

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE QUIMICA

---



SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE 106  
CEPAS DE ESCHERICHIA COLI AISLADAS EN  
UROCULTIVOS DE NIÑOS CON INFECCION  
URINARIA.

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A  
LIDIA BORJAS GARCIA

México, D. F.

1976



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

SLAB PSII  
AGE 1976  
FECHA  
PROC 114 59



INTEC

J U R A D O :

PRÉSIDENTE, PROF. SARA MANRIQUE REGIL \_\_\_\_\_  
VOCAL " OSCAR AMOR DODERO \_\_\_\_\_  
SECRETARIO " RAMON GUEVARA ESTRADA \_\_\_\_\_  
1er. SUPLENTE " ALFREDO ECHEGARAY ALEMAN \_\_\_\_\_  
2do. SUPLENTE " JORGE SOTO SORIA \_\_\_\_\_

Tema desarrollado en el Hospital Infantil de México

Sustentante Lidia Borjas García

Asesor del tema Prof. Oscar Amor Dodero

Supervisor técnico Dr. Leoncio Filloy Yague.

Con cariño y gratitud

a mis padres:

J. Guadalupe Borjas L. y

Benita García de Borjas

quienes con mis estudios

me dieron la más grande

herencia.

A mis queridos hermanos:

Elizabeth

Esteban

Isaías

Gemy

Sary

Lupita

Gory

Yoly

Susy

Ale

Diana.

A mi honorable jurado:

A la Facultad de Química:

A mis maestros,  
quienes con sus  
enseñanzas for-  
jaron mi profe-  
sión.

Al Prof. Oscar Amor D.  
asesor de este trabajo  
y maestro de Bacteriolog  
gía, quien me inició en  
el conocimiento del fanta  
tástico mundo de las --  
bacterias.

Agradezco al Dr, Leoncio Filloy Yague, jefe-  
de los Laboratorios Centrales del Hospital Infantil  
de México, por su acertada asesoría, así como por -  
las facilidades prestadas para el desarrollo de es-  
te trabajo.

Así mismo, agradezco infinitamente al personal  
del Laboratorio de Bacteriología General, sitio donde  
se realizó el presente estudio, por su valiosa colabo-  
ración.

A mi hermano Biol. Esteban Borjas G. por su  
valiosa ayuda y sabios consejos, necesarios para la  
culminación de este trabajo.

## I N D I C E

SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE 106 CEPAS DE ESCHERICIA --  
COLI AISLADAS EN UROCULTIVOS DE NIÑOS CON INFECCION URINARIA.

I. INTRODUCCION.

II. MATERIAL.

III. METODOS:

A) Obtención de muestra

B) Aislamiento e identificación

C) Prueba de susceptibilidad

1. Preparación de las cepas

2. Preparación de las diluciones de antibiótico.

3. Preparación de las diluciones con el medio.

4. Preparación de las cajas.

5. Descripción del aparato inoculador.

6. Manejo del aparato.

7. Inoculación de las cepas.

8. Lectura e interpretación de los resultados.

IV. RESULTADOS.

V. DISCUSION.

VI. CONCLUSIONES.

VII. RESUMEN.

VIII. BIBLIOGRAFIA.

SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE 106 CEPAS DE ESCHERICHIA COLI  
AISLADAS EN UROCULTIVOS DE NIÑOS CON INFECCION URINARIA.

1. INTRODUCCION:

Las infecciones del aparato urinario son uno de los principales problemas de la patología renal, ya que generalmente progresan de una cistitis o uretritis a pielonefritis que puede afectar al sistema pielocalicial y al parénquima renal y conducir a insuficiencia renal, la cual, en casos agudos puede causar la muerte. Steel y Cols. (31), en un estudio retrospectivo de 72 pacientes que habían ingresado al hospital, durante su infancia, debido a infección urinaria y cuyos síntomas habían empezado 11 a 27-años antes, encontró que el 18% habían muerto y más del 30% presentaban insuficiencia renal o una infección urinaria persistente.

Es evidente que el resultado final de las infecciones urinarias durante la niñez puede ser el daño renal progresivo; de ahí la importancia y necesidad de descubrir a tiempo una infección urinaria; así como de prescribir la administración de un agente antimicrobiano adecuado, sobre bases de pruebas de laboratorio específicas.

Desde el punto de vista microbiológico, las bacterias son los microorganismos que comúnmente causan infección urinaria, aunque también es producida por ciertos hongos levaduriformes como Candida albicans, Torulopsis glabrata y por ciertos virus.

Las infecciones bacterianas del aparato urinario son las -

más comunes y afectan a pacientes de todas las edades y de ambos sexos, teniendo su máxima expresión en el grupo de lactantes y -preescolares, siendo particularmente comunes en pacientes del se - xo femenino. La sintomatología puede variar grandemente desde ca - sos asintomáticos hasta cuadros de infección severa acompañados - de septicemia.

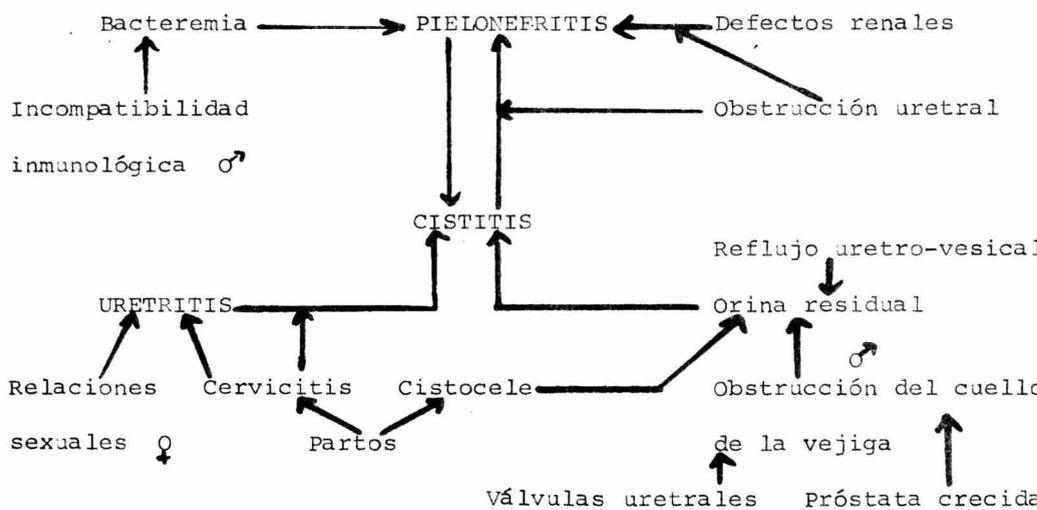
Las bacterias con mayor posibilidad de ser aisladas en su - jetos con bacteriuria son las enterobacterias, las cuales provie - nen generalmente del intestino (10) y entre ellas, Escherichia - coli es la principal bacteria que infecta los riñones y vías - - urinarias en los humanos, En una investigación sobre patrones de resistencia de patógenos urinarios con cepas obtenidas en un pe - ríodo de ocho años, de 1964 a 1971, Robertson (32) encontró que - de 5,107 infecciones incluídas, 4,511 (87.3%) fueron causadas -- por enterobacterias, de éstas, 3,277 (72.6%) fueron bacterias co - li y 237 (5.2%) fueron infecciones mixtas, incluyendo bacterias - coli.

Existe una diferencia importante en la flora bacteriana - que se encuentra en las infecciones urinarias agudas comparadas - con las de la fase crónica; en términos generales, Escherichia - coli con sus diferentes serotipos (150 serotipos O, 49 H y 90 K) es la responsable de cuando menos el 80% de los casos no compli - cados. En cambio, en infecciones crónicas, complicadas o no, los gérmenes son diversos; Klebsiella, Proteus, Enterobacter, Pseudo

monas, Staphylococcus, Streptococcus faecalis, otros Streptococcus anaerobios, etc. Generalmente es uno el gérmen causal pero, en --- ocasiones, pueden encontrarse asociaciones de dos o más bacterias.

La mayoría de las infecciones urinarias principian como --cistitis o uretritis que conducen a pielonefritis.

En la figura 1 se presenta la esquema general de los factores incluidos en la patogénesis de las infecciones urinarias.



Generalmente para que se produzca la pielonefritis son ne cesarios dos factores (28): bacterias presentes en la circulación sanguínea y un factor obstructivo, incluyendo todo el riñón o par te de él. El primer factor es particularmente común que este pre sente en la primera infancia, cuando las defensas del organismo - contra la invasión bacteriana son relativamente pobres, principal mente en los niños, quienes están más expuestos a defectos inmuno lógicos que las niñas (1): El segundo factor se desarrolla gene ralmente durante el crecimiento, como cualquier otra alteración - biológica e incluye aplasia del riñón o parte de él, nefronas anor males, hidronefrosis, etc.

Para la producción de cistitis también son necesarios dos- factores: una fuente de bacterias tal como la pielonefritis, ure- tritis o cervicitis y un factor productor de orina residual como- obstrucción del cuello de la vejiga, reflujo uretro-vesical o cis tocele.

El diagnóstico de infección de vías urinarias en el niño - es difícil porque, generalmente, los datos en que se basa el diag nóstico son mal valorados. Los métodos para localizar la altura - del aparato urinario en donde se encuentra la infección son poco- conocidos y empleados. La sintomatología es muy variada y se con sidera que depende de la localización anatómica preponderante, de la edad del paciente, del estado de nutrición y de otros procesos agregados que cursan al mismo tiempo. La infección urinaria puede dar lugar a síntomas tales como fiebre de origen no determinado -

como único signo, o bien, presentar fiebre, diarrea, náuseas, vómito, baja de peso o peso estacionario, ictericia, palidéz, manifestaciones del sistema nervioso central, los cuales, obviamente, no son referibles al aparato urinario. Muchas infecciones -- urinarias no producen síntomas y, algunas veces, pueden presentarse síntomas sugerentes de infección urinaria tales como: urgencia y frecuencia de micción sin que exista infección. De lo anteriormente expuesto se comprende la dificultad que representa para el médico emitir un diagnóstico usando un criterio puramente clínico. Existe una serie de circunstancias y conceptos que deben ser tomados en cuenta antes de emitir un juicio diagnóstico. A continuación se exponen algunos de ellos:

- 1.- Toma de la muestra de orina. La recolección de la muestra de orina debe ser adecuada, realizando un aseo genitourinario metuculoso y empleando dispositivos o frascos estériles.
- 2.- Exámen general de orina. El exámen general de orina es la prueba tradicional de exploración indirecta más utilizada en la práctica médica. La orina presenta condiciones semejantes a los medios líquidos de cultivo, por lo que se debe proceder de inmediato a su estudio citoquímico y de cultivo. Si no es posible, la muestra debe refrigerarse.

En el exámen general de orina hay varios datos que deben considerarse. Los más importantes son:

a) Aspecto. En cuanto a el aspecto de la orina, se sabe que si -

es recién emitida y presenta olor fétido, con aspecto purulento, es suficiente para sospechar la infección urinaria, sin precisar el sitio de ésta.

b) pH. El pH se hace alcalino, la mayoría de las veces, debido a la proliferación de gérmenes como Proteus, que disocian la urea en amoníaco en la orina vesical.

c) Densidad y osmolaridad. En la pielonefritis tienden a ser bajas, como índice de la reducción de la capacidad de concentración de orina.

d) Proteinuria. Puede faltar en la infección urinaria y, cuando existe es muy ligera.

e) Piuria. En la microscopía del sedimento urinario, la piuria es un dato importante en el diagnóstico de infección urinaria, aunque puede faltar en cerca del 20% de los casos. Para hablar de leucocituria deberán encontrarse más de 10 leucocitos por campo. Su presencia se relaciona con una amplia variedad de procesos infecciosos del aparato urinario. La relación de piuria en pacientes con bacteriuria es de 50 a 70%.

f) Tinción de Gram. Es otro estudio que ayuda al diagnóstico de infección urinaria. Los frotis positivos de orina no centrifugada se correlacionan en un 90% con urocultivos positivos.

Los hallazgos más importantes en enfermedad renal o de vías urinarias son: bacteriuria, proteinuria, sedimento anormal, alteración de la osmolaridad, de la densidad, etc.

### 3. Pielografía y Cistografía.

4. Urocultivo. Es el método más preciso y accesible para determinar una infección urinaria. De acuerdo con los estudios de Kass, en 1956 (17), quien estableció las bases para la interpretación -- cuantitativa de bacteriuria, se considera un urocultivo positivo cuando la cuenta es de 100,000 ó más bacterias por ml. de orina; cantidades menores deben considerarse como resultado dudoso (entre  $10^4$  y  $10^5$ ). En estos pacientes el tipo de bacteria, por lo general corresponde a la flora prevalente en la zona genitourinaria y uretra, o bien se recuperan asociaciones bacterianas. En cambio en cultivos con 100,000 bacterias por ml. ó más, el desarrollo -- bacteriano es, en su gran mayoría, un cultivo puro. Un pequeño -- porcentaje puede dar cifras mayores de  $10^5$  bacterias por ml. crecimiento de bacterias saprófitas de piel y uretra o bien, en caso de infección urinaria crónica, es posible el aislamiento de asociaciones bacterianas (Klebsiella, Enterobacter, Pseudomonas, S. faecalis, Staphylococcus, etc.

En general, la demostración de bacterias en la orina, por métodos de cultivo apropiados, es el único medio para hacer un -- diagnóstico específico y definitivo de infección urinaria.

5. Anticuerpos séricos, La respuesta de anticuerpos séricos al antígeno bacteriano, es otro parámetro indirecto que ayuda al diagnóstico de la pielonefritis. Se ha comprobado que los niveles de anticuerpos están elevados en la pielonefritis y son bajos o no--

se encuentran, en las infecciones del aparato urinario bajo. Estos anticuerpos se empiezan a elevar en la primera semana de iniciados los síntomas. Más del 80% de las infecciones urinarias se producen por algún tipo de Escherichia coli (principalmente los serotipos 0 4, 0 6, y 0 75), por lo que se han utilizado técnicas de hemaglutinación para descubrir anticuerpos contra Escherichia coli.

Importancia de Escherichia coli en las infecciones urinarias.

Escherichia coli es el patógeno urinario más común en el hombre y el intestino es el reservorio de este microorganismo. -- Brumfitt y cols. (10) encontraron que un 84% de las infecciones urinarias eran debidas a E. coli y organismos estrechamente relacionados.

En general es un microorganismo que se encuentra en el tracto gastro-intestinal de todos los individuos, donde generalmente forma parte de la flora normal; es un patógeno oportunista y se cree que posee un poder especial para invadir y establecerse en el aparato urinario. Además, esta bacteria puede asociarse con varios síntomas de enfermedad como son: cistitis, pielitis, pielonefritis, apendicitis, peritonitis, septicemia, meningitis, endocarditis, diarrea epidémica del recién nacido y diarrea de verano.

Es evidente que E. coli representa un grave problema para-

la comunidad hospitalaria y para la población en general, como agente causal de infección urinaria, por esta razón se eligió a dicho microorganismo para hacer un estudio detallado de él, determinando su respuesta "in vitro" hacia los antimicrobianos de uso más común.

La susceptibilidad de las bacterias a los diferentes antibióticos varía, no sólo en función de las especies, sino de las características de la población bacteriana en un determinado momento y sitio. Dicha susceptibilidad se encuentra variando constantemente debido a la selección de cepas resistentes a través del uso prolongado de los antibióticos. Es, por lo tanto, importante el estudio frecuente de la sensibilidad antibiótica de los gérmenes, tanto los de patogenicidad conocida como aquellos cuya incidencia en procesos infecciosos se ha visto aumentada en los últimos años.

En la mayoría de las especies bacterianas se ha observado la aparición de mutantes resistentes a los antibióticos. El uso intensivo de un antibiótico hace que estas mutantes resistentes se seleccionen hasta llegar a predominar sobre la población susceptible, de tal manera que antibióticos que al principio son eficaces pierden utilidad a la postre, debidos a esta selección de mutantes resistentes.

En algunos grupos bacterianos, la aparición de cepas resistentes puede deberse a fenómenos de transferencia de material

genético que imparte a las bacterias receptoras resistencia simultanea a varios antibióticos; este fenómeno se lleva a cabo mediante la transferencia de un episoma (Factor R) de la bacteria resistente a la susceptible.

El conocimiento de los fenómenos antes mencionados hace patente la importancia que tiene el estudio constante de la susceptibilidad de las bacterias a los antibióticos más usados en la práctica diaria.

E. Coli siempre ha tenido un alto grado de resistencia - a los agentes antimicrobianos debido a la presencia de factores-R, razón por la cual, es importante no fiarse de la efectividad de los antibióticos de uso práctico más común, sino realizar estudios continuos acerca de la susceptibilidad a diferentes antimicrobianos, particularmente aquellos de reciente aparición, - - para así obtener una imagen concreta del panorama de susceptibilidad de este germen.

Por medio de este trabajo se pretende conocer el estado -- actual de la susceptibilidad a los diferentes antibióticos de cepas de Escherichia coli aisladas de urocultivos de niños internados en las diferentes salas del Hospital Infantil de México y de los atendidos en la consulta externa durante el año de 1974 y --- 1975; quienes presentaban evidencias clínicas de infección urinaria, así como un exámen general de orina alterado y tres urocultivivos consecutivos con desarrollo de más de 100,000 colonias por --

ml. de orina.

Así, con este trabajo, se obtendrá un panorama general del comportamiento de dichas bacterias que tanto importancia tienen como productoras de infección urinaria frente a los antibióticos de empleo más común en el medio hospitalario.

El interés fundamental de este estudio es proporcionar una guía para normar el criterio en la prescripción de los antimicrobianos en la práctica médica; así, se puede iniciar una terapéutica conociendo solo en genodiagnóstico, sin esperar el resultado de los antibiogramas específicos y, de este modo tratar muchos de los procesos infecciosos que no pueden esperar el resultado de los exámenes de laboratorio.

BREVE MONOGRAFIA DE ESCHERICHIA COLI

ESCHERICHIA COLI pertenece al género Escherichia y a la especie coli. Son bacilos cortos, Gram negativos, se encuentran separados o en pares. Móviles por flagelos peritricos o inmóviles.

Crece fácilmente sobre medios nutritivos simples. Las colonias sobre agar nutritivo pueden ser suaves (S), débilmente convexas, húmedas, semitransparentes, de bordes definidos, grises y son emulsionadas fácilmente en solución salina; o rugosas (R), secas y no son fácilmente emulsionables en solución salina. También hay formas intermedias entre éstas dos.

En caldo, el crecimiento se observa por un enturbiamiento difuso con formación de sedimento, el cual desaparece completamente al agitar (formas S); las formas R forman un sobrenadante claro y un depósito granular el cual no se desintegra completamente por agitación.

Escherichia coli se distingue por poseer una actividad biológica más pronunciada que las especies patógenas (Salmonella, etc.).

Hidroliza muchos carbohidratos con formación de ácido y gas. La lactosa es fermentada por la mayoría de las cepas, pero puede ser lenta o estar ausente dicha propiedad. Forma indol y ácido sulfhídrico, no licúa la gelatina y posee otras características bioquímicas que se muestran en la tabla # 1.

TABLA # 1

Principales características bioquímicas del género Escheri  
chia especie coli

Lactosa	+ 0 X
Maltosa	+
Manitol	+
Sacarosa	d
Dulcitol	d
Gas de glucosa a 37°C	+
Movilidad	+
H <sub>2</sub> S	+
Gelatina	-
Urea	-
Indol	+
Rojo de Metilo	+
Vogues- Proskauer	-
Citrato	-

d = diferentes reacciones, x = lenta o irregularmente positiva.

Hay cuatro pruebas especiales (IMVIC) que son empleadas - para diferenciar a E. coli típica y son las siguientes:

1. Prueba de Indol. Produce Indol en caldo peptona.

2. Prueba del rojo de metilo. Esta prueba indica cambios del pH del medio del cultivo, después de cuatro días de incubación a -- 37°C E. coli disminuye el pH a 4.5, y, por lo tanto el rojo de metilo será positivo.
3. Reacción de Vogues-Proskauer. Depende de la producción de dextrosa acetil metil carbinol. En presencia de álcali se oxida a diacetilo y da un color rosa.
4. Prueba del citrato. El uso del citrato como fuente de carbono.

La fórmula mnemotécnica para estas cuatro pruebas es IMVIC y para E. coli la reacción es como sigue: + + - - .

Existen muchas formas intermediarias entre E. coli intestinal y el microorganismo de vida libre, la mayoría, si no todos los miembros pueden mostrar patogenicidad oportunista (infección del aparato urinario en el hombre, mastitis en las vacas, etc.). Un número limitado de serotipos bien definidos está estrechamente ligado con ciertas enfermedades infecciosas entéricas en los infantes humanos y los jóvenes de otros animales.

Kauffmann, en 1947 (10), propuso un esquema antigénico para E. coli semejante al de Salmonella y otros gérmenes dentro de las enterobacterias. En efecto, E. coli se divide en grupos, de acuerdo a sus antígenos somáticos (O) y los grupos se subdividen en serotipos, de acuerdo con la presencia de antígenos capsulares (K) y flagelares (H).

Kauffmann describió 25 grupos O y ahora han aumentado a más de 150. Las aplicaciones del esquema de Kauffmann mostraron que la mayoría de las cepas aisladas de materiales patológicos pertenecían a unos cuantos grupos y que, en las enfermedades urinarias, las cepas de los 25 grupos O identificados parecían estar asociados con enfermedad severa y que las cepas con antígeno K eran más comunes en material patológico que en heces. Estos grupos O comunes fueron considerados más virulentos.

Estudios posteriores han confirmado la alta incidencia de un número limitado de grupos O en las enfermedades no entericas.

El gran número de antígenos O, K y H y las posibles permutaciones y combinaciones indican que el número que el número total de serotipos de E. coli es muy alto.

Rantz (38), sugirió que E. coli, con ciertos grupos de antígenos específicos, son más invasores del aparato urinario que otros, y son responsables de la mayoría de las enfermedades de coliformes que se presentan fuera del aparato urinario.

La distribución de cepas de E. coli difiere en orina y en heces. También se encontró que varía de acuerdo con la localización geográfica, pero se ha observado que generalmente las cepas causantes del mayor porcentaje de infecciones urinarias, pertenecen a los grupos O 2, O 6 y O 75, los cuales no son, generalmente, predominantes en la flora fecal, lo que sugiere la posibilidad

lidad de que dichas cepas posean un poder especial para establecer una infección en el aparato urinario. (3.4, 10, 25, 38).

## II. MATERIAL

1. Asas de nicromo ordinarias y calibradas en 0.01 ml. y 0.001 ml.
2. Cajas de Petri de 15 x 100 mm.
3. Gradillas metálicas.
4. Hisopos.
5. Jeringa automática B.D. Cornwall de 5 ml.
6. Matraces Erlenmayer de 125 ml, 500 ml, y 1000 ml.
7. pipetas graduadas de 1 ml, de 5 ml. y de 10 ml.
8. Pipetas Pasteur.
9. Portaobjetos de 25 x 75 mm.
10. Probetas de 50 ml, 100 ml y 500 ml.
11. Tubos de ensayo de 13 x 100 y de 12 x 75 mm.
12. Tubos con tapón de rosca de 15 x 120 mm.

## APARATOS

1. Antoclave.
2. Balanza analítica electrónica.
3. Contador de colonias.
4. Estufa de cultivo.
5. Inoculador mecánico "Zapolper".
6. Microscopio compuesto binocular "Zeiss".

## MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS

1. Caldo cerebro corazón (Brain Heart Infusion Broth) (BBL)

2. Agar de Muller Hinton (Muller Hinton Agar) (BBL)
3. Agar de soya tripticasa (Trypticasa Soy Agar) (BBL)
4. Agar Tergitol 7 (Tergitol 7 Agar) (BBL)
5. Agar Kligler (Kligler Iren Agar) (BBL)
6. Medio SIM (SIM Medium) (BBL)
7. Urea Q.P.
8. Caldo sacarosa rojo de fenol (Phenol Red Sucrose Broth) (BBL)
9. Medio citrato de Koser (Citrato Medium) (BBL)

BBL = Baltimore Bacteriological Laboratory.

#### MATERIAL BIOLÓGICO

1. Sangre de carnero desfibrinada
2. 106 cepas de Escherichia coli.

#### ANTIBIÓTICOS

1. Acido nalidíxico.
2. Ampicilina sódica.
3. Carbenicilina sódica.
4. Cefaloridina (Keflodín).
5. Cefalotina sódica (Keflín).
6. Cloramfenicol.
7. Clorhidrato de tetraciclina.
8. Gentamicina.

9. Nitrofurantoína.

10. Monohidrato de cefalexina (Keflex).

11. Sulfato de colistín (colimicina).

12. Sulfato de kanamicina.

## III. METODO

## A. Obtención de muestra:

La orina se recolectó en frascos estériles o en bolsas de plástico adhesivas (dispositivos de Machuca) en las condiciones-asépticas apropiadas y se envió al laboratorio para su análisis-inmediato. Se sembraron, con asas calibradas de 0.01 ml. y de -- 0.001 ml. en los siguientes medios: gelosa sangre y tergitol; - después se incubó a 37°C durante 24 horas en la estufa de cultivo y se observó el desarrollo de las colonias. Cuando no se analizó de inmediato la muestra de orina, se guardó en refrigeración-a 4°C para evitar la modificación de los resultados.

## B. Aislamiento e identificación:

Una vez obtenido el desarrollo de colonias, se contaron y se hicieron las pruebas comunes necesarias para la identificación del germen, tales como frotis para tinción de Gram, pruebas bio-químicas y resiembras en medios selectivos.

De esta manera se identificaron los microorganismos in- - fectantes y se seleccionaron aquellos que presentaron las características morfológicas de Escherichia coli obtenidas en varios cultivos consecutivos de más de 100,000 colonias.

Las cepas aisladas se guardaron en tubos con gelosa nutritiva simple, hasta colectar el número adecuado para este estudio.

Así se obtuvieron 106 cepas de Escherichia coli que fueron las que se sometieron a las pruebas de susceptibilidad. No se --

efectúo la serología, para la clasificación en serotipos, de las cepas recolectadas debido a que no se contaba con los antisueros necesarios; además, no se consideró necesario ya que, cualquiera que sea el serotipo de las cepas obtenidas, una vez encontrado en aparato urinario se considera como patógeno.

C) Prueba de susceptibilidad:

El método elegido para efectuar las pruebas de susceptibilidad fué el recomendado por Jackson y Finland (23), que consiste en lo siguiente:

1. Preparación de las cepas. Antes de someter cada aislamiento a la acción de los diferentes antimicrobianos, se comprobó su viabilidad y pureza mediante resiembras en placas de tergitol por el método de estrías; además se verificó el género y la especie mediante pruebas específicas para el caso de Escherichia coli. Se seleccionó una colonia aislada y bien caracterizada y con ella se inoculó un tubo que contenía 5 ml. de caldo cerebro corazón (Brain Heart infusión Broth (BHI)). Se incubaron a 37°C durante 18 horas y de ahí se tomaron 0.2 ml. para reinocular en tubos con tapón de rosca que contenían 10 ml. de caldo cerebro corazón (BHI). Estos se incubaron a 37°C durante 3 horas, obteniéndose una concentración de  $1 \times 10^6$  bacterias por ml., aproximadamente. Esta fué la suspensión utilizada para la prueba de sensibilidad en placa.

2.- Preparación de las diluciones de antibióticos:

Se utilizaron las sales puras de 12 antibióticos, de las -

cuales, se utilizó el equivalente en miligramos al 100% de potencia biológica:

ANTIBIOTICOS	POTENCIA	PESO EQUIVALENTE AL 100% DE POTENCIA
Ampicilina sódica	895 mcg/mg	111 mg
Acido nalidíxico	1000 mcg/mg	100 mg
Carbenicilina sódica	790 mcg/mg	126 mg
Cefaloridina (Keflodín)	975 mcg/mg	102 mg
Cefalotina sódica		
Cloramfenicol	1000 mcg/mg	100 mg
Clorhidrato de tetraciclina	990 mcg/mg	101 mg
Gentamicina	1000 mcg/mg	100 mg
Nitrofurantoina	1000 mcg/mg	100 mg
Monohidrato de cefalexina	940 mcg/mg	106 mg
Sulfato de colistín		
Sulfato de kanamicina	853 mcg/mg	117 mg

### 3. Preparación de las diluciones con el medio:

Utilizando el método de dilución seriada en placa de Jackson y Finland, se preparó una solución concentrada de antibiótico con el equivalente a 100 mg con 100% de potencia de la sal pura; se diluyó a 100 ml. con agua destilada esteril, resultando una solución patrón con 1,000 mcg/ml. A partir de ella se prepararon las diluciones de la siguiente forma:

TUBO	AGUA DESTILADA ESTERIL	CONCENTRACION OBTENIDA
1	10 ml. + 10 ml. de sol. patrón (100 mcg/ml)	500 mcg/ml
2	10 ml. + 02 ml. de sol. patrón	100 mcg/ml
3	10 ml. + 10 ml. del tubo 2	50 mcg/ml
4	10 ml. + 10 ml. del tubo 3	25 mcg/ml
5	10 ml. + 10 ml. del tubo 4	12.5 mcg/ml
6	10 ml. + 10 ml. del tubo 5	6.25 mcg/ml

#### 4. Preparación de las cajas:

Se hizo una dilución de 1:10 del antibiótico con el medio de cultivo para obtener las concentraciones finales. Se empieza por la dilución más baja (6.25 mcg/ml). Se toma 1 ml. de esta solución y se mezcla en un tubo con 9 ml. de medio de cultivo que se ha enfriado aproximadamente a 40°C, se mezcla bien (suavemente) y se vierte en la caja marcada con esta dilución. Con la misma pipeta se repite el mismo procedimiento para las otras diluciones, obteniendo así las siguientes concentraciones finales: 0.625, 1.25, 2.5, 5.0, 10.0 y 50.0 mcg/ml.

En este trabajo se utilizó el doble de las cantidades, a fin de obtener 20 ml. del medio de cultivo más antibiótico por placa. El medio de cultivo empleado como base fué el agar de Muller Hinton, pH 7.4 (2;5, 20, 21.24).

#### 5. Descripción del aparato inoculador o "Zapolper":

Para la inoculación de las cepas, se utilizó un inoculador

mecánico, denominado "zapolper", el cual consta principalmente de cuatro partes metálicas; una base, un soporte perpendicular a ella y dos placas, una portadora de los inóculos y una inoculadora.

La base está constituida a su vez por dos secciones: una fija y una móvil que se desliza de un lado a otro sobre la anterior. En la parte móvil hay dos depresiones laterales de forma circular, en donde, se colocan las cajas de Petri con el medio de cultivo adecuado y un compartimento central para la placa portadora de los inóculos.

La placa portadora presenta 29 orificios que se utilizan para depositar las suspensiones bacterianas por probar. Dicha placa puede separarse del aparato para esterilizarse o llenar los orificios. La placa inoculadora está fija en el soporte y presenta 29 tubos pequeños que coinciden con la posición de los orificios de la placa portadora y que sirven para recoger los inóculos de los mismos. Figuras 2 y 3.

#### 6. Manejo del aparato:

Se lubrican las partes móviles con aceite de elevada densidad. Se esterilizan las placas: la portadora en el horno (160°C durante 1 hora) o en el autoclave (121°C y 15 libras de presión por 15 minutos) y se dejan enfriar antes de llenarse con los inóculos. La placa inoculadora sólo se flamea con el mechero y se enfría sobre una placa de gelosa simple sin inocular.

#### 7. Inoculación de las cepas:

Se numeran las cepas de Escherichia coli y se llenan los--

orificios correspondientes de la placa portadora del aparato inoculador o "Zapolper".

Se coloca la placa portadora de los inóculos en el centro de la base y, en cada depresión lateral, una caja de Petri con medio de Muller Hinton más el antibiótico correspondiente, para inocular las cepas se baja la placa inoculadora hasta que queden en contacto con las cepas contenidas en los orificios de la placa portadora, se sube, se recorre de manera que una de las cajas quede exactamente debajo de la placa inoculadora; se baja ésta y se imprime suavemente sobre la caja con medio más antibiótico. Se repite el mismo procedimiento con la caja del extremo contrario y así sucesivamente con el resto de las cajas. Se retiran cuidadosamente, para que las gotas del inóculo no se corran, se tapen y se dejan durante 20 a 30 minutos a temperatura ambiente. Se incuban a 37°C durante 12 horas.

## 2. Lectura e interpretación de los resultados:

Se ordenaron las cajas de menor a mayor concentración y se procedió a hacer la lectura de los resultados, tomando en consideración la concentración mínima inhibitoria (CMI) expresada en mcg/ml.

Para observar con mayor facilidad el desarrollo bacteriano, se utilizó un contador de colonias.

Para la interpretación de los resultados, se consideró a las cepas como sensibles cuando no se observó ningún desarrollo

en el sitio del inóculo y se consideraron como cepas resistentes a aquellas que presentaron cualquier tipo de desarrollo, aún cuando no haya sido completo, en el sitio del inóculo.

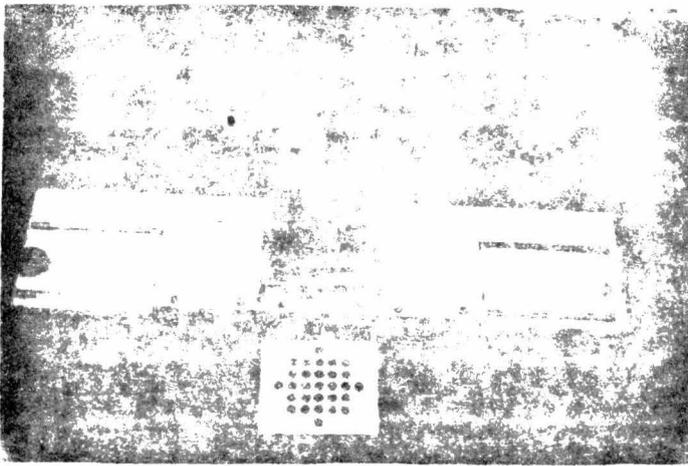


FIG. 2. INOCUIADOR MECANICO "ZAPOLPER"

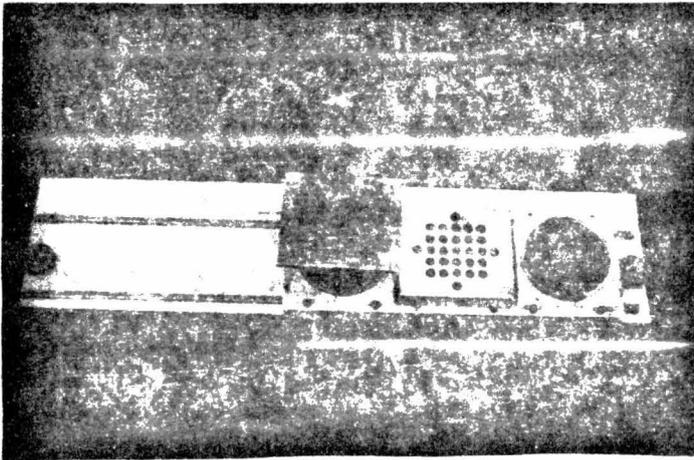
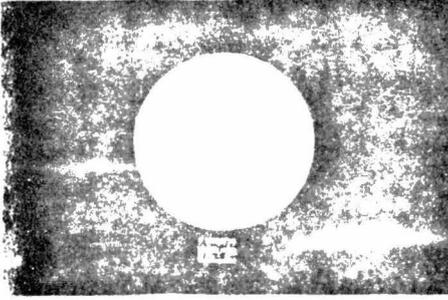
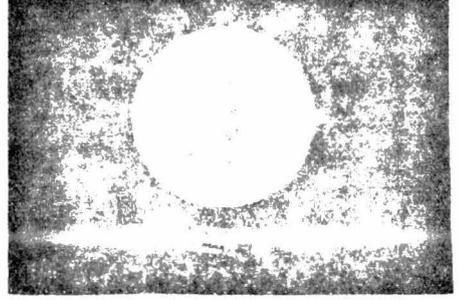


FIG. 3. MANERA DE COLOCAR LAS PLACAS EN EL INOCUIADOR.

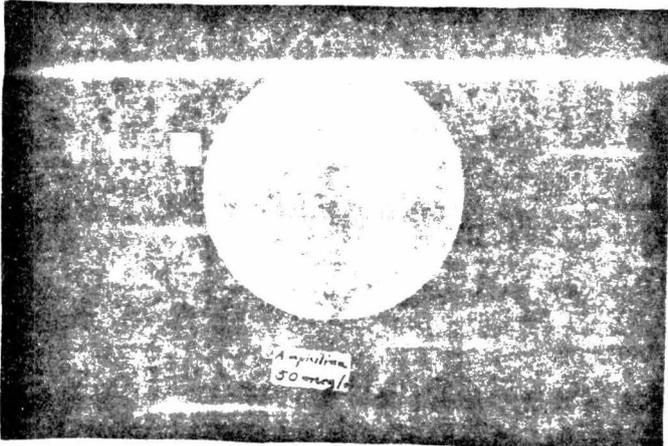


(4)



(5)

(6)



FIGS. 4, 5 y 6. Desarrollo en placas inoculadas con el "Zapolper" donde puede observarse la inhibición gradual provocada por el aumento en la concentración del antibiótico.

## IV. RESULTADOS

Las cepas de Escherichia coli aisladas en urocultivos de niños con infección urinaria, presentaron índices muy bajos de susceptibilidad hacia la mayoría de los antimicrobianos probados por el método de dilución seriada en placa, uno de los mejores métodos cuantitativos de sensibilidad (5, 24).

Así, encontramos que antibióticos que en un tiempo se consideraron como eficaces en el tratamiento de infección urinaria, han perdido validez, debido a la aparición de mutantes resistentes que poseen la capacidad de transferir su resistencia a cepas en un principio susceptibles.

En la interpretación de los resultados se consideró la concentración mínima inhibitoria de 10 mcg ó menos para la mayoría de los antibióticos probados, excepto para la colimicina y la -- gentamicina, en los que se consideró una concentración mínima -- inhibitoria de 5 mcg ó menos.

Siguiendo este criterio, se encontraron los porcentajes-- de susceptibilidad expresados en el cuadro número 1.

Cuadro # I. Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de E. coli considerando una concentración mínima inhibitoria de 10 mcg para todos los antimicrobianos probados; ordenados en forma de--  
decreciente de susceptibilidad:

ANTIBIOTICO	% DE SENSIBILIDAD
GENTAMINICINA	100%
AC. NALIDIXICO	85.8%
COLIMICINA	73.5%
KANAMICINA	48.1%
CEFALEXINA	43.3%
CEFALORIDINA	31.1%
NITROFURANTOINA	25.4%
CLORAMFERICOL	25.4%
CARBENICILINA	15.0%
AMPICILINA	14.1%
TETRACICLINA	8.5%
CEFALOTINA	7.6%

A continuación se presenta el cuadro número 2 con los resultados obtenidos para las diferentes concentraciones que fueron probadas.

Para todos los antibióticos se utilizaron las concentraciones de: 0.625, 1.25, 2.5, 5.0, 10.0 y 50.0 mcg/ml; excepto para la nitrofurantoína, en la cual se utilizaron otras dos concentraciones intermedias que fueron 20 mcg/ml y 30 mcg/ml.

Cuadro # 2. Porcentaje de susceptibilidad para la diferentes concentraciones utilizadas (en orden decreciente).

ANTIBIOTICOS	CONCENTRACION EN MCG/ML.							
	0.625	1.25	2.5	5.0	10.0	20.0	30.0	50.0
GENTAMICINA	74.5%	76.4%	100%	100%	100%			100%
AC. NALIDIXICO	0%	0%	27.1%	83.9%	85.8%			87.7%
COLIMICINA	0%	0%	2.8%	26.4%	73.5%			95.3%
KANAMICINA	0%	0.94%	14.1%	32.0%	48.1%			50.0%
CEFALEXINA	0%	0%	0%	6.6%	43.3%			97.2%
CEFALORIDINA	0%	1.8 %	7.6%	26.4%	31.1%			62.3%
NITROFURANTOINA	0%	0%	0%	2.8%	25.4%	33.9%	45.2%	90.5%
CLORAMPENICOL	0%	0%	10.3%	20.7%	25.4%			38.6%
CARBENICICLINA	0%	0%	3.7%	8.5%	15.0%			20.7%
AMPICILINA	0%	0%	1.8%	4.7%	14.1%			18.8%
TETRACICLINA	0%	0%	2.8%	7.6%	8.5%			14.1%
CEFALOTINA	0%	0%	0%	1.8%	7.6%			47.1%

Los mismos datos del cuadro # 2. se encuentran graficados en el cuadro # 3. cuya interpretación es como sigue:

En el primer renglón horizontal se anotan las concentraciones utilizadas. En la columna de la izquierda se anotan los diversos antimicrobianos usados. Abajo de cada casillero aparece la proporción de cepas inhibidas por cada concentración, expresándose en porciento de susceptibilidad. Para hacer más objetivo el dato, se transformó en grados de la circunferencia, graficándose en sectores oscuros las cepas no inhibidas o resistentes y en sectores de color blanco las cepas inhibidas o sensibles.

De los resultados obtenidos en este trabajo, podemos hacer las siguientes observaciones: la susceptibilidad para la mayoría de los antibióticos probados es menor de 50%. Los únicos antibióticos que presentan un índice de susceptibilidad mayor de 50%, -- son la colimicina con un 73.5% de susceptibilidad, el ácido nalidíxico con un 85.8% de cepas susceptibles y la gentamicina con un 100% de sensibilidad. La resistencia para el ácido nalidíxico y la colimicina ha ido aumentando en los últimos años y, aunque todavía presentan un alto grado de susceptibilidad, se teme que con el tiempo sean totalmente ineficaces debido a la aparición y multiplicación de las cepas resistentes.

## SUSCEPTIBILIDAD DE 106 CEPAS DE E. COLI

Concentracion meq/ml	0.625	1.25	2.5	5.0	10.0	20.0	30.0	50.0
GENTAMICINA % Acumulado de sensibilidad	 74.5 %	 76.4 %	 100 %	 100 %	 100 %			 100 %
AC. NALIDIXI CO % Acumulado	 0 %	 0 %	 27.1%	 83.9%	 85.8%			 87.7%
COLIMICINA % Acumulado	 0 %	 0 %	 2.8%	 26.4%	 73.5%			 95.4%
KANAMICINA % Acumulado	 0 %	 0.94%	 14.1%	 32.0%	 48.1%			 50.0%
CEFALEXINA % Acumulado	 0%	 0 %	 0 %	 6.6%	 43.3 %			 97.2%
CEFALORIDINA % Acumulado	 0%	 1.8%	 7.6%	 26.4%	 31.1%			 62.2%
NITROFURNATOI NA. % Acumulado	 0%	 0%	 0%	 2.8%	 25.4%	 33.9%	 45.2%	 90.5%
CLORAMFENICOL % Acumulado	 0%	 0%	 10.3%	 20.7%	 25.4%			 38.6%
CARBENICILINA % Acumulado	 0%	 0%	 3.7%	 8.5%	 15.0%			 20.7%
AMPICILINA % Acumulado	 0%	 0%	 1.8%	 4.7%	 14.1%			 18.8%
TETRACICLINA % Acumulado	 0%	 0%	 2.8%	 7.6%	 8.5%			 14.1%
CEFALOTINA % Acumulado	 0%	 0%	 0%	 1.8%	 7.6%			 47.1%

## V. DISCUSION

Las variaciones que sufren algunos microorganismos patógenos en su comportamiento frente a los diversos antimicrobianos, bien sea hacia el aumento a la disminución de su susceptibilidad, que ocurren principalmente en relación directa de el uso de dichos antimicrobianos, obligan a mantener programas de vigilancia de tales cambios. Para ello se hace necesario realizar, en forma rutinaria, estudios "in vitro", con el fin de determinar el grado de esas modificaciones.

Debido a que la mayoría de las infecciones urinarias son debidas a Escherichia coli, las drogas elegidas deberán ser las más eficaces para erradicar estos gérmenes, lo cual depende además de la susceptibilidad de los mismos, de la dosis de sostén, del tiempo, de la capacidad para alcanzar niveles adecuados en el tejido renal y en la orina y de la existencia de un flujo urinario sin obstáculos.

Cuando se quiere valorar la utilidad del antibiograma -- para seleccionar la droga, hay que recordar que la susceptibilidad de los gérmenes a los diferentes antimicrobianos no es igual "in vitro" que "in vivo", ya que existen varias consideraciones -- que deben tomarse en cuenta, como son: "in vitro" podemos utilizar todas las concentraciones que deseemos para observar cual es la más adecuada, cosa que no puede aplicarse a un ser humano, -- pues para cada medicamento existe un nivel sanguíneo y urinario--

óptimo determinado de absorción, el cual una vez alcanzado, no puede ser elevado aún cuando se administren concentraciones elevadas del medicamento. Otro aspecto lo constituye la toxicidad de ciertas drogas, las cuales "in vitro" no presentan ningún problema; también tenemos problemas de intolerancia "in vivo" que "in vitro" nunca se presentan.

Mediante estudios como el realizado, podemos observar la creciente resistencia antimicrobiana de dichas cepas, debida a factores de resistencia y al desarrollo de resistencia múltiple. También podemos ver que antibióticos, que en un principio eran eficaces, han perdido su utilidad. Se pudo comprobar la eficacia de antibióticos recientemente sintetizados.

En la interpretación de los resultados, se debe considerar la concentración mínima inhibitoria para cada antibiótico, así como el nivel hemático que alcanza cada antibiótico. La penetración adecuada en una área de infección implica difusión y por lo tanto caída de la concentración antibiótica entre la sangre y el objetivo bacteriano. De esto se deduce que los niveles de antibiótico en la sangre, deben exceder su concentración mínima inhibitoria contra los organismos infectantes por un margen amplio. Una concentración de cuatro veces la mínima inhibitoria, no es exagerado, especialmente cuando se trata de infecciones del aparato urinario. Es por esto que, para catalogar como susceptible o resistente a un microorganismo, es necesario considerar una de

terminada concentración que sea terapéuticamente útil.

En el presente trabajo se siguió el criterio que se sigue para considerar la susceptibilidad de las cepas a los diferentes antibióticos: la concentración mínima inhibitoria de 10 mcg o menos excepto para colimicina y gentamicina, en los que se consi--deró con 5 mcg o menos.

Sin embargo, se presentan los datos de otras concentraciones para los diferentes criterios que quieran ser utilizados.

Debido a la creciente resistencia de las cepas de E. coli estudiadas, se encontraron índices muy bajos de susceptibilidad a los diferentes antimicrobianos probados. Encontramos los si- -guientes resultados; considerando una concentración mínima inhibitoria de 10 mcg: gentamicina 100% de susceptibilidad, ácido nalidíxico 85.8% de cepas susceptibles, colimicina 73.5%, kanamiciina 48.1%, cefalexina 43.3%, cefaloridina 31.1%, nitrofurantoína- 25.4%, cloramfenicol 25.4%, carbenicilina 15.0%, ampicilina 14.1% tetraciclina 8.5% y cefalotina 7.6% de susceptibilidad.

De estos datos, podemos concluir que los antibióticos más efectivos y, por lo tanto de elección, serían la gentamicina, el ácido nalidíxico y la colimicina, que presenta una susceptibili- dad de más de 50% de las cepas probadas.

A continuación se presenta un análisis comparativo de los resultados obtenidos en el presente estudio y los encontrados en años anteriores por diferentes investigadores, en diferentes cen

tros hospitalarios y en el Hospital Infantil de México.

En una investigación, hecha en este mismo hospital, con cepas de E. coli aisladas de distintos procesos infecciosos, entre 1963-1967 (11,13), se encontró un elevado grado de resistencia. - Para E. coli enteropatógeno se encontraron siempre porcentajes de susceptibilidad muy bajos, principalmente para: cloramfenicol, -- ampicilina, kanamicina y tetraciclina.

En 1967, Brumfitt (14), probó la susceptibilidad de cepas - de Escherichia coli aisladas de diversas infecciones humanas, entre ellas, de infección urinaria, hacia la carbonicilina, empleando el método de dilución en tubo y un inóculo de aproximadamente- $10^4$  organismos por ml. y encontró un porcentaje muy bajo de susceptibilidad, solo un 44% teniendo una concentración mínima inhibitoria abajo de 12.5 mcg/ml. y 15% abajo de 6 mcg/ml. También observó que la carbenicilina es menos activa contra la mayoría de las cepas de E. coli que la ampicilina o la cefaloridina.

En Dublin, en 1967, Moorhouse y cols. (30), aislaron cepas no patógenas de E. coli, con resistencia múltiple transferible, - de heces, y probaron su susceptibilidad a varios antibióticos. Encontraron los siguientes resultados: 60% fué resistente a ampicilina y tetraciclina, 16% resistentes a cloramfenicol, 1% resistente a furazolidona y ninguna fué resistente a ácido nalidíxico.

En 1970, Anderson (1) probó la sensibilidad antibiótica de 100 cepas de E. coli, aisladas de heces normales, para la sensi--

bilidad a seis antibióticos. Emplearon el método de difusión de disco y las siguientes concentraciones de antibiótico: ampicilina, discos con una potencia de 10 mcg (Difco), ampicilina de 25-mcg (BioLab), nitrofurantoina 150 mcg (Difco), ácido nalidíxico-30 mcg (Difco) y gentamicina 10 mcg (Difco).

Todas las cepas probadas fueron sensibles a: ácido nalidíxico, nitrofurantoina y gentamicina; 25% fué resistente a ampicilina usando un disco de 10 mcg y 21% con un disco de 25 mcg. Este grado de resistencia se acerca mucho al porcentaje de 22 % encontrado y cuantificado por Stratford (1964), quien también usó un disco de 10 mcg. Sin embargo, Waumann (1964) usó una serie de tubos de dilución y encontró que un 90% de las cepas de E. coli y coliformes eran resistentes. Esta observación se basó en una concentración mínima inhibitoria de 3.125 mcg/ml. relacionada a la concentración de ampicilina encontrada en sangre y tejidos.

Robertson hizo una investigación de los patrones de resistencia de patógenos urinarios causantes de infecciones agudas -- por un período de ocho años (1964-1971) (32,33) y obtuvo los siguientes datos: la ampicilina y el ácido nalidíxico fueron las únicas drogas que mostraron una elevación constante en la incidencia de cepas resistentes; la única droga que mostró una fluctuación interesante en el porcentaje de organismos resistentes -- fué la sulfonamida. Las otras drogas examinadas mostraron menos cambios definitivos.

La incidencia de resistencia múltiple ha aumentado considerablemente, 53% de las cepas probadas fueron resistentes por lo menos a un antibiótico y 6% a tres o más, en el período 1964-1967 y 57.3% mostraron resistencia por lo menos a un antibiótico y 10.3% a tres o más durante el período 1967-1969. El hecho de que las enterobacterias posean la capacidad de transferir resistencia antibiótica entre ella, ha aumentado el interés en los patrones de resistencia de la flora normal en humanos y animales.

Las pruebas de susceptibilidad se efectuaron empleando el método de difusión de disco y utilizando discos con las siguientes concentraciones de antibiótico: sulfafurazol 500 mcg, tetraciclina 50 mcg, nitrofurantoína 200 mcg, ampiciclina 25 mcg, cefaloridina 25 mcg, gentamicina 10 mcg, cloramfenicol 10 mcg, mezcla trimetoprim- sulfonamida 25 mcg.

En los resultados obtenidos se observó lo siguiente: aumentó la incidencia de organismos coliformes resistentes a sulfonamida, alcanzando un máximo en 1967 y después fué decayendo progresivamente. El porcentaje de organismos coliformes que mostró resistencia a la ampicilina, fué lentamente doblando de 1965 a 1968 y después en 1971 alcanzó un 11.9%. Otra droga a la que se le demostró una elevación estable de cepas resistentes fué el ácido nalidíxico que mostró una elevación más lenta, de 1.6% a 3.2% sobre 1966-1968, permaneciendo estable en 1969 y aumentando a 5.4% en 1971. La nitrofurantoína, una droga de uso similar y,

que podía esperar se mostrara una gráfica semejante, varió entre 3% y 8% sobre un período de seis años (1964-1969). En 1971 volvió a disminuir a un 4.3%. La tetraciclina mostró una variación de 22 a 30%, después de la caída inicial en 1965 de 26.6%. Las otras drogas estudiadas son menos frecuentemente usadas en el tratamiento de infecciones urinarias domiciliarias.

En 1972, se hizo un antibiograma genérico en el Hospital General (21), se probaron 162 cepas de E. coli enteropatógenas, usando el método de dilución seriada en placas de agar-agar, obteniéndose resultados en forma de concentración mínima inhibitoria expresada en mcg/ml. Se usaron sales puras de diversos antimicrobianos, tomando en cuenta su actividad biológica.

El porcentaje de susceptibilidad encontrado con E. coli enteropatógeno fué como sigue: cloramfenicol 15%, tetraciclina - 20.6% ampiciclina 41%, kanamicina 49.8% y furadantina 96%.

Es notorio, de lo anteriormente expuesto, que la resistencia hacia la ampicilina ha ido aumentando progresivamente, aún cuando algunos estudios revelaron porcentajes de resistencia no muy elevados. En el presente estudio, el resultado es muy semejante al reportado por Waumann en 1964, de 90%, y por Moorhouse, quien encontró un 60% de resistencia en 1967. Otros investigadores no reportaron el porcentaje de resistencia encontrado y sólo comunicaron una baja susceptibilidad hacia la ampicilina. También podemos observar el alto grado de susceptibilidad encontrado pa-

ra el ácido nalidíxico, por los diferentes investigadores, aunque también se observa un ligero aumento en la resistencia hacia el mismo, la gentamicina y la colimicina, son antibióticos de menor uso y generalmente reservados a los centros hospitalarios. Podemos observar que el grado de resistencia para la gentamicina es nulo, y bajo para la colimicina, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en este estudio.

Es importante hacer notar que las cepas probadas en este trabajo fueron aisladas exclusivamente de urocultivos de niños -- con infección urinaria, en cambio, en los otros trabajos mencionados, se probaron, casi exclusivamente, cepas de E. coli aisladas de heces y algunas de origen diverso; lo cual puede explicar la diferencia obtenida en los resultados.

## VI. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio son sólo una imágen de lo que sucede en el laboratorio con las cepas de un hospital, que sirven para conocer el cambio de susceptibilidad de los gérmenes frente a los diversos antimicrobianos de uso más frecuente.

La aplicación clínica fundamental de estos estudios ya -- fué señalada anteriormente. Al valorizar los resultados obtenidos en este trabajo, podemos hacer algunas consideraciones, comparando estos datos con los obtenidos en estudios realizados en años anteriores con cepas de E. coli aisladas de heces y de infecciones de origen diverso:

1. En general observamos un elevado grado de resistencia, debido a la aparición de mutantes resistentes, así como resistencia múltiple por el uso prolongado e indebido de los antimicrobianos -- más comunes; se encontró resistencia elevada a la tetraciclina, ampicilina, carbenicilina, cefalotina, cefaloridina y cloramfenicol.
2. También podemos observar que la gentamicina no muestra ninguna modificación en su sensibilidad, dando un 100% de cepas susceptibles, sólo que su uso está limitado a centros hospitalarios.
3. El ácido nalidíxico y la colimicina son las otras dos drogas que muestran porcentajes muy bajos de resistencia, sin embargo, --

la resistencia a ambos antimicrobianos ha aumentado en los últimos años.

4. De lo anterior deducimos que los antibióticos de elección en el tratamiento de infección urinaria serían la gentamicina, el ácido nalidíxico y la colimicina, pero deben emplearse con ciertas reservas, ya que, como la mayoría de los antimicrobianos, presentan ciertos efectos indeseables que deben considerarse.

Así también, consideramos que E. coli es uno de los gérmes que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, que son los causantes de la mayoría de las infecciones urinarias y que rápidamente producen mutantes resistentes. Existen cepas conocidas como "cepas hospitalarias", debido a que se encuentran ampliamente diseminadas en los centros hospitalarios, que son las que presentan el más alto grado de resistencia antibiótica, pues se desarrollan en niños que generalmente son sometidos a terapias antimicrobianas intensas, lo que favorece la formación de cepas multirresistentes.

Se observa buena susceptibilidad a antibióticos de uso menos frecuente como es la gentamicina y otros de aparición más reciente, por lo que concluimos que estudios de este tipo son de gran utilidad en la práctica médica ya que permiten conocer el estado actual de la susceptibilidad antimicrobiana de determinados gérmenes que presentan un grave problema para la población en general, y, en particular para la comunidad hospitalaria tam-

bién sirven para conocer la eficacia de los diferentes antimicrobianos de uso más común en la práctica diaria, así como la de -- antibióticos de reciente aparición.

## VII. RESUMEN

Se probaron 106 cepas de Escherichia coli aisladas en uro cultivos practicados a niños hospitalizados en las diferentes salas del Hospital Infantil de México y a niños atendidos en la consulta externa de dicho centro, quienes presentaban evidencias clínicas de infección urinaria, en los años de 1974 y 1975.

Antes de someter cada aislamiento bacteriano frente a la acción de los diferentes antimicrobianos, se verificó su viabilidad y pureza mediante resiembras en los medios adecuados. Además, se verificó el género y la especie, mediante pruebas específicas para cada caso.

Para probar la susceptibilidad de los gérmenes a los diversos antimicrobianos se utilizó el método de dilución seriada en placas de agar, usando una capa conteniendo 20 ml de agar de Müller Hinton, pH 7.4. La inoculación fué de  $1 \times 10^6$  unidades formadoras de colonias (UFC) utilizando inoculador mecánico. Las cajas de Petri se leyeron a las 18 horas de incubación a 37°C, expresándose en términos de concentración mínima inhibitoria (CMI) en mcg/ml.

Se usaron sales puras de las diferentes antimicrobianos, tomando en cuenta de ellos su actividad biológica y no el peso en bruto.

Las concentraciones de antibiótico variaron para este estudio, de 0.625 a 50 mcg/ml.

El urocultivo fué cuantitativo y la infección fué diagnosticada sólo si los especímenes producían  $10^5$  o más colonias por ml. de orina, las cepas de E. coli fueron probadas para su susceptibilidad hacia los siguientes antibióticos: ácido nalidíxico, ampicilina, carbenicilina, colimicina, cefalexina, cefaloridina, cefalotina, cloramfenicol, gentamicina, kanamicina, nitrofurantoina y tetraciclina.

En los resultados se observa una marcada resistencia a la mayoría de los antimicrobianos probados. La sensibilidad es mayor para la gentamicina y en grado menor a la colimicina y el ácido nalidíxico.

La resistencia a los antimicrobianos de uso más común ha aumentado considerablemente en los últimos años debido a factores de resistencia, los cuales están presentes en la mayoría de las cepas de E. coli, aún en las aisladas en niños sanos.

## VIII.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Anderson Kevin. M.D. (Lond.). The antibiotic sensibility of -- 100 isolates of E. Coli with special reference to the domiciliary-treatment of urinary tract infection. Med. J. Aust. 2: 409. 1970.
- 2.- Association of Clinical Pathologists: Report of antibiotic sensitivity test trial organized by bacteriological committe of the - Association. J. Clin. Path. 18: 1. 1965.
- 3.- Bailey W.R. and Scott E.G.: Diagnostic Microbiologic. The C.V. Mosby Co. Saint Louis. 1974.
- 4.- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Buchanan R.E. & Gibbons N.E. Co, Editors. The Williams & Wilkins Co. Baltimore. Eight Edition. 293. 1974.
- 5.- Bessudo D. Q.B.P., M. Sc. ; Dres.: Mohs E. Heredia A. M.S.P. y Martinez R. A.: Sensibilidad a los antibioticos de las bacterias-Gram negativas aisladas del Hospital Infantil de México en 1963. Bol. Med. Hosp. Inf. Méx. 21: 3, 347. 1964.
- 6.- Bradley. Cuantitative urine culture. Brit. Med. J. 2: 361. --- 1963.
- 7.- Brown P.C.C., Donaghy M.C., Dootson P.H., MacLaren D.M. Tit -- combe D.H. M. Urinary Tract Infections. Brit. Med. J. 4: 1960. --- 1968.
- 8.- Brumfitt W. : Clinical and Laboratory Studies with Carbenicillin. The Lancet. 1: 1285. 1967.
- 9.- Brumfitt W., Reeves D.S. : Recent Developmente in the treat--

- ment of urinary tract infections. The Journal of Infect. Dis. 120: 1: 61. 1969.
- 10.- Brumfitt W. and Asscher: Urinary Tract Infections. Oxford University Press. London. 1973.
- 11.- Calderon J.E., M.S.P.; Salas A.M. FAAP.: Conceptos Clínicos de Infectología Pediátrica. México. 223. 1973.
- 12.- Daeschner C.W., M.D. : Antimicrobial Therapy of Urinary Tract Infections. The Pediatrics Clinics Of North America. 15:1. Feb. -- 1968.
- 13.- Datta N., Faiers M.C., Reeves D.S., Brumfitt W., Orskov. F. - and Orskov J.: R Factors in E. Coli faeces after oral chemotherapy in general practice. The Lancet. 1: 312. 1971.
- 14.- Erickson H.M. and Sherris J.C.: Antibiotics Sensitivity Testing. Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica. Section B, - Suppl. 217. 1971.
- 15.- Escárzaga T.E.: La prescripción de los antimicrobianos en la práctica médica. La Prensa Médica Mexicana. XXXIV, Nos. 5 y 6 ---- (Supl.) 1969.
- 16.- Escarzagaga T.E.: Susceptibilidad a diversos antibióticos de -- las bacterias negativas a la tinción de Gram. Rev. Med. Mexicana-- Tomo XLI. No. 986. 1966.
- 17.- Garrard D.E.C., M.B., B.S.: Examinación bacteriologica de la orina obtenida de localidades remotas. The Med. J. of Aust. 2: 111; 1968.
- 18.- Garrod L.P., M.D. F.R.C.P.; Shooter R.A., Carwen. Brit. Med.-

J. 2: 1003. 1959.

19.- Gillespie W.A., Lee P.A., Linton K.B.: Antibiotic Resistance of coliform bacilli in urinary infection acquired by Women outside hospital. Lancet. 2: 675. 1971.

20.- Gutierrez D., Gonzalez D.S. Hill J.M., Horta S.C., Luna C.M. Escarzaga T.E. : Antibiograma genérico 1971. Rev. Med. Hosp. Gral. 35;12. 1972.

21.- Gutierrez D., González D.S., Hill J.M., Horta S.C., Luna C.M. Escárzaga T.E. : Antibiograma genérico 1972. Rev. Med. Hosp. Gral. 37:2 2 Feb. 1974.

22.- Heale W.F.: Mangement of Urinary Infections in Children. Drugs. 6: 230. 1973.

23.- Irvine J. Hunter.: Sensibility in vitro of 386 urinary organisms to Trimetoprim Sulfametoxazol and others antibiotics. The Med. J. of Aust. 2: 1761. 1970.

24.- Jackson C.G. and Finland M. : Comparison of methods for determining sensitivity of bacteria to antibiotics in vitro. A.M.A. Arch Internal. Med. 88:446. 1951.

25.- Jawetz E., Melnick L.J. and Adelberg A.E.: Review of Medical Microbiology. Lange Medical Publications. Los Altos, Calif. 10a. - Ed. 318. 1972.

26.- Little P.J.: Diagnosis and Treatment of urinary Tract Infection. Drugs 3: 414. 1972.

27.- Martini R. y Gordillo G.: Infecciones del Aparato Urinario durante la Infancia. Gaceta Médica de México. 105:1 Enero 1973.

- 28.- Masters P.L.: Urinary Infections in Childhood: Examination of The urine The Med. J. of Aust. 2: 225. 1966.
- 29.- Mond N.C., M.R., C.S.; Percival A., Williams J.D., Brumfitt-W. Presentation Diagnosis and Treatment of urinary Tract Infections in general practice. Lancet. 1:514. 1965.
- 30.- Moorhouse E.C.: Transferable Drug Resistance in Enterobacteriae insolated from urban infants. Brit. Med J. 2: 405. 1969.
- 31.- Normand J.C.S., Smellie J.M.: Prolonged maintenance chemotherapy in the management of urinary infection in childhood. --- Brid. Med. J. 1: 1023. 1965.
- 32.- Robertson M.H.: Antibiotic Resistance Patterns of Organisms causing acute urinary tract infection occurring in general practice. Brit. J. Clin. Pract. 22; 63. 1968.
- 33.- Robertson M.H.: A six years survey of resistance patterns - of Organisms causing acute urinary tract infection occurring in - general practice. Brit. J. Clin. Pract. 22; 63. 1968.
- 34.- Sanders E. MD., Cliff L.E., M.D.: Mechanisms of action of - Antimicrobial Agents. Applied Pharmacology.
35. Suceptibilidad a varios antibioticos de bacterias aisladas - de distintos procesos infecciosos en el Hospital Infantil de México entre 1963 y 1967. Bol. Med. Hosp. Inf. Méx. 24: 4. 453. - 1969.
- 36.- Tennetti.- Evaluación critica del diagnóstico de infección urinaria. Bol. Med. Hosp. Inf. Méx. 29; 511. 1972.

- 37.- Toivonin S., Pentekaienn P., Leirisale M. and Pyoralla K.:  
Comparison of Ampicilin and Nalidixic Acid in The treatment of  
urinary tract infections caused by E. coli. Acta Med. Scand. -  
195: 181. 1974.
- 38.- Turck M., Petersdorf R.G.: The Epidemiology of non enteric  
E. coli infections. Prevalence of serological groups. J. Clin.  
Invest. 41: 9. 317. 1962.
- 39.- Turck M., Ronald A.R., Hugh C., Winterbauer R.H., Atlas -  
E. Silverblatt F. and Petersdorf R.G.: Studies on the epidemi-  
ology of E. coli 1960-1968. The journal of Infect. Dis. 120. -  
1: 13. July 1969.



QUÍMICO