



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

AISLAMIENTO DE Pseudomonas aeruginosa A PARTIR DE
DIVERSAS MUESTRAS CLÍNICAS Y DETERMINACION DE SUS
RESISTOTIPOS EN EL HOSPITAL DE ZONA No. 25 DEL I.M.S.S.

T E S I S

Que para obtener el título de
Químico Farmacéutico Biólogo
p r e s e n t a

PEDRO SEGURA RAMIREZ

FALLA DE ORIGEN

Director de tesis: MVZ. Gerardo Cruz Jiménez



V N A M

Cuautitlán Izcalli, Estado de México

1989



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 está 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.

I N D I C E

	Pág.
Resumen.....	I - II
A) Introducción.....	1
a) Antecedentes Históricos	1
b) Importancia de la <u>Pseudomonas aeruginosa</u> en el ambiente hospitalario.....	2
c) Mecanismos de Patogenicidad de <u>Pseudomo</u> <u>nas aeruginosa</u>	6
d) Resistencia a Los Antimicrobianos....	11
B) Objetivos.....	17
C) Material y Métodos.....	18
D) Resultados.....	26
E) Discusión.....	33
F) Conclusiones.....	36
G) Apéndice.....	37
H) Bibliografía.....	41

RESUMEN

La multiresistencia de Pseudomonas aeruginosa a los Antimicrobianos, ha despertado el interés en diferentes países para determinar los antibióticos de primera elección en el tratamiento de las infecciones producidas por este microorganismo.

De 28 Cepas de Pseudomonas aeruginosa aisladas a partir de diversas muestras el 100% fué resistente a 7 de los 18 Antibióticos probados que corresponde el 38.88%. Lo cual nos permitió elaborar el siguiente patrón de resistencia:

CTX, ND, TE, MM, KA, A, E. (ver lista de abreviaturas)

Se obtuvieron 19 diferentes patrones de resistencia en 28 cepas de Pseudomonas aeruginosa, repitiéndose 7 patrones, 2 casos se repitieron 5 veces y 3 se repitió 2.

Ninguna de las cepas fué resistente a Polimixina B, el 10.71% fué resistente a Cefoperazona.

La Cefotaxidima, Carbenicilina y Amikacina inhibieron al 25.0%, 17.57% y 39.28% de las cepas aisladas respectivamente, el 39.28%, 46.42%, y 14.28% de las cepas fueron intermedias a las mismas. La suma de Sensible e Intermedio da resultados Superiores en los 3 Antibióticos 64.28%, 63.99% y 53.56% respectivamente.

De las 28 cepas de Pseudomonas aeruginosa 4 fueron resistentes a 16 de 18 antibióticos, 3 a 15 de 18, 5 a 14 de 18 etc.

lo que demuestra la resistencia tan marcada que tiene esta bacteria a los antibióticos.

Los patrones de resistencia son una alternativa en el diagnóstico bacteriológico.

A) INTRODUCCION

a).- Antecedentes Históricos

La familia Pseudomonadaceae está formada por 4 géneros, Pseudomonas, Xanthomonas, Frateuria y Zoogluca.

El género pseudomonas está formado por 27 especies, de las cuales 10 son reconocidas como importantes patógenos en humanos. (18)

SCHROETER en 1872 llamó por primera vez a este microorganismo Bacterium aeruginosum, ZOPF en 1884 le llamó Micrococcus pyocyaneus, (ZOPF) Migula en 1895 Pseudomonas pyocyanea, (SCHROETER) Migula en 1900 Pseudomonas aeruginosa. (32)

Los miembros de la familia Pseudomonadaceae son bacilos Gram negativos no fermentadores, no esporulados, que a menudo son incluidos dentro de los bacilos entéricos, pero no pertenecen a esta familia. Su hábitat normal es el agua y el suelo, algunas especies son patógenos para el hombre (4, 34)

A diferencia de las Enterobacterias, son oxidasa positiva, Gessard de (1882-1892) mostró la formación de 2 pigmentos, una piocianina con estructura de fenazina de color azulado-verdoso no fluorescente, soluble en cloroformo y agua, y la fluoresceína que es una pioverdina que no contiene la estructura de fenazina, de color verde-amarillento, que es insoluble en cloroformo pero soluble en agua, este pigmento se presenta en

Infecciones de quemados y de heridas, estos pigmentos se difunden en el medio y colorean las colonias, dan olor aromático debido a la trimetilamina, que ayuda a su identificación.

(4)

Pseudomonas aeruginosa es la especie tipo (Schroeter en 1872) Migula en 1900 (citado en Bergey's Manual).

Pseudomonas aeruginosa es un microorganismo oportunista, que en las últimas décadas ha incrementado su importancia por la alta frecuencia de aislamiento y múltiples factores de patogenicidad y multiresistencia a agentes antimicrobianos comúnmente utilizados en clínica. (24)

b).- Importancia de la Pseudomonas aeruginosa en el ambiente hospitalario.

El término de infecciones intrahospitalarias sirven para designar aquellos procesos infecciosos que se adquieren o desarrollan en pacientes hospitalizados, como consecuencia de infecciones adquiridas en estas instituciones o debido a procesos patológicos o a maniobras terapéuticas que favorecen la diseminación de microorganismos previamente establecidos en el sujeto enfermo y que frecuentemente corresponden a la llamada flora normal u oportunista.

En los últimos 30 años las infecciones intrahospitalarias han aumentado y constituyen en la actualidad un riesgo elevado para casi todo tipo de pacientes, pero en particular para aquellos que por su edad, condiciones fisiológicas o estados pató-

lógicos, tienen disminuidos sus mecanismos de defensa. El problema es tan grave, que en ciertos aspectos recuerda la era anterior a las técnicas de enfermería y de aseo, las de asepsia y antisepsia y en general a la que precedía al conocimiento del origen microbiano de las enfermedades (11)

Los agentes etiológicos de las infecciones nosocomiales son muy variados, predominan las bacterias pero también pueden ser agentes virales u hongos. La frecuencia relativa de cada una de ellos varía de un hospital a otro, así como con el tiempo y es debido a cambios en las características ambientales y de los huéspedes.

La epidemiología de las enfermedades infecciosas se ha ido modificando como resultado de un gran número de factores. Esta modificación es aún más evidente en los hospitales en donde existe una presión de selección por los antimicrobianos, un desarrollo cada vez mayor de métodos invasivos de diagnóstico y de tratamiento y un incremento en el número de pacientes inmunocomprometidos. (10)

La frecuencia de las infecciones nosocomiales varía mucho de un hospital a otro. En términos generales oscila entre 3 y 4 casos por cada 100 pacientes hospitalizados, pero puede elevarse a tasas mucho mayores, si son malas las condiciones de aseo y de aislamiento o las técnicas de asepsia y antisepsia, particularmente en pacientes de alto riesgo. Las frecuencias más elevadas se ven en los hospitales o salas para niños,

en salas de cirugía, urología, traumatología y oncología. Así como en las áreas de cuidados intensivos. Los recién nacidos y los ancianos deben considerarse como grupos de alto riesgo, por ser muy elevadas las tasas de infección hospitalaria observada en ellos (11)

Las fuentes de infección o reservorios pueden ser de muy variada índole; sin embargo los más importantes son los mismos trabajadores del hospital (personal médico y paramédico) quienes poseen floras microbianas habitualmente resistentes a múltiples antibióticos, tales como estafilococos y enterobacterias.

También la flora normal o patógena de los propios enfermos pueden constituir una fuente de infección para otros pacientes o para él mismo, en caso de diseminación hematológica o propagación de continuidad.

Diversos productos biológicos, principalmente sangre y sus derivados, constituyen también fuentes de infección tal es el caso, del Virus de la hepatitis B, del plasmodium y de otros agentes patógenos. Eventualmente los alimentos son fuentes de infección que generalmente dan origen a epidemias de mayor o menor proporción, salmonelosis, intoxicación por toxina estafilococcica, etc. (11)

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno oportunista que se asocia frecuentemente con infecciones severas de pacientes com prometidos (27)

Aproximadamente el 10% de las infecciones intrahospitalarias son causadas por Pseudomonas aeruginosa (4)

Las septicemias producidas por este microorganismo se observa con mayor frecuencia en individuos quemados, el 70% de éstos si no son tratados con medicamentos locales antimicrobianos se colonizarán con Pseudomonas aeruginosa u otros especies en no más de 3 semanas después de la quemadura (27)

La frecuencia de Pseudomonas aeruginosa como agente etiológico de endocarditis entre drogadictos se incrementa estadísticamente 5 de 22 pacientes en 1977 a 15 de 22 pacientes en 1980 lo que representa el 23 y 60% respectivamente.

Estas bacterias generalmente poseen una alta resistencia intrínseca a los antibióticos. (9)

El uso de estos antibióticos puede favorecer la colonización y subsecuentemente las infecciones generalizadas (4)

El humano sano es altamente resistente a la invasión por Pseudomonas aeruginosa, los animales de Laboratorio tienen una respuesta similar y sólo concentraciones elevadas del microorganismo por vía intravenosa o intraperitoneal o en quemaduras desencadenan una infección rápidamente fatal (35)

Pseudomonas aeruginosa se ha aislado de exudados fúngicos, orina heridas infectadas y de sangre de humanos inmunodeficientes (Prematuros). Inmunocomprometidos (Cáncer, Fibrosis Quística, etc) y anomalías urinarias (Distensión de la Vejiga, etc.) (15) Estas infecciones también se han detectado en individuos inmunosuprimidos (Transplantados) y en operados tratados con altas concentraciones de antibióticos (4)

La Virulencia de Pseudomonas aeruginosa es muy compleja, ya que se trata de un microorganismo invasivo y tóxico capaz de causar cuadros clínicos muy variados, predominando las infecciones urinarias, óticas, oculares, heridas quirúrgicas y de quemaduras. (33)

C).- Mecanismos de patogenicidad de Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa produce varias sustancias extracelulares que han sido relacionadas con su virulencia. (32,33,34) entre éstas se encuentran:

a).- LA EXOTOXINA A, letal para ratones, que es un solo polipéptido con un PM de 66 Kd producido por un alto porcentaje de las copas aisladas de pacientes y cuya acción es inhibir la síntesis de proteínas por ADP-ribosilación del factor de alargamiento 2(EF-2) requerido para el paso de translocación durante la síntesis proteica (19,28,33,34)

b).- LA EXOENZIMA 5, que es una protefina con actividad de ADP-ribosiltransferasa que contribuye a la virulencia de Pseudomonas aeruginosa ya que se ha demostrado que mutantes deficientes en la producción de esta enzima son significativamente menos virulentas que su cepa progenitora tanto en el modelo del ratón quemado (infección aguda), como en el modelo de infección pulmonar crónica en rata. (19,33,34)

c).- PROTEASA ALCALINA y una ELASTASA que han sido implicadas en la producción de hemorragias en órganos internos, especialmente en los pulmones y probablemente son los responsables de la destrucción del tejido corneal en infecciones oculares producidas por este microorganismo. Aproximadamente el 85% de las cepas clínicas de Pseudomonas aeruginosa producen elastasa, la cual es una proteasa neutra que contiene zinc y es sensible a quelantes de metales. La elastasa es producida como una proenzima inactiva asociada a la pared celular y es activada por proteólisis limitada por otras proteasas de Pseudomonas o por la propia elastasa. La elastasa purificada inactiva a los factores C1, C3, C5, C8 y C9 del Complemento in vitro, por lo que quizá inhibe el movimiento de los leucocitos polimorfonucleares al sitio de inflamación y disminuye su actividad fagocítica. La elastasa también inactiva a la proteína alfa-I, el principal inhibidor de las serinproteasas endógenas (por ejem. de leucocitos) cuya actividad aumentada podría causar daño tisular.

También se ha demostrado que las proteasas de Pseudomonas aeruginosa rompen a la Ig G y a la IgA1; (28,33,34)

d).- LEUCOCIDINA, una proteina de 27.5 Kd, termolabil y activable por tripsina, que destruye a los leucocitos pero no a los glóbulos rojos. (33,34)

e).- HEMOLISINAS: un GLICOLIPIDO termoestable y una fosfolipasa termolábil (FOSFOLIPASA C), la cual es una proteina de 78 Kd que cataliza la hidrólisis de la fosfatidilcolina (el componente principal del surfactante pulmonar) en fosforilcolina y diacilglicerol. Se ha sugerido que la combinación del glicolípido hemolítico y la fosfolipasa C puede producir efectos citopáticos considerables en los pulmones de pacientes con infecciones de estos órganos. Aparentemente el glicolípido favorece la actividad de la fosfolipasa actuando como detergente para solubilizar a los fosfolípidos.

Ambas hemolisinas son producidas durante la fase estacionaria en medios de cultivo con bajas concentraciones de fosfato pero son reprimidas en medios con alto contenido de fosfato. La observación de que en esta bacteria la síntesis de fosfatasa alcalina también se reprime por fosfato, permitió a KURIOKA y LIU proponer que ambas hemolisinas actúan cooperativamente con la fosfatasa alcalina para liberar fosfato a partir de fosfátidos bajo condiciones de ayuno de fosfato. Según estos investigadores el mecanismo sería solubilización de los fosfolípidos por el glicolípido, sobre lo que actuaría la fosfolipasa C liberando fosforilecolina que sería hidroliz

da finalmente por la fosfatasa alcalina produciendo fosfato.

Además se ha demostrado que la fosfolipasa C es muy activa sobre los fosfolípidos presentes en células eucarióticas (fosfatidilcolina, lisofosfatidilcolina y esfingomielina) y casi no tiene actividad sobre los fosfolípidos que forman parte de las membranas de las células procarióticas (fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina y fosfatidilglicerol). (33,34)

f).- EXOPOLISACARIDO, es una sustancia mucóide que elaboran algunas cepas de origen clínico, particularmente las aisladas de pacientes con fibrosis quística. Esta sustancia se conoce como ALGINATO y es un exopolisacárido constituido principalmente por ácido manurónico y ácido gulurónico que hace a las cepas presentar una morfología colonial muy mucóide.

El alginato inhibe las actividades fagocíticas de los leucocitos y es capaz de producir efectos similares a los producidos por la infección de ratones con bacterias viables.

El alginato también ha sido implicado en la adhesión de Pseudomonas aeruginosa a células de tráquea de ratón (22,23, 28,33,34)

g).- FLAGELOS, facilita la invasión del hospedero por la bacteria. Así, se ha demostrado que la inmunización activa con

el antígeno flagelar aislado protege a los ratones quemados infectados experimentalmente.

Aparentemente esta protección se debe a la inmovilización de la bacteria, que en estas condiciones es capaz de colonizar la piel pero no de penetrar ni de causar letalidad.

La evidencia más sólida de que el flagelo contribuye - importantemente a la virulencia de Pseudomonas aeruginosa ha sido aportada por MONTIE et al., quienes obtuvieron, por mutagénesis con etilmetanosulfonato, una mutante Fla⁻ de la cepa virulenta M2 y a partir de ésta, una revertante espontánea Fla⁺. Las tres cepas fueron bioquímicas y morfológicamente idénticas (excepto por la ausencia de flagelo en la mutante Fla⁻). En el modelo del ratón quemado, la cepa M2 silvestre causó el 100% de mortalidad 3 días después de la infección con 100 UFC/ratón, en tanto que la mutante M2Fla⁻, a una dosis de 10⁶ UFC/ratón, causó la muerte solo del 40% de los ratones 3 días postinfección y del 80% 7 días después de la infección. La revertante M2Fla⁺, mostró un comportamiento similar al de la cepa silvestre: 8-100% de mortalidad 3-4 días después de la infección con 100 UFC/ratón. (17,33)

h).- ENDOTOXINA; es un lipopolisacárido común a las otras bacterias Gram negativas. Esta endotoxina activa los sistemas de coagulación, fibrinolítico y del complemento y estimu

la, además la liberación de péptidos vasoactivos. (33)

i).- PILI; Es un factor que interviene en adherencia específica, constituido por polipeptido de 15,000 mol/wt y codificado por genes Cromosomales. (34)

d).- Resistencia a los antimicrobianos

La resistencia microbiana se adquiere después de un cambio en el ADN. Este cambio puede producirse por alteración en la estructura del ADN cromosómico o por adquisición de ADN extracromosómico. La alteración del ADN cromosómico se denomina mutación y la adquisición del ADN extracromosómico es resultado de intercambio genético. Estos cambios dan lugar a la formación de enzimas u otras proteínas que inactivan a los Fármacos o impiden su acceso al lugar de acción. (2,5,7)

El intercambio genético es la causa más importante de resistencia clínica a Fármacos, puesto que provoca una resistencia epidémica a múltiples Fármacos. El ADN extracromosómico causante de dicha resistencia puede reproducirse por sí mismo, dentro de la célula bacteriana y difundirse luego a otras bacterias por transducción o apareamiento (conjugación). La transducción es un tipo de transferencia genética en el -

cual el ADN de una célula bacteriana se introduce en otra célula bacteriana por infección bacteriófaga. La transmisión de resistencia de una célula bacteriana a otra se conoce como resistencia "Infecciosa" a los Fármacos, puesto que las bacterias sensibles se "Infectan" con determinantes de la resistencia. Por dicho proceso, la resistencia a un antibiótico o varios pueden distribuirse de una bacteria a otra durante el apareamiento, aun en ausencia de antibióticos. (2,3,7)

Los elementos genéticos que controlan la resistencia infecciosa a los fármacos constituyen una forma de ADN que se conoce como plásmidos. Estos últimos no son parte del gran cromosoma bacteriano circular, sino que existen como pequeñas moléculas de ADN cíclico capaces de reproducirse en forma independiente.

Los factores de resistencia extracromosómica en las bacterias Gram negativas se denominan Factores R.

Los Factores R están compuestos por 2 tipos de genes: los que transportan determinantes de la resistencia antibiótica y los que facilitan la transferencia de una célula a otra. Los primeros se llaman determinantes de resistencia (DR), y los segundos, factores de transferencia de la resistencia (FTR). El Factor R es transferido (durante el apareamiento) por medio de apéndices ciliares, los cilias sexuales, de la

bacteria masculina (donante) a los receptores femeninos, que no poseen estos cilios. El número de DR fijado a los FTR determina la cantidad de Fármacos a las cuales la bacteria se hace resistente. Un Factor R puede poseer hasta 7 genes, cada uno responsable de la resistencia a un antibiótico diferente. Los FTR y los DR pueden reproducirse en forma independiente, y cada uno de ellos puede estar presente en ausencia del otro. Las bacterias que contienen solo uno de estos 2, - no pueden transferir resistencia a Fármacos, pero pueden aparearse con una bacteria que contenga el otro para producir células con un Factor R completo. Los Factores R se encuentran principalmente en las bacterias intestinales. En especial en E. coli, Enterobacter aerogenes, K. Pneumoniae, Salmonella, Shigella, Proteus y Pseudomonas. (2,5,7)

El uso masivo e indiscriminado de los Fármacos antimicrobianos ha incrementado considerablemente la selección de bacterias con plásmidos que median la resistencia a dichos compuestos (plásmidos Tipo R) y en menor grado, de bacterias resistentes debido a la presencia de mutaciones en genes cromosomales. En la práctica es común encontrar que los Fármacos antimicrobianos prescritos para determinada infección y en ocasiones para infecciones de carácter epidémico, resultan ineficaces. (2,7,31)

El aislamiento cada vez más frecuente de diferentes esp

cios de bacilos Gram negativos no fermentadores en infecciones humanas de diversos territorios, ha creado la necesidad de conocer los antibióticos de primera elección para un tratamiento efectivo (20,21)

En la Universidad de Chicago, Mc-Laughlin, et al, en 1983 demostró que pacientes con Fibrosis Quística que tenían una exacerbación de su enfermedad pulmonar requerían de hospitalización y fueron incluidos en su estudio. Todos tenían manifestaciones crónicas pulmonares de Fibrosis Quística y recibieron una terapia oral de antibióticos con por lo menos 2 de los siguientes agentes: Dicloxaciclina, Tetraciclina, Sulfametoxazol con Trimetropim, Sulfasoxazolo, Cefalexina, para reducir la colonización bronquial con Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae y Haemophilus influenzae, pero ninguna fué efectiva in vitro contra Pseudomonas aeruginosa. (16)

Todas las Cefalosporinas de tercera generación tienen alguna actividad intrínseca contra Pseudomonas, que es benéfico en el tratamiento de exacerbación de su enfermedad pulmonar en pacientes con Fibrosis Quística. (12)

Los Aminoglucosidos, solo o en combinación con Ureidopnicilina, es comunmente usado en Quimioterapia para infecciones respiratorias causadas por Pseudomonas aeruginosa. (13)

Varios estudios realizados en hospitales de Estados Unidos de Norteamérica muestran que el 8% al 15% de las infecciones nosocomiales son causados por microorganismos resistentes a la Gentamicina, la mayoría de los cuales lo son también a la Tobramicina. Particularmente, algunos gérmenes Gram negativos como Pseudomonas aeruginosa, Providencia y Serratia muestran tener los mayores porcentajes de cepas resistentes. (26)

La Resistencia de Pseudomonas aeruginosa a los antimicrobianos es muy marcada, Seginkova, et al, en 1986 aislaron 6 cepas de Pseudomonas aeruginosa resistente a Coftazidima - (CIM 64mg/lt.) , e Imipenen (CIM 32mg/lt.) o ambos.

Estas cepas son resistentes a Carbenicilina, Azlocilina y piperacilina y algunos también son resistentes a Gentamicina y Amikacina, ninguna de éstas transfieren resistencia a Coftazidima o Imipenem por conjugación, pero todos ellos transfieren resistencia a Cefoxitina, Cefalotina y Carbenicilina a cepas receptoras de Proteus mirabilis P-38 y Escherichia coli 3110 (29)

La multiresistencia de Pseudomonas aeruginosa a los antimicrobianos ha despertado el interés en diferentes países para determinar los antibióticos de primera elección en el

tratamiento de las infecciones producidas por 6sto -
microorganismo. (8, 31)

B).- O B J E T I V O S

a).- Aislar y tipificar las Pseudomonas aeruginosa por métodos bioquímicos a partir de muestras diversas.

b).- Determinar los patrones de resistencia de Pseudomonas aeruginosa a diferentes antibióticos.

C).- MATERIAL Y METODOS

1).- MATERIAL BIOLÓGICO

Para la realización de éste trabajo se recolectaron 1,300 muestras diversas tales como Coprocultivo, Cutáneo, Expectoración, Exudado Faringeo, Ocular, Oótico, Vaginal y Urocultivo, de las cuales 28 cepas fueron de Pseudomonas aeruginosa, obtenidas en la Clínica No. 25 del Hospital de Zona del I.M.S.S.

2).- Medios de Cultivo empleado para el aislamiento primario.

Los Medios de Cultivo que se utilizaron para el aislamiento de bacterias, depende de la muestra:

Coprocultivo: Agar EMB, Agar S.S. Caldo de Tetracionato y Verde Brillante.

Cutáneo: Gelosa Sangre, Gelosa Chocolate, Agar EMB, Sabouraud, Caldo de Tioglicolato.

Expectoración: Gelosa Sangre, Agar EMB, Agar 110

Exudado Faringeo: Gelosa Sangre, Agar EMB, Agar 110

Exudado Ocular: Gelosa Sangre, Gelosa Chocolate, Agar EMB, Sabouraud.

Exudado Vaginal: Gelosa Chocolate, Thayer Martin, Sabouraud Agar EMB, Cassman, Caldo de BHI.

Urocultivo: Gelosa Sangre, Agar EMB.

3.- Pruebas Bioquímicas diferenciales para la identificación de Pseudomonas aeruginosa.

a).- Tinción de Gram	-/bastón
b).- Catalasa	+
c).- Oxidasa	+
d).- Motilidad	+
e).- Crecimiento Aerobio	+
f).- OF (Glucosa)	0
g).- Crecimiento en MacConkey	+
h).- Crecimiento en SS	+
i).- Kligler Agar	F/ácido debil P/alcalina H ₂ S(-)
j).- Indol	-
k).- Malonato	+
l).- Lisina Descarboxilasa	+
ll).- Ornitina Descarboxilasa	+
m).- Arginina dihidrolasa	+
n).- Citrato de Simmons	+
ñ).- Hidrólisis de Urea	+
o).- Fenilalanina Dihidrolasa	-
p).- Producción de Pigmento	+
q).- Reducción de Nitratos	+
r).- Rojo de Metilo	-
s).- Sacarosa	-
t).- Voges -Proskawer (VP)	- (3,14)

4).- Copa de Referencia.

Se utilizó la Cepa de Referencia ATCC 27853 obtenida del Cepario de Diagnóstico y Referencia de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del I.P.N.

5).- A las Cepas Tipificadas se les realizó la Técnica de Kirby -Bauer para la sensibilidad a los antimicrobianos, - utilizando Unidiscos. (1)

PROCEDIMIENTO:

1).- Se seleccionó de 4 a 5 Colonias aislados del mismo tipo morfológico de una placa de Cultivo. Se tocó la punta de cada Colonia con el asa y se transfirió a un tubo que contenía de 4 a 5 ml. del Medio de Cultivo adecuado, como Caldo Soya Caseína o Tripticaseína.

2).- Se incubaron los tubos inoculados de 35-37°C hasta que alcanzara o excediera la turbidez del estandar (2 a 8 hs).

Preparación del Estandar de Turbidez: Se utilizó un Estandar de Turbidez de Sulfato de Bario, para la cantidad del inóculo, el cual se preparó agregando 0.5 ml. de 0.048M de BaCl_2 (1.175w/v $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) a 99.5 ml. de 0.36N. de H_2SO_4 (1xv/v).

Se colocaron de 4-6 ml. en tubos sellados, los cuales se mantuvieron en la obscuridad y a temperatura ambiente, - estos estandares se prepararon cada 6 meses.

Se ajustó la turbidez del Caldo de Cultivo con Solu -
ción Salina Isótonica estéril ó con Caldo, hasta obtener una
turbidez visualmente comparable a la del Estandar.
15 min. después se ajustó la turbidez de la Suspensión del -
inóculo, se sumergió el hisopo dentro de la Suspensión ajusta -
da y se giró varias veces con presión firme contra la pared
interna del tubo, con objeto de remover el exceso de inóculo -
del hisopo. Se estria el Medio en 3 direcciones sobre la tota -
lidad de la Superficie de Agar, para obtener un inóculo uni -
forme.

Se efectuó un último barrido del hisopo sobre el rebor -
do de la caja de Petri y el Agar.

Se dejó reposar de 3 a 5 min. para que se seque, el inó -
culo, pero no más de 15 min. y entonces se colocó los discos.

3.- Se depositó los discos sobre la Superficie del Medio. -
presionando ligeramente con unas pinzas, la distancia entre
los discos, debe ser tal que no se sobrepongan los diámetros.
En una caja de Petri de 150 mm. Podrán colocarse 10 discos y
en una de 100 mm. de 4 a 5 discos después de 15 min. se in -

vierte la caja.

4).- Se incubaron las cajas de Petri a 35°C. cualquier retardo en la incubación dará una excesiva predifusión de los antibióticos.

5).- El tiempo de incubación fué de 16-18hs. La medición de los halos de inhibición se hizo con regla o plantilla.

6).- Se leyó la inhibición del crecimiento visualmente.

7).- Se montó las Cepas de referencia, las cuales deben chocarse, que correspondan a los diámetros fijados, antes de leer el Antibiograma, se deben de leer las copas de Referencia.

8).- En función de los diámetros de inhibición, las bacterias se consideran susceptibles, intermedio y resistentes, esto es de acuerdo a los valores siguientes.

	Antibióticos	Conc. Mg en el disco	Interpretación de los diámetros de inhibición.		
			Resistente	Intermedio	Sensible
1.-	A	(10)	14mm. ó menos	15-16	17 ó más
2.-	AK	(30)	14mm. ó menos	15-16	17 ó más
3.-	CAZ	(30)	14 " "	15-17	18 "
4.-	CB	(100)	13 " "	14-16	17 "
5.-	CF	(30)	14 " "	15-17	18 "
6.-	CFP	(75)	15 " "	16-20	21 "
7.-	CL	(30)	12 " "	13-17	18 "
8.-	CTX	(30)	12 " "	13-21	22 "
9.-	E	(15)	13 " "	14-17	18 "
10.-	ENX	(10)	28 " "	29-30	31 "
11.-	GE	(10)	12 " "	13-14	15 "
12.-	KA	(30)	13 " "	14-17	18 "
13.-	NM	(25)	10 " "	11-15	16 "
14.-	ND	(30)	13 " "	14-18	19 "
15.-	NT	(30)	12 " "	13-14	15 "
16.-	PX	(1000)	8 " "	9-11	12 "
17.-	TE	(30)	14 " "	15-18	19 "
18.-	TS	(150)	23 " "	24-26	27 "

6).- MATERIAL DE VIDRIO

Cajas Petri de 100 x 10mm.

Cubre Objetos de 50 x 24mm.

Matr az erlenmeyer Pyrex de 2000, 1000, 500, y 250ml.

Pipeta graduada Pyrex de 10, 5 ml.

Porta objetos de 75 x 25 mm.

Tubos de ensayo Pyrex de 13 x 100 mm.

Tubos de ensayo de Rosca Pyrex de 150 x 75 mm.

7).- APARATOS Y EQUIPO

Asas de Platino con un diámetro interno de 2 a 3 mm.

Asas de Platino de punta

Balanza granataria

Estufa bacteriológica de 35^o-37^oC

Gradillas

Mochero de Bunsen y Fisher

Microscopios CARL ZEISS

Refrigerador American y Kelvinator.

D).- RESULTADOS

En un lapso de 4 meses (Junio - Septiembre de 1968), se aislaron 28 cepas de Pseudomonas aeruginosa a partir de diversas muestras (Tabla No. 1) en el Hospital de Zona de la Clínica No. 25 del I.M.S.S.

A las 28 cepas aisladas se les practicó la técnica de Kirby-Bauer para conocer su susceptibilidad al antibiótico y clasificarlos en Sensible, Intermedio y Resistente a los 18 diferentes antibióticos recomendados en la bibliografía (Tabla No. 2)

De las 28 cepas de Pseudomonas aeruginosa el 100% fué resistente a 7 de los 18 antibióticos (38.88%) Probados. - El 60.71% de las cepas fué sensible a la Polimixina B y el 53.57% a la Cefoperazona.

El 39.28% de las cepas fueron intermedias a la Polimixina B y el 33.71% a la Cefoperazona.

Ninguna cepa fué resistente a la Polimixina D, mientras el 10.71% fué resistente a la Cefoperazona (Tabla No. 3)

La Ceftazidima, Carbenicilina y amikacina inhibieron al 25.0%, 17.57% y 39.28% de las cepas aisladas respectivamente.

El 39.28%, 46.42% y 14.28% de las cepas fueron Intermedias a los mismos. La suma de Sensible e Intermedio da resultados Superiores en los 3 antibióticos 64.28%, 63.99% y 53.56% respectivamente (Tabla No. 4)

Se obtuvieron 19 diferentes patrones de resistencia en 28 cepas de Pseudomonas aeruginosa, repitiéndose 7 patrones, 2 casos se repitieron 5 veces y 3 se repitió 2 (Tabla No. 5)

Una alternativa en el diagnóstico bacteriológico es el uso de resistotipos, de las 28 copas de Pseudomonas aeruginosa aisladas, el 100% mostró el siguiente patrón de resistencia:

CTX, ND, TE, MM, KA, A, E. (Ver lista de abreviaturas)
Lo que puede ayudar en la Identificación y tratamiento de las infecciones por Pseudomonas aeruginosa en el Hospital de Zona de la Clínica No. 25 del I.M.S.S.

TABLA No. 1

Origen de 28 cepas de Pseudomonas aeruginosa

MUESTRAS	No. DE MUESTRAS	No. DE CEPAS AISLADAS	%
1.- Coprocultivo	268	5	1.86
2.- Cutaneo (herida Operatoria, escara, muñón, úlceras, diálisis, drenaje.)	248	8	3.33
3.- Expectorcación bronquial y traqueal	163	5	3.07
4.- Exudado Paríngeo	650	3	0.46
5.- Exudado Ocular	20	1	5.0
6.- Exudado Oíco	9	3	33.33
7.- Exudado Vaginal	290	1	0.34
8.- Urocultivo	1660	2	0.12
Total	3,300	28 Cepas	0.848%

3,300 muestras - 100%
28 cepas - 0.848%

TABLA No. 2

Parametros de Interpretación de Sensibilidad, Intermedio -
y Resistencia de 28 Copas de Pseudomonas aeruginosa a 18 anti-
bióticos.

ANTIBIOTICOS	CONC. EN EL DISCO	SENSIBLE	INTERMEDIO	RESIS- TENTE.
1.- Cefoperazona	75 mcg.	15/28	10/28	3/28
2.- Ceftazidima	30 mcg.	7/28	11/28	10/28
3.- Cefotaxima	30 mcg.	0/28	0/28	28/28
4.- Ac. Nalidixico	30 mcg.	0/28	0/28	28/28
5.- Tetraciclina	10 mcg.	0/28	0/28	28/28
6.- Enoxacina	10 mcg.	0/28	4/28	24/28
7.- Cefalotina	30 mcg.	1/28	0/28	27/28
8.- Carbenicilina	100 mcg.	5/28	13/28	10/28
9.- Amikacina	30 mcg.	11/28	4/28	13/28
10.- Trimetropim- Sulfametoxa- sol	25 mcg.	0/28	0/28	28/28
11.- Netilmicina	30 mcg.	5/28	7/28	16/28
12.- Gentamicina	10 mcg.	0/28	10/28	18/28
13.- Polimixina B	300 U	17/28	11/28	0/28
14.- Kanamicina	30 mcg.	0/28	0/28	28/28
15.- Ampicilina	10 mcg.	0/28	0/28	28/28
16.- Trisulfa	150 U	0/28	1/28	27/28
17.- Cloranfenicol	30 mcg.	0/28	2/28	26/28
18.- Eritromicina	15 mcg.	0/28	0/28	28/28

TABLA No. 3

Antibióticos inocuos y efectivos contra Cepas de -
Pseudomonas aeruginosa aislados en el Hospital de Zona -
 de la Clínica No. 25 del I.M.S.S.

ANTIBIOTICO	CONC. EN EL DISCO	SENSIBLE%	INTERMEDIO%	RESIS- TENCIA.
1.- Cefotaxima	30 mcg.	0	0	100
2.- Ac. Nalidixico	30 mcg.	0	0	100
3.- Tetraciclina	10 mcg.	0	0	100
4.- Trimetropim-Sulfametoxazol	25 mcg.	0	0	100
5.- Kanamicina	30 mcg.	0	0	100
6.- Ampicilina	15 mcg.	0	0	100
7.- Eritromicina	15 mcg.	0	0	100
8.- Polimixina B	300 U	60.71	39.28	0.0
9.- Cefoperazona	75 mcg.	53.57	35.71	10.71

TABLA No. 4

Efecto de Ceftazidima, Carbenicilina y Amikacina contra Cepas de Pseudomonas aeruginosa y suma de Sensible e I_n termedio de los mismos.

ANTIBIOTICOS	CONC. EN EL DISCO	SENSIBLE%	INTERMEDIO%	SUMA DE S. e I.
1.- Ceftazidima	30 mcg	25.0	39.28	64.28
2.- Carbenicilina	100 mcg	17.57	46.42	63.99
3.- Amikacina	30 mcg	39.28	14.28	53.56

TABLA No. 5

19 Patrones de Resistencia en 28 cepas de Pseudomonas aeruginosa.

No. P.R.	P.R. Repetidos en las 28 Cepas.	Patrones de Resistencia (P.R.)
1.-	1,9,15	CTX,ND,TE,ENX,CF,MM,NT,KA,A,TS,CL,E
2.-	2	CAZ,CTX,ND,TE,ENX,CF,CB,MM,NT,GE,KA,A,TS,CL,E
3.-	3	CAZ,CTX,ND,TE,ENX,CF,MM,NT,KA,A,TS,CL,E
4.-	4,6	CTX,ND,TE,ENX,CF,MM,GE,KA,A,TS,CL,E
5.-	5,23	CAZ,CTX,ND,TE,ENX,CF,CB,AK,MM,NT,GE,KA,A,TS,CL,E
6.-	7,17,22	CTX,ND,TE,ENX,CF,MM,KA,A,TS,CL,E
7.-	8,14	CTX,ND,TE,ENX,CF,CB,MM,GE,KA,A,TS,CL,E
8.-	10	CTX,ND,TE,ENX,CF,MM,GE,KA,A,TS,E
9.-	11,20	CTX,ND,TE,ENX,CF,AK,MM,NT,GE,KA,A,TS,CL,E
10.-	12,13	CFP,CTX,ND,TE,ENX,CF,CB,AK,MM,NT,GE,KA,A,TS,CL,E
11.-	16	CFP,CTX,ND,TE,ENX,CF,CD,AK,MM,NT,GE,KA,A,TS,CL,E
12.-	18	CTX,ND,TE,CF,AK,MM,NT,GE,KA,A,TS,CL,E
13.-	19	CAZ,CTX,ND,TE,ENX,CF,MM,NT,GE,KA,A,TS,CL,E
14.-	21	CTX,ND,TE,CB,AK,MM,NT,KA,A,E
15.-	24	CAZ,CTX,ND,TE,ENX,CF,AK,MM,KA,A,TS,CL,E
16.-	25	CAZ,CTX,ND,TE,ENX,CF,AK,MM,GE,KA,A,TS,CL,E
17.-	26	CAZ,CTX,ND,TE,CF,AK,MM,NT,GE,KA,A,TS,CL,E
18.-	27	CAZ,CTX,ND,TE,ENX,CF,CB,AK,MM,GE,KA,A,TS,CL,E
19.-	28	CTX,ND,TE,CF,AK,MM,NT,KA,A,TS,CL,E

E).- DISCUSION

A partir de 3,300 Muestras diversas se aislaron 28 cepas de Pseudomonas aeruginosa (Tabla No. I).

La Muestra Cutanea fué la que proporcionó el mayor número de cepas, 8 de 248, no siendo éste el mayor porcentaje, el cual fué obtenido por el Exudado Otico 3 de 9, - lo que representa un 33.33%. El menor porcentaje se obtuvo en el Urocultivo 2 de 1660, lo que representa un 0.12%

Las cepas de Pseudomonas aeruginosa aisladas fueron corroboradas con la Cepa Patrón por pruebas bioquímicas, así como la producción de pigmentos, acumulación en la Superficie de una nata en medios líquidos y olor.

La Técnica de Kirby-Bauer nos permitió determinar la Sensibilidad, Intermedio y Resistencia de las Cepas de Pseudomonas aeruginosa a diferentes antibióticos.

Comparando los resultados con los trabajos, de Pare - des et al, en 1986 (21) en el cual la Cefotaxima inhiben al 95% de las Cepas de Pseudomonas aeruginosa y solo el 5% fué resistente. En el presente trabajo reportamos que el 100% de las Cepas son resistentes a éste antibiótico. Por otro lado el Cloranfenicol fué reportado con un 7.5% de Sensibilidad - y nosotros encontramos que el 100% de las Cepas son resistentes.

Nuestros resultados concuerdan con los de Paredes et al, en 1986 (21) en el 100% de Resistencia a Ampicilina, Cefalotina, Kanamicina y Acido Nalidixico.

Comparando con los resultados de Giraud et al, en 1986 (8) la Gentamicina muestra Parametros de resistencia similares, 55.5% y 64.28% en nuestro estudio.

De las 28 Copas de Pseudomonas aeruginosa 4 fueron resistentes a 16 de 18 antibióticos, 3 a 15 de 18, 5 a 14 de 18 etc. lo que demuestra la resistencia tan marcada - que tiene ésta bacteria a los antibióticos.

La Cefotazidima, Carbenicilina y Amikacina mostraron un Intermedio que significa que no es ni enteramente Sensible ni totalmente Resistente y que su erradicación es - posible en ciertas condiciones de administración, o bien con antibióticos cuya posología puede ser elevada (25)

La Polimixina B y la Cefoperazona son los 2 mejores antibióticos que se deben utilizar en el Hospital de Zona Clínica No. 25 contra las Pseudomonas aeruginosa, por que éstos son los más efectivos. (Tabla No. 3)

Es probable que los 7 Patronos de Resistencia que - se repitieron en algunos casos de 2 y 3 veces sean la misma Copa respectivamente (Tabla No. 5)

Una alternativa en el diagnóstico bacteriológico es el uso de Resistotipos, sin embargo no ha sido empleada ésta técnica en la mayoría de los laboratorios, por la cantidad de material y antibióticos que deben ser probados, - sin embargo ya contando con Patrones de Resistencia como - el obtenido en éste trabajo se probaría solo con 7 antibióticos (Ver pág. 27)

F).- CONCLUSIONES

- 1.- En el Hospital de Zona Clínica No. 25 del I.M.S.S. - pueden estar involucrados más de 19 diferentes Resis- totipos de Pseudomonas aeruginosa en infecciones.
- 2.- Obtuvimos un solo Patrón de Resistencia confiable y - seguro en el 100% de las Cepas de Pseudomonas aerugi- nosa aisladas en el Hospital de Zona Clínica No. 25 - del I.M.S.S.
- 3.- La Polimixina B y la Cefoperazona son los antibióti - cos más efectivos contra las Cepas de Pseudomonas - aeruginosa aisladas en el Hospital de Zona Clínica No. 25 del I.M.S.S.
- 4.- La Certazidima, Carbenicilina y Amikacina son 3 Anti - bióticos que pueden ser usados en las infecciones por- Pseudomonas aeruginosa bajo ciertas condiciones (Combi nación y dosis elevadas).
- 5.- Siete Antibióticos que no deben ser usados en las infec ciones por Pseudomonas aeruginosa Son Cefotaxima, Acido Nalidixico, Tetraciclina, Trimetropim-Sulfametoxazol, - Kanamicina, Ampicilina, Eritromicina ya que el 100% de las Cepas son Resistentes.

G).- APENDICE

A).- Medios de Cultivos

- 1).- Agar Citrato de Simmons (LAB. MERCK)
- 2).- Agar de fenilalanina (LAB. BIOXON)
- 3).- Agar Kligler (LAB. BIOXON)
- 4).- Agar MacConkey (LAB. MERCK)
- 5).- Agar Verde brillante (LAB. MERCK)
- 6).- Agar S.S. (LAB. BIOXON)
- 7).- Caldo de infusión cerebro corazón (BHI) (LAB. BIDICO)
- 8).- Caldo de lisina (LAB. BIOXON)
- 9).- Caldo Malonato (LAB. BIOXON)
- 10).- Caldo Selenito (LAB. BIOXON)
- 11).- Caldo tetrionato (LAB. BIOXON)
- 12).- Caldo Urea Sacarosa (LAB. BIOXON)
- 13).- Decarboxilación de (lisina -ornitina -arginina)
(LAB. BIOXON)
- 14).- Medio EMB Agar (LAB. MERCK)
- 15).- Medio gelosa Chocolate (LAB. BIOXON)
- 16).- Medio gelosa Sangre (LAB. BIOXON)
- 17).- Medio MID (LAB. BIOXON)
- 18).- Medio NR- VP (LAB. BIOXON)
- 19).- Medio OF (Hugh y Leifson) (LAB. BIOXON)
- 20).- Medio Mueller-Hinton (LAB. BIOXON)
- 21).- Medio SIM (LAB. BIOXON)
- 22).- Medio Líquido de Tioglicolato (3) LAB. MERCK)

B).- Colorantes

a).- Cristal Violeta

Solución A

Cristal Violeta..... 20 gr.

Alcohol etílico (95%)..... 100 ml.

Solución B

Oxalato de Amonio..... 1 gr.

Agua destilada..... 100 ml.

Diluir 1: 10 con agua destilada

b).- Safranina

Safranina..... 0,5 gr.

Agua destilada..... 100 ml.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

C).- Reactivos

1.- Alcohol -acetona

Alcohol etílico 95°.....	100 ml.
Acetona.....	100 ml.

2.- Catalasa

Peroxido de Hidrógeno.....	30%
(Superoxal) Conservar en frasco color caramelo.	
1o. Evitar la innecesaria exposición a la luz.	

3.- Fenilalanina -desaminasa

Cloruro Férrico ($FeCl_3$).....	10 gr.
Agua destilada, c. s. p.....	100 ml.

4.- Kovacs para el Indol

Alcohol amílico ó Isoamílico.....	150 ml.
P-dimetilaminobenzaldehido.....	10 gr.
HCl (Conc)	50 ml.

5.- Lugol

Yodo.....	5 gr.
Yoduro de Potasio.....	10 gr.
Agua destilada.....	100 ml.

6).- Oxidasa

Tetrametil -P- Fenilendiamina..... 1 gr.
Agua destilada..... 100 ml.

7).- Rojo de Metilo

Rojo de Metilo..... 0.1 gr.
Alcohol Etilico..... 100 ml.
Agua destilada..... 200 ml.

8).- Alfa-Naftilamina..... 5 grs.
Dimetil -Alfa -Naftilamina..... 6 grs.
Acido Acético (5 N), 30%..... 1000 ml.

Reactivo A

Acido Sulfanilico (ácido para aminobenceno-Sulfoni-
co)..... 8 grs.
Acido Acético (5 N) 30%..... 1000 ml.

Reactivo B

9.- Voges -Proskauer

Alfa -Naftol..... 5 gr.
Alcohol Etilico (absoluto)..... 100 ml.
Hidróxido de Potasio..... 40 grs
Agua destilada..... 100 ml. (14)

H).- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Bauer, Aw Kirby WMM, Sherris JC, et al.
Antibiotic Susceptibility by a Standardized
Single disk Method, AMJ. CLin Pathol
45: 496, 1966
- 2.- Benavides -Cisneros, E. M. Gómez -Eichelmann,
C.M. Transferencia y Resistencia al Suero en Cepas
Gram Negativas Multirresistentes a las drogas Anti
microbianas. Rev. Lat-Amer. Microbiol.29:27-33,1987
- 3.- Bioxón, Manual Bioxón. Medios de Cultivo y Reactivos
de Diagnóstico, Editado por Bioxón
- 4.- Boyd, Robert, Marr J. Joseph Medical Microbiology,
Ed. Little Brown and Company, Boston 370-372, 1980
- 5.- Braude I. Abraham Antimicrobial Drug Therapy Ed.-
Médica Panamericana S. A. 67-69, 1979
- 6.- Cowan, S.T. Steel, K.J. Manual for the identifica_
tion of Medical bacteria, Edition Secund 229-258, 1979

- 7.- Donald G., Guiney Jr., Promiscuous Transfer of Drug Resistance in Gram Negative bacteria. The Journal of infectious Diseases. 149 (3):320-329, 1984
- 8.- Giraud Ma. del Carmen, et al. Patrones de Susceptibilidad a 19 Antimicrobianos de gérmenes aislados de He mocultivos en un Hospital de referencia de la Ciudad de México. La Rev. Invest. Clin. (Méx). 38: 7-14, 1986
- 9.- Gould I.M. and wise R. Third generation Cephalosporins. The Medical Journal 290: 879-9, 1985
- 10.- Gutiérrez G. T., Guiscafré G. H., Zúñiga V., Muñoz, O. Análisis Bacteriológico de las infecciones de origen comunitario e intrahospitalario en un Hospital Pediátrico, Bol. Med. Hosp. Infantil, México, 43: 5:269-273, 1985
- 11.- Kumate J. Gutiérrez G., Manual de Infectología, México, Pág. 493-495, 1988
- 12.- L. Jeffrey, et al. Cephalosporin Therapeutics in Cystic fibrosis. The Journal of Pediatrics. 108:5-2:854-860, 1986

- 13.- Levy Jack, et al Bioactividad de Gentamicin in -
purulent sputum from patients with Cystic Fibrosis
or Bronchiectasis: Comparison with activity in Serum.
The Journal of infectious diseases.
148: 6: 1069-1076, 1983
- 14.- Mac. Faddin J.F. Pruebas bioquímicas para la Identifi-
cación de bacterias de importancia Clínica Ed.- Médica
Panamericana S.A. 1980
- 15.- Marrie, et al. Influence of Mucoidy on Antibody coating
of Pseudomonas aeruginosa. The Journal of infectious
disease. 139: 3: 357-361, 1979
- 16.- Mc Laughlin, F. J. Matthees, W.J. Strieder, D. J. Sulli-
van, B. Taneja, A. Murphy, P. And Goldman, D.A. Clinical
and Bacteriological Responses to three Antibiotic Regi -
mens for acute exacerbations of Cystic fibrosis: Ticarclo
llin-Tetramycin, and azlocillin-placebo. The Journal of
infectious disease. 147, 3: 357-361, 1983
- 17.- Mentic, T.C., D. Doyle -Hutzinger; R.C. Craver I.A. Hol-
der. Loss Of Virulence associated with absence of fla -
sellum in an isogenic mutant of Pseudomonas aeruginosa
in the burned-mouse model. Infect. Immun.
38: 1296-1298, 1982b

- 18.- Murray, R.G.E. et al., Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. I, Ed. Williams Wilkins 1984.
- 19.- Nicas T.I. et al. The Role of Exoenzyme S in infections With Pseudomonas aeruginosa The Journal of infectious disease. 152: 4: 716-721, 1985
- 20.- Paredes L. Thompson L, Canto E, Paredes L. Bacilos Gram Negativos no fermentadores de origen humano I.- Estudio bacteriológico y significado Clínico de 185 Cepas . Rev. Lat-amer. Microbiol. 28: 99-108, 1986
- 21.- Paredes L. Thompson L, Canto E, Paredes L. Bacilos Gram. Negativos no fermentadores de origen humano II Sensibilidad "In Vitro" de 185 Cepas a 17 Antibióticos y Quimioterápicos de uso Clínico. Rev. Amer. Microbiol. 28: 109-116, 1986
- 22.- Pier G. B. et al Immunochemical Characterization of The Mucoid Exopolysaccharide of Pseudomonas aeruginosa. The Journal of infectious diseases. 147: 3: 494-502, 1983
- 23.- Pier G. B. And Ames Peter. Mediation of the Killing of rough, Mucoid isolates of Pseudomonas aeruginosa from patients with Cystic fibrosis by the alternative Pathway of Complement. the Journal of infectious diseases.

150: 2: 223-227, 1984

- 24.- Resumen del XVI Congreso Nacional de Microbiología,
Durango, Dgo. México. 57, 1985
- 25.- Roussel, Su incidencia en Terapeutica, La Resistencia
bacteriana 2. Ed. per Roussel. 11, 1988
- 26.- Ruiz-Palacios Guillermo, et al. Control de la Resis -
tencia de bacilos Gram Negativos a AminoglucoSIDOS.
La Rev. Invest. Clin. (Méx). 38: 1-6, 1986
- 27.- Saelinger M. Catharino, Snell, Kathleen, and Holder -
alan ian. Experimental Studies on the pathogenesis of
infections due to Pseudomonas aeruginosa: Direct evi-
dence for toxin production during Pseudomonas infection
of burned skin tissues. Journal of infectious diseases.
136: 4: 555-662, 1977
- 28.- Sawada S. et. al. Protection against infection with -
Pseudomonas aeruginosa by passive transfer of MonoClo
nal antibodies to lipopolysaccharides and outer membrane
proteins. The Journal of infectious diseases.
150: 4: 570-576, 1984

- 29.- Senginkova Z., Kromery V., Knothe H., Ceftazidima resistance in Pseudomonas aeruginosa: Transduction by a wild-type phage. The Journal of infectious diseases 154: 6: 1049-1050, 1986
- 30.- Shekar R., et al., Outbreak of endocarditis Caused by Pseudomonas aeruginosa Serotipo O11 among pentazocine and Tripeleminamine abusers in Chicago. The Journal of infectious diseases. 151: 2: 203-207, 1985
- 31.- Shas M. David, Vartian Carl, and Currie A. Charlie - tte. Variability in DNA Sequence of Closely related nosocomial Gentamicin -resist plasmids. The Journal of infectious diseases. 148: 6: 1013-1018: 1983
- 32.- Topley and Wilson S. Principles of Bacteriology, - y Virology and immunity, Vol. I. Sixth Edition in Two Volumen 819-820, 1976
- 33.- Vaca P.S., Cervantes V. C., Factores de Virulencia de Pseudomonas aeruginosa. Rev. Lat. Americano, Microbiol. 30: 87-90, 1988

34.- Vasil M. L. Ph. D., Pseudomonas aeruginosa: Biology, Mechanisms of Virulence, epidemiology. The Journal of Pediatrics. 108: 5-2: 800-805, 1986

35.- Ziegler J. Elizabeth and Douglas Herdon Pseudomonas aeruginosa Vasculitis and Bacteremia following conjunctivitis: A simple model of fatal Pseudomonas infection in neutropenia. The Journal, of infectious diseases. 139: 3: 288-296, 1979.