>Peptostreptococcus productus</u>	8					2		2	4	
	<u>Peptococcus prevotii</u>	6						2	4		
	<u>Peptococcus magnus</u>	7				2	1		4		
	<u>Peptococcus sp.</u>	3					2	1			
	<u>Peptococcus indolicus</u>	1					1				
<u>Peptostreptococcus sp.</u>	1					1					
		56	TOTAL				4	11	7	23	11
Cocos G ⁻	<u>Veillonella parvula</u>	2						1	1		
Bacilos G ⁺	<u>Clostridium haemolyticum</u>	3					3				
Esporulados	<u>Clostridium sphenoides</u>	2					2				
	<u>Clostridium cochlearium</u>	2							2		
	<u>Clostridium sp.</u>	3						3			
	<u>Clostridium subterminale</u>	2								2	
	<u>Clostridium tertium</u>	1							1		
	<u>Clostridium chauvoei</u>	1					1				
		14	TOTAL				1	5	3	3	2
Bacilos G ⁺ no esporula- dos	<u>Propionibacterium acnes</u>	3						1		2	
	<u>Eubacterium lentum</u>	1								1	
	<u>Actinomyces naeslundii</u>	1						1			
		5	TOTAL					2		3	

T A B L A No. 10 e

Bacilos G ⁻	Género-Gram	No. de aislamientos	Susceptibilidad a clindamicina conc. mcg/ml							0.039
			10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	0.156	
	<u>Bacteroides melaninogenicus</u>	16					4	1	3	8
	<u>Fusobacterium motiferum</u>	4							1	3
	<u>Bacteroides fragilis</u>	3					1		1	1
	<u>Bacteroides praeacutus</u>	2							1	1
	<u>Fusobacterium russii</u>	2					1	1		
	<u>Fusobacterium naviforme</u>	2				1			1	
		29 TOTAL				1	6	2	7	13
	TOTAL DE AISLAMIENTOS	106				6	22	15	34	29

T A B L A No. 11

PROPORCIÓN DE AISLAMIENTOS DE LOS MICROORGANISMOS ANAEROBIOS ERICTOS
SUSCEPTIBLES A LOS ANTIMICROBIANOS

Concentraciones

Cantidad y Porcentajes Acumulados de Aislamientos.

	* S + T		* M		** C		**p		** CL/N		
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	
0.0312	0.039	-	-	3	2.83	3	2.83	0	0.0	29	27.35
0.0625	0.078	-	-	9	8.49	19	17.92	9	8.49	63	59.43
0.125	0.156	9	8.49	37	34.90	56	52.83	46	43.39	78	73.58
0.25	0.312	40	37.73	72	67.92	93	87.73	82	77.35	100	94.83
0.5	0.625	72	67.92	103	97.16	106	100.00	103	97.15	106	100.00
1.0	1.25	98	92.45	106	100.00	-	-	106	100.00	-	-
2.0	2.5	102	96.22	-	-	-	-	-	-	-	-
4.0	5.0	104	98.11	-	-	-	-	-	-	-	-
8.0	10.0	106	100.00	-	-	-	-	-	-	-	-



S + T

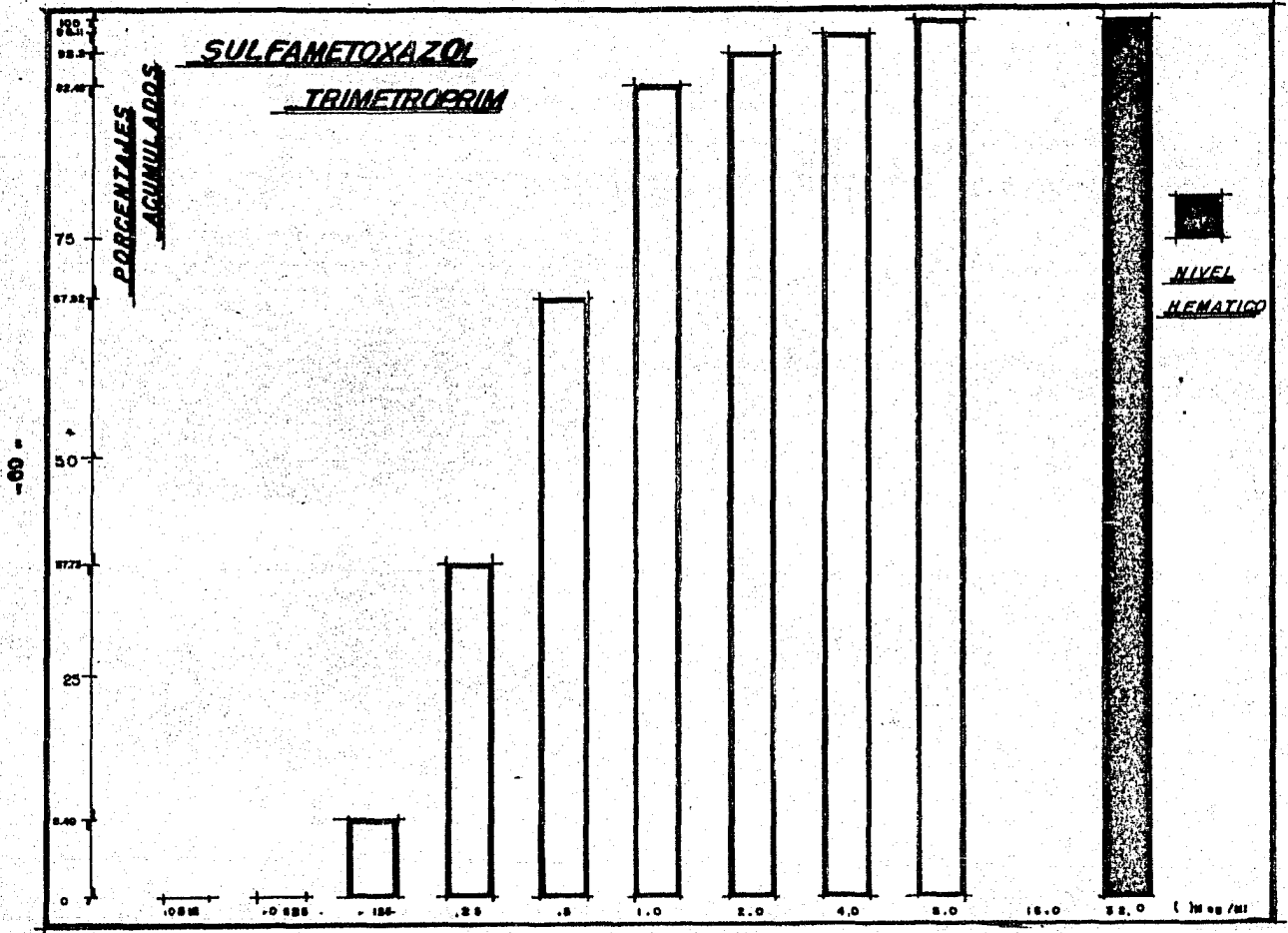
=

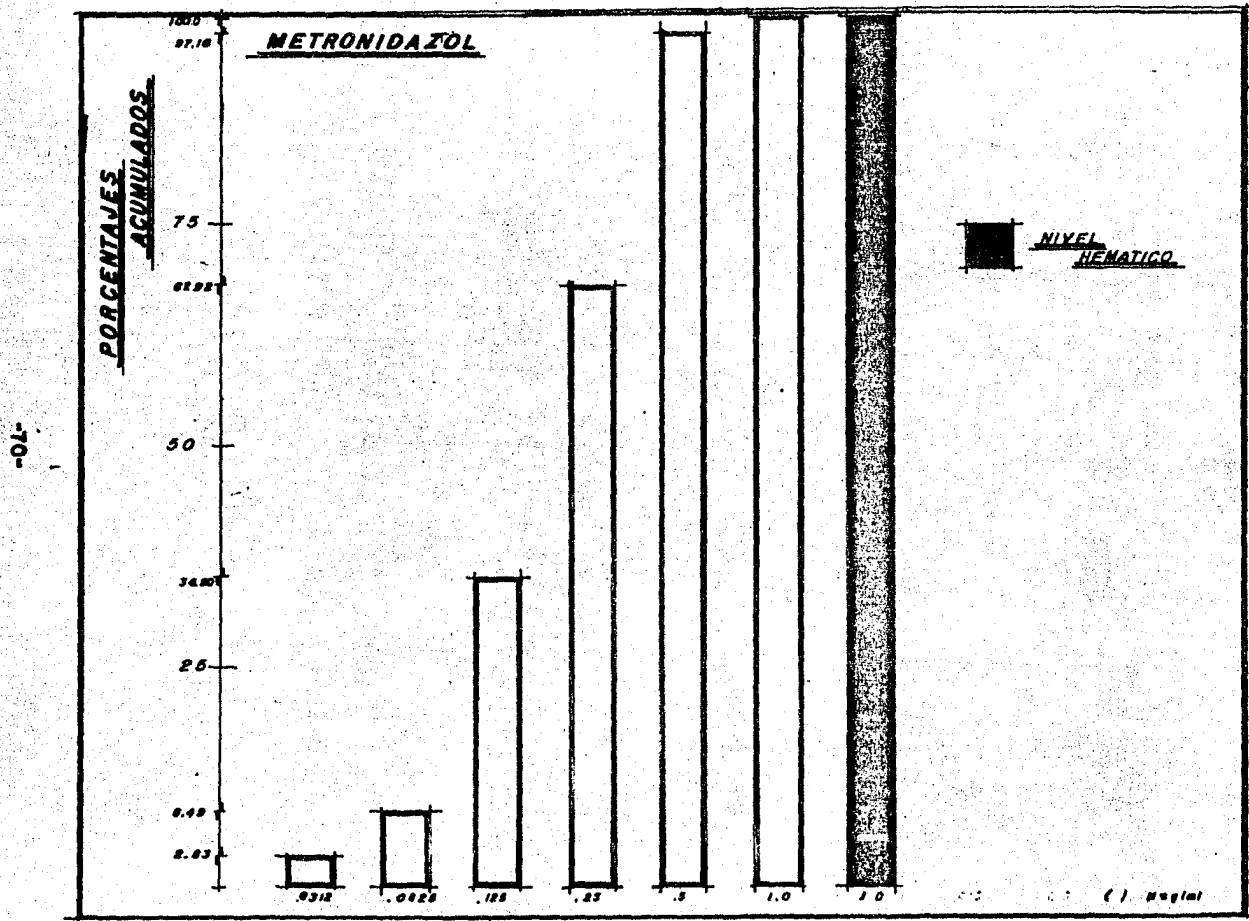
Nivel Hemático

Nivel Hemático

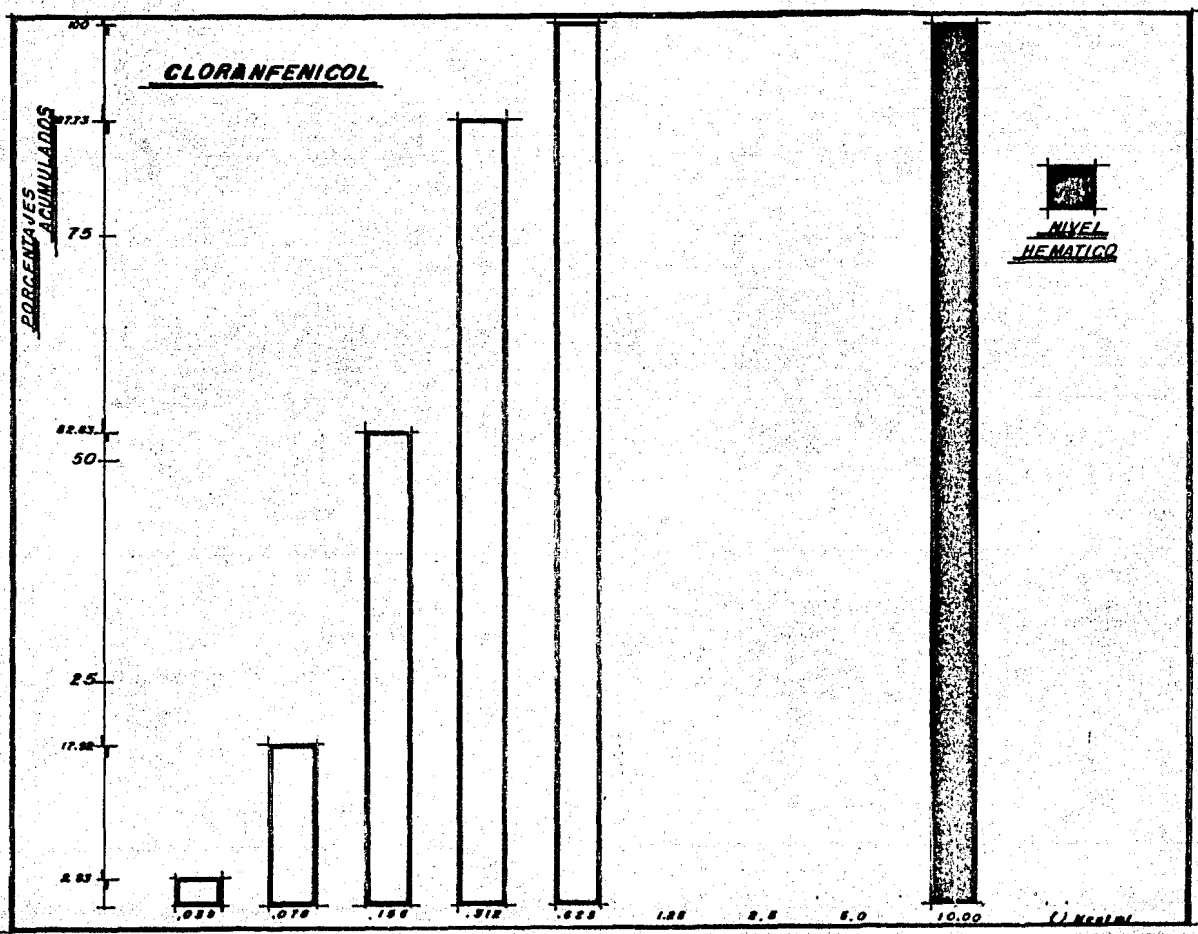
=

32.0 mcg/ml.

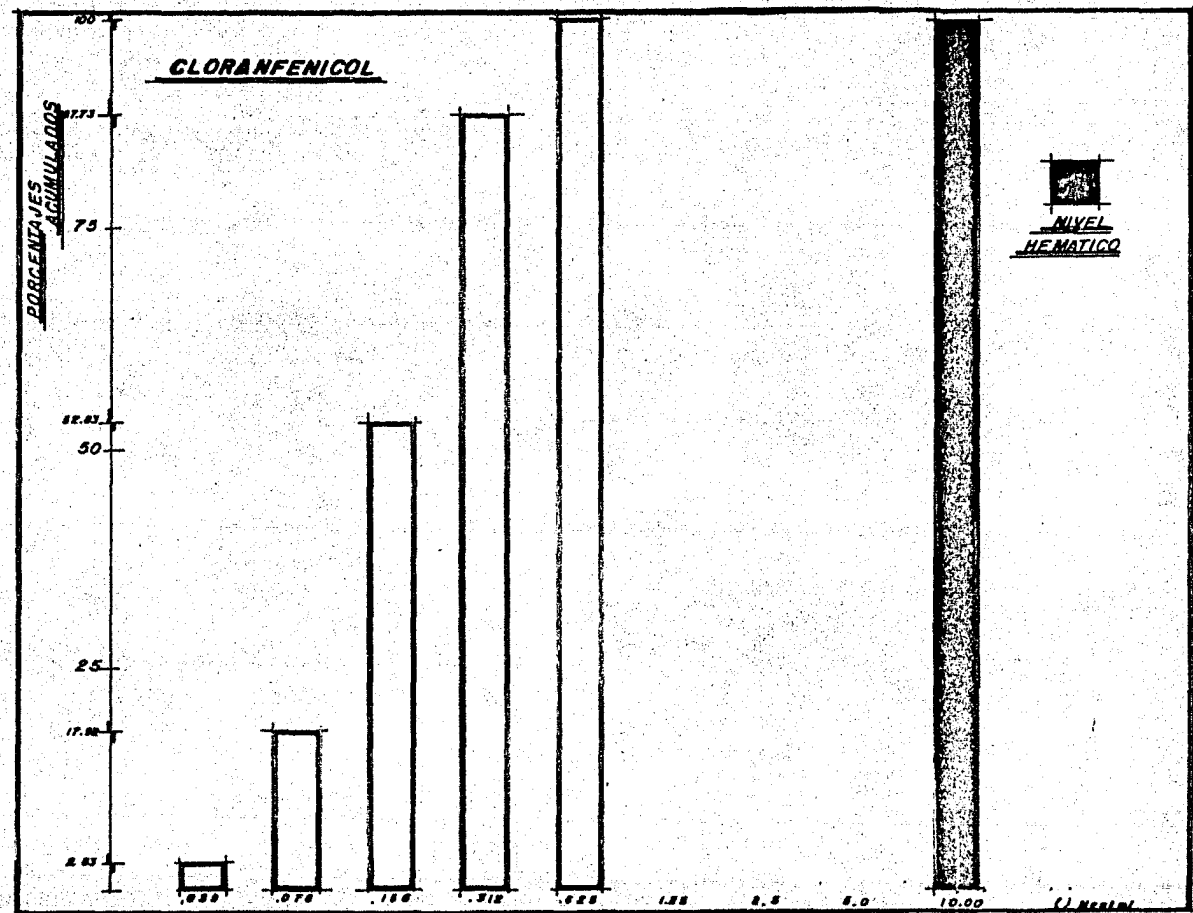




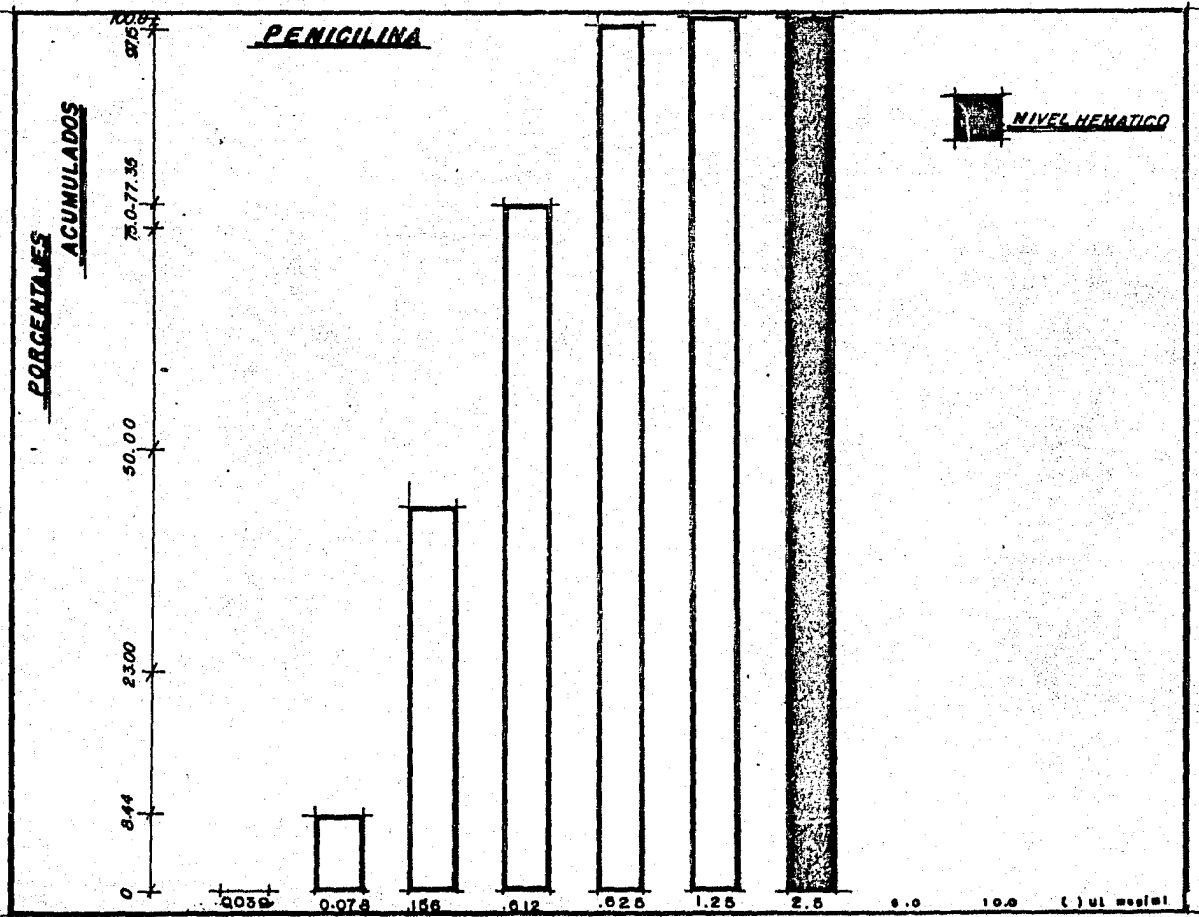
-12-



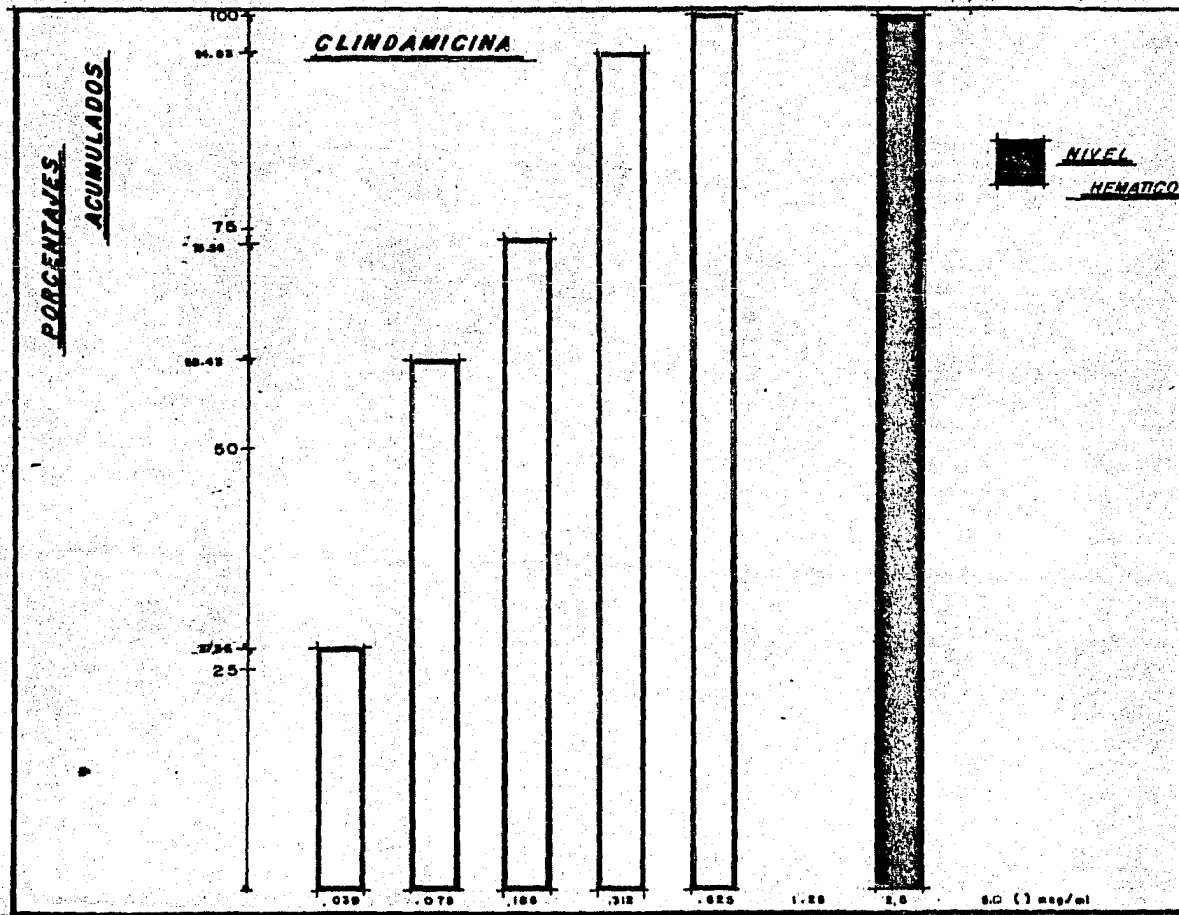
- 11 -



-72-



-73-



VI. DISCUSION

Una de las dificultades que se presentan para trabajar la Bacteriología es la indiferencia que ha existido en cuanto a considerar a los microorganismos anaerobios, ya sea solos o asociados en ocasiones a aerobios, como causantes de procesos infecciosos. Hasta la fecha sólo algunos ocupan las técnicas adecuadas y lo suficientemente actualizadas para dar a los médicos un resultado confiable de los productos biológicos de sus pacientes. Por ello para iniciar este trabajo fue necesario realizar una revisión bibliográfica de los autores de vanguardia, que nos hablan de los posibles factores de error en cuanto a la toma de muestras, transporte, siembra, identificación y método de susceptibilidad microbiana más confiable y dan una clara panorámica de los medios que se pueden usar para realizar el trabajo lo mejor posible. A todo esto hubo que añadirle la adecuación al laboratorio en el que se trabajó y los medios con que se contaba. Como consecuencia de esto se elaboró la marcha bacteriológica antes citada (tabla No. 1).

Se consideró necesario mencionar algunas de las técnicas más importantes y los errores más comunes con el afán de que en trabajos posteriores sean considerados.

Para obtener un buen cultivo de bacterias anaerobias es necesario tomar la muestra de lugares en donde no existan como flora normal, a excepción de aquellos en los que exista un cuadro clínico sugestivo de una infección por anaerobios, tomar la muestra siempre en el sitio adecuado y procurar que sea lo más profunda posible para evitar posibles contaminaciones. Se debe hacer la limpieza de la zona con solución salina estéril ya que tomar una muestra del pus en el exterior nos da la flora contaminante. El transporte de las muestras debe hacerse en medios de transporte específicos, reducidos y sin refrigerar; Esta debe ser transportada y trabajada en el menor tiempo posible ya que las bacterias sufren transformaciones que se acentúan con el tiempo, no mayor de 20 minutos.

Es importante que los medios que se usen sean elaborados en el mismo laboratorio ya que cuando las cajas con medio están en contacto con el medio ambiente tienden a oxidarse, lo cual es inadecuado ya que no hay que olvidar que una de las principales características de la mayoría de los anaerobios es la de crecer sólo en una atmósfera reducida, aún en presencia de oxígeno.

Es fatal usar recipientes de plástico para transportar o trabajar con microorganismos en general y esto es debido a que el crecimiento de la mayoría se ve inhibido.

Es necesario que se establezca una mayor coordinación entre el cuerpo médico y el laboratorio, ya que de ello depende en gran parte la efectividad del diagnóstico final para los pacientes.

Además cuando se hacen cultivos de sangre y médula ósea, se debe saber en que momento de un cuadro febril, se toma la muestra, ya que si se hace en una etapa máxima no se van a encontrar microorganismos, porque probablemente se estará pasando por la fase de lisis del microorganismo y por lo tanto no habrá un número de bacterias vivas lo suficientemente grande como para desarrollar en nuestros medios de cultivo.

En cuanto a los resultados obtenidos de un antibiograma, existen también errores de interpretación, el médico piensa en muchas ocasiones que el antimicrobiano que aparece en el reporte de laboratorio como el más eficaz por la susceptibilidad que muestran las bacterias, es el que debe prescribirse a su paciente y no es así, ya que para prescribir debe tomar en cuenta que el antibiograma es la observación del comportamiento bacteriano "in vitro; in vivo" es muy diferente ya que intervienen muchos otros factores, por lo que no debe perder de vista el cuadro clínico de un paciente, la Farmacocinética del medicamento y después de eso emplear el antibiograma como un arma que vendrá a ayudar a establecer un criterio a seguir.

VII. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos nos demuestran que el método utilizado es eficaz para el aislamiento e identificación de bacterias aerobias y anaerobias, además su costo es bastante conveniente ya que se trata de un método de medios selectivos y que podría implementarse en cualquier laboratorio institucional.

La mayoría de los pacientes en los cuales se encontró desarrollo de microorganismos anaerobios o asociaciones de aerobios y anaerobios, estaban inmunodeprimidos es decir, sufrían en su mayoría Diabetes mellitus o presentaban cualquiera de los factores predisponentes para una infección de este tipo.

De los productos trabajados se aislaron con mayor frecuencia microorganismos aerobios (58.33%), siguiéndole en número los casos en los que se obtuvieron asociaciones entre bacterias aerobias y anaerobias (34.61%), de anaerobias con anaerobias y por último aquellos en los que se obtuvieron cultivos puros de anaerobios. (los 2 últimos casos forman en conjunto un 7.05%).

Por lo tanto consideramos que con este trabajo se logra un adelanto en cuanto al análisis de la ecología microbiana. Los factores fisiológicos y causas que influyen en general sobre la relación hospedero comprometido-parásito anaerobio oportunista y sobre todo se logra un mejor conocimiento de las asociaciones microbianas y su frecuencia en los procesos infecciosos de pacientes comprometidos para sufrir infección con algún o algunos anaerobios involucrados.

El método de susceptibilidad es adecuado para el conocimiento preciso de las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM), pero tiene la desventaja de ser muy laborioso y por lo consiguiente de un alto gasto en cuanto a tiempo, personal y material, cosa que lo hace inoperante cuando se trabaja con una gran cantidad de muestras, como sucede en la mayoría de los laboratorios.

A este respecto cabe mencionar que se están probando otros métodos menos laboriosos y costosos que contribuyan a la rapidez de entrega de un resultado.

Los resultados obtenidos nos demuestran la importancia que tiene - la implementación de los métodos para el aislamiento e identificación de bacterias anaerobias en cualquier laboratorio de microbiología, ya que debe representar una actividad rutinaria para lograr el conocimiento de los procesos infecciosos de los pacientes.

Pensamos que estos métodos no están exentos de correcciones, que -- pueden llevarnos a un máximo de aprovechamiento con un gasto presu puestal mínimo.

VIII REFERENCIAS

- 1- Balows A., R.M. Dehaan, V.R. Dowell y Guze. 1975 anaerobic Baateria : Role in disease. 2º Imp. por A. Balows. Charles C. Thomas Publisher . Springfield, III. USA 505 pags.
- 2- Beaucage and Ondedouk. 1982. Evaluation of Prereduced Anaerobically Sterilized Medium. J. Clin. Microbiol. 16:570-572.
- 3- Bernal R. de Torres Anjel, M.J. Ruiz et al. 1981. Acción de la Esporatoxina de Clostridium perfringens (Welchii) en el Intestino Aislado de Conejo. Revs. Lat-Amer. Microbiol. 23: 207-211.
- 4- Borjas G.E. 1981. Aislamiento de Bacterias Anaerobias en -- Diversos Procesos Infecciosos en Pacientes Pediatricos. Revs. Lat-Amer, Microbiol. 23: 6.
- 5- Carpenter. 1982. Microbiologla. 4a. Ed. Editorial Interamericana, México. 417 pags.
- 6- Conde C.J. 1980. Adaptación de un Método para el diagnóstico de Infecciones Endógenas Causadas por Bacterias Anaerobias en una Institución Hospitalaria. Tesis Profesional. IPN. ENCB. México, D. F. México. 42 pags.
- 7- Corral Medina. 1980. Metodologla para el Estudio de Microorganismos Anaerobios. Tesis Profesional. UNAM. FAC. QUIMICA. México, D. F. pags.
- 8- Cortes R.V. 1971. Método Bioquímico para Reconocer Anaerobiosis en Bacterias. Tesis Profesional UNAM. FAC. QUIMICA. México, D.F. pag. 2-4
- 9- Davis, B.D. Dubbelco, H.N. et al. 1978. Tratado de Microbiologla. 2a. Ed. Editorial Salvat. México, D. F. 1559 pags.
- 10- Del Rey Calero. 1977. Técnicas de Laboratorio en Microbiologla. Ed. Marban. pags.
- 11- Dobos. R.J. y J.G. Hirsch. 1965. Baterial and Mycotic Infections of Man. 4a. Ed. Editorial J.B. Lippincott Co. Philadelphia, Phi. USA. pags. 343,770.
- 12- Edwards, Ewing. 1972. Identification of Enterobacteriaceae Bacteria. Editorial Burgess Publishing Company . 335 pags.
- 13- Elison, Kennedy, Fekely. 1982. Use of Sodium Taurochocolate to Enhance Spore Rewvery on Medium Selective for Clostridium difficile. J. Clin. Mocrrobiol. 15: 443-446

- 14- Ejaki, Suzuki. 1982. Achromopeptidase for Lysis of Anaerobic Gram positive Cocci. *J. Microbiol.* 16 : 844-846.
- 15- Esenert J.A. Roels and Koseen. 1981. Comments on The Description of the Maintenance Metabolism During Anaerobic Growth - with Product formation. *Biotechnology Letters.* 3:15-20.
- 16- Gerhardt, Murray, Costillow et al. 1981. *Manual of Methods - for General Bacteriology.* Washington D.C. 425 pags.
- 17- Giono Cerezo G.E. García, M. Rodríguez et al. 1979. *Manual - de Laboratorio de Bacteriología Médica.* Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. IPN. México, D. F. 183-206 pags.
- 18- Jance, Rial D. Rolfe, Sidney, Finegold. 1982. Clostridium - difficile and Cytotoxin in feces of Patients with Antimicrobial Agent-associated Diarrhea and Miscellaneous Conditions. *J. Clin. Microbiol.* 16: 1044 - 1053.
- 19- Lennette E.H., E.H. Spaulding. 1974. *Manual of Clinical Microbiology.* 3a. Ed. Editorial American Society for Microbiology. pags. 397-477.
- 20- Luig Segatore. 1976. *Diccionario Médico Teide.* 5a. Ed. Editorial Teide. Barcelona.
- 21- Linch, Mellor, In wood. 1972. *Microbiología.* Editorial Interamericana. México. 1522 pags.
- 22- Louis DS. Smith, Lillion V. Holdeman. 1968. *The Pathogenic - Anaerobic Bacteria,* Editada por Charles C. Thomas. Publisher. 419 pags.
- 23- Lyzmicki, Busch. 1982. Medium for Selective Isolation and -- Presuntive Identification of Bacteroides fragilis Group. *J. Clin. Microbiol.* 15 : 123-129.
- 24- MacFaddin. 1980. *Pruebas Bioquímicas para la Identificación - de Bacterias de Importancia Clínica.* Ed. Panamericana. Buenos Aires. 301 pags.
- 25- Michael Gill. 1982. Bacterial Toxins: A Table of Lethal Amonts. *Microbial Reviews* 46 : 86 - 94 .
- 26- Nissi M. Varki and Tomas I. Aquino. 1982. Isolation of Clostridium difficile from Hospitalized Patients Without Antibiotic - Associated Diarrhea o Colitis. *J. Clin. Microbiol.* 16 : 659-662.
- 27- Paton, Jawrens, Stevens. 1983. Quanties of Clostridium Botulinum Organism and Toxin. in *The Serum of an Infant with Botulism.* *J. Clin. Microbiol.* 17 : 13-25.

- 28- Polanski, Bauer, Mc ClalKey. 1983. Micro - Media Systems Anaerobe Panel Versus Broth Disk Method in Anaerobe Antimicrobial Testing. *J. of Microbiol.* 17:
- 29- R. Anne Reddick, Donald G. Ahearn et al. 1980. fundamentals of Bacteriology as Related To The Clinical Bacteriology. American Society for Microbiology . 50 pags.
- 30- Ramirez J. 1978. Investigación de la Flora Bacteriana en el -- Aborto Séptico y su Comportamiento ante los Antimicrobianos. - Tesis Profesional. IPN. ENCB. México, D. F. 50 pags.
- 31- Richard Wburg. 1982. Fermentation Products in Animal Health. American Society for Microbiol. ASM NEWS. Merck Sharp Dohme Research Laboratories. 48 : 460 - 463.
- 32- Rosenblatt Jon E. 1980. Bacteriology Procedure Manual. Ed. Mayo Clinic. Twelfth ed. Anaerobic Bacteriology. pag. 223 - 258.
- 33- Slade, Schamann and Parker. 1983. Effect of Oxygen on Host Cell Reactivation in Bacteroides fragilis. *J. of Bacteriology.* 153: 1545 - 1547.
- 34- Slots and Reynolds. 1982. Long-wave UR Light fluorescence for -- Identification of Black pigmented Bacteroides spp. *J. Clin. Microbiol.* 16 : 1148 - 1151.
- 35- Sowell and Buchanan. 1983. Changes in Penicillium Binding Protein During Sporulation of Bacillus Subtilis. *J. Clin. Bacteriol.* 153 : 1331- 1337.
- 36- Sutter, Citron, Sidney. 1980. Anaerobic Bacteriology Manual. 3a. Ed. Editorial de C.V. Mosby Company. Toronto. 131 pags.
- 37- Sutter, Finegold. 1976. Susceptibility of Anaerobic Bacteria to 23 Antimicrobial Agents and Chemotherapy 10: 736 - 752.
- 38- Sutter Vera. 1982. Unusual Microorganism of Clinical Significance. Anaerobic Bacteria. American Society for Microbiology. pags. 16 - 44.
- 39- Symons and Hodson. 1982. Isolation and Properties of Bacillus -- Mitans Unable to produce Tyrocidine. *J. Bacteriology* 51 : 580 - 590.
- 40- Sydney, Finegold et al. 1972 Scope Monograph on Anaerobic Infections Editada por : The Upjohn Company. Kalamazoo. pags. 6 - 10.
- 41- Todd-Sanford. 1978. Diagnóstico Clínico por el Laboratorio 6a. Ed. Editorial Salvat. Barcelona. Pags. 1494.
- 42- Weissfeld and Sonnenwirth. 1981. Rapid Detection and identification of Bacteroides fragilis and Bacteroides melaninogenicus by immuno-

- fluorescence. *J. Microbiol.* 13 : 798 - 800.
- 43- Yesushi Obara. Shiro Yamai et al. 1981. Preservation and Transportation of Bacteria by a Simple Gelatin Disk Method. *J. Clin. Microbiol.* 14: 61 - 66.
- 44- Zabransky, Randall, Sutter. 1983. Establishment of minimum Inhibitory Concentrations of Cefaperazone for Control and Reference Anaerobic Organism. *J. of Microbiology.* 17 :