



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS
PROFESIONALES IZTACALA

" Prevalencia de Haemophilus influenzae resistente
a Ampicilina y de Streptococcus pneumoniae
resistente a Penicilina en portadores sanos "

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A
MIRNA JAIME CERVANTES

San Juan Iztacala, México 1982



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



BIBLIOTECA NACIONAL DE ESTUDIOS
PROFESIONALES UTALEA

A MIS PADRES

Irene y Carlos
Con todo mi cariño y admiración
para quienes me han guiado en -
el camino de la vida.

A MIS HERMANAS

Salvia
Jael
Melesia Isabel
Porque siempre exista entre
nosotras la unión, el cari-
ño y la comprensión.

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Héctor Guiscafré Gallardo por su apoyo y dirección en la realización del presente trabajo.

Mi agradecimiento al Dr. Juan Antonio Trejo y Pérez por su gran ayuda en el desarrollo de este trabajo; a los Dres. Onofre Muñoz Hdz. y Manuel García Melgar por su valiosa colaboración.

A todo el personal que integra la sección de Medicina Experimental, del Hospital de Pediatría del C.M.N. (IMSS) por la convivencia y experiencias que me brindaron en una etapa importante de mi vida.

A Tí, Héctor

Con mi Amor Profundo
 Por todo lo que eres
 y significas para mí.

A Mi Lio

A mi Lía

~~A mi Lía~~

A Delfino (Armando Ravelo)

A Robin (Samuel Meraz)

A Emma Guzman

A panchito el "nacamente"

Recuerdos

I N D I C E .

	Págs.
I.- Resumen	2
II.- Objetivos	4
III.- Introducción	6
IV.- Material y Métodos	15
V.- Resultados	26
VI.- Discusión y Conclusiones	36
VII.- Bibliografía	40

R E S U M E N

R E S U M E N .

Se tomaron 800 muestras de exudado faríngeo a niños sanos y a 28 contactos intrafamiliares sanos de niños con meningitis causada por Haemophilus influenzae tipo b.

Se aisló H. influenzae tipo b en el 8.7% de los niños de guarderías, H. influenzae tipo e en el 0.12% y H. influenzae no tipificable en el 5.8%. El 32% de los contactos intrafamiliares tuvieron H. influenzae tipo b y el 3.5% no tipificable. El porcentaje de resistencia de H. influenzae tipo b a la ampicilina fue del 14%. No hubo cepas resistentes al cloramfenicol.

Se aisló Streptococcus pneumoniae en el 37% de las muestras de exudado faríngeo. El 25.5% de las cepas probadas fueron sensibles a la penicilina y el 74.5% resultaron con sensibilidad disminuida.

OBJETIVOS.

OBJETIVOS GENERALES.

Los objetivos generales de éste estudio son:

- a).- Conocer la prevalencia de Haemophilus influenzae resistente a la Ampicilina y de Streptococcus pneumoniae resistente a la Penicilina, en niños sanos en nuestro medio.
- b).- Valorar la necesidad de efectuar sensibilidad a los antimicrobianos de éstos gérmenes en forma rutinaria.
- c).- Valorar la necesidad de elegir otros antimicrobianos para el tratamiento de las infecciones causadas por éstos gérmenes.

I N T R O D U C C I O N .

El Haemophilus influenzae y el Streptococcus pneumoniae son dos agentes bacterianos causales de una gran variedad de enfermedades, entre las que sobresalen por su gravedad y frecuencia la Meningoencefalitis purulenta y las infecciones de las vías respiratorias (7,20).

Haemophilus influenzae.

(haema=sangre, philos=afinidad)

Haemophilus influenzae es un microorganismo en forma de bacilo corto, gram-negativo, pleomórfico y de los llamados organismos "fastidiosos" ó "quisquillosos" en virtud de las dificultades que plantea para su cultivo (23). Su nombre se deriva de que inicialmente se aisló en la faringe de pacientes durante una pandemia de Influenza y de su afinidad por los factores sanguíneos.

Su tamaño es de 0.2 - 0.3 por 0.5 - 2.0 μ m - son cepas capsuladas y presentan iridiscencia a la luz indirecta en medios transparentes, crecen satisfactoriamente sobre agar chocolate y se distingue de otros miembros del género Haemophilus por su requerimiento de los factores X y V (4).

Se designa generalmente como factor X los principios estimulantes del crecimiento, termoestables, derivados de la hemoglobina y hemina. El factor V es una sustancia termolábil que se encuentra en la levadura, en algunas bacterias, extractos vegetales y en la sangre. El factor V puede ser reemplazado por la Coenzima I (dinucleótido nicotinamida adenina, NAD) ó por la Coenzima II (dinucleótido nicotinamida adenina fosfato, NADP) (22).

Pueden crecer sobre agar sangre preparada con sangre de conejo (y algunas especies en sangre humana) y crecen más lozanamente alrededor de colonias de estafilococos (fenómeno de satelitismo) (6).

El crecimiento de Haemophilus influenzae es óptimo en una atmósfera de CO₂; el crecimiento más exuberante se presenta en el medio de Levinthal. Se produce ácido de glucosa y sacarosa y en menor grado galactosa, fructosa, maltosa y xilosa. Mueren después de 30 min. a 55°C.

Se conocen seis serotipos de Haemophilus influenzae (a,b,c,d,e,f) basados en los antígenos de sus polisacáridos capsulados; la tipificación se puede llevar a cabo por la aglutinación o por hinchazón capsular ("Quellung reaction") usando antiseros comerciales. El tipo de Haemophilus influenzae más frecuentemente patógeno en el humano es el b. Las cepas no capsuladas son serológicamente heterogéneas.

El Haemophilus influenzae puede ser el agente causal de una gran variedad de patologías en el niño como: Meningoencefalitis, otitis media, neumonía con derrame pleural, artritis, osteomielitis y epiglotitis.

Se ha considerado a la Ampicilina como el antimicrobiano de elección para el Haemophilus influenzae tipo b, ya que habitualmente su crecimiento es inhibido por concentraciones menores de 1.6 $\mu\text{g/ml}$ (13), sin embargo desde 1969 se publicaron 5 casos con falla de respuesta clínica a este antibiótico (27) y en 1974 se identificaron 2 cepas resistentes a más de 400 $\mu\text{g/ml}$ (25). El Centro de Control de Enfermedades Infecciosas en Atlanta E.U.A. ha confirmado de 1974 a 1976 setenta y tres cepas de Haemophilus influenzae resistentes a la ampicilina, provenientes de diversos estados de ese país (10) y en la actualidad se estima que del 10 al 18% de las cepas aisladas son productoras de betalactamasa y por lo tanto resistentes a los antibióticos betalactámicos, como lo es la ampicilina (12,17).

En el último trimestre de 1978 se encontró en el Hospital de Pediatría del C.M.N. del I.M.S.S. de esta Ciudad de México 12 cepas de Haemophilus influenzae tipo b, aisladas de líquido cefalorraquídeo (L.C.R.) de 11 niños con Meningoencefalitis purulenta, tenían una Concentración Mínima Inhibitoria (C.M.I.) mayor de 40 $\mu\text{g/ml}$ (8).

Se ha reportado que aproximadamente en un 3% de los cultivos de exudado faríngeo, en niños sanos entre 6 meses y 4 años de edad, se encuentra Haemophilus influenzae tipo b. Esta cifra se eleva hasta un 65% en los hermanos sanos (contactos intrafamiliares) de niños con meningoencefalitis por este microorganismo. Los adultos rara vez son portadores.

Streptococcus pneumoniae.

(streptus = flexible, coccus=grano)

Estos microorganismos son células gram-positivas, ovoides ó esféricas de 0.5 - 1.25 μm , forman agrupaciones características en parejas ó en cadenas cortas. Los extremos distales en cada par de células tienen forma lanceolada son capsuladas y no-móviles y crecen mal en los medios artificiales que no contienen sangre. En agar sangre producen hemólisis de tipo alfa y se disuelven en la bilis y en reactivos que contienen desoxicolato sódico y lauril sulfato sódico.

El mayor componente polimérico de la pared celular es el peptidoglucano y el ácido complejo clorin ribitol teicoico con el cual constituye las sustancias específicas.

Las colonias mucoides resultan de la síntesis de polisacáridos capsulares. Las colonias lisas son centelleantes y tienen forma de cúpula ó domo. Las colonias rugosas se presentan raramente y tienen la apariencia de un micelio. Se ha demostrado una especie de carbohidratos somáticos que lo distinguen de otras especies estreptococales y consiste de un ácido teicoico ribitol con colina de fosfato.

El crecimiento es inhibido por aproximadamente 1:400 de etilhidrocuprein hidroclicida (optochin) y esta prueba más sensitiva es tan confiable como la prueba de bili-solubilidad.

El neumococo, en contraste con otros estreptococos; requiere de sustancias cloradas para su crecimiento en medios definidos.

Son anaerobios facultativos con la marcada tendencia para acumular peróxido de hidrógeno sobre cultivos aerobios. El rango de temperatura es de 25 a 42°C.

El hábitat normal de los neumococos es en tracto respiratorio superior del hombre; puede invadir los pulmones. Consecuentemente, los neumococos son la causa más frecuente de neumonía lobular (80 a 90%) en adultos. La Bacteremia se presenta en casi uno de cuatro de éstos pacientes, usualmente temprana en el curso de la neumonía; el organismo también se extiende a la cavidad pleural ó diseminación al endocardio y pericardio, las meninges, articulaciones, y así sucesivamente con resultados complicados.

Los neumococos han sido también implicados en infecciones del oído medio, mastoides ó de los ojos.

Los neumococos requieren de un medio enriquecido para su primer aislamiento; tripticasa ó agar BHI (brain heart infusion) enriquecido con sangre de carnero, caballo ó de conejo desfibrinada

desfibrinada al 5%. Del 5 al 10% de las cepas requieren de incubación de CO₂ para el crecimiento sobre la primera placa de cultivo. Algunas cepas de neumococos son anaerobios obligados. (3).

El Streptococcus pneumoniae es considerado como un germen altamente susceptible a la Penicilina, con una CMI de 0.01 a 0.02 μ g/ml (5); sin embargo a partir de 1967 se han publicado reportes esporádicos de S. pneumoniae con disminución de la sensibilidad a este antimicrobiano, con una CMI de 0.2 μ g/ml (9,21) y en 1977 en Sudáfrica aparecen cepas francamente resistentes, ya que la mitad de ellas aisladas de hospitales y el 5% de los encontrados en cultivos faríngeos de portadores sanos en esas comunidades mostraron una CMI de 4 a 8 μ g/ml (2,15). No se conoce el mecanismo de resistencia (1). En E.U.A. se considera que del 3 al 4% de las cepas del S. pneumoniae aisladas tienen sensibilidad disminuida a la penicilina (15).

Se estima que en un 3.2% de los S. pneumoniae aislados tienen una sensibilidad disminuida a la penicilina (1) y no parece repercutir en la evolución clínica de las infecciones por éste germen a excepción de las localizadas en el Sistema Nervioso Central (S.N.C.) en donde la menor difusibilidad del antimicrobiano puede provocar falla de respuesta al tratamiento, como se ha mencionado (19, 21). Los adultos rara vez son portadores (16).

Un 44 % de los cultivos faríngeos en niños sanos son positivos para S. pneumoniae (19).

El primero de los microorganismos descritos puede causar enfermedad a cualquier edad, en cambio el segundo habitualmente solo causa la enfermedad entre los dos meses y 6 años de edad debido a los anticuerpos maternos y a los que el individuo va elaborando conforme a su crecimiento.

En base a lo anterior y en vista de que en los últimos años se reportan en diferentes partes del mundo y cada vez con mayor frecuencia cepas de Haemophilus influenzae resistentes a la ampicilina y de Streptococcus pneumoniae resistente a la penicilina, consideramos conveniente conocer esta situación en nuestro medio debido a que no existe información reciente sobre la sensibilidad de éstos microorganismos a los antibióticos mencionados.

El estudio en población sana puede ser un método útil para estimar el riesgo de una comunidad a la infección por bacterias resistentes a los antimicrobianos (18), considerando que: en nuestro medio existe un porcentaje indeterminado de cepas de H. influenzae resistentes a la ampicilina, y que en nuestro medio todas las cepas de S. pneumoniae son sensibles a la penicilina.

M A T E R I A L Y M E T O D O S .

M A T E R I A L .

Medios de Cultivo: Gelosa sangre
 Gelosa chocolate
 Medio de Levinthal
 Medio de Brain Heart Infusion
 (BHI)
 Medio de Todd-Hewitt pH 7-8

Sangre de equino desfibrinada.

Antisueros: Bacto Haemophilus influenzae
 tipos a,b,c,d,e,f y poly LAB. Difco
 2793-32

Discos de Optoquina para Neumococo Bioclin PN

Bacto Suplemento VX-LAB Difco 3354-60

Antibióticos: Penicilina G sódica Lakeside Lote 7722
 Ampicilina Sódica Sanfer Lote
 12-31019-
 056
 Cloramfenicol Levógiro Carlo Erba Lote
 CI 79132

Material de Bacteriología de rutina

Material de Cristalería

Cámara de CO₂ al 10%

M E T O D O L O G I A .

Trabajo de Campo.

Durante el período comprendido entre julio y diciembre de 1979 se tomaron 800 muestras de exudado faríngeo a niños sanos, con edades comprendidas entre 4 meses y 5 años, asistentes a guarderías particulares y del Instituto Mexicano del Seguro Social. En forma colateral también exudado faríngeo a 28 contactos intrafamiliares (ó sea a los hermanos de los pacientes) menores de 7 años de edad, de 26 niños internados en el Hospital de pediatría del Centro Médico Nacional del I.M.S.S. con diagnóstico de meningoencefalitis por H. influenzae tipo b, en ese mismo período de tiempo. Ninguno de los niños a los que se les tomó exudado faríngeo habían padecido infección de vías respiratorias ó recibido antimicrobiano en las últimas 2 semanas.

El exudado se tomó de orofaringe con hisopo de algodón estéril e inmediatamente se sembró en gelosa sangre y gelosa chocolate. En el laboratorio se hizo la extensión de la muestra en forma lineal con asa metálica. Las muestras se incubaron en atmósfera de CO_2 al 10% y a $37^{\circ}C$ de 18 a 24 hrs.

A todas las cepas aisladas de H. influenzae y de S. pneumoniae se les determinó su Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) a ampicilina y penicilina respectivamente, por el método de dilución en tubo (26).

Para H. influenzae se usó Medio de Levinthal con un inóculo de 10^7 e incubación de 18 a 24 hrs. a 37°C al 10% de CO_2 . Se realizó también un Micrométodo Acidimétrico para determinar la presencia de β -betalactamasa (24).

Para S. pneumoniae se usó el medio de Todd-Hewitt y un inóculo de 10^7 .

Todas las pruebas tuvieron un testigo negativo (sin antibiótico) y cepas de Bacillus subtilis y Staphilococcus epidermidis previamente conocidas como sensibles y resistente respectivamente a los antimicrobianos betalactámicos.

Trabajo de Laboratorio.

- 1.- Identificación y Aislamiento de las cepas de Haemophilus influenzae y de Streptococcus pneumoniae.
- 1).- Aislamiento e Identificación de Haemophilus influenzae.

Al observar macroscópicamente la morfología de las colonias se escogen aquéllas (por lo menos - cuatro colonias) que sean similares a Haemophilus - y se aíslan cada una por separado en el medio de g_glosa chocolate y se incuban a 37°C al 10% de CO₂ de 18 a 24 hrs.

Para la identificación de H. influenzae de las colonias aisladas se utilizó como primer paso - la Tinción de Gram y como segundo paso la serotipificación con los antisueros específicos. La serotipificación se llevó a cabo por la reacción de aglutinación de la siguiente forma:

- a).- Aglutinación con antisuero polivalente de todas las cepas que presentan morfología similar a Haemophilus.
- b).- Las cepas que presentaron aglutinación con el antisuero polivalente se aglutinan ahora con el antisuero tipo b.
- c).- Las cepas que no presenten aglutinación con el tipo b, se aglutinan con los antisueros tipos, a, c, d, e, f.

d).- Si algunas cepas aglutinan con dos ó más de los antisueros mencionados se les considera como no tipificables.

2).- Aislamiento e Identificación de Streptococcus pneumoniae.

El aislamiento de los neumococos es más sencillo ya que este tipo de organismos presenta una hemólisis de tipo alfa muy fácil de distinguir en la observación macroscópica de su morfología.

Se siembran de 2 a 3 colonias juntas en forma de tapete ó cuadro en el medio de gelosa sangre y se coloca un sensidisco de optoquina en el centro de la siembra; esto se repite por lo menos 3 veces por cada muestra. Se incuba a 37°C por 24 hrs. La identificación de S. pneumoniae se lleva a cabo después de la incubación al observarse una zona de inhibición alrededor del disco, esta debe ser bastante clara y uniforme.

Todas las cepas aisladas de ambos microorganismos se guardaron en alícuotas de 3 a 5 por cada cepa.

Cada alícuota contiene 0.5 ml. de medio de BHI + glicerol del 15 al 18% y se almacenaron a -60°C hasta ser procesadas para las pruebas de sensibilidad.

II.- Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) a Ampicilina y Penicilina de Haemophilus influenzae y de Streptococcus pneumoniae respectivamente por el Método de Dilución en tubo.

I).- Método de Dilución en tubo.

Con éste método se determina la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) requerida de un antimicrobiano para inhibir ó matar una bacteria.

La CMI se refiere a aquella concentración mínima de antimicrobiano que inhibe ó impide el desarrollo microbiano; ó sea, frena el desarrollo, pero no la mata sino que actúa en forma estática.

En este tipo de dilución se obtiene también la Concentración Mínima Bactericida (CMB), ó sea, aquella concentración que tiene acción letal sobre los microorganismos.

En algunas ocasiones ambas concentraciones pueden coincidir en valor numérico, pero generalmente el valor de la CMB es mayor que la CMI.

2).- Desarrollo del Método de Dilución en tubo.

- a).- Preparación del Método de Levinthal para Haemophilus influenzae Medio de Brain heart infusión (BHI)-50 ml.

Sangre de equino desfibrinada-10 ml.

Se mezclan y en seguida se hierve, después se centrifuga a 5000 rpm. durante 30 min.

El medio se vierte en los tubos en los cuales se van a efectuar las diluciones, éstas son diluciones al doble en cada tubo; se esterilizan a 15 lb. por 20 min. en seguida se suplementa el medio con los factores X y V al 2% agregando una cantidad de 50 μ l en cada tubo.

- b).- Preparación del Método Medio de Todd-Hewit para Streptococcus pneumoniae.

Se pesa la cantidad que se desea del medio y se diluye en agua destilada a fuego lento, se ajusta a pH 7.4 con amortiguador de fosfatos, se vierte en los tubos y se esteriliza.

- c).- Preparación del inóculo.

Se inocula cada una de las cepas de H. influenzae y de S. pneumoniae que se van a probar en 5 ml. de su respectivo medio y se incuban a 37°C al 10% de CO₂ de 18 a 24 hrs. con el objeto de tener un cultivo en la fase logarítmica de crecimiento (10⁹).

Para las bacterias control (Staphilococcus epidermidis y Bacillus subtilis) se trabajó con un inóculo de 10^5 debido a que éstos organismos tienen un crecimiento rápido.

d).- Dilución de los Antimicrobianos.

Generalmente los antimicrobianos se preparan en soluciones Stock en concentraciones de 1000 U/ml usando un amortiguador de fosfatos y agua destilada estéril, ó con el mismo medio en el cual se van a diluir las bacterias; y de acuerdo con esto se efectúan las diluciones del antimicrobiano que se deseen.

Con base a los antecedentes ya descritos se tomaron rangos para los antibióticos: para H. influenzae se hicieron diluciones al doble y en serie de ampicilina y cloramfenicol de 0.625 a $10 \mu\text{g/ml}$ hasta $320 \mu\text{g/ml}$. Las cepas con una CMI de $215 \mu\text{g/ml}$ se consideran sensibles para los dos antibióticos.

Para S. pneumoniae las diluciones de penicilina fueron de $0.078 \mu\text{g/ml}$. Las cepas consideradas como sensibles tienen una $\text{CMI} \leq 0.078 \mu\text{g/ml}$ y con sensibilidad disminuida con una CMI de 0.156 a $2 \mu\text{g/ml}$.

e).- Llenado de los tubos e inoculación

De cada una de las diluciones de los antimicrobianos se toman 2 ml. en el tubo inicial y se van transfiriendo a los tubos subsiguientes con la

misma cantidad hasta el penúltimo tubo quedando el último tubo como testigo.

Todos los tubos se inoculan con las cepas - previamente diluidas.

f).- Incubación y Lectura.

Los tubos inoculados se agitan y se inoculan a 37°C a 10% de CO₂ durante 18 hrs. A cabo de éste tiempo se procede a la lectura, para hacer esto, se examina a la luz para observar si hay un desarrollo visible de acuerdo a la turbidez que presentan.

g).- Interpretación de la Lectura.

La CMI está dada por aquélla dilución anterior a la que presente un desarrollo visible, la CMB queda determinada por la resiembra en cuadros de gelosa chocolate ó gelosa sangre de dos ó tres diluciones anteriores donde se presentó el desarrollo visible, además de los testigos.

Las cepas que resultaron resistentes de H. influenzae a ampicilina a más de las concentraciones ya mencionadas, se les aplicó la prueba de Beta lactamasa.

h).- Prueba de Betalactamasa.

La prueba se determina en tubo y la lectura del resultado se debe de leer al minuto de efectuada la reacción.

1.- Se siembra en gelosa chocolate la cepa ó cepas que se van a probar y se incuban toda la no che; en seguida se hace una suspensión de las cepas por separado en 0.5 ml. de solución salina.

2.- Preparación del reactivo que se va a - añadir a la suspensión.

Penicilina K cristalina 1000 U/ml + 4.5 ml. de agua destilada + 0.5% de rojo de fenol (disuelto en agua) + NaOH 1 M para virar a color violeta con pH 8.5.

3.- Al tubo con inóculo se le adicionan 3 - gotas del reactivo y el cambio del color violeta a color amarillo revela la presencia de betalactamasa.

R E S U L T A D O S .

R E S U L T A D O S .

Los porcentajes encontrados del aislamiento de Haemophilus influenzae en exudados faríngeos y en contactos intrafamiliares se han comparado en la Tabla I y gráficas (I y II) y se observa que el menor porcentaje de aislamientos corresponde a los - contactos intrafamiliares, así también es observado que la mayoría de los aislamientos corresponde a ce - pas de H. influenzae tipo b tanto en niños sanos co - mo en contactos intrafamiliares.

En este estudio se logró aislar una cepa - del tipo b que representa un 0.12% del porcentaje - total.

TABLA I.

AISLAMIENTOS DE Haemophilus influenzae DE EXU-
 DADO FARINGEO EN NIÑOS SANOS LACTANTES Y PRE -
 ESCOLARES.

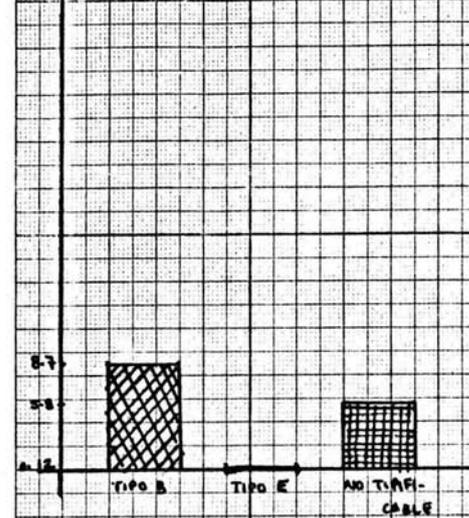
PROCEDENCIA	No.	H. influen zae tipo b.	H. influen zae tipo e.	H. influen zae no tipi ficable.	TOTAL
Niños de guarderías	800	70* (8.7%)	1 (0.12%)	47 (5.8%)	118* (14.6%)
Contactos intrafami- liares.	28	9* (32%)		1 (3.5%)	10* (35.5%)

* p < 0.01

GRAFICA No I

PORTADORES SALES
NUESTRO PROBLEMA EN LAS ZONAS

% Incidencia

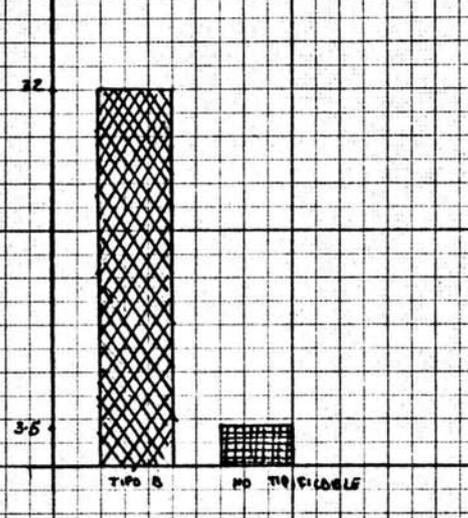


TIPOS DE
Hemophilus influenzae
aislados

GRAFICA No II

CONTACTOS INTERFAMILIARES
30 NIÑOS (ASINTOMÁTICOS)

% Incidencia



TIPOS DE
Hemophilus influenzae
aislados

A 127 cepas se les determinó su CMI a Ampicilina y Cloramfenicol dentro de las cuales se incluyeron las cepas aisladas de LCR de 26 niños con Meningoencefalitis purulenta (Tabla II) y gráfica III. La resistencia a la ampicilina en los de tipo b fue en total de un 13%.

En total fueron 14 cepas resistentes a la ampicilina, 7 tuvieron una CMI $> 320 \mu\text{g/ml}$, las otras 7 tuvieron una CMI de 10 a $320 \mu\text{g/ml}$.

Las cepas resistentes a $> 320 \mu\text{g/ml}$ se les determinó la prueba de Betalactamasa resultando positiva en 4 de ellas, esto representa el 14% total.

La CMB de las 127 cepas de H. influenzae para ampicilina fue: en 124 cepas fue la misma dilución ó una superior a la CMI esto representa el 97.6% y en 3 cepas fue de dos diluciones superiores esto es el 2.4%. Para el Cloramfenicol para la misma dilución fue de 66.1% (84 cepas) y de dos diluciones superiores fue el 33.9% (43 cepas).

TABLA II.

PROPORCION DE CEPAS DE Haemophilus influenzae
RESISTENTES A *AMPICILINA DE JULIO A DICIEM -
BRE DE 1979.

PROCENCIA	tipo b resistentes/probados	no tipificables resistentes/probados
Exudado faríngeo de niños de guar dería.	8/57 ⁺ (14%)	2/34 ⁺ (6%)
Exudado faríngeo de contactos in- trafamiliares.	2/9 ⁺ (23%)	0/1
LCR de niños con meningitis.	2/26 ⁺ (7.6%)	
TOTALES	12/92 (13%)	2/35 (5.7%)

*CMI > 2.5 μ g/ml

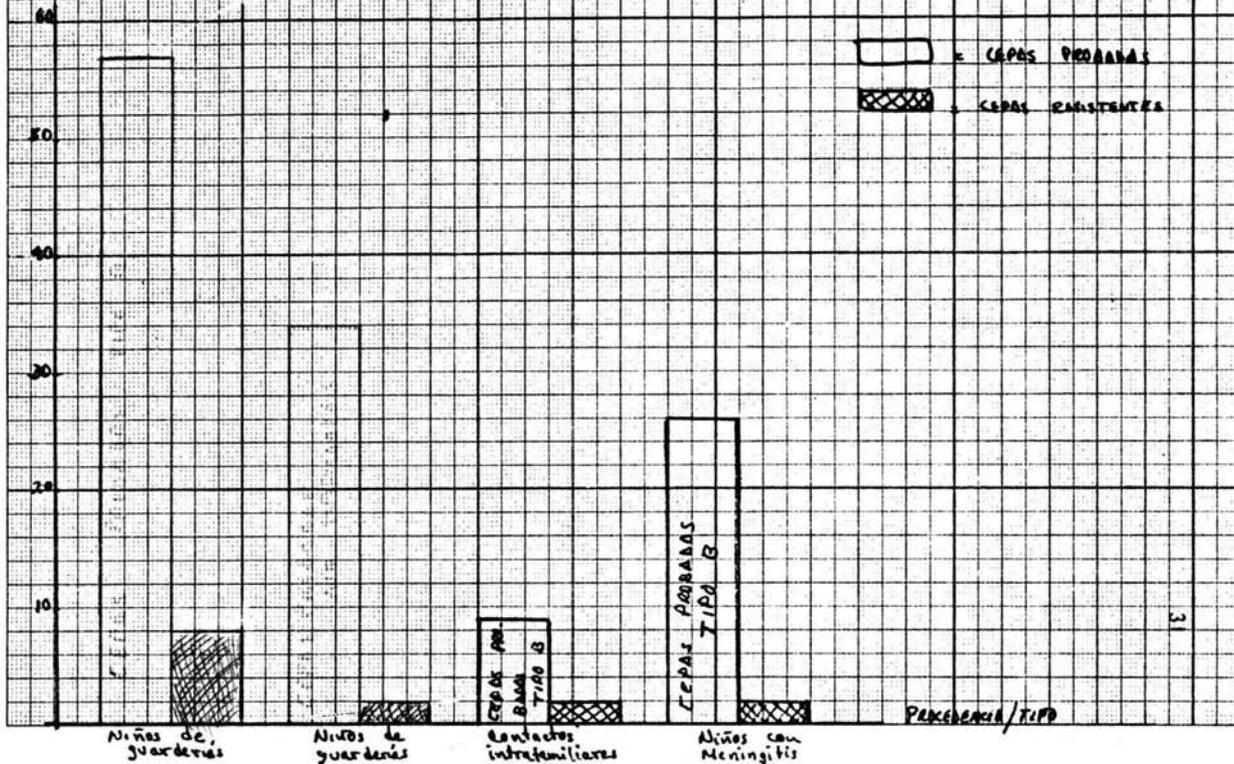
+ p > 0.2 entre todos estos grupos.

GRAFICO NO. III

RESISTENCIA A LA AMPICILINA
DE LAS CEPAS DE *Haemophilus influenzae*

MUESTRA ORIGINAL 92 CEPAS = 100%

CEPAS RESISTENTES



El aislamiento total de S. pneumoniae de 800 exudados faríngeos fue de 296 (37.1%) de los cuales se probaron 117 cepas (escogidas al azar) a la Penicilina determinándose su CMI.

En la Tabla III y gráfica IV se presentan los porcentajes de sensibilidad. En esta tabla se clasificó a las cepas según su grado de sensibilidad disminuida y encontrándose para las primeras el 25.5% y el 74.5% para las segundas. La CMB de estas cepas fue la misma a la CMI ó un dilución superior (93%) y de dos diluciones superiores fue del 7%.

TABLA III.

SENSIBILIDAD A LA PENICILINA DE 117 CEPAS DE Streptococcus pneumoniae AISLADAS DE EXUDADOS FARINGEOS EN NIÑOS SANOS DE JULIO A DICIEMBRE DE 1979.

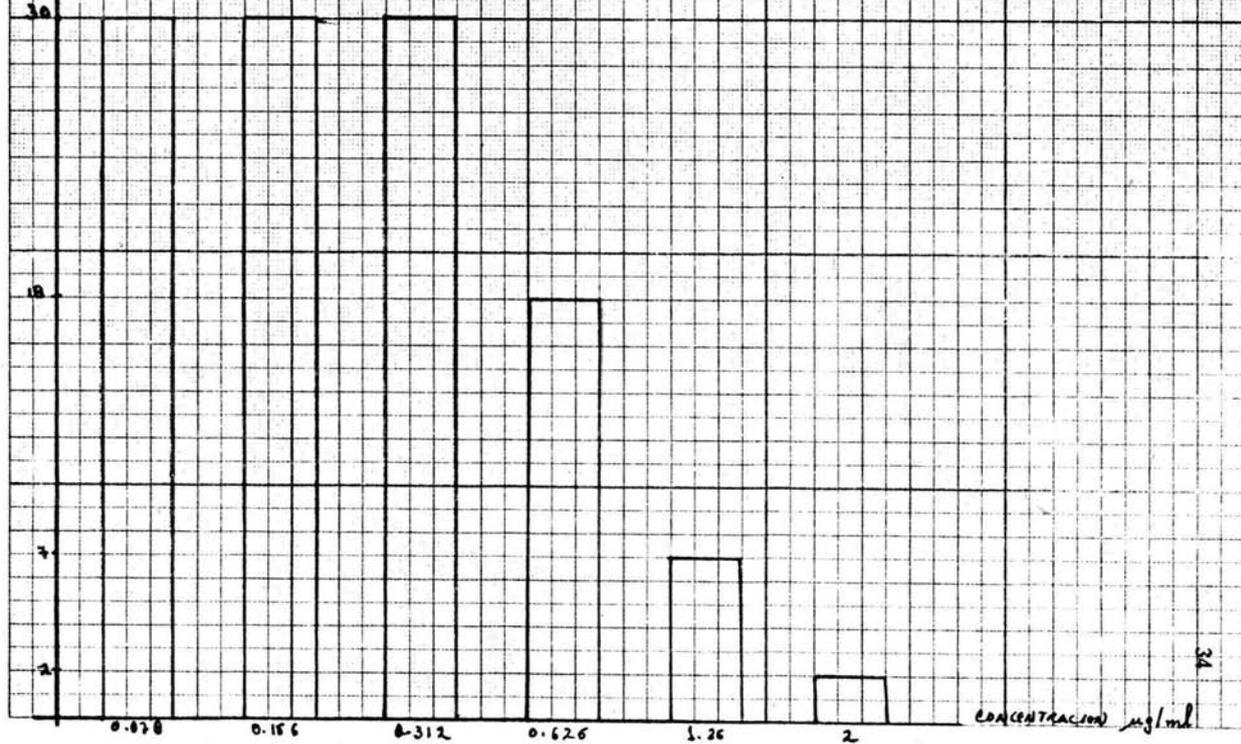
CMI ($\mu\text{g/ml}$)*	No. (%)	GRADO DE SENSIBILIDAD
0.078	12 (10.1)	SENSIBLES 30 (25.5%)
0.078	18 (15.4)	
0.156	30 (25.8)	SENSIBILIDAD DISMINUIDA 87 (74.5%)
0.312	30 (25.8)	
0.625	18 (15.4)	
1.25	7 (5.8)	
2	2 (1.7)	

* Por dilución en tubo.

GRAFICA NO IV

SENSIBILIDAD A LA PENICILINA
DE 117 CEPAS DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*
(DILUCION EN TUBO)

NO DE CEPAS DE
S. pneumoniae



DISCUSSION

Y

CONCLUSIONES.

DISCUSION y CONCLUSIONES.

- Los objetivos del trabajo se cumplieron satisfactoriamente ya que el tamaño de la muestra fue adecuado para valorar los resultados estadísticamente por la prueba de χ^2 para dos muestras independientes.
- En este estudio se ha podido conocer la situación actual en nuestro medio con respecto a la resistencia de los antibióticos para estos microorganismos. El análisis en población sana fue adecuado para estudiar esta situación para la época de julio a diciembre de 1979.
- En el desarrollo de este trabajo se hicieron importantes observaciones ya que los resultados obtenidos han sido analizados desde varios puntos de vista; como se ha mencionado que para el aislamiento de Haemophilus influenzae se requiere de medios muy enriquecidos además de que necesita de varias resiembras para que el organismo produzca sus polisacáridos característicos y permita una serotipificación adecuada, esto explica el porque nosotros encontramos mayor porcentaje de H. influenzae aislados (tipo b) que el encontrado en la literatura; sin embargo otra explicación a esto es el tiempo en el cual se realizó el aislamiento de Haemophilus ya que el aislamiento total de este organismo fue bajo, con respecto a los otros reportes encontrados en la literatura en donde se indica que el mayor porcentaje de aislamiento se obtuvo en los meses de noviembre y diciembre encontrándose también en este período de

tiempo el mayor porcentaje de organismos resistentes a los antibióticos ya mencionados.

- El porcentaje de aislamiento para S. pneumoniae - fue similar al encontrado en la literatura; el porcentaje de aislamiento de ambos microorganismos no interviene en la edad y sexo de los niños.
- El método de dilución en tubo para probar la sensibilidad de estos microorganismos a los antimicrobianos tiene resultados fidedignos cuidando una serie de requisitos como el empleo de antibióticos bien calibrados en cuanto a su potencia su conservación debe ser óptima y deben emplearse de inmediato, además debe tenerse en cuenta que la concentración mínima que se use deberá ser siempre mayor que aquélla a la que el antibiótico es generalmente activo en la sangre del enfermo para responder favorablemente a una determinada infección tratada a las dosis que se emplean normalmente con fines prácticos.
- Por los resultados obtenidos se observa que el porcentaje de resistencia a la ampicilina de H. influenzae tipo b y no tipificables de exudados faríngeos de niños sanos es similar al de los contactos intrafamiliares y a H. influenzae tipo b aislados de LCR por lo que en el estudio realizado se estima el riesgo en nuestro medio a la infección por bacterias resistentes. No se encontró resistencia al cloramfenicol; por lo que se puede sugerir que de acuerdo al porcentaje de cepas H. influenzae tipo b resistentes a la ampicilina - fue del 14% se sustituya este antimicrobiano por

el cloramfenicol para el tratamiento de las infecciones causadas por H. influenzae tipo b.

- El mecanismo de resistencia en H. influenzae tipo b se ha identificado como una betalactamasa constitutiva (no inducible), y como ya hemos mencionado que en este estudio solo encontramos un 14 % de cepas resistentes productoras de betalactamasa, esto puede deberse a la sensibilidad del método ó sea que es poco sensible (11), además también debe tomarse en cuenta que estos organismos presentan más frecuentemente otros mecanismos de resistencia (14), que hasta la fecha no se conocen, por lo que sería interesante un estudio acerca de este aspecto.
- En cuanto a S. pneumoniae no se encontraron cepas resistentes a la penicilina pero sí con sensibilidad disminuida que corresponde al 74.5% del total esto puede deberse al uso indebido del antibiótico por lo que sería adecuado realizar estudios periódicos de sensibilidad a este microorganismo para la búsqueda de cepas resistentes.
- En el presente trabajo podemos concluir que sí encontramos cepas de Haemophilus resistentes a la ampicilina; en cuanto a las cepas de S. pneumoniae no podemos aceptar totalmente que sean resistentes a la penicilina pero sí que existen cepas con sensibilidad disminuida a la misma.

B I B L I O G R A F I A .

B I B L I O G R A F I A .

- 1.- Ahronheim G. A., Reich B y Marks M. I. Penicillin insensitive pneumococci. Am. J. Dis. Child. - 133:187, 1979.
- 2.- Applebaun P.C. Multiple antibiotic_resistance of pneumococci. South Africa. Morbidity and Mortality Weekly report - 26:285, 1977.
- 3.- Bailey, L. And Scott, E.G. Diagnostic Microbiology 5a. Ed. St. Lovis. The C.V. Mosley Company, pág. 138,386. 1978.
- 4.- Bergey Manual of Determinative Bacteriology. Williams and Wilkans Company U.S.A. 3a. - Ed. pág. 364-500, - 1974.
- 5.- Braude Antimicrobial drug_therapy Smith L.H. - (ed) Philadelphia - W. B. Company VIII.- pág. 41. 1976.

- 6.- Bray W. E. Clinical Laboratory Methods. The C. V. Mosby Company 5a. - Ed. pág. 418, 1957.
- 7.- Dajani A., Asmar B., J., M., C. Thirum^o orthy. Systemic H. influenzae disease. An overview. J. Pediatrics 94:355, 1979.
- 8.- Guiscafré G.; - González A., Hernández V., Muñoz H. O. Existe en México H. influenzae tipo b resistente a Ampicilina? Bol. Med. Hosp. Inf. 36:719, 1979.
- 9.- Hansman D. y Bullen M. A resistant pneumococcus Lancet 2:264, 1967.
- 10.- Jacobson J., M. C., Cornick J. y Hayes P. Epidemiologic Characteristic of infection caused by ampicillin resistant H. influenzae. Pediatrics 58:388, 1979.
- 11.- Jepson, O., - Mortensen I., - Rosdahl, V.J. Screening methods for detection of B Lactamase in gram - negative bacteria. J. Antimicrob. Chemother 5: 383, 1979.
- 12.- Kahn W., Ross S. y Rodríguez W. Haemophilus influenzae type - b resistant ampicillin. J.A.M.A. 229:298, 1974.

- 13.- Katz S. L. Ampicillin resistant H. influenzae type b. A status - report.
Pediatrics 55:6, 1975.
- 14.- Klingeren, B. The influence of clavulanic acid on the susceptibility to amoxicillin of β Lactamase - producing strains of H. influenzae using different - inoculum size.
V.; Dessens, -
K.M.
J. Antimicrob. Chemother 5: 322, 1979.
- 15.- Koornhof H.J. Follow up on multiple anti - biotic resistance pneumococci South Africa.
Morbidity and Mortality Weekly report 27:1, 1978.
- 16.- Kumate J. Antibióticos y quimioterápicos Ediciones Médicas del - Hosp. Inf. de México, pág. - 67, 1979.
- 17.- Lerman S.J., Prevalence of antibiotic resistant H. influenzae in - healthy children. 18 th. interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy. Atlanta Georgia. - No. 181, 1978.
Kucera J. y
Brunken J.M.

- 18.- Lerman S.J., Kucera J, y Brunken J.M. Nasopharyngeal carriage of antibiotic resistant H. influenzae in healthy children. Pediatrics 64:287, 1979.
- 19.- Loda F.A., Collier A.M. y Gleszen W.P. Occurrence of Diplococcus pneumoniae in the upper respiratory tract of children. J. Pediatrics 87:1087, 1975.
- 20.- Muñoz O., Cantú J. Trejo A., y H. Fierro. Meningitis purulenta. Etiología y tratamiento. Gaceta Médica de México 115:89, 1979.
- 21.- Paredes A., Taber L.H. y Yow M.D. Prolonged pneumococcal meningitis due to an organism with increased resistance to penicillin. Pediatrics 58:378, 1976.
- 22.- Pelczar M. J., R.D. Reid. Microbiología. Ediciones Castilla, Madrid, España. 2a. Ed. págs. 418, 421, 351, 366, 1966.
- 23.- River J., Guiscafré G.H., Seraffín F., H. Muñoz. Neumonía y Celulitis por Haemophilus influenzae. Revista Mexicana de Pediatría 226-227, 1979.

- 24.- Scheifele D. W. Syriopoulou V.P. y Harding A. L. Evaluation of a rapid B Lactamase test for detecting ampicillin resistant strains of H. influenzae type b. Lancet II:257, 1974.
- 25.- Thomas J.W., M.C. Reynolds J.W. y Mock Ch R. Ampicillin resistant H. influenzae meningitis. Lancet I:313, 1974.
- 26.- Wick W.E., Preston D.S., Hawley J.C. y Griffith R.S. Pruebas de Laboratorio para determinar la susceptibilidad de las bacterias a los antibióticos. Teoría y Práctica.
- 27.- Yow M. D. Ampicillin in the treatment of meningitis due to H. influenzae. An appraisal after 6 year of experience. J. Pediatrics 74:848, 1969.