

870127
27
28

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

Incorporada a la Universidad Nacional Autónoma de México

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



FALLA DE ORIGEN

INCIDENCIA DE ENTEROBACTERIAS RESISTENTES A
ANTIBIOTICOS EN AGUAS NEGRAS

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A
LUZ DEL ALBA ROJO HURTADO

Asesor: Q.F.B. María del Socorro Pulido García
GUADALAJARA, JALISCO, NOVIEMBRE 1989



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.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

INDICE

CAPITULO I	pag.
1.0 INTRODUCCION -----	2
a) ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS -----	2
b) MORFOLOGIA Y FISILOGIA BACTERIANA -----	3
CAPITULO II	
2.0 BACILOS GRAMNEGATIVOS FERMENTADORES (ENTEROBACTERIAS) -	5
2.1 GENERALIDADES -----	5
a) E. COLI -----	5
b) SHIGELLA -----	8
c) KLEBSIELLA -----	8
d) ENTERODACTER -----	9
e) SERRATIA -----	9
f) CITROBACTER -----	10
g) PROTEUS -----	10
h) PROVIDENCIA -----	11
i) SALMONELLA -----	11
CAPITULO III	
3.0 AGENTES ANTIMICROBIANOS -----	14
3.1 GENERALIDADES -----	14
a) MODOS POSIBLES DE ACCION -----	15
b) MECANISMO DE ACCION DE MEDICAMENTOS ANTIMICRO- BIANOS -----	16
c) RESISTENCIA A LOS MEDICAMENTOS ANTIMICROBIANOS --	17
3.2 ACCION ANTIBIOTICA DE LAS β LACTAMASA -----	18
a) PENICILINA G -----	18
b) AMPICILINA -----	19
3.3 ACCION ANTIBIOTICA DE LOS AMINOGLUCOSIDOS -----	20
a) AMIKACINA -----	21
b) KANAMICINA -----	21
3.4 ACCION ANTIBIOTICA DE LAS CEFALOSPORINAS -----	22
a) CEFALOTINA -----	23
b) CEFOTAXIMA -----	23
3.5 ACCION ANTIBIOTICA DEL CLORAMFENICOL -----	24
3.6 CONCEPTO DE AGRUPACION DE ANTIBIOTICO PARA ANTIBIO- GRAMA -----	25

CAPITULO IV

4.0 PRUEBAS DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA -----	27
4.1 GENERALIDADES -----	27
4.2 METODO DE KIRBY-BAUER -----	28
4.3 MEDIO DE CULTIVO PARA ANTIBIOGRAMA (MUELLER-HINTON) ---	29
4.4 METODO DEL UNIDISCO -----	29

CAPITULO V

5.0 MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS PARA ENTEROBACTERIAS ----	31
a) CALDO GRAMNEGATIVO -----	31
b) AGAR Mac CONKEY -----	31
c) XLD -----	32
d) AGAR DESOXICOLATO CITRATO -----	32
e) AGAR CON SULFITO DE BISMUTO -----	32

CAPITULO VI

6.0 MEDIOS DE IDENTIFICACION BIOQUIMICA PARA ENTEROBACTERIAS -----	35
6.1 AGAR HIERRO DE KLIGLER -----	35
6.2 AGAR CITRATO DE SIMMONS -----	36
6.3 AGAR LISINA DE HIERRO -----	37
6.4 MEDIO SEMISOLIDO DE SIM -----	37
6.5 CALDO UREA DE STUART -----	39
6.6 CALDO ROJO DE METILO -----	39
6.7 CALDO VOGES-PROSKAUER -----	40

CAPITULO VII

7.0 METODO PARA EL AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE ENTEROBACTERIAS EN MUESTRAS DE AGUAS NEGRAS -----	43
---	----

CAPITULO VIII

8.0 RESULTADOS	
8.1 TABLA DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA -----	45
8.2 MAXIMO PORCENTAJE DE RESISTENCIA -----	46

CAPITULO IX

9.0 CONCLUSIONES -----	49
------------------------	----

CAPITULO X

10.0 BIBLIOGRAFIA -----	51
-------------------------	----

CAPITULO I

1.0 INTRODUCCION

a) Aspectos microbiológicos del agua: El agua es el líquido más abundante de la tierra y constituye un requisito para la vida en todos sus aspectos, ya sea que se utilice en procesos metabólicos, como disolvente de minerales o para eliminación de desecho.

Las reacciones biológicas proporcionan uno de los medios más apropiados para la purificación de las corrientes. Una planta para tratamiento de agua o para eliminación de aguas negras o desechos industriales, requiere de maquinaria y dispositivos de control.

La calidad del agua afecta la diversidad de especies, la estabilidad, la productividad y las condiciones fisiológicas de las poblaciones.

La calidad del agua necesita ser definida en relación con el uso para el cual se requiere; el valor de los indicadores biológicos, debe juzgarse sobre bases similares. Para que los organismos sean utilizados como indicadores biológicos de contaminación, deben presentar características particulares que permitan interpretar de manera confiable, los resultados que de su estudio se obtengan.

Las aguas superficiales son las de corrientes, charcos y lagos que contienen muchas bacterias inocuas del suelo, pero en el caso de corrientes y lagos cercanos a poblaciones en casi seguro que están contaminadas con bacterias intestinales, esto es por conducir los desechos de poblaciones a éstas aguas.

Cuando las aguas negras son vertidas a un sistema colector natural de agua, donde no molesten a una población se puede decir que ocurre una autopurificación ya que las bacterias, presentes en aguas negras junto con la materia orgánica llevan a cabo oxidaciones y descomposiciones propias de la naturaleza y que si transcurre suficiente tiempo, no quedará rastro de materia orgánica como tal, sino los productos finales que de acuerdo a su cantidad aparecerán o desaparecerán ciertas poblaciones bacterianas.

El estudio bacteriológico del agua se ha enfocado a los aspectos sanitarios debido a la importancia que tienen para la salud pública las enfermedades que se transmiten por el agua y como controlarlas, siendo el mejor criterio para esto, conocer la clase y número de bacterias que causan las enfermedades.

Cuando el agua se contamina con materia fecal humana es probable que contenga bacterias que causen infecciones entéricas; ésta posibilidad se hace realidad cuando la materia fecal se mezcla y almacena como sucede con las aguas negras. Cuando no resulta práctico aclarar estas bacterias en forma sistemática, se usa un indicador de la contaminación fecal, el cual va a ser las bacterias que se encuentran en aguas contaminadas con materia fecal y no se encuentran en aguas naturales.

La contaminación que depende de los suministros de agua y eliminación de las aguas negras, ocupa un lugar importante. Las enfermedades transmitidas por estos medios se limitan al grupo de las entéricas, en las que la infección se origina por el tubo digestivo y los microorganismos causantes se eliminan con las heces. El material contaminado con heces es ingerido por personas quienes resultan infectadas. Cuando la transmisión se hace a través del suministro de

agua, se producen epidemias de cólera, fiebre tifoidea o infecciones similares.

Se considera como aguas negras el agua ya usada del abastecimiento de una población, y como tal es una dilución de materia fecal y otros desperdicios. Son vehículo importante en la transmisión de infecciones entéricas. Los mecanismos para eliminar, las aguas negras tiene como objetivo: liberar a una población de un volumen de desperdicio etc; disponer de ellas de manera que no sean perjudiciales a otras poblaciones. Los compuestos orgánicos complejos que hay en las aguas negras sufren los mismos procesos de descomposición que destruyen la materia orgánica muerta en la naturaleza.

Las aguas negras parcialmente tratadas pueden eliminarse por dilución. El tratamiento de las aguas negras no destruye necesariamente la bacteria patógena.

b) **Morfología y Fisiología Bacteriana:** Las bacterias son los organismos de menor tamaño que contienen los componentes necesarios para crecer y autorreplicarse a expensas de los alimentos, y morfológicamente son más simples que las células de los organismos superiores.

El estudio de la anatomía bacteriana y de la estructura de cada uno de los elementos que la constituyen, así como de su composición, tiene un gran interés.

La bacteria como ser unicelular, cuando se observa al microscopio óptico, no permite reconocer más que la forma, el tamaño y la agrupación. Mediante tinciones aparece con aspecto homogéneo o granuloso y es posible reconocer, algunas estructuras externas, como la capsula y los flagelos. Se puede establecer, además, su afinidad tintorial.

Los elementos bacterianos se dividen en obligados (pared celular, membrana citoplasmática, citoplasma, ribonomas y núcleo) y facultativos (capsula, flagelos, pili, esporas y glicocalix).

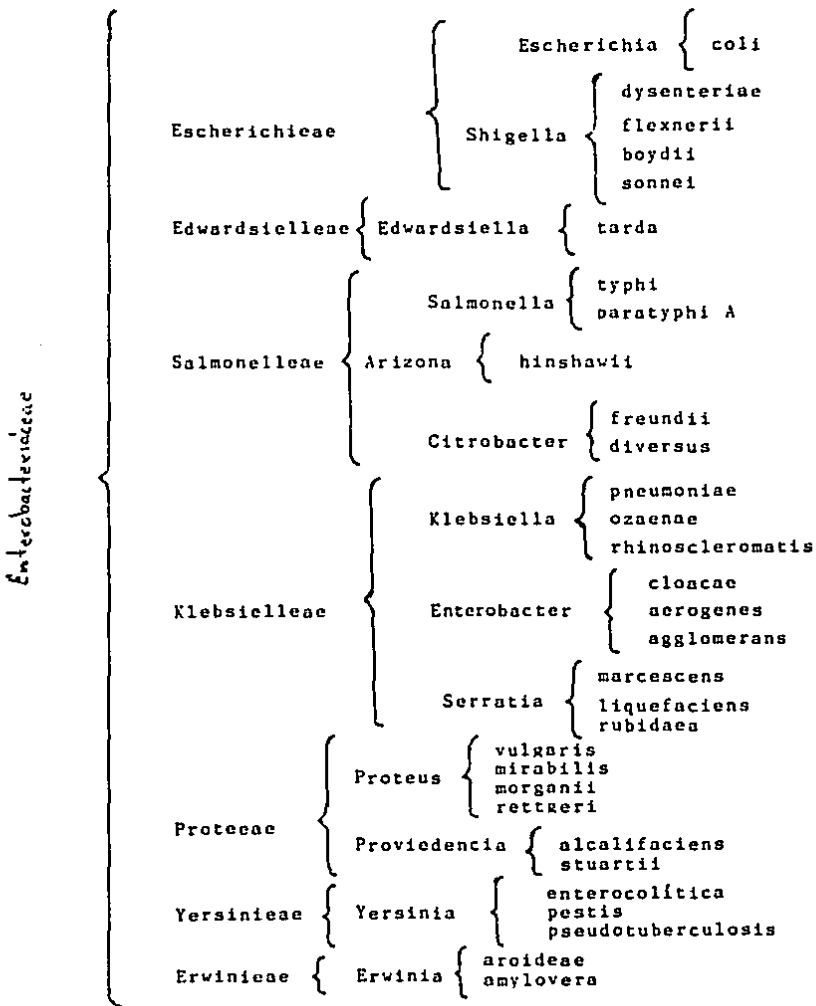
La pared puede ponerse de manifiesto mediante la tinción por el método de Gram, que permite de acuerdo con su afinidad tintorial, dividir las bacterias en dos grandes grupos: grampositivos y gramnegativos.

Las bacterias presentan una morfología y un tamaño muy viable, así como diferentes sistemas de agrupación que permiten distribuirlos en grupos afines que faciliten su estudio.

El microscopio de luz muestra dos formas principales de subacterias: los organismos más o menos esféricos llamados cocos y las de forma cilíndrica denominados bacilos. Los cocos pueden presentarse de diversas formas, según los planos en que se dividan: cuando predominan en forma de pared se llama diplococo; en cadenas, estreptococos, y en racimos, estafilococos. Los cocos que permanecen adheridos después de una separación sucesiva en dos o tres direcciones perpendiculares, dando tétradas cuadradas o aglomeraciones cúbicas, se llaman sarcinas. Cuando los bacilos son extremadamente cortos se denominan coccobacilos, cuando son más delgados en sus extremidades, bacilos fusiformes; si crecen en forma de fibras, forman filamentosas, y cuando lo hacen en formas curvas, vibrones o espirilos.

CAPITULO II

CLASIFICACION DE ENTEROBACTERIAS



2.0 BACILOS GRAMNEGATIVOS FERMENTADORES (ENTEROBACTERIAS)

2.1 Generalidades: Los enterobacterias se definen como bacilos gramnegativos aerobio y anaerobio facultativos, no esporulados que desarrollan bien en medios artificiales sin aire, de 2-4 m de longitud por 0.4-0.6 m de anchura, con extremidades redondeadas que pueden ser móviles con flagelación peritrica o inmóviles, no producen oxidasas, reducen los nitratos y descomponen la glucosa por fermentación.

Estos caracteres permiten separarlos de la familia Vibrionaceae (Vibrio, Aeromonas y Pleisomonas), bacilos curvos con flagelación polar, aerobios y anaerobios facultativos, que son oxidasa-positivos y descomponen la glucosa por fermentación, y de la familia, Pseudomonadaceae (Pseudomonas).

Entre los muchos microorganismos "entéricos" (Enterobacteriaceae), los principales patógenos que causan diferentes tipos de enfermedades gastrointestinales (tifoidea, otras fiebres entéricas, gastroenteritis) figuran Salmonella y Arizona, agentes causales de la disentería bacilar, Shigella, el agente de la Yersinia, Yersinia enterocolitica y el enterotóxico y enteropatógeno Escherichia coli.

Las enterobacterias presentan gran variedad de propiedades bioquímicas o metabólicas: son capaces de fermentar azúcares y alcoholes, utilizar diversas vías metabólicas, descomponer diferentes nitratos y producir gran variedad de fermentos (ureasas, descarboxilasas, decaminasas, dihidrolasas) y productos finales (indol SH₂).

La clasificación de las enterobacterias se efectúa por sus propiedades bioquímicas.

Según su capacidad de fermentar la lactosa, las enterobacterias se han dividido en tres grandes grupos (fermentadores rápidos, fermentadores lentos y no fermentadores), que se han considerado de interés para la clasificación y especialmente por su relación con la acción patógena.

Enterobacterias oportunistas (E. coli, Klebsiella-Enterobacter, Serratia-Hafnia, Citrobacter, Edwardsiella, Proteus, Morganella, Providencia). Son microorganismos que forman parte de la flora comensal del tubo digestivo o se encuentran como saprofitos en el medio externo, que normalmente no se comportan como patógenos, pero, cuando se presentan factores predisponentes, pueden dar lugar a cuadros clínicos diversos por lo general fuera del aparato digestivo (infecciones urinarias, supuraciones de diversa localización y sepsis). En su mayoría son cepas resistentes a los antibióticos, que generalmente es necesario administrar para la curación del proceso.

a) Escherichia coli: Es la especie predominante en el intestino grueso; por eso se denomina también "colibacilo". Su presencia en el agua indica generalmente la existencia de una contaminación fecal, por lo que las pruebas encaminadas a detectar su presencia son ampliamente utilizadas en los laboratorios de salud pública. La presencia de E. coli ha sido utilizada como índice de contaminación fecal.

Al crecer en caldo, E. coli da lugar a una turbidez uniforme. La mayoría poseen flagelos, y por tanto son móviles. Las cepas lisas (L) forman colonias incoloras, convexas y brillantes, pero al ser subcultivadas repetidamente en medios artificial se convierten en cepas rugosas (R) que forman colonias granulares y opacas. Las variantes encapsuladas producen colonias mucoides. Las colonias típicas de E. coli pueden ser reconocidas a través de su aspecto característico en ciertos medios diferenciales: estos microorganismos fermentan la lactosa, y en agar eosina-azul de metileno y agar Hado presentan reflejos metabólicos característicos. E. coli produce ácidos y gas a partir de una amplia variedad de hidratos de carbono, pero debe recordarse que existen cepas que fermentan a la glucosa dando lugar a producción de ácido, pero no a la de gas. E. coli produce indol y es positiva para el rojo de metilo, no utiliza el citrato como fuente única de carbono.

Los procesos patológicos afectan al tracto urinario. La pielonefritis crónica de este tipo puede dar lugar a una hipertensión que, con frecuencia, conduce a una uremia mortal. También suele hallarse en la piel del perineo y en los genitales, infectando pequeñas heridas que se contaminan con orina o con heces.

Ciertos tipos de E. coli pueden producir una diarrea aguda en el hombre, especialmente, en los niños de corta edad. Pueden dar lugar a un síndrome parecido al de la disentería bacteriana ("colitis"), parecido al que produce ciertas cepas virulentas de Shigella.

La mayoría de las cepas de E. coli son sensibles a las sulfamidaz, a la ampicilina, a las cefalosporinas, a tetraciclinas y a la carbenicilina. También se observan casos de resistencia frente a alguno de estos agentes. Otros agentes más tóxicos, como son la gentamicina, la kanamicina, la estreptomycin, la polimixina o colistina, y el cloranfenicol, deben ser reservados para los casos en que fallen otros tipos de tratamiento, o en infecciones sistémicas que pueden resultar mortales.

Infecciones extraintestinales.- E. coli puede producir infecciones oportunistas fuera del tubo digestivo, cuando se presentan factores predisponentes.

- 1.- Es una de las causas más frecuentes de infecciones urinarias.
- 2.- También interviene en infecciones biliares, peritoneales y meningitis.
- 3.- Produce infecciones de las heridas y mucosas.
- 4.- Causa procesos generalizados, bacteremias y sepsis.

Estas infecciones ocurren cuando existen factores predisponentes, para este tipo de infecciones, como obstrucciones, estasis de las vías urinarias o biliares y los mecanismos naturales de defensa son poco activos, como ocurre en el recién nacido y prematuros, o se inhiben o anulan por cualquier causa (enfermedades crónicas, tumorales, enfermos de edad avanzada, tratamiento con corticoides, inmunodepresores y citostáticos). Merecen especial mención las meningitis y sepsis neonatales, que se presentan en recién nacidos y prematuros en las primeras semanas de vida, producidas en su mayoría por E. coli, y en las que también pueden intervenir los estreptococos del grupo B. También pueden dar lugar a sepsis en personas de edad avanzada, con enfermedades crónicas, irradiadas o tratadas con inmunodepresores.

E. coli enteropatógenas.- Se estableció una clasificación adecuada de E. coli, pudo demostrarse una correlación entre determinados serotipos y los brotes de gastroenteritis infantil. Se presentaban fundamentalmente en los lactantes y niños pequeños durante los meses de verano en forma de brotes epidémicos en las salas de pediatría, de los hospitales y maternidades, con una mortalidad elevada, y estaban producidos por determinados serotipos pertenecientes a 17 grupos O; los más frecuentes eran los grupos O 26, 55, 86, 111, 119, 125, 126, 127, 128 y 142, asociados muchas veces con determinados antígenos K y H. El papel etiológico de estos serotipos fue difícil de demostrar y se estableció sobre la base de datos clínicos, epidemiológicos y pruebas de inoculación en voluntarios sin que se llegara a conocer su mecanismo de acción. Más tarde se observó en los ensayos experimentales la presencia de lesiones histológicas características, constituidas por numerosas bacterias o microcolonias fuertemente adheridas a la mucosa con destrucción de las microvellosidades de los enterocitos sin que se produjera invasión, debido posiblemente a la presencia de adhesinas MR codificadas por un plásmido de 55-72 Mdaltons. En estas cepas no se han detectado enterotoxinas TL o TS, pero se han demostrado una toxina semejante a la producida por Shigella. La frecuencia y gravedad de estas infecciones han disminuido progresivamente a partir de 1960, en la actualidad apenas se detectan en los países más desarrollados, pero aún se observan casos, incluso de cierta gravedad, en otros países.

E. coli enterotoxigénico.- Se ha demostrado la existencia de cepas de E. coli productoras de enterotoxina, responsables de cuadros de diarrea en verano. Son la causa de gastroenteritis infantiles, especialmente en los menores de 2 años, con menor frecuencia en los adultos (diarrea de tipo colérica), y también de los cuadros que se presentan en los viajeros que visitan estos países (diarrea de los viajeros).

Las cepas enterotoxigénicas pueden producir los dos tipos de enterotoxinas (TL o TS) o sólo una de ellas, debido a la presencia de plásmidos Ent. Teóricamente cualquier serotipo podría ser portador de plásmidos Ent y producir, enterotoxinas. Se ha observado que sólo las cepas de algunos serogrupos O las producen con frecuencia (6, 8, 15, 20, 25, 61, 70, 80, 89, 119, 128, 148, 159, 167), lo que hace suponer que determinados serotipos están mejor adaptados para ser portadores de estos plásmidos. Por otra parte, las cepas enterotoxigénicas presentan fimbrias son adhesinas MR, específicas de especie, que facilitan la adherencia. Se ha denominado antígeno K en las cepas de origen animal y factores de colonización en las cepas humanas, pero se tiende a designarlo como antígeno F.

La mayoría de las cepas enterotoxigénicas producen ambos tipos de toxina y el 70 % presentan fimbrias MR. También se ha detectado fimbrias tipo I en la misma proporción que en los E. coli de la flora normal.

E. coli enterohemorrágico.- Recientemente se ha demostrado que el serotipo de E. coli O 157 se encuentra asociado en cuadros y brotes de colitis hemorrágica que se han presentado en niños y adultos, en Estados Unidos, como consecuencia del consumo de hamburguesas poco cocidas. Este serotipo produce una citotoxina para las células Vero (Verotoxina) que se supone que tendría acción sobre las células endoteliales de los vasos sanguíneos.

E. coli enteroinvasivos.- Se ha demostrado que algunas cepas de E. coli presentan la propiedad de penetrar e invadir las células del epitelio intestinal, dando lugar a diarreas de tipo disenteriforme en adultos y niños, semejantes a las producidas por Shigella. Los más conocidos son los serogrupos 124 y 164, que se han aislado a partir de casos esporádicos y brotes epidémicos por alimentos contaminados en diversos países.

b) Shigella: Shigellae crecen bien en algunos medios diferenciales y selectivos empleados para Enterobacteriaceae: como: amilo de metileno, demoxicolato, SS, XLD y agar Mac Conkey. Algunas cepas crecen mal en SS, y agar demoxicolato citrato. Puede usarse selenito para aislamiento de Shigellae; para algunos el caldo GN es mejor. Agar sulfato de bismuto y verde brillante inhiben Shigellae.

Shigellae son los agentes causales de la disentería bacilar. Su hábitat es casi exclusivamente humano. Shigellae pueden causar: 1) una infección no visible, 2) una infección leve con algunas molestias abdominales y pocas heces diarreicas, o bien 3) una infección con severa contracción, náuseas, gran dolor y diarrea cuyas descargas contienen principalmente sangre, pus y moco.

Los microorganismos se limitan generalmente al tracto gastrointestinal y pocas veces o nunca invaden el torrente circulatorio. El diagnóstico se hace cultivando el microorganismo de las heces.

Un gran porcentaje (60-70 %) de aislamiento humano de Shigellae proviene de niños menores de 10 años y es de S. sonnei; este organismo abarca el 95 % de todos los aislamientos de Shigella.

Debemos recordar que Shigellae poseen antígenos O y K, pero no H (no son móviles). Los métodos usados para tipificar cultivos de Shigella se basan en que cada tipo serológico contiene un antígeno somático específico o mayor (O) característico del serotipo. Ciertas Shigellae también contienen antígeno de grupo o menores, que en muchos casos son compartidos por otros serotipos.

Algunos serotipos de Shigella tienen relación con miembros de otros grupos dentro de la familia Enterobacteriaceae. Los antígenos O de 15 serotipos de Shigella son idénticos a los de grupos de antígeno O E. coli, y hay fuertes relaciones antigénicas o recíprocas conocidas entre serotipos Shigella 19 y grupos de antígeno O de E. coli.

Los antígenos K de Shigella, son responsables de que algunas cepas de Shigella puedan hacerse aglutinables por ebullición; los antígenos con envoltura son termolábiles y su destrucción hace al microorganismo aglutinable por el anticuerpo O.

Las Shigellae son generalmente sensibles a ampicilina, tetraciclinas, sulfamidas, kanamicina, cloranfenicol y colistina. La resistencia se desarrolla rápidamente y es necesario determinar el cuadro de sensibilidad del microorganismo aislado del paciente.

Los géneros Klebsiella, Enterobacter y Serratia íntimamente relacionados entre sí, se incluyen en un único grupo. Pueden ser fácilmente identificadas mediante pruebas bioquímicas, entre las que se incluyen las reacciones descarboxilasa.

c) Klebsiella: Se conocen dos especies.- K. pneumoniae y K. oxytoca, y la primera se divide en tres subespecies: K. pneumoniae

subespecie pneumoniae. K. pneumoniae subespecie ozaenae y K. pneumoniae subespecie rhinocleromatis.

K. pneumoniae subespecie pneumoniae y K. oxytoca son las más frecuentes y difundidas en la naturaleza (agua, vegetales, alimentos). Se encuentran en las vías respiratorias superiores del 5-10 % de personas normales y se aislan del 20 % de esputos y también de las heces, por lo que su hallazgo no es significativo. Intervienen en procesos neumónicos que, a diferencia de la neumonía neumocócica, se caracterizan por presentar una clara tendencia a la necrosis, con formación de abscesos y elevada mortalidad, especialmente en alcohólicos y enfermos hospitalizados.

Klebsiella pneumoniae constituye el patógeno más importante para la especie humana de todos los que se encuentran en el grupo Klebsiella. K. pneumoniae es un microorganismo capsulado, por lo cual produce colonias húmedas de gran tamaño, presentan un aspecto mucoso.

Ciertas enfermedades inflamatorias crónicas del aparato respiratorio superior han sido atribuidas a especies de Klebsiella, por ej., la K. ozaenae en el ocaña, atrofia fónica progresiva de la mucosa nasal, y K. rhinocleromatis en el rinocleroma, granuloma destructivo que ataca a la nariz y a la laringe.

Los antibióticos más utilizados en el tratamiento de estas infecciones son la kanamicina, la gentamicina, las polimixinas, el cloranfenicol, la cefalotina y la estreptomocina. En las infecciones del tracto urinario se emplean, con buenos resultados, tanto el ácido nalidixico como la nitrofurantoina.

d) Enterobacter: Los microorganismos se encuentran en el suelo, en los productos lácteos, en el agua, en las cloacas y en el tracto intestinal del hombre. Es común aislar Enterobacter a partir de los esputos y en las infecciones del tracto urinario. Estos microorganismos son considerados como patógenos "secundarios" o como microorganismos oportunistas, o como comensales.

Se conocen tres especies, E. aerogenes, E. cloacae y E. agglomerans (antigua Erwinia herbedonia), pero sobre la base de los estudios del ADN se han incluido nuevas especies, E. sakagakii, especie pigmentada semejante a E. cloacae, E. gergoviae, semejante a E. aerogenes y otras menos importantes (E. intermedium y E. quinatus).

En las personas sanas, la mayoría de las especies se encuentran como comensales del tubo digestivo, pero en los enfermos hospitalizados pueden colonizar otras mucosas, de manera que su aislamiento aun en cultivo puro no permite diferenciar una colonización de la infección. Sin embargo, pueden producir ocasionalmente infecciones oportunistas en el tracto urinario, vías respiratorias y heridas, e incluso bacteriemia y sepsis, que se han observado por la administración de soluciones glucosadas contaminadas (especialmente por E. agglomerans) en perfusión intravenosa.

Todas las cepas de Enterobacter son resistentes a la acción de la cefalotina y la ampicilina.

e) Serratia: Clínicamente, los miembros de este grupo producen un pigmento rosa brillante o rojo, pero en los cultivos constantemente son producidos variantes no pigmentadas. El extracto de carne parece inhibir la formación de pigmento pero puede volverse

a obtener ésta por la transferencia a un medio sin carne. Consideran la glucosa es necesaria para la producción de pigmento por Serratia marcescens; por otra parte encontraron que la glucosa inhibía y el manitol estimulaba la producción de pigmento por sus cepas.

Los microorganismos se han considerado siempre saprofitos inofensivos de suelo y aguas, incapaces de crecer a 37° C.

Se conocen infecciones humanas debidas a S. marcescens con frecuencia creciente.

S. marcescens interviene generalmente en pacientes que ya tienen otros trastornos y que han recibido antibióticos de amplio espectro. Los catéteres urinarios internos, tubos endotraqueales y tubos de traqueostomía significan un riesgo especial para el paciente. S. marcescens puede causar infecciones urinarias y respiratorias, septicemia, endocarditis, meningitis, osteomielitis, y heridas infectadas. Se han producido brotes de infecciones en unidades de cuidado intensivo, diálisis renal y de maternidad. El microorganismo se ha cultivado de líquido de irrigación, respiradores, nebulizadores, jabón líquido y resorciones de humectantes. Serratia puede transmitirse pasivamente por las manos del personal de hospitales.

A diferencia de lo que ocurre con Klebsiella y Enterobacter, la casi totalidad de cepas de Serratia resultan resistentes a la polimixina B y a la colistina. En cambio, la gentamicina, la kanamicina, el cloranfenicol y las carbencicilina resultan útiles para el tratamiento de estos procesos.

1) Citrobacter: El género Citrobacter se compone de miembros de la familia enterobacteriaceae antes llamados Escherichia freundii.

No descarboxilan lisina y solamente 1/5 de las cepas descarboxilan ornitina. Con pocas excepciones no producen indol. La mayoría de los cultivos son ureasa-positivos pero las reacciones son débiles (el 70 % de los cultivos da reacción positiva en 18-24 horas, pero no en 1-3 horas como es común con Proteus en agar urea).

Los cultivos de Citrobacter que hidrolizan urea lentamente y fermentan lactosa o sacarosa, lentamente o de ningún modo, se confunden frecuentemente con salmonelas. Las reacciones negativas de lisina y positivas de KCN tienen gran importancia para distinguir estos microorganismos de Salmonella y Arizona.

Algunas cepas del género han sido sospechosas de producir infecciones entéricas, no hay evidencia definida de su papel como patógenos entéricos.

Las cepas de Citrobacter son infrecuentes en las heces normales y se han recuperado de diversos procesos patológicos.

El grupo Proteus - Providencia: estos bacilos móviles y negativos para la lactosa presentan la característica, en el grupo de las enterobacteriaceae, de ser capaces de denaminar la lisina. La distinción entre Proteus y Providencia se basa en la rápida y abundante producción de ureasa por el primero.

g) Proteus: Estos microorganismos se encuentran con frecuencia en el suelo, en las cloacas y en el entérico. También se observan con cierta frecuencia en las heces humanas normales, especialmente en caso de que el individuo esté en tratamiento con antibióticos o que sufra proceso diarreico. Los Proteus producen con

frecuencia infecciones del tracto urinario e intervienen frecuentemente en otras infecciones graves.

P. vulgaris y P. mirabilis crecen en logmo de bandas invasoras en la superficie de agar húmedo. Para obtener colonias aisladas es necesario evitar su confluencia mediante cultivo en la superficie relativamente seca de agar. Estos microorganismos producen también una abundante cantidad de H₂S, y licúan a la gelatina. La fermentación a que dan lugar la mayoría de las cepas de Proteus es de tipo ácido mixto. La especie más frecuente, P. mirabilis, resulta incapaz de producir indol a partir del triptófano.

Tanto la carbencilina como la gentamicina resulta activa frente a la totalidad de especies de Proteus, pero sólo P. mirabilis es sensible a la acción de la ampicilina, de la cefalotina y, frecuentemente, de la penicilina G. También se emplean la kanamicina y el cloranfenicol.

b) Providencia: Anteriormente, estos microorganismos recibían el nombre de Proteus lacnospilus. Su diferenciación con los Proteus se pone de manifiesto por su carencia de ureasa. Los miembros de este grupo pueden observarse en las heces humanas durante fases diarreicas y en individuos normales. Generalmente tienen una relación con las infecciones del tracto urinario. Los organismos Providencia resultan resistentes a los antibióticos, con la excepción de la kanamicina, la gentamicina y la carbencilina.

1) Salmonella: El género Salmonella comprende una gran variedad de "especies" patógenas para el hombre o animales y habitualmente para ambos.

En la acción patógena en el hombre se dan tres formas de salmonelosis claramente diferentes: fiebres entéricas, septicemias y gastroenteritis agudas.

El prototipo de la fiebre entérica es la producida por S. typhi. La fiebre tifoidal, contralida por la ingestión de alimentos o aguas contaminadas, suelen empezar de modo insidioso, tras un período de incubación de 7 a 14 días, con malestar, anorexia y cefalea, seguidas de fiebre. Especialmente durante la primera semana, la prostración puede ser importante. Son frecuentes la distensión y el dolor abdominal nardo. Durante los últimos períodos de la enfermedad pueden producirse hemorragias intestinales graves o perforación del intestino y causar peritonitis.

El diagnóstico de una infección por Salmonella se lleva a cabo aislando este microorganismo a partir de la sangre, heces, orina u otros especímenes.

Para el tratamiento en las fiebres entéricas y en las septicemias producidas por salmonellas, el cloranfenicol es el fármaco de elección, a pesar de su elevada toxicidad; sin embargo se han detectado ya cepas de Salmonella resistentes al cloranfenicol. También puede emplearse ampicilina, sustancias mucho menos tóxicas, pero de menor efectividad.

En las gastroenteritis por salmonellas no deben utilizarse antibióticos (excepto en niños de corta edad y en pacientes de más de 60 años).

La ampicilina, con su acción bacteriana, resulta mucho menos efectiva que la acción bacteriostática del cloranfenicol para eliminar los portadores. Los tratamientos prolongados con dosis

elevada de ampicilina resulta efectivos en un 60 a un 80 % de los casos.

CAPITULO III

3.0 AGENTES ANTIMICROBIANOS

3.1 Generalidades: Los agentes quimioterápicos se definen como sustancias químicas que pueden interferir directamente la proliferación de los microorganismos a concentraciones toleradas por el huésped. Su característica fundamental es, pues, su toxicidad selectiva. Algunos de estos medicamentos son bacteriostáticos, es decir, que la inhibición del crecimiento que producen desaparece cuando dejan de actuar sobre el germen. Otros son bactericidas, o sea, que causan una acción letal irreversible sobre los microorganismos.

La acción de los agentes antimicrobianos se estudia, en primer lugar, en cultivos bacterianos. A partir de dichos estudios se obtienen distintas clases de datos que permiten planificar la posible utilidad terapéutica del producto. Entre estos se incluyen las concentraciones necesarias para inhibir el crecimiento de diversos organismos (espectro antimicrobiano), el efecto de las condiciones ambientales sobre esta sensibilidad, la cinética de la inhibición, la presencia de una acción bactericida o bacteriostática, la presencia o ausencia de lisis bacteriana y los factores metabólicos necesarios para que la acción bactericida se produzca.

La sensibilidad puede determinarse por el método de dilución en tubo. Mas conveniente resulta el método de difusión en agar, en el que se coloca una muestra del fármaco en medio sólido sembrado con bacterias. Cuando éstas crecen, la muestra del fármaco puede presentarse rodeada de una zona sin crecimiento.

El diámetro de esta zona puede determinarse tanto para determinar la sensibilidad del organismo frente a una muestra conocida del fármaco como para establecer las concentraciones frente a un organismo de sensibilidad conocida. El diámetro de este círculo depende del ritmo de crecimiento y de la densidad del inoculado, y representa el resultado de la competencia establecida entre la multiplicación del organismo y de la difusión del antibiótico.

Para determinar el espectro de sensibilidad de cepas microbianas recién aisladas de un paciente se emplean discos estables de papel filtro que contienen una cantidad conocida de un determinado fármaco. Si la dosis elegida es la adecuada, la aparición de la zona de inhibición indica que el organismo estudiado es inhibido por el fármaco a las concentraciones que pueden obtenerse en el paciente. Esta prueba se utiliza para determinar qué fármaco son lo suficiente activos sobre el germen estudiado; de entre ellos se elige entonces el más idóneo, dependiendo esta elección de una serie de criterios farmacológicos que determinan que no siempre el producto más adecuado sea el que produce una mayor zona de inhibición.

Mecanismo de acción bactericida. - La diferencia entre una acción bactericida irreversible y una acción bacteriostática, que es reversible, o irreversible son su receptor, sino también de si uno de los elementos esenciales de la célula es lesionado o no de forma irreversible. En general, se reconocen tres puntos principales para la acción bactericida: 1) la cadena de DNA; 2) la membrana celular; 3) cualquier enzima (o proteína) que intervenga en la síntesis proteica.

Cuando un agente quimioterápico bactericida es añadido a un cultivo en crecimiento, el proceso de muerte bacteriana es

inicialmente de tipo exponencial, para nivelarse al cabo de un cierto tiempo, debido a que las muestras contienen cierto número de organismos persistentes capaces de producir nuevas colonias en cuanto son trasladadas a nuevos medio de cultivo.

Aplicación del espectro antimicrobiano.- Entre las penicilinas semisintéticas se cuentan ciertos productos que poseen un espectro antimicrobiano más amplio. Así, la presencia del grupo amio en la cadena lateral da lugar a la ampicilina, mucho más activa que la penicilina.

A dosis normales la penicilina no es activa in vivo frente a las bacterias enterobacterianas, ni otros gérmenes gramnegativos; pero la diferencia de sensibilidad de estos gérmenes en relación con otras bacterias es sólo cuantitativa.

El espectro de acción de los aminoglucósidos es semejante al de la penicilina respecto a muchos gérmenes grampositivos y gramnegativos.

a) Modos posibles de acción: los agentes antimicrobianos pueden atacar a las células en forma muy diversa, muchas son mal comprendidas. Sin embargo, pueden hacerse algunas generalizaciones. A concentraciones altas, muchos agentes son tan destructivos que entre otros cosas precipitan a las proteínas celulares del estado coloidal ("las coagulan"). En ciertas condiciones, algunos agentes pueden romper la membrana celular específicamente. Muchas de las enzimas esenciales de la célula poseen grupos sulfhidrilo (-SH) y únicamente pueden funcionar si éstos permanecen libres y reducidos.

Denaturalización de la proteína. Las proteínas existen plegadas en un estado tridimensional, determinado por los enlaces (dualitares) covalentes intramoleculares, y por los enlaces no covalentes. Este estado se denomina la estructura terciaria de la proteína; solamente es trasmontada por diversos agentes físicos y químicos, que provocan que la proteína deje de funcionar. La trasmontación de la estructura terciaria de una proteína se denomina denaturalización de la proteína.

Rompiendo de la membrana o de la pared celular.- La membrana celular actúa como una barrera selectiva, dejando pasar algunos solutos a través de ella y excluyendo otros. La membrana es el sitio de muchas enzimas involucradas en la síntesis vital de los componentes de la envoltura celular. Las substancias que se concentran en la superficie celular pueden alterar las propiedades físicas y químicas de la membrana, impidiendo su función normal, matando o inhibiendo en esta forma a la célula.

La pared celular actúa como una estructura de sujeción, protegiendo a la célula contra la lisis osmótica. Así, los agentes que destruyen la pared, impiden su síntesis normal pueden traer consigo la lisis de la célula.

Remoción de grupos sulfhidrilo libres.- Las enzimas proteicas que contienen cisteína, tienen cadenas laterales que terminan en grupos sulfhidrilo. Tales enzimas y coenzimas no pueden funcionar a menos que los grupos sulfhidrilo permanezcan libres y reducidos.

Existen en la célula muchas enzimas que contienen grupos sulfhidrilo por consiguiente, los agentes oxidantes y los metales pesados causan un daño considerable.

Antagonista químico.- El antagonismo actúa por combinación con alguna parte de la holoenzima de modo que impide la unión del sustrato normal.

Un antagonista se combina con una enzima por su afinidad química con respecto a un sitio esencial de esa enzima. Si esta afinidad es lo suficientemente grande, el "análogo" desplazará al sustrato normal de la enzima e impedirá que tenga lugar la reacción adecuada.

Los antagonistas químicos pueden ser descritos: antagonistas de los procesos que suministran energía y antagonistas de los procesos biosintéticos. Los primeros incluyen venenos de las enzimas respiratorias (monóxido de carbono, cianuro), los segundos incluyen análogos de los precursores que forman las proteínas (aminoácidos) y los ácidos nucleicos (nucleótidos).

b) Mecanismos de acción de medicamentos antimicrobianos: Un agente antimicrobiano ideal muestra toxicidad selectiva a concentraciones toleradas por el huésped. El concepto de toxicidad selectiva verdadera se aplica a las penicilinas y cefalosporinas que sólo actúan contra bacterias.

Acción antimicrobiana a través de la inhibición de la síntesis de la pared celular.- Todas las penicilinas y todas las cefalosporinas son inhibidores selectivos de la síntesis de la pared celular bacteriana mediante el bloqueo del enlazamiento entrecruzado de los glucopéptidos lineales: la reacción de "transpeptidación". El paso inicial consiste en la fijación del medicamento a los receptores celulares, algunos son enzimas de la transpeptidación. Después que el medicamento se adhiere, se inhibe la reacción de transpeptidación y la síntesis de peptidoglicanos es bloqueada por las penicilinas y las cefalosporinas. El paso siguiente en la acción del medicamento probablemente sea la eliminación o la inactivación de un inhibidor de las enzimas auxiliares de la pared celular. Esto activa a la enzima lítica y origina lisis de la célula.

La diferencia en susceptibilidad de las bacterias grampositivas y de las gramnegativas ante diferentes penicilinas o cefalosporinas depende probablemente de diferencias estructurales en sus paredes celulares, lo cual determina la penetración, enlace y actividad de los medicamentos.

La susceptibilidad a las penicilinas está en parte determinada por la producción del organismo de enzimas que destruyen a la penicilina (betalactamasas). Las beta lactamasas abren el anillo beta lactam de la penicilina y de las cefalosporinas, aboliendo su actividad antimicrobiana. Ciertas penicilinas y otros compuestos tienen una gran afinidad por la beta lactamasa producidas por algunas bacterias gramnegativas.

Otro tipo de resistencia a la penicilina es independiente de la producción de beta lactamasa (penicilinas). Se debe a baja "afinidad de captación" de los receptores para la penicilina.

Varios medicamentos más, incluyendo a la bacitracina, vancomicina, ristocetina y novobiocina, inhiben las etapas iniciales de la biosíntesis del peptidoglicano.

Acción antimicrobiana a través de la inhibición de la función de la membrana celular.- El citoplasma de todas las células vivas está limitado por la membrana citoplásmica, la cual sirve como una barrera de permeabilidad selectiva, realiza funciones de

transporte activo y, por lo tanto, controla la composición interna de la célula. Si la integridad funcional de la membrana citoplásmica es interrumpida, encapan las proteínas y los nucleótidos purínicos y pirimidínicos, lo que da como consecuencia daño o muerte celular. La membrana citoplásmica de las bacterias y de los hongos tiene estructura diferente y puede lesionarse más fácilmente, por algunos agentes, que las membranas de las células animales; en esta forma, es posible tener actividad quimioterápica selectiva.

G) Resistencia a los medicamentos antimicrobianos: Existen muchos mecanismos diferentes, mediante los cuales los microorganismos podrían exhibir resistencia a los medicamentos.

1.- Los microorganismos producen enzimas que destruyen el medicamento activo. Ej. Los estafilococos resistentes a la penicilina G producen una beta lactamasa que destruye el medicamento (hidrolizándolo). Los bacilos gramnegativos producen otras beta lactamasas. Las bacterias gramnegativas resistentes a los aminoglucosidos (debido a los plásmidos) producen enzimas adenilantes, fosforilantes o acetilantes que destruyen el medicamento. Las bacterias gramnegativas pueden ser resistentes al cloranfenicol si producen una cloranfenicolacil transferasa.

2.- Los microorganismos cambian su permeabilidad al medicamento. Ej. Las tetraciclinas se acumulan en bacterias susceptibles, pero no en las bacterias resistentes. La resistencia a la amikacina y a algunas otras aminoglucosidos puede depender de la falta de permeabilidad a los medicamentos, al parecer debido a la alteración del transporte activo a través de las membranas celulares.

3.- Los microorganismos desarrollan un blanco estructural alterado por el medicamento.

4.- Los microorganismos desarrollan una vía metabólica alterada que funciona como atajo (bypass) de la reacción la cual no es inhibida por el medicamento.

5.- Los microorganismos desarrollan una enzima alterada que todavía puede ejecutar su función metabólica, pero que es afectada mucho menos por el medicamento que la misma enzima en un organismo susceptible.

6.- Transferencia de resistencia.- Los factores de transferencia que se encuentran en la naturaleza (especialmente en las anterobacterias) son portadores de una gran variedad de genes que determinan la resistencia de los microorganismos frente a diversos antibióticos. Estos genes codifican la síntesis de enzimas que inactivan dichos agentes.

Factores de transferencia de la resistencia (Factor R). La amplia difusión de la quimioterapia del bacilo disintérico, que favoreció la selección de cepas de *Shigella* resistentes, se describió en Japón un episodio de interés médico inusitado. Empezaron a aparecer con gran frecuencia cepas resistentes a alguno de los cuatro medicamentos más empleados o a todos (sulfamidas, estreptomina, cloranfenicol y tetraciclina), y, además, se encontraron cepas no patógenas de E. coli con la misma propiedad. Este inexplicable desarrollo se comprendió al observar que estas resistencias múltiples hereditarias podían transferirse a cepas sensibles de diversas enterobacterias por conjugación en cultivos mixtos, tanto in vitro como en el conducto gastrointestinal de los mamíferos.

Los agentes responsables, que fueron denominados factores R, se extendieron rápidamente; se demostró su presencia en un 65 % de los bacilos disenterícos y en un 50 % de las enterobacteriáceas aisladas a partir de pacientes. La amplia distribución constituye un obstáculo importante para el tratamiento.

1.2 Acción antibiótica de las β -LACTAMASA: La prueba de beta-lactamasa se ha convertido en un método bastante común para la detección rápida de la resistencia a la ampicilina y la penicilina en cepas de *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* y *S. aureus* que producen beta-lactamasa. Se han descrito varios métodos, como el método acidométrico rápido, el método yodométrico rápido, y el método de la catalasporina cromogénica rápido. Los tres se basan en la propiedad de la enzima beta-lactamasa de actuar como el sustrato y, directa o indirectamente, producir un cambio de color.

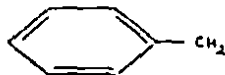
Máxima actividad contra microorganismos grampositivos pero susceptibles a la hidrólisis de las beta-lactamasas.

Relativamente resistentes a las beta lactamasas estafilocócicas pero de menor actividad contra los organismos grampositivos o inactivos para los gram-negativos.

Con actividad relativamente alta contra microorganismos tanto gram-negativos como grampositivos, pero son destruidas por las beta-lactamasas.

La sensibilidad a las penicilinas está determinada, en parte, por la producción de enzimas destructoras de la penicilina (beta-lactamasas) por el microorganismo. Las beta-lactamasas abren el anillo beta-lactam de la penicilina y las cefalosporinas, y abolen su actividad antimicrobiana. Ciertas penicilinas y otros compuestos tienen una gran afinidad por las beta-lactamasas producidas por algunas bacterias gram-negativas. Ellas se combinan con la enzima, no son hidrolizadas por ella y así protegen, simultáneamente, a las penicilinas hidrolizadas presentes de la destrucción.

a) PENICILINA G (benzilpenicilina): Elevada actividad contra bacterias grampositivas. Baja actividad contra bacterias gram-negativas. Acidolábil. Destruída por la beta-lactamasa (60 % se liga a las proteínas).



Las penicilinas se derivan de hongos del genero *Penicillium* y se obtienen por extracción de cultivos numerados desarrollados en medios especiales. La penicilina natural mas usada es la penicilina G.

Todas las penicilinas participan de la misma estructura básica.

Todas las penicilinas tienen el mismo modo de acción: Inhiben la síntesis de las paredes celulares bacterianas bloqueando el enlace cruzado terminal de los glucopéptidos lineales en el complejo peptidoglucano o activan las enzimas autolíticas en la pared celular.

La actividad de las penicilinas también varía con su combinación con las proteínas.

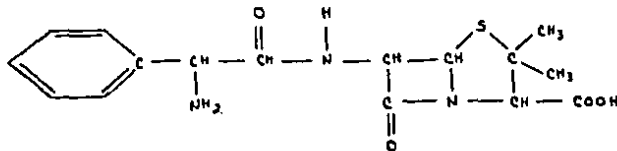
La resistencia a las penicilinas puede ser de varios tipos: (1) Producción de beta-lactamasas por *enterococos*, bacterias gramnegativas, *Haemophilus*, gonococos y otros. (2) Ausencia de receptores para la penicilina o la impermeabilidad de los receptores debido a barreras en la permeabilidad de las membranas bacterianas exteriores. (3) Insuficiencia en la activación de las enzimas autolíticas de la pared celular que puede dar por resultado inhibición sin muerte de las bacterias. (4) Insuficiencia para sintetizar peptidoglucano.

Después de la absorción, las penicilinas se destruyen ampliamente en los tejidos y líquidos corporales. La mayor parte de las penicilinas absorbidas es rápidamente excretada por los reñones.

Las penicilinas son los antibióticos más ampliamente usados. La penicilina G es el medicamento de elección en las infecciones causadas por *enterococos*, neumococos, meningococos, *espiroquetas*, *clamidias*, bacterias aerobias grampositivas, *enterococos* no productores de penicilinas, gonococos y algunos otros. La mayor parte de estas infecciones responden a dosis diarias de 0.4-4g de penicilina G. La penicilina G a dosis ordinarias es excretada en concentraciones suficientemente elevadas en la orina para inhibir algunos organismos gramnegativos en las infecciones del sistema urinario, particularmente por *Proteus mirabilis*. Sin embargo, este tratamiento fracasa en presencia de grandes números de bacterias productoras de beta-lactamasa en la orina.

Las penicilinas poseen menor toxicidad directa que cualquier otro de los medicamentos antimicrobianos.

b) AMPICILINA (alfa-aminopenicilina):



Es un derivado semisintético de la penicilina, con amplio espectro de acción antibacteriana.

E. coli suele ser sensible, si es una cepa de origen extrahospitalario y lo mismo sucede con Proteus mirabilis, Salmonella y Shigella tienen una sensibilidad variable. El resto de las enterobacterias suele ser resistente.

Existe una resistencia cruzada completa con la amoxicilina. Existe una proporción de cepas de Haemophilus influenzae y N. gonorrhoeae que producen betalactamasas, siendo totalmente resistentes a ampicilina. Con gran frecuencia se encuentra este tipo de resistencia en Salmonella y Shigella y sobre todo en el resto de las enterobacterias.

Existe un grado de resistencia cruzada dentro de las enterobacterias entre la ampicilina y la suloxicilina, metiocilina, piperacilina y cefalosporinas.

La resistencia se desarrolla raramente durante los tratamientos. Tiene una interacción sinérgica cuando se combina con los inhibidores de las betalactamasas.

Está indicada en ciertas infecciones gramnegativas y en las infecciones enterocólicas. Es ineficaz contra las especies Klebsiella, Enterobacter y Pseudomonas. Es eficaz en las infecciones del tracto urinario debidas a Escherichia coli y Proteus mirabilis, y en las meningitis debidas a H. influenzae, neumococos y meningococos. Controla de modo eficaz a algunos portadores crónicos de tifoidea. Se ha usado con éxito en la fiebre tifoidea asociada a cepas resistentes al cloranfenicol. Parece ser eficaz en la shigelosis y en la salmonelosis. La mayoría de las erupciones por ampicilina probablemente no son de origen alérgico.

El grupo de las aminopenicilinas lo componen la ampicilina y sus derivados. Dentro de éstos actualmente se encuentran en uso amoxicilina y los ésteres de ampicilina: bacampicilina, pivampicilina y talampicilina.

Los antiguos derivados, cicliacilina, epicilina y hetaicilina, se emplean poco.

3.3 ACCION ANTIBIOTICA DE LOS AMINOGLUCOSIDOS: Los aminoglicósidos (gentamicina, tobramicina, amikacina) son las drogas preferidas para infecciones por gérmenes gramnegativos que ponen la vida en peligro.

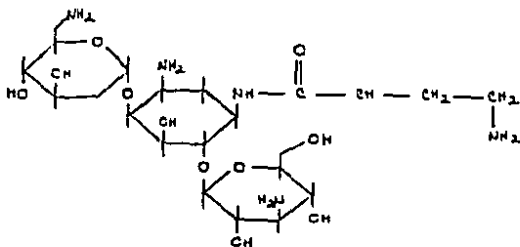
La amikacina es la droga más importante para luchar contra infecciones graves por gérmenes gramnegativos desde que entró en el comercio la gentamicina. Es única por su eficacia contra gérmenes resistentes a gentamicina y tobramicina, ya que sólo existe una enzima bacteriana conocida que inactiva la amikacina, en contraste con cinco y seis enzimas inactivantes, respectivamente, para los otros dos productos. Otra posible ventaja adicional de la amikacina es que probablemente logre una concentración sanguínea más previsible después de una dosis estándar, en comparación con lo que ocurre con la gentamicina.

Los aminoglicósidos poseen una rápida acción bactericida. A diferencia de que la penicilina, que permite un crecimiento considerable antes de que la pared celular se afecte de forma irreversible, a estos antibióticos les basta una mínima cantidad de síntesis proteica para producir la muerte bacteriana; esta acción puede evitarse, sea

mediante el ayuno de las células o evitando la síntesis proteica.

Los aminoglucósidos resultan escasamente efectivos frente a las bacterias intracelulares. No se sabe si ello es debido a que el antibiótico no es capaz de penetrar en la célula o a que la célula huésped posee demasiados iones antagonistas.

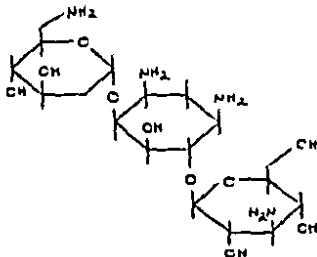
a) AMIKACINA:



Es un aminoglucósido semisintético derivado de la kanamicina. Es activo contra *Pseudomonas*, otros muchos bacilos gramnegativos y numerosos gérmenes grampositivos.

Es relativamente resistente a varias de las enzimas que inactivan a la gentamicina y a la tobramicina y, por lo tanto, puede ser empleada contra algunos microorganismos resistentes a estos últimos medicamentos. La resistencia bacteriana debida a la impermeabilidad a la amikacina está aumentando. Muchas bacterias entericas gramnegativas, incluyendo cepas de *Proteus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* y *Serratia*, son inhibidas por una concentración de 1-20 μ /ml de amikacina *in vitro*. Algunas infecciones provocadas por las bacterias gramnegativas resistentes a la gentamicina responden a la amikacina.

b) KANAMICINA:



Además de la kanamicina y sus derivados semisintéticos este grupo contiene la gentamicina y las nebramicinas íntimamente relacionadas.

Es activa contra bacterias gramnegativas tales como E. coli, Enterobacter aerogenus y especies de Proteus, Salmonella, y contra muchos estafilococos y el bacilo de la tuberculosis. Como otros aminoglucósidos es ineficaz contra los estreptococos, neumococos y todos los anaerobios, con inclusión de las especies Clostridium y bacteroides.

Es evidente que mientras que la kanamicina presenta varias propiedades útiles, queda mucho por hacer en cuanto a la aplicación de su actividad antibacteriana y reducción de su toxicidad. La ventaja antibacteriana se ha buscado principalmente en la actividad contra Pseudomonas y contra las cepas de especies naturalmente sensible con resistencia adquirida a la kanamicina. También sería útil contar con actividad contra gérmenes responsables de infecciones graves, naturalmente resistentes a la kanamicina, notadamente las provocadas por estreptococos y bacterias anaerobias. Partiendo de orígenes naturales, así como por manipulación química de las moléculas de la kanamicina, se han obtenido sustancias parecidas, pero con una mejor actividad.

La kanamicina es bactericida para muchos bacilos gramnegativos, incluyendo algunas cepas de Proteus, pero es ineficaz contra Pseudomonas y Serratia. La kanamicina es administrada a la dosis de 15 mg/kg/día en infecciones graves provocada por organismos gramnegativos resistentes a otros medicamentos.

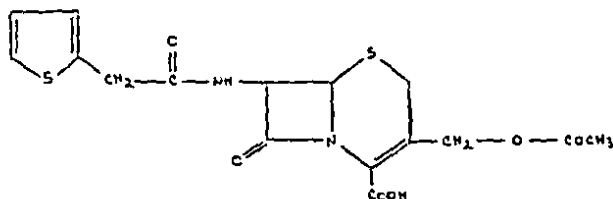
La neomicina y la kanamicina pueden provocar daño renal y posteriormente sordera nerviosa sin signos premonitorios. Es muy peligrosa y no debe emplearse durante más de una semana.

1.4 ACCION ANTIBIOTICA DE LAS CEFALOSPORINAS: Constituye un grupo importante de antibióticos, sobre todo para tratamiento de pacientes infectados y hospitalizados. Su valor principal es para tratar infecciones estafilocócicas, neumocócicas (no de enterococo) en pacientes alérgicos a la penicilina, siempre que la alergia previa no fuere una reacción anafiláctica. Aunque existe alergia cruzada entre penicilina y cefalosporinas, las reacciones menores a la penicilinas, como episodios de exantema y febriles, no parecen predisponer a los pacientes a una hipersensibilidad intensa a las cefalosporinas, como ocurre en caso de anafilaxia. Otras indicaciones para su empleo son el tratamiento de infecciones por gérmenes gramnegativos causadas por un número limitado de organismos (E. coli, Klebsiella y Proteus mirabilis) que pueden originar muchas infecciones, incluyendo las de vías urinarias, intraabdominales, neumonías e infecciones de heridas. Las infecciones del SNC dependientes de gérmenes sensibles probablemente no deban tratarse con cefalosporinas, porque no tenemos la seguridad de la penetración de la droga hasta llegar a zona de infección. Durante los últimos años las cefalosporinas han pasado a ser las drogas más ampliamente utilizadas para evitar la infección antes de una intervención quirúrgica y después de la misma (quimioprofilaxia). Su valor en este caso estriba en que ofrece excelente protección contra Staphylococcus aureus y S. epidermidis, las causas principales de infección de protecciones de heridas, y poseen actividad contra algunas bacterias

gramnegativas que son importantes para infecciones después de cirugía cardíaca, colica, pélvica, y urológica.

Por su amplio valor y su potencial de mercado, diversas compañías farmacéuticas están en competencia con diversas cefalosporinas. Las ventajas de las cefalotinas son su registro de éxito y el hecho de que no se inactivan por la beta-lactamasa del *estafilococo*, o por lo menos resisten mejor la inactivación que otras cefalosporinas. Aunque ello puede hacer que la cefalotina sea la cefalosporina de elección contra infecciones estafilocólicas.

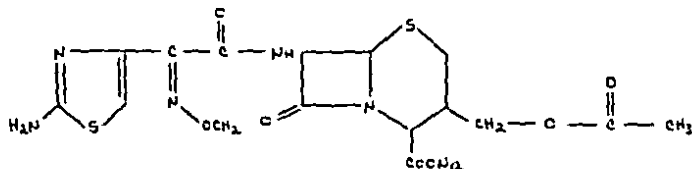
a) CEFALOTINA:



Es derivado del antibiótico natural cefalosporina C y pueden considerarse como cefalosporinas semisintéticas.

La cefalotina es activa contra muchos cocos grampositivos, con inclusión de los estafilococos resistentes a la penicilina G, y ciertas bacterias gramnegativas, con inclusión de E. coli, E. mirabilis y Klebsiella; pero las Pseudomonas, Enterobacter y las cepas indol-positivas de microorganismos Proteus son resistentes.

b) CEFOTAXIMA:



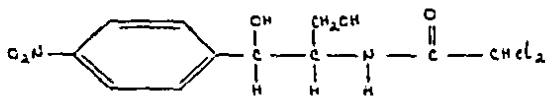
Todavía más activa, posee una estructura original que aumenta la resistencia a las beta lactamasas. Las concentraciones

inhibitorias mínimas de este compuesto frente a la mayoría de los bacilos gramnegativos resistentes son muchos más bajas que las correspondientes a las cefalosporinas, especialmente para las cepas de *Haemophilus*; su actividad contra las *Pseudomonas* es claramente superior a la de la carbenicilina.

Se proclamó las cefalosporinas de la tercera generación como "una conquista importante" y la cefotaxima como "una adición a la farmacopea". Su empleo fue aprobado hace un año en Alemania y Francia, después de practicar pruebas extensas.

3.5 ACCIÓN ANTIDIOTICA DEL CLORANFENICOL

(D(-)-treo-1-p-atrifenil-2-dicloroacetamido-1,3-propanediol)



El cloranfenicol es una sustancia producida por cultivos de *Streptomyces venezuelae*.

El cloranfenicol es un antibiótico bacteriostático que posee un espectro antimicrobiano, además, resulta efectivo frente a Salmonella. Esta sustancia es absorbida en el intestino, lo que podría explicar en parte su menor toxicidad gastrointestinal. En cambio el cloranfenicol resulta tóxico para la médula ósea y da lugar con frecuencia a cierto grado de trombocitopenia, leucopenia y anemia. En consecuencia, el cloranfenicol no debe utilizarse a menos que no haya ninguna otra posibilidad terapéutica.

El cloranfenicol cristalino es un compuesto estable que se absorbe con rapidez en el sistema digestivo y se distribuye ampliamente en los tejidos y líquidos del cuerpo. La mayor parte del medicamento es inactivo en el hígado por conjugación con el ácido glucurónico o por reducción hasta arilaminas inactivas.

El cloranfenicol es un potente inhibidor de la síntesis proteica de los microorganismos. Bloquea la unión de los aminoácidos de la cadena peptídica. El cloranfenicol es medicamento de primera elección en (1) infección meningocócica en pacientes hipersensibles a la penicilina; (2) fiebres salmonelares entericas; (3) infección por *Haemophilus influenzae* que no responde a la ampicilina, y (4) bactericidas y otras infecciones anaerobias.

La resistencia al cloranfenicol es debida a la destrucción del medicamento por una enzima, la cloranfenicol acetiltransferasa, que está bajo control de los plásmidos.

El cloranfenicol pocas veces causa trastornos intestinales. La administración prolongada de más de 3 g diarios en adultos produce

requerimiento anormalidades; en las formas inmaduras de los eritrocitos, elevación del hierro sérico y anemia. Estos cambios son reversibles al discontinuar el medicamento. El uso del cloranfenicol generalmente se restringe a las infecciones en las cuales se demuestra claramente por pruebas de laboratorio y clínicas que es el medicamento más efectivo.

En niños prematuros y recién nacidos, el cloranfenicol puede inducir colapso ("síndrome gris").

El cloranfenicol es muy estable y difunde bien en los medios con agar.

1.6 CONCEPTO DE AGROPAMIENTO POR ESPECTRO ANTIMICROBIANO

	Betalactámicos	
	Aminoglucosidos	(Penicilinas)
Enterobacteriaceae	Amikacina	Ampicilina
	Kanamicina	
	Betalactámicos	
	(Cefalosporinas)	Otros antibióticos
	Cefatoxina	Cloranfenicol
	Cefalotina	

CAPITULO IV

4.0 PRUEBAS DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA

4.1 GENERALIDADES. - Las pruebas de sensibilidad bacteriana se hacen, de preferencia, en el cultivo puro primario, para apresurar los resultados terapéuticamente importantes. El agar sangre, el Eugonagar o el Agar de soja Trypticase con medios adecuados para usar en placa. Después de la inoculación de las superficies de la placa, se aplican los discos de sensibilidad que contienen agentes antibióticos y quimioterapéuticos. Después de incubar durante 8 a 18 horas, o más tiempo si es necesario, los zonas de inhibición de crecimiento en torno de los discos, indican susceptibilidad a estos agentes antimicrobianos. Únicamente debe registrarse la sensibilidad o resistencia a cada agente, sin hacer referencia a los tamaños de las zonas.

El método de prueba de susceptibilidad por difusión en disco incluye el agregado a una cantidad conocida de agente antimicrobiano a un pequeño disco de papel absorbente que mide 5 mm de diámetro. La colocación de este disco sobre una superficie de agar previamente sembrado con el microorganismo a probar produce una zona de concentración de crecimiento limitado para los microorganismos susceptibles. La zona concentrica de inhibición que resulta cuando el microorganismo a prueba se siembra sobre la superficie de la placa de agar antes de la aplicación del disco, tiene una relación lineal demostrada con la MIC para la mayoría de los antimicrobianos, medida por pruebas de susceptibilidad por dilución. Por medio de esta relación la medición de estas zonas puede usarse para predecir la respuesta *in vivo* del microorganismo.

Control de calidad. - Las cepas individuales de control se prueban con los diversos juegos de antimicrobianos usados para los diferentes grupos de microorganismos bacterianos, y por lo tanto hay superposición en los antimicrobianos probados para *S. aureus* y *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*, y *P. aeruginosa* y *E. coli*. Esto permite una doble verificación del desarrollo de los antimicrobianos y de la situación general de las pruebas para los agentes que cuentan con pruebas duplicadas de microorganismos de control.

Las cepas de control deben probarse a diario o cada vez que se hace la prueba, y los tamaños de zona deben registrarse en un gráfico de control de calidad para su fácil visualización. Si surgen problemas con tamaños de zona que quedan fuera de los límites esperados, debe hacerse una investigación para determinar la razón de esta aberración de la prueba.

Un nuevo frasco de discos antimicrobianos debe probarse la víspera de su inserción en el dispensador regular de discos con el objeto de detectar cualquier problema potencial. Con los años se ha descubierto gran número de frascos de debido a la vigilancia preprueba de su desempeño. Este paso es indispensable porque evita la necesidad de repetir todas las pruebas de susceptibilidad cada vez que un disco de un nuevo frasco tiene mal rendimiento, y evita por lo menos algunos casos en los que se tomaría la decisión de no comunicar los resultados de susceptibilidad ese día porque las zonas para los microorganismos de control no estaban dentro de los límites aceptables.

4.2 METODO DE KIRBY BAUER.- En el metodo de Bauer-Kirby se utilizan los llamados discos de "alto poder". El término "alto poder" designa una concentración relativamente elevada de antibiótico, comparada con la baja concentración, a menudo 1 a 2 o menos que contienen los discos elaborados antes del desarrollo del metodo estándar de Bauer-Kirby. A concentraciones bajas los antibióticos no difunden uniformemente en el agar, llevando a resultados erróneos. Por lo tanto, la concentración de antibiótico en el disco debe ser lo suficientemente grande como para producir una difusión homogénea y fácilmente reproducible.

Al llevar a cabo la prueba de susceptibilidad de Bauer-Kirby, los discos se pueden colocar en la superficie del agar manualmente, utilizando una pinza estéril, los discos deben colocarse por lo menos a 22 mm uno de otro y a 14 mm del borde de la placa para evitar que las zonas de inhibición se superpongan o se extiendan hasta el margen de la placa.

Después de 18 horas de incubación, aparecen las zonas de inhibición alrededor de los discos que contienen antibióticos a los cuales el organismo en estudio es susceptible. Los diámetros de estas zonas se deben medir cuidadosamente por la parte posterior de la placa, utilizando una tuerca de luz brillante transmitida.

La prueba de Bauer-Kirby ha sido aceptada como la tecnica estándar para la producción de antibiogramas, proporcionando información útil en la mayoría de los casos, presenta algunas limitaciones.

Las técnicas de difusión no son aplicables a microorganismos de desarrollo lento. Si se requiere una incubación prolongada para lograr suficiente desarrollo y obtener una zona de inhibición detectable, el antibiótico puede llegar a determinarse al punto de producir lecturas imprecisas.

Para los antibióticos que difunden lentamente en el agar, tales como la polimixina B, se deben producir cambios bastante grandes en los valores de MIC antes de que se pueda observar variaciones significativas medibles en las zonas de inhibición. El elevado contenido del disco contrarresta en cierta medida la difusibilidad lenta sin embargo, los resultados pueden ser no fidélgulos para antibióticos de migración lenta y se deben usar controles.

Los métodos de difusión no son aplicables a la determinación de susceptibilidad de los anaerobios. El largo periodo de incubación necesario para la recuperación de muchos anaerobios ha hecho difícil establecer ensayos interpretativos confiables.

Los diagramas interpretativos, basados en curvas de regresión trazadas comparando los diámetros obtenidos por los métodos de difusión con los resultados (MIC) de las pruebas de difusión en caldo, están referidas a los niveles de antibiótico logables en suero.

Ciertos discos, como el de, cefalotina, se considera representativo de un grupo genérico y teóricamente producen resultados similares a los de cualquier antibiótico del mismo grupo, los resultados pueden no siempre ser confiables para todos estos antibióticos. En algunos casos puede ser necesario realizar pruebas de susceptibilidad frente a drogas específicas.

La técnica de Bauer Kirby representa un avance ya que provee resultados estandarizados, comparables entre los distintos laboratorios.

4.1 MEDIO DE CULTIVO PARA ANTIBIOGRAMA

MUELLER HINTON: El valor del medio de Mueller Hinton en los métodos para pruebas de susceptibilidad y desarrollar una técnica de cultivo para comprobar la susceptibilidad de *Neisseria gonorrhoeae* a las sulfamidas, añadiendo diversas concentraciones de sulfato al medio. Mas tarde, se utilizo el medio de Mueller Hinton en la correlación de la resistencia a las sulfamidas con el cuadro clínico de gonorrea.

En un intento de desarrollar un medio transparente, simple que no contuviera materiales termolábiles y capaz de soportar la esterilización en el autoclave, Mueller y Hinton seleccionaron el complejo agar con extracto de harina de quinato de Gordon y Hine, como el medio complejo más adecuado disponible e intentaron descomponerlo en sus componentes esenciales. Los autores encontraron que el almidón podía sustituir las propiedades de fomento de crecimiento del extracto de quinato, actuando como un "coloidal protector" frente a sustancias tóxicas presentes en el medio. Además, ellos descubrieron que el digestivo triptico de carne podía sustituirse por ácidos de caseína, técnica. El crecimiento de gonococos y meningococos en el medio era muy satisfactorio y normalmente los colonias eran grandes y fácilmente reconocibles, especialmente con la ayuda de reactivos de oxidasa.

4.2 METODO DEL UNIDISCO

El método del disco de Bana es la observación original de una zona de crecimiento inhibido rodeando una colonia de microorganismos productores de antibióticos, que están creciendo en forma continua en la superficie de un medio de agar. La actividad difunde hacia afuera y produce una zona de inhibición de crecimiento.

La prueba de sensibilidad aplicada es, utilizando discos de papel de filtro impregnados de concentraciones adecuadas de sustancias quimioterapéuticas. Los discos se colocan sobre la superficie del medio de cultivo en agar uniformemente inoculado con la bacteria de prueba. Hay diversas variaciones de este esquema, incluyendo las placas de papel de filtro que tienen las proyecciones impregnadas con diferentes sustancias. Las piezas circulares con proyecciones impregnadas hacia el centro.

Una de las ventajas es que presentan halos de inhibición en los cuales se puede medir un diámetro con mayor exactitud.

Otra, es que la inhibición en cada uno de los unidiscos es bien determinada.

Se pueden hacer combinaciones de antibióticos (los utilizados para cada tipo de bacteria), ej. para gramnegativos, etc.) de los cuales algunos antibióticos no están presentes en los multidiscos.

Es más práctico porque pueden colocarse más antibióticos que los contenidos en una placa de multidiscos.

La concentración del antibiótico es más exacta.

CAPITULO V

5.0 MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS PARA ENTEROBACTERIAS

a) CALDO GRAMNEGATIVO (GN): El caldo GN sirve para aislar especies de Salmonella y Shigella de muestras locales donde se hallan en cantidad escasa.

Los caldos de enriquecimiento se usan para incrementar el desarrollo de ciertas especies bacterianas, inhibiendo el de los microorganismos superfijos. Los caldos de enriquecimiento se utilizan para el aislamiento de Salmonella y Shigella de muestras locales.

Los caldos de enriquecimiento actúan sobre la base del principio de que la flora entérica normal es mantenida en la fase de retardo del desarrollo, mientras que las especies de Salmonella y Shigella son desinhibidas y entran en una fase logarítmica normal de crecimiento.

El caldo GN se utiliza con mayor frecuencia en laboratorios clínicos pues es menos inhibidor del desarrollo de muchas de las cepas más exigentes de Shigella. El enriquecimiento de muestras locales en caldo GN durante 4 a 6 horas y subcultivo en agar XLD, es la técnica óptima para el aislamiento de Shigella en casos sospechosos de disentería bacilar.

Inocular la muestra directamente en una placa de agar de Mac Conkey o EMB para el aislamiento primario de todas las especies de bacilos Gram negativos entericos.

Usar agar sulfito de bismuto si hay presunción clínica de fiebre tifoidea.

Enriquecer la muestra inoculando en forma relativamente abundante en caldo Selenito, Tetratónico o GN durante 6 a 12 horas. La combinación de caldo GN con agar XLD es óptima para la recuperación de especies de Shigella.

Es posible una identificación preliminar de las enterobacterias sobre la base de las características de las colonias y de las reacciones bioquímicas en medios de aislamiento primario.

Se dispone de una variedad de pruebas diferenciales y de numerosos esquemas para la identificación de especies de enterobacterias.

b) AGAR MAC CONKEY: ES un medio diferencial de siembra recomendado para el uso en el aislamiento y diferenciación entre organismos fermentadores de lactosa y no fermentadores de lactosa, de bacterias entericas gramnegativas.

Mac Conkey Agar se basa en el agar de sales biliares rojo neutro-lactosa de Mac Conkey, ha sido usado para el aislamiento selectivo de bacilos entericos gramnegativos. Mac Conkey Agar se recomienda para siembra directa de muestras de agua para conteo de coliformes y para el aislamiento de bacterias patógenas.

Ha sido usado para diferenciar cepas de Salmonella typhi de miembros del grupo de coliformes. También proporciona diferenciación entre patógenos entericos y el grupo de coliformes.

La acción diferencial de Mac Conkey Agar se basa en la fermentación de lactosa. Las colonias de organismos capaces de fermentar lactosa producen una caída localizada de pH, lo cual, seguida por la absorción de rojo neutro, imparte un color rojo a la colonia. También puede estar presente una zona de precipitado biliar

debido a esta caída localizada del pH. Las colonias de organismos que no fermentan lactosa permanecen incoloras y translúcidas.

Cuando crecen en proximidad de colonias coliformes, tienen un aspecto como de transparencia de las zonas del precipitado biliar. En placas que no están sobrecargadas de organismos, la diferenciación es distinguible.

c) XLD: XLD Agar es la base para agar de xilosa y lisina de Taylor, a la cual se han añadido desoxicolato sódico, citrato sódico y citrato amónico térrico para hacer el medio completo. Este medio selectivo y diferencial de siembra está diseñado para el aislamiento directo de Shigella y Proteidencia en experimentos de excrementos.

La preparación de XLD agar necesitaba el ajuste de la reacción a un pH de 6.9 después de añadidos los ingredientes. El XLD agar ha demostrado que un pH de 7.4 proporciona mejores resultados.

XLD Agar inoculadas con experimentos deben ser incubadas a 35 C durante 18-24 horas.

d) AGAR DESOXICOLATO CITRATO: Es un medio altamente selectivo que se emplea para el aislamiento de patógenos entericos, en particular de Salmonella y de muchas Shigella.

Se recomienda el uso de agar con citrato y desoxicolato como un procedimiento de siembra para el examen de experimentos y comprobar la evidencia de infecciones con Salmonella y Shigella.

Para el examen de experimentos de heces y orina, se recomienda MacConkey Agar, un medio no selectivo y SS Agar (Agar para Salmonella y Shigella) se realizan conjuntamente con Desoxicolato Citrato Agar.

Se puede añadir sacarosa 1%, a los medios de aislamiento, como Desoxicolato Citrato Agar, para permitir la detección de ciertos coliformes, los cuales fermentan la sacarosa más fácilmente que la lactosa.

En el agar con desoxicolato y citrato se inhibe el crecimiento de bacterias coliformes y de bacterias grampositivas o se suprime considerablemente debido al desoxicolato sódico y el citrato sódico presentes. Las bacterias grampositivas son generalmente inhibidas. Los organismos de Salmonella y Shigella crecen sin restricción. La selectividad de este medio permite el uso de inóculo bastante abundante sin peligro de que el desarrollo de organismos extraños ahogue a la Shigella y a la Salmonella. En ocasiones se encuentran cepas (coliformes) que persisten en agar con citrato y desoxicolato.

Las colonias positivas a la lactosa son de color rosa, rodeadas por una zona de precipitación biliar. Las colonias negativas a la lactosa son incoloras. Los organismos que producen H₂S reducirán el citrato térrico amónico a sulfato de hierro dando como resultado colonias con el centro de color negro.

e) AGAR CON SULFITO DE BISMUTO: El Sulfito de Bismuto Agar es un medio altamente selectivo para el aislamiento de Salmonella typhi y otras Salmonellas de heces, orina, aguas residuales.

materiales infecciosos y otros materiales en donde puede estar presente.

El Agar con Sulfito de Bismuto, ha sido aceptado para la detección de organismos provocadores de enfermedades entericas, especialmente de los Salmonellas.

La acción inhibitoria unica del Sulfito de Bismuto Agar hacia los organismos grampositivos y coliformes, permite el uso de inoculo mayores, incrementandose la posibilidad de recuperación de patógenos, especialmente cuando están presentes en relativamente poca cantidad, como puede encontrarse en el comienzo de la enfermedad.

Cuando H₂S está presente el hierro de la formula es precipitado, dando a los cultivos positivos al color marron y negro característico, con brillo metálico.

Se recomienda MacConkey, XLD Agar y SS Agar en un medio que soporta un crecimiento abundante de cepas de Salmonella y Shigella, se usan en conjunción con el Sulfito de Bismuto Agar en las pruebas de cepas de excremento y especímenes de orina.

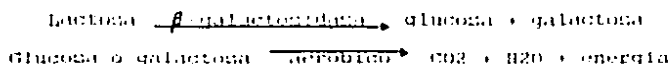
CAPITULO VI

6.0 MEDIOS DE IDENTIFICACION BIOQUIMICA PARA ENTERODACTERIAS

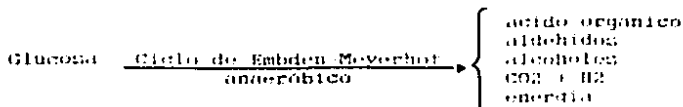
6.1 AGAR HIERRO DE KLIGLER: El agar hierro de Kligler (KIA) y el agar triple azucar hierro (TSI) son virtualmente indispensables para la identificación de bacilos gram negativos recuperados en medios de aislamiento primario. Los patrones de reacción son parte integrante de muchos esquemas de identificación de enterobacterias y sirven también de valioso control de calidad para la confirmación de las reacciones observadas en otros medios en estudio.

Son medios diferenciales en tubo que sirven a un doble fin: 1) determinación de las fermentaciones de los hidratos de carbono, y 2) determinación de la producción de ácido sulfhídrico. Un organismo puede utilizar diversos sustratos incorporados en el medio; los diferentes sustratos metabolizados son utilizados para la diferenciación entre varios grupos, generos o especies, sobre todo entre las Enterobacteriaceae.

La fermentación se produce aeróbicamente (en el pico de flauta) y anaeróbicamente (en la capa inferior del cultivo). En el pico de flauta, el monosacárido glucosa es catabolizado inicialmente por medio del ciclo anaeróbico de Embden Meyerhof, utilizado tanto para los aerobios como para los anaerobios para dar el intermediario clave, ácido pirúvico. La lactosa es un disacárido formado por dos unidades de monosacáridos: glucosa y galactosa.



En la capa profunda del cultivo en (KIA) existen condiciones anaeróbicas por la cual es metabolizada la glucosa a través del ciclo de Embden-Meyerhof, en ATP y el intermediario clave, ácido pirúvico, que después es convertido en diversos productos finales estables: ácido láctico y/u otros ácidos orgánicos, aldehídos, alcoholes, CO₂, H₂ y energía.



Otros sistemas de diferenciación es la presencia de indicadores del ácido sulfhídrico en el medio; uno es el citrato ferrico de amonio, y una sustancia química, el tiosulfato de sodio. Ambos indicadores deben estar presentes, puesto que el resultado final es un método en dos etapas.

1ª etapa:



El ácido sulfhídrico es un gas incoloro; por lo tanto, es necesario un segundo indicador para detectar en forma visible su producción.

2ª etapa:

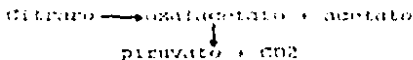
$\text{SH}_2 + \text{iones ferricos} \rightarrow \text{cualtura ferrrosa} \downarrow$ (precipitado negro insoluble)

6.2 AGAR CITRATO DE SIMMONS: El citrato de sodio es una sal de ácido cítrico, un compuesto orgánico simple que constituye uno de los metabolitos del ciclo de los ácidos tricarboxílicos.

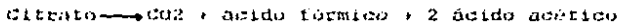
Algunas bacterias pueden obtener energía por vía distinta de la fermentación de hidratos de carbono, utilizando citrato como única fuente de carbono. La determinación de esta característica es importante para la identificación de muchos de los miembros de la familia Enterobacteriaceae. Cualquier medio empleado para detectar utilización de citrato por parte de las bacterias en estudio debe estar desprovisto de proteínas e hidratos de carbono como fuente de carbono.

La utilización de citrato de una bacteria se detecta en un medio con citrato mediante la formación de subproductos alcalinos. El medio incluye citrato de sodio, un anión, como fuente de carbono y fosfato de amonio como única fuente de nitrógeno. Las bacterias que pueden utilizar citrato también pueden extraer nitrógeno de la sal de amonio, con producción de amoniaco (NH_3) llevando a la alcalinización del medio por conversión del NH_4 de hidrógeno de amonio (NH_4OH). El azul de bromotimol, amarillo a pH menor de 6 y azul a pH mayor de 7.6 es el indicador.

Se considera actualmente que el oxalacetato y el acetato son intermediarios en el metabolismo del citrato.



Los productos obtenidos del metabolismo del citrato dependen del pH medio. Si el pH aumenta (alcalino), se producen más acetato y formato, con una disminución de produce lactato y CO_2 . Por encima de pH 7 no hay producción de lactato y los productos son:



Con un pH ácido, el acetilmetilcarbinol (acetoina) y el lactato, son los principales productos de utilización del citrato.

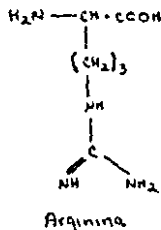
El medio utilizado para la fermentación del citrato contiene también sales de amonio inorgánicas. Un organismo que es capaz de utilizar citrato como su única fuente de carbono utiliza también las sales de amonio como su única fuente de nitrógeno. Las sales de amonio, se desdoblán en amoniaco (NH_3).

Algunas cepas de coliformes son capaces de utilizar el citrato de sodio como única fuente de carbono, mientras que otras no. El crecimiento en el medio se considera prueba positiva.

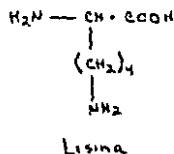
Se puede usar indistintamente el caldo citrato de Koser o la gelosa citrato de Simmons.

6.3 AGAR LISINA HIEMO: Kawasas y Fife descubrieron un medio sólido para la detección de la lisina descarboxilada, basado en la fórmula de Falkow que incluye citrato amónico férrico y tiosulfato para revelar la presencia de H₂S. Este medio es el agar lisina hierro (LIA), empleada en muchos laboratorios para la identificación de especies de *Salmonella*, la mayoría de las cuales son H₂S y lisina descarboxilasa positiva. Un fondo negro y un pico púrpura son virtualmente diagnóstico de especies de *Salmonella*. El LIA tiene también la ventaja de que la especie de Proteus y la de Providencia, que denominan más bien que descarboxilan los aminoácidos, se pueden detectar por un color rojo en el pico del tubo.

La prueba de lisina descarboxilada es útil para diferenciar especies de *Enterobacter* (tales como *E. aerogenes* (94%) de la *Salmonella* (94%). Casi todas las cepas de *Shigella* poseen actividad de ornitina descarboxilasa, en tanto que solo unas pocas cepas de *Shigella boydii* (2.5%) exhiben dicha actividad, y ni la *Shigella flexneri* ni la *Shigella sonnei* muestran actividad. La prueba de ornitina descarboxilada es así sea la más útil para separar las especies de *Klebsiella* (tales como *K. pneumoniae*) de las de *Enterobacter* (la mayoría de las cepas positivas).



Arginina



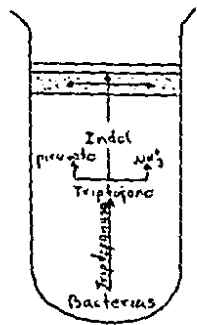
6.4 MEDIO SEMISÓLIDO DE SIM: La movilidad bacteriana es otra característica importante en la identificación final de una especie. Las bacterias se mueven por medio de flagelos, cuyo número y ubicación varía en las diferentes especies.

Los medios combinados, tales como el cultivo-indol-movilidad (SIM) o el movilidad-indol-ornitina (MIO), han hallado amplio uso en los laboratorios de microbiología clínica, pues se puede medir más de una característica en un mismo tubo. Se debe interpretar primero la prueba de la movilidad, ya que el agregado del reactivo de indol puede oscurecer los resultados. Dado que el SIM y el MIO poseen una ligera turbidez basal, las interpretaciones pueden ser algo difíciles con especies bacterianas que desarrollan lentamente en estos medios.

La movilidad se presenta como la turbidez del medio ya que la bacteria siempre que está moviéndose vea el crecimiento hacia los lados de la marca del inoculo.

INDOL: El indol, un benzilpirrol, el producto de degradación metabólica del aminoácido triptófano. Las bacterias que poseen la enzima triptofanasa son capaces de hidrolizar y desaminar el triptófano con producción de indol, ácido pirúvico y amoníaco. La producción de indol es una característica importante para la identificación de muchas especies de microorganismos, siendo especialmente útil para diferenciar *Escherichia coli* (+) de miembros del grupo *Klebsiella* *Enterobacter* (la mayoría negativos).

La prueba de indol está basada en la formación de un complejo de color rojo cuando el indol reacciona con el grupo aldehído del p-dimetilaminobenzaldehído. Este es el principio activo de los reactivos de Kovac y Ehrlich. Se debe utilizar en medio rico en triptófano.

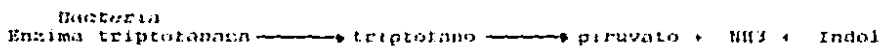


p-dimetilaminobenzaldehído
Capa colorífica (color rojo)

Medio con triptófano;
caldos triptófano

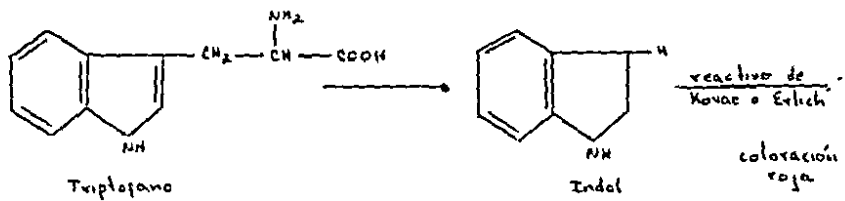
Agar sulfuro-indol-movilidad
(SIM)

Agar movilidad-indol-oscilina
(MIO)

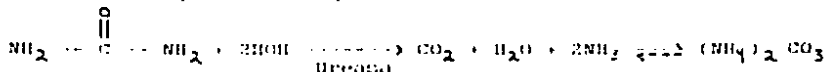


(En presencia del reactivo de Ehrlich o Kovac. Produce un cambio en la superficie del medio de color rojo)

Cuando el aminoácido se incorpora a un caldo nutritivo, algunos coliformes lo transforman en indol, mientras que otros no. El indol se pone de manifiesto con el reactivo de Kovac o el de Ehrlich, que da una coloración roja.



6.5 CALDO UREA DE STUART: La ureasa es una enzima que posee muchos efectos de microorganismos que pueden hidrolizar urea de acuerdo con la sig. reacción química:



El amoníaco reacciona en solución para formar carbonato de amonio, produciéndose una alcalinización y un aumento del pH del medio.

El caldo urea de Stuart y el agar urea de Christensen son los medios más comúnmente utilizados en los laboratorios clínicos para la detección de actividad de ureasa.

Los organismos que hidrolizan urea rápidamente pueden producir reacciones positivas en 1 o 2 horas; las especies menos activas pueden requerir 1 o más días.

Las reacciones son: En el caldo de Stuart, un color rojo en todo el medio indica alcalinización e hidrólisis de urea.

Se sugieren como controles:

Control positivo (débil): Klebsiella spp.

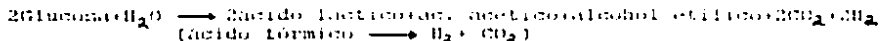
Control negativo: Escherichia coli.

6.6 CALDO ROJO DE METILO: La prueba del rojo de metilo (RM) se basa en el empleo de un indicador del pH, rojo de metilo, para determinar la concentración de iones hidrógeno (pH) presente cuando un organismo fermenta la glucosa.

Todos los miembros de las Enterobacteriaceae son fermentadores de la glucosa. En el caldo RM/Voges-Proskauer (VP), después de 18 a 24 horas de incubación, la fermentación resultante de productos secundarios metabólicos ácidos por lo tanto, inicialmente todos los enterococos darán una reacción positiva con el rojo de metilo.

Los organismos rojo de metilo negativos continúan metabolizando los productos iniciales de la fermentación por descarboxilación, produciendo acetilmetilcarbinol (acetoina) neutro, lo que da un elevado pH terminal que disminuye la acidez del medio, elevando el pH hacia la neutralidad.

La E. coli y otros organismos RM positivos producen un alto volumen de ácidos: láctico, succínico, acético y fórmico; la descomposición del ácido fórmico es la llave para la producción de hidrógeno y anhídrido carbónico. La E. coli produce cantidades iguales de H₂ y CO₂ a partir del metabolismo de la glucosa. La reacción general del metabolismo de la glucosa por la E. coli.

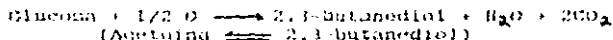


Los organismos rojo de metilo positivos producen ácidos estables, manteniendo una alta concentración de iones hidrógeno hasta alcanzar cierta concentración.

Los organismos rojo de metilo negativos también producen ácidos (acético, láctico y fórmico) pero tienen una menor concentración de iones hidrógeno porque hay una reversión hacia la

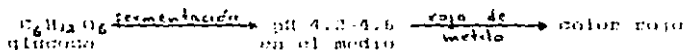
neutralidad debida a la nueva degradacion de los ácidos orgánicos en carbonatos, y al anhídrido carbónico, y posiblemente a la formación de compuestos de amonio por las proteínas que se encuentran en el medio.

Las especies de Klebsiella-Enterobacter, rojo de metilo negativos producen más alcohol etílico que la E. coli, menos ácidos, y el doble de CO_2 y H_2 . La falta de producción de hidrógeno se debe a la ausencia de la enzima hidrogeno liasa. La reacción general del metabolismo de la glucosa por los grupos Klebsiella-Enterobacter.



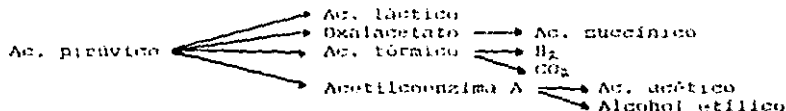
La validez de la prueba del rojo de metilo depende de un tiempo de incubación suficiente como para permitir que se produzca la diferencia en el metabolismo de la glucosa.

Algunas cepas de coliformes son capaces de fermentar la glucosa dando metabolitos ácidos que bajan el pH del medio a 4.2 - 4.6; otras producen pH final iguales o mayores que 6.3. El pH final de medio se pone de manifiesto mediante el indicador de rojo de metilo (intervalo de pH de 4.1 a 6.2) que es rojo en la zona ácida y viva a amarillo en la zona alcalina.



6.7 CALDO VOGES-PROSKAUER: La reacción de Voges-Proskauer (VP) se basa en la detección del acetilmetilcarbinol (acetoina), un producto final menor derivado del metabolismo de la glucosa. Esta es metabolizada en ácido pirúvico intermediario clave en la glucólisis. A partir del ácido pirúvico, una bacteria puede seguir muchas vías. La producción de acetoina es uno de los ciclos para la degradación de la glucosa en las bacterias.

La reacción de Voges-Proskauer para la acetoina se usa sobre todo para separar a la E. coli de los grupos Klebsiella-Enterobacter aun cuando otros miembros de las Enterobacteriaceae son capaces de producir una reacción de VP positiva. La Enterobacteriaceae se clasifican característicamente como fermentadoras de ácidos mixtos o del ácido fórmico, lo cual indica que sus productos terminales por la fermentación de la glucosa son ácidos: ácido fórmico, ácido acético, ácido succínico, alcohol etílico, hidrógeno y anhídrido carbónico.



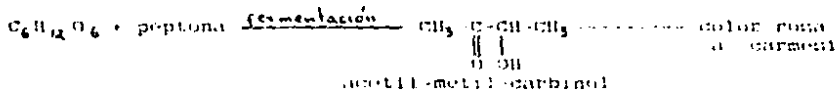
Estos fermentadores de ácidos mixtos pueden ser derivados a su vez de dos grupos: 1) los que producen ácidos, pero no 2,3-butanediol, como la E. coli (VP-), o 2) los que producen 2,3-

butanediol como principales productos terminales, como los grupos Klebsiella-Enterobacter (VP+).

El principal producto terminal de la utilización del piruvato por los grupos Klebsiella-Enterobacter, Serratia, Bacillus, y muchos otros microorganismos, es el 2,3-butanediol. Sin embargo, la reacción Voges-Proskauer se basa en la detección de la acetoina (acetil-metil-carbinol o AMC), un precursor de la producción de 2,3-butanediol.

Es muy importante el pH del medio de Voges-Proskauer; se evita un pH ácido. Por encima de un pH de 6.1 hay acumulación de ácidos acético y fórmico, su supresión de la producción de CO₂, H₂, acetoina y 2,3-butanediol. Por debajo de un pH de 6.1, el ácido acético es convertido en acetoina y 2,3-butanediol, y se suprime la producción de H₂ mientras que aumenta la de CO₂. Los grupos de Klebsiella-Enterobacter producen más alcohol etílico que la E. coli, menos ácido, y el doble de CO₂ que H₂. La E. coli es incapaz de formar acetoina a partir del piruvato en el período de incubación normal y tiene una relación CO₂:H₂ de 1:1.

Comente en la determinación del acetil-metil-carbinol, derivado del ácido acetoláctico, resulta de la fermentación de la glucosa en presencia de peptona. El acetil-metil-carbinol se pone de manifiesto con la adición de KOH al 40 % de etanol al 5 %, que da coloración rosa a carmesí.



CAPITULO VII

7.0 METODO PARA EL AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE ENTEROBACTERIAS EN MUESTRAS DE AGUAS NEGRAS.

Para llevar a cabo el desarrollo de esta investigación fueron necesarias 40 muestras de Aguas Negras de los canales abiertos de la Ciudad de Guadalajara Jal., de cada una de ellas se tomaron 5 alícuotas que se procesaron de la siguiente manera. Se sembraron en caldo GN (gramnegativo) y se dejaron incuban a 37° por 24 horas, al término de este lapso se resembraron en medios como son: Agar Mac Conkey, Agar Sulfito de Bismuto, Agar Desoxicolato Citrato y Agar XLD que funcionaron como medios de primo aislamiento que se incubaron a 37° por 24 horas de estos medios se tomaron colonias para siembra de bioquímicas tratando de tomar la colonia más aislada para obtener una cepa pura y evitar de esta manera la contaminación del medio, por eso al sembrar se debiera de tener la precaución de trabajar en una zona estéril para la cual se debiera utilizar tanto para la siembra de medios como de bioquímicas con un mechero encendido y evitar de esta manera que se desarrollen colonias no deseadas, en nuestro paquete de bioquímicas incluimos los siguientes: Agar Hierro de Kligler, Agar Citrato de Simmons, Agar Lintina Hierro, medio semisólido de SIM, Caldo Urea, Caldo Sacarosa, Rojo de Metilo y Violeta Proskauer, ya una vez identificada la bacteria se tomo del medio de Kligler una alícuota y se inoculó en el medio de Trypticase Soya el cual se incubo por un lapso de 30 min. para *E. coli* y 20 min. para las demás Enterobacterias, después de transcurrido este tiempo se inoculó en el medio de Muller-Hinton y se colocaron unidades de los siguientes antibióticos: Amikacina, Ampicilina, Clotetima, Cefotaxima, Cloranfenicol, Kanamicina y Penicilina, una vez colocados los unidades se incubaron por 24 horas a 37°, luego de realizado lo anterior se determinaron halos de inhibición midiendo el diámetro de los mismos en milímetros obtenidos una relación de cada uno de los antibióticos por cada bacteria identificada determinándose porcentaje de resistencia y sensibilidad lo cual así dio los resultados reportados adelante.

CAPITULO VIII

B.2 MAXIMO PORCENTAJE DE RESISTENCIA

* <u>E. coli</u>	-- Max. 3 de Resist. (Penicilina)	=	40/71	=	56 %
* <u>Shigella dysenteriae</u>	-- Max. 3 de Resist. (Penicilina)	=	5/7	=	71 %
* <u>Shigella flexneri</u>	-- Max. 3 de Resist. (Penicilina)	=	1/3	=	100 %
* <u>Shigella boydii</u>	-- Max. 3 de Resist. (Ampicilina)	=	6/8	=	75 %
* <u>Shigella sonnei</u>	-- Max. 3 de Resist. (Penicilina)	=	2/8	=	25 %
* <u>Klebsiella pneumoniae</u>	-- Max. 3 de Resist. (Ampic.-Penic.)	=	1/2	=	50 %
* <u>Klebsiella ozaenae</u>	-- Max. 3 de Resist. (Penicilina)	=	18/28	=	64 %
* <u>Klebsiella pneumoniae</u>	-- Max. 3 de Resist. (Penicilina)	=	2/2	=	100 %
* <u>Klebsiella pneumoniae</u>	-- Max. 3 de Resist. (Ampicilina)	=	1/1	=	100 %
* <u>Enterobacter aerogenes</u>	-- Max. 3 de Resist. (Ampic.-Penic.)	=	1/1	=	100 %
* <u>Enterobacter haecchii</u>	-- Max. 3 de Resist. (Penicilina)	=	15/20	=	75 %
* <u>Enterobacter aerogenes</u>	-- Max. 3 de Resist. (Penicilina)	=	157/195	=	80 %
* <u>Serratia marcescens</u>	-- Max. 3 de Resist. (Ampic.-Penic.)	=	4/5	=	80 %
* <u>Serratia liquefaciens</u>	-- Max. 3 de Resist. (Ampic.-Penic.)	=	7/11	=	63 %
* <u>Serratia rubideau</u>	-- Max. 3 de Resist. (Ampic.-Penic.)	=	5/8	=	62 %
* <u>Proteus vulgaris</u>	-- Max. 3 de Resist. (Ampicilina)	=	29/33	=	87 %
* <u>Proteus mirabilis</u>	-- Max. 3 de Resist. (Ampicilina)	=	15/17	=	88 %

▲ <u>Proteus</u> <u>morganii</u>	- Max. % de Resist.	=	0/1	=	0 %
▲ <u>Citrobacter</u> <u>freundii</u>	- Max. % de Resist. (Penicilina)	=	10/28	=	64 %
▲ <u>Citrobacter</u> <u>diversus</u>	- Max. % de Resist. (Ampicilina)	=	2/3	=	66 %
▲ <u>Salmonella</u> <u>paratyphi</u> Δ	- Max. % de Resist. (Ampic.-Penic.)	=	12/16	=	75 %

CAPITULO IX

9.0 CONCLUSIONES

Al revisar los resultados obtenidos llegamos a la conclusión que los primeros antibióticos con los que tuvieron contacto las bacterias son a los que presentan mayor resistencia, que entre estos se encuentran los beta lactámicos, como era penicilina el cual presentó mayor porcentaje en resistencia; y ampicilina siendo un beta-lactámico de amplio espectro y debido a su agresividad nos dió casi porcentajes iguales de resistencia y susceptibilidad.

De los antibióticos obtenidos después de las penicilinas encontramos entre ellas las Cefalosporinas, siendo la cefalotina uno de los primeros derivados de las cefalosporinas y por esta razón al estar en mayor contacto este antibiótico con la bacteria, se llegó a presentar resistencia; y cefotaxima este antibiótico es el más nuevo de los antibióticos desarrollados a partir de las Cefalosporinas, por lo cual las bacterias presentan gran sensibilidad a este antibiótico.

Aminoglicósidos: Amikacina y Kanamicina estos presentaron un mayor grado de sensibilidad que de resistencia por su gran agresividad y acción bacteriana.

Otros de los antibióticos es el Cloranfenicol el cual es un antibiótico muy agresivo, no presenta la bacteria resistencia contra este antibiótico pero tampoco es de elección para tratar a un paciente con una infección leve por su gran agresividad.

CAPITULO X

10.0 BIBLIOGRAFIA

- * Burrows B. A. Freeman. Tratado de Microbiología, 21a edición. Mexico, D. F., Editorial Interamericana, 1983.
- * Carpenter Philip L., Microbiología, Cuarta edición, Editorial Interamericana.
- * Claus Simon, Wolfgang Stille, Manual Terapéutica Antimicrobiana, Sevilla, España, Editorial Salvat, 1987.
- * Davis, Dubleco, Tratado de Microbiología, Segunda edición, Barcelona España, Editorial Salvat, 1979.
- * Dupont Herbert L., Una práctica de antimicrobianos, Primera edición, Mexico, D. F., Editorial Interamericana, 1980.
- * Finegold - Martin, Bailey - Scott, Diagnóstico Microbiológico, Buenos Aires Argentina, Editorial Panamericana, 1983.
- * Garrot L. P., Lambert, H. P., Antibiótico y Quimioterapia, Quinta edición, Barcelona España, Editorial Salvat, 1985.
- * Jawetz Ernest, Melnick Joseph L., Microbiología Médica, Decima Segunda edición, Editorial El Manual Moderno.
- * Koneman, Allen, Diagnóstico Microbiológico, Mexico, D. F., Editorial Médica Panamericana, 1985.
- * Krupp M. A., Chatton Milton J., Diagnóstico Clínico y Tratamiento, Editorial el manual moderno.
- * Laboratorios Dilco, Manual DILCO, Decima edición, Editorial Laboratorios Dilco.
- * Lennette E. H., Manual de Microbiología Clínica, Editorial Salvat.
- * Lynch Raphael, et alii, Métodos de Laboratorio, Segunda edición, México D. F., Editorial Interamericana, 1987.
- * Mor, Faddin, Pruebas Bioquímicas para la identificación de bact. de importancia clínica, Buenos Aires Argentina, Editorial Panamericana, 1980.
- * Pelczar Michael J., Microbiología, Cuarta edición, Editorial Mc Graw Hill.
- * Pumarola A., Rodríguez Torres A., Microbiología y Parasitología Médica, Segunda edición, Barcelona España, Salvat Editores S. A., 1987.
- * Sonnenwirth, Jarrett, Métodos y Diagnósticos del Lab. Clínico, Octava edición, Buenos Aires Argentina, Editorial Médica Panamericana, 1986.

- * Chauvin - Banca Elizabeth, Mariot Jean - Louis, Emergence of Aminoglycoside 4-N-Acetyltransferase IV in Escherichia coli and Salmonella typhimurium Isolated from Animals in France, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Vol. 29, No. 3, pp. 219-243, 1986.
- * Christopher J. Jones, Michio Homma., Identification of Proteins of the Outer (L and P) Rings of the Flagellar Boreal Body of Escherichia coli. Journal of Bacteriology, Vol. 169, No. 4, pp. 1489-1492, 1987.
- * De la Cruz Gonzalez Rubén, Conde Gonzalez M. en C. Carlos J., Los beta-lactámicos y su importancia clínica-microbiológica, Infectología, Vol. 110, No. 12, 1985.
- * Eng Robert H. K., Cherubin Charles, Inoculum Effect of beta-lactam Antibiotics on Enterobacteriaceae, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Vol. 20, No. 2, pp. 601-605, 1985.

- * Espigares García M., Perez López J. A., Resistencia al Cloranfenicol en Cebras de Salmonella aisladas en aguas de riego, Laboratorio, Vol. 76, No. 451, pp. 51-57, 1981.
- * Gunn Robert A., Bullon Loarte Felix, Enterocolitis por Salmonella: Sobre un brote provocado por alimentos contaminados, Bol. of sanit. Panam., Vol. 4, No. 88, pp. 304-314, 1980.
- * Hayward Nancy J., Effect of Incubum Size on Ampicillin and Amoxicillin Susceptibility Determined by Gas-Liquid Chromatography for Members of the Family Enterobacteriaceae, Journal of clinical Microbiology, Vol. 21, No. 4, pp. 755-759, 1986.
- * Jacoby George A., Sutton Laraine, beta-lactamases and beta-lactam Resistance in Escherichia coli, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Vol. 28, No. 5, pp. 701-705, 1985.
- * Matsuda Kouji, Sakai Kazumi, In Vitro Antibacterial Activity of Gen. J414 and its Stability to beta-lactamases and beta-lactamase Inhibitors, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Vol. 29, No. 5, pp. 684-688, 1985.
- * Mc Murry Laura M., Hendrick Melana, Effects of Toligen Perturbation and Cell Demargination on Tetracycline Resistance in Escherichia coli, Antimicrobial Agent and Chemotherapy, Vol. 29, No. 4, pp. 621-623, 1985.
- * Mehta A. M., Avasth G., Klebsiella pneumoniae como agente patógeno primario, Rev. Lat. amer. Microbiol., Vol. 27, No. 1-6, 1985.
- * Miles B., Revillo M. J., Hallazgos de Salmonella y Shigella en Patología Intestinal y su sensibilidad antibiótica, Laboratorio, Vol. 76, No. 452, pp. 123-131, 1981.
- * Berlin Michael H., Lerner Stephen A., High-Level Amikacin Resistance in Escherichia coli due to Phosphorylation and Impaired Aminoglycoside Uptake, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Vol. 29, No. 2, pp. 216-221, 1986.
- * Rubio Pedro A., Llobana Urena J., Anisación epidemiológica de un nuevo esquema de bacteriocinología para Proteus mirabilis, Rev. Lat. amer. Microbiol., Vol. 27, No. 7-10, 1985.
- * Shaokt Soham, Ouellette Marc, Spread of SHV-1-beta-lactamase in Escherichia coli Isolates from Rural Samples in Africa, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Vol. 11, No. 6, pp. 941-944, 1987.
- * William H. Benjamin J. R., Charles L. Turnbough J. R., The Ability of Salmonella typhimurium to Produce the Siderophore Enterobactin is Not a Virulence Factor in Mouse Typhoid, Infection and Immunity, Vol. 5, No. 2, pp. 194-198, 1985.
- * Woloj Mabel, Tolmashy Marcelo E., Plasmid-Encoded Amikacin Resistance in Multiresistant Strains of Klebsiella pneumoniae Isolated from Neonates with Meningitis, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Vol. 29, No. 2, pp. 315-318, 1986.
- * Yourassowsky E., Van der Linden M. P., Correlation between Growth Curve and Killing Curve of Escherichia coli after a Brief Exposure to Subinhibitory Concentrations of Ampicillin and Piperacillin, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Vol. 28, No. 6, pp. 756-760, 1985.
- * Zerolo Valderrama F. J., Ibarra Gonzalez A., Serotipos en Escherichia coli aislados en muestras fecales, Laboratorio, Vol. 76, No. 451, pp. 41-47, 1981.