

22
2ej-



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**



**ESTUDIO SOBRE LA FLORA BACTERIANA PRESENTE
EN EL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR EN UNA
POBLACION INFANTIL PREESCOLAR**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**

P R E S E N T A

JUAN ANTONIO GANDARA BALDERAS

DIRECTOR DE TESIS:

M. EN C. CLARA INES ALVAREZ MANRIQUE

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1992



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

RESUMEN	I
1.0 INTRODUCCION	1
1.1 Staphylococcus	2
1.1.1 <u>Staphylococcus aureus</u>	2
1.1.2 Staphylococcus coagulasa negativos	6
1.2 Streptococcus	8
1.2.1 Streptococcus beta hemolíticos	
1.2.1.1 <u>Streptococcus pyogenes</u>	9
1.2.1.2 Streptococcus spp.	14
1.2.2 Streptococcus alfa hemolítico	
1.2.2.1 Streptococcus viridans	16
1.2.2.2 <u>Streptococcus pneumoniae</u>	16
1.3 Corynebacterium	19
1.3.1 <u>Corynebacterium diphtheriae</u>	19
1.3.2 <u>Corynebacterium pseudodiphtheriae</u>	21
1.3.3 <u>Corynebacterium xerosis</u>	21
1.4 Branhamella catarrhalis	22
1.5 Klebsiella pneumoniae	23
1.6 Haemophilus influenzae	25
1.7 Bordetella pertussis	28
1.8 Mycobacterium tuberculosis	31
2.0 Generalidades sobre los antibióticos más comunes	35
2.1 Clasificación de antibióticos	35
2.2 Mecanismo de acción de antibióticos	35

3.0	OBJETIVOS	38
4.0	MATERIAL Y METODOS	40
4.1	Metodología	40
4.1.1	Toma de muestra	40
4.1.2	Tinciones y aislamientos	40
4.1.3	Identificación	41
4.1.3.1	Pruebas bioquímicas realizadas	41
4.1.4	Sensibilidad bacteriana	44
4.1.4.1	Prueba de Sensibilidad a los antibióticos	44
4.1.4.2	Técnica de Control de calidad	45
4.2	Análisis estadístico	45
5.0	RESULTADOS	49
5.1	Distribución de las bacterias aisladas	49
5.2	Frecuencia de bacterias aisladas	50
5.3	Frecuencia de bacterias aisladas en diferentes agrupaciones ...	55
5.3.1	Frecuencia de las bacterias por año de edad de los escolares	55
5.3.2	Frecuencia de las bacterias por grado escolar	55
5.3.3	Frecuencia de las bacterias por época del año	55
5.4	Homogeneidad a la acción de antibióticos	63
5.4.1	Homogeneidad de la resistencia para antibióticos que actúan a nivel de pared celular	63
5.4.2	Homogeneidad de la resistencia para antibióticos que actúan a nivel de síntesis proteica	64

5.4.3	Homogeneidad de la sensibilidad para antibióticos que actúan a nivel de pared celular	65
5.4.4	Homogeneidad de la sensibilidad para antibióticos que actúan a nivel de síntesis proteica	66
5.5	Acción específica para antibióticos	74
5.5.1	Resistencia específica para antibióticos que actúan a nivel de pared celular	74
5.5.2	Sensibilidad específica para antibióticos que actúan a nivel de síntesis proteica	74
5.5.3	Resistencia específica para antibióticos que actúan a nivel de pared celular	75
5.5.4	Sensibilidad específica para antibióticos que actúan a nivel de síntesis proteica	76
5.6	Acción no específica para los antibióticos	81
5.6.1	Resistencia no específica para los antibióticos	81
5.6.2	Sensibilidad no específica para los antibióticos	81
6.0	DISCUSION	91
7.0	CONCLUSIONES	100
8.0	REFERENCIAS	103

ABREVIATURAS

AIDS - Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

AMPc - 3' ,5' monofosfato de adenosina

AMPI - Ampicilina

BCG - Bacilo Calmette Guérin

BHI - Infusión Cerebro Corazón

B. catarrhalis - Branhamella catarrhalis

B. pertussis - Bordetella pertussis

C. diphtheriae - Corynebacterium diphtheriae

C. pseudodiphtheriae - Corynebacterium pseudodiphtheriae

CEFA - Cefalotina

CLOX - Cloxacilina

CTX - Cefotaxima

DNA - Acido desoxirribonucleico

DNasas - Desoxirribonucleasas

DPN - Didosfato de adenosina

EF2 - Factor de traslocación

ERI - Eritromicina

ETA - Toxina Epidermolítica tipo A

ETB - Toxina Epidermolítica tipo B

FDA - Food and Drug Administration

GENTA - Gentamicina

gl - grados de libertad

H. influenzae - Haemophilus influenzae

K. pneumoniae - Klebsiella pneumoniae

KAN - Kanamicina

LINCO - Lincomicina

LPS - Lipopolisacáridos

μ - micrometros

μ g - microgramos

NAD - Nicotinamida Adenin Dinucleótido

NADP - Nicotinamida Adenin Dinucleótido Fosfato

OF - Prueba de Oxidación-Fermentación

PENI - Penicilina

RM - Rojo de Metilo

RST - Resistente

S. aureus - Staphylococcus aureus

S. epidermidis - Staphylococcus epidermidis

SEA - Enterotoxina Estafilococal tipo A

SEB - Enterotoxina Estafilococal tipo B

SEC - Enterotoxina Estafilococal tipo C

SED - Enterotoxina Estafilococal tipo D

SEE - Enterotoxina Estafilococal tipo E

St. alfa hem. - Streptococcus alfa hemolíticos (St. viridans)

St. beta hem. - Streptococcus beta hemolíticos no pertenecientes
a el Grupo A

St. pneumoniae - Streptococcus pneumoniae

St. pyogenes - Streptococcus pyogenes

ST - Trimetoprim-Sulfametoxazol

STREP - Estreptomina

TET - Tetraciclina

TPN - Trifosfato de adenosina

TSS - Síndrome de Shock Tóxico

TSST-1 - Toxina 1 del Síndrome del Shock Tóxico

VP - Voges Proskauer

χ_C^2 - χ^2 calculada

χ_T^2 - χ^2 de tablas

RESUMEN

Las enfermedades infecciosas respiratorias agudas ocupan el primer lugar de las enfermedades transmisibles. La mortalidad es particularmente elevada en los niños de países en desarrollo y con mala educación sanitaria, lo cual se ha relacionado con factores sociales, ambientales y con el estado nutricional. El tratamiento de estas enfermedades por lo general es erróneo, puesto que se abusa de diversos medicamentos, o se utilizan en forma inadecuada.

En este trabajo se realizaron muestreos faríngeos durante un año a niños entre 1 a 5 años de edad, llevándose a cabo la identificación de las bacterias aisladas, así como la prueba de sensibilidad bacteriana a diferentes agentes antimicrobianos por difusión en gel.

Las bacterias aisladas fueron *Streptococcus* (St.) beta hemolítico no perteneciente al grupo A (35.15%), St. alfa hemolítico (28.48%), *Streptococcus* (St.) *pyogenes* (15.76%), *Staphylococcus* (S.) *epidermidis* (6.67%), *St. pneumoniae* (6.06%), *S. aureus*, *Branhamella* (B.) *catarrhalis* (1.82%), *Corynebacterium* (C.) *pseudodiphtheriae* (1.21%), y *Klebsiella* (K.) *pneumoniae* (1.21%). Las bacterias Gram-positivas predominaron en los aislamientos, siendo las bacterias Gram-negativas una minoría. Los St. beta hemolíticos, St. alfa hemolíticos y *St. pyogenes* presentaron mayor incidencia; *St. pneumoniae*, *S. aureus* y *B. catarrhalis* presentaron baja incidencia, y; *S. epidermidis*, *C. pseudodiphtheriae* y *K. pneumoniae* no presentaron incidencia. Los aislamientos de las bacterias tuvieron relación con la época de año en que se realizó el muestreo. Así, los St. alfa hemolíticos,

S. aureus y S. epidermidis fueron mas frecuentes en otoño. los St. beta hemoliticos y los St. pyogenes fueron mas frecuentes en primavera. y; los St. pneumoniae fueron mas frecuentes en invierno.

Las cepas inoculadas las cuales mostraron resistencia, tuvieron relación con el número de antibióticos probados que actúan a nivel de pared celular. Los St. alfa hemoliticos, St. beta hemolíticos, St. pyogenes y St. pneumoniae fueron resistentes a un menor número de antibióticos probados. No así, los S. aureus y S. epidermidis los cuales fueron resistentes a un mayor número de antibióticos probados.

De acuerdo a las propiedades inhibitorias de los antibióticos hacia las bacterias; a la acción farmacológica y la experiencia clínica previamente reportada. Se recomienda los agentes antimicrobianos para los Streptococcus, siendo de primera elección las penicilinas (penicilina G procaínica y ampicilina), si hay alergia a la penicilina se usa eritromicina, lincomicina o Trimetroprim-Sulfametoxazol (12,35,54,56). En infecciones muy graves en las cuales el tratamiento inicial en el paciente no presente eficacia, se podrá usar la cefalotina o la cefotaxima (87,90). En los S. aureus se recomienda a la cloxacilina sólo o en combinación con gentamicina como primera elección y como alternativa está la cefalotina, eritromicina y lincomicina (8,28,37).

Para S. epidermidis al igual que S. aureus se recomienda el uso de cloxacilina sólo o en combinación con gentamicina. y como alternativa a cefalotina y cefotaxima (25,28,37).

1.0 INTRODUCCION.

Las infecciones respiratorias agudas son una de las principales enfermedades causantes de morbilidad y de mortalidad en el mundo. Esta última es particularmente elevada en los niños de los países en desarrollo y con mala educación sanitaria, lo cual se ha relacionado con factores sociales, ambientales y particularmente con el estado nutricional.

A pesar de la elevada frecuencia de las infecciones respiratorias agudas (I.R.A.), de su fácil identificación clínica y de la familiaridad con que las manejan los médicos, el personal de salud y la población en general son frecuentemente tratadas en forma errónea, puesto que se abusa de diversos medicamentos, o se utilizan en forma inadecuada, principalmente en lo referente a los antibióticos. Los factores principales de ello son: a) La imposibilidad de establecer el diagnóstico etiológico en la inmensa mayoría de los casos; b) El desconocimiento de las indicaciones y los efectos indeseables de los fármacos antimicrobianos; c) La propaganda comercial tan eficaz que realizan los laboratorios químicos farmacéuticos, lo cual induce al abuso de los medicamentos en general y de los antibióticos en particular; d) La venta sin control alguno de los productos farmacéuticos a la población. (37,39)

Por otra parte se ha reportado que cuando se utiliza un antibiótico con mucha frecuencia en la población, este provoca la resistencia por parte de las bacterias. (28)

Entre la flora normal encontrada a este nivel se encuentran: *Streptococcus* alfa, beta y gamma hemolíticos; *Branhamella*

catarrhalis; Staphylococcus epidermidis; y Diphtheroides.

Entre la flora potencialmente patógena se encuentran los siguientes microorganismos: Streptococcus beta hemolítico grupo A; Streptococcus pneumoniae; Staphylococcus aureus; Haemophilus influenzae; Bordetella pertussis; Corynebacterium diphtheriae; Klebsiella pneumoniae; Mycobacterium tuberculosis. (36,82)

1.1. Staphylococcus.

Los Staphylococcus spp. fueron aislados por primera vez por Rosenbach (1884). El género Staphylococcus fue listado en la séptima edición del manual Bergey por Evans (1937) quien mostró que los Staphylococcus son fisiológicamente distintos a los Micrococcus en su capacidad para crecer anaeróbicamente y para fermentar glucosa. Tres grupos de especies (Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis y Staphylococcus saprophyticus) fueron reconocidos por Baird-Parker (1974) en la octava edición de el manual Bergey. Desde entonces al menos 25 especies se han descrito en base a estudios en la homología del DNA y características bioquímicas e inmunoquímicas. (4).

1.1.1 Staphylococcus aureus.

Los Staphylococcus aureus están relacionados con diversas enfermedades:

- Infecciones de la piel: Carbúnculos, furúnculos, abscesos subcutáneos, impétigo contagioso, pénfigo neonatorum, etc.
- En nasofaringe: Sinusitis, amigdalitis, infecciones glandulares.

- En tracto gastrointestinal: Enterocolitis, envenenamiento por alimento.
- En uretra: Cistitis, prostatitis.
- En vagina: Cervicitis, salpingitis, infección pélvica.
- En huesos y articulaciones: Osteomielitis, artritis.
- En pulmón: Neumonía.
- En corazón: Endocarditis.
- En sistema nervioso central: Cerebritis, meningitis, abscesos cerebrales.
- También produce Síndromes mediados por toxinas: Síndrome estafilococal de piel escaldada ; Síndrome de shock tóxico (TSS); y el envenenamiento por comida. (2,11,38,46,51,57,66,71)

Factores virulentos extracelulares producidos por Staphylococcus aureus.

- Toxina epidermolítica o exfoliativa del Síndrome de piel escaldada.- Es producida por el Staphylococcus aureus principalmente perteneciente a el fago del grupo II, causando un proceso descamativo. Existen dos serotipos: ETA que es codificado cromosómicamente y es la más común en Estados Unidos y ETB que es codificada por plásmidos. Trabajos de Smith (1989) establecen uniones específicas a la toxina epidermolítica para profilin, una proteína citoesquelética presente en células blanco dentro del estrato granuloso de la epidermis. (2,71)
- Toxina 1 del Síndrome de Shock Tóxico (TSST-1). Dos toxinas producidas por TSS: exotoxina pirogénica C y enterotoxina F

estafilococal; han resultado ser idénticas y ahora referidas como toxina-1 del síndrome de shock tóxico, la cual causa una enfermedad multisistémica asociada con el fago I y en su fase recuperatoria produce descamación del área afectada, particularmente palmas y manos. El TSS es asociado con el uso de tampones durante la menstruación (73%). Del tipo no menstrual, hay casos en mujeres; en posparto, infecciones en heridas quirúrgicas, empaquetamiento nasal, etc. (2,4,15,27,46)

- Enterotoxinas.- Se han distinguido serológicamente siete proteínas extracelulares: SEA, SEB, SEC1, SEC2, SEC3, SED y SEE. La composición de aminoácidos de enterotoxinas A, D y E son similares, así como aquellas de B y C (Bergdoll 1980). Estos dos grupos son producidos en dos diferentes caminos. La producción de enterotoxinas tipo B y C es controlada por plásmidos y ocurre principalmente al final de la fase estacionaria. La producción de enterotoxinas tipo A, D y E están bajo control cromosomal y ocurre a través del crecimiento en fase logarítmica. La mayoría de epidemias por envenenamiento por alimentos involucran a las enterotoxinas A y D. La producción de enterotoxinas está restringida a los Staphylococcus sensibles a los grupos de fagos III y IV. Las enterotoxinas secretadas pueden producir emesis y diarrea.
- Toxinas alfa, beta, gama y delta. Las cuales son hemolisinas. La hemolisina alfa produce una amplia zona de hemólisis completa, es una toxina citolítica, necrotizante y letal. Paraliza la boca y el músculo esquelético, daña los

vasos sanguíneos y tiene efectos tóxicos sobre el sistema nervioso central. En presencia de formaldehído se convierte en toxoide. La hemolisina beta es elaborada principalmente por *Staphylococcus* patógenos de origen animal. Produce una amplia zona de hemólisis incompleta y carece de acción necrotizante. La hemolisina delta produce una estrecha zona de hemólisis completa la cual potencializa el poder hemolítico de la hemolisina beta. (2,15,42)

- **Leucocidina.** - Compuesta por dos proteínas electroforéticamente distintas : F (fast) y S (slow). Ambos componentes son antigénicos y se neutralizan por anticuerpos. Su acción que requiere iones de calcio, se hace a través de una desgranulación de los leucocitos. (20)
- **Coagulasa.** - Sustancia capaz de coagular el plasma sanguíneo del hombre. Es posible que el plasma sanguíneo que se forma alrededor de los microorganismos desempeñe un papel en la elaboración del estafilococo protegiéndolo de la fagocitosis. (36)
- **Proteína A.** - La proteína A esta covalentemente ligada con su parte COOH-terminal a el péptidoglucan. La parte NH-terminal exhibe cinco repetidos dominios homólogos. Cada uno, ligado a la región Fc de inmunoglobulinas de muchos mamíferos, lo cual lo protege de la fagocitosis. (40)
- **Otras proteínas** no solo juegan un papel importante como antígenos de pared celular, además actúa como receptor para proteínas de adhesión tales como fibronectina, fibrinógeno, laminina y colágena. (78)

- Algunas exoenzimas con posible factor de virulencia son:
 Estafilocinasa, proteasa, fosfolipasa, lipasa, DNasa,
 hialuronidasa, fosfatasa. (2)

Las suspensiones de fagos empleados para la tipificación, puede dividirse en 5 grupos líticos para el huésped.

Grupo	Fago número
I	29,52,52A,79,80.
II	3A,3B,3C,55,71.
III	6,7,42E,47,53,54,75,77,83A,84,85.
IV	42D.
No clasificado	81,187.

1.1.2 Staphylococcus coagulasa negativos.

Staphylococcus coagulasa negativo en particular Staphylococcus epidermidis, representa una mayor fuente de infecciones en una variedad de situaciones clínicas. Estos organismos son una de las principales causas de las bacteremias nosocomiales en infantes recién nacidos de bajo peso corporal, pacientes con dispositivos médicos en el residente; uso de cateteres intravasculares (1-40% de casos), endocarditis por válvula prostática, marcapasos cardíacos transvenosos, peritonitis complicada con diálisis crónica peritoneal. (4,25,40,42,72,86).

La virulencia de Staphylococcus coagulasa negativa esta relacionada con su capacidad para atacar y subsecuentemente colonizar la superficie de dispositivos médicos implantados. Dicho ataque es dependiente de interacciones hidrofóbicas y atracciones

electrostáticas. La colonización de biopolímeros de superficie es asociado con un polisacárido extracelular o slime el cual protege las células estafilococales de las defensas del huésped y agentes antimicrobiales. La producción de exopolisacáridos por el ataque celular contribuye a la formación de microcolonias que están firmemente adheridas a polímeros de superficie. (21,40)

La omnipresencia de fibrinógeno o fibrina sobre la superficie de una cánula sugiere un papel directo para estas proteínas en promover la adherencia estafilococal sobre materiales infectados. La fibronectina debe ser depositada sobre una cánula durante la formación de una película de fibrina en su superficie. Además la colágena actúa como cofactor contribuyendo a la adsorción de fibronectina, lo cual puede tener una importancia principal en la fase inicial de la infección. (40,86).

Características morfológicas.

Los Staphylococcus son esféricos, frecuentemente en forma de racimos, pero pueden observarse aislados, en pares, en cadenas cortas o en tétradas: alcanzan de 0.5 a 1 μ de diámetro. Gram positivos e inmóviles, normalmente acapsulados, no forman esporas. (57)

Características de cultivo.

En cultivo en agar las colonias son circulares lisas, pueden producir pigmentos con variación del blanco, anaranjado, amarillo, hasta el dorado. Temperatura óptima de 37°C, aerobios y anaerobios facultativos. Algunas cepas de Staphylococcus patógenos elaboran hemolisinas solubles produciendo una zona de hemólisis beta rodeando la colonia, cuando crece en agar sangre. Aunque la

actividad hemolítica es propia de S. aureus, algunas cepas de S. epidermidis, en la fase de aislamiento primario son también hemolíticos. (11,57)

Características bioquímicas

Son catalasa positivos, oxidasa negativos, produce ácido orgánico a partir de glucosa. Normalmente S. aureus produce ácido orgánico a partir de manitol, y no lo produce S. epidermidis. S. aureus produce fosfatasa y coagulasa, además de reducir el nitrato a nitrito: S. epidermidis no produce coagulasa. La reducción de nitrato por S. epidermidis es muy tardía y la producción de fosfatasa es rara. (52,57,59.)

1.2. Streptococcus.

Los organismos pertenecientes al género Streptococcus son importantes patógenos frecuentemente aislados de pacientes de todas las edades. Estos mismos organismos son también encontrados en individuos asintomáticos. (62)

Entre las clasificaciones de Streptococcus que tiene mayor interés, están las de Smith y Brown, y la de Lancefield.

En la clasificación de Smith y Brown los Streptococcus se clasifican por su efecto sobre las placas de agar sangre.

1. Alfa. En este grupo, conocido como el de Streptococcus viridans, se incluyen las cepas que producen una coloración verdosa por hemólisis parcial en la vecindad inmediata de la colonia.
2. Beta. Estos producen zonas incoloras, transparentes, por hemólisis completa alrededor de las colonias. Son conocidas como el grupo de Streptococcus hemolyticus.

3. Gamma. No produce hemólisis y se conocen como el grupo de *Streptococcus anhemolyticus*.

4. Alfa prima. Taranta y Moody adicionan este grupo, el cual da un pequeño halo o envoltura alrededor de la colonia formado por eritrocitos intactos o sólo parcialmente lisados, junto con una gran zona de hemólisis completa. (38,57)

Con respecto a la clasificación de Lancefield, ésta, se hace por medio de reacciones de precipitación usando un antígeno hidrocarbonado (C) que difiere de un grupo a otro. El *Streptococcus viridans*, tipo alfa hemolítico de las vías respiratorias, no posee este tipo de carbohidrato. Lancefield dividió los *Streptococcus* hemolíticos en Grupos A,B,C,D y E. Desde la clasificación original de esta investigación se han añadido los grupos F,G,H,K-U. Los antígenos grupoespecíficos reaccionan con los antisueros producidos por conejos inmunizados con *Streptococcus* hemolíticos del mismo grupo. (11,36,49).

Aunque el mayor interés de los laboratorios concierne a los *Streptococcus* del Grupo A, Grupo B, Grupo D (enterococos), y *Streptococcus pneumoniae*, no se descartan organismos de otros grupos de *Streptococcus* que se han aislado de pacientes con serias enfermedades. (62).

1.2.1 Streptococcus beta hemolíticos.

1.2.1.1 Streptococcus pyogenes.

El *Streptococcus* beta hemolítico Grupo A ó (*Streptococcus pyogenes*) se subdivide en gran número de tipos basándose en pruebas serológicas para antígenos proteínicos específicos, llamados antígenos M (Switt, Wilson y Lancefield, 1943), y

localizados en la superficie de la célula. En ocasiones los Streptococcus del grupo A se dividen según otra proteína, el antígeno T (Griffith, 1934) pero este es menos específico que el M. También se han identificado dos proteínas R: 3R y 28R inmunológicamente distintas. Todos estos antígenos (M, T, R) se encuentran en la pared celular de los Streptococcus del grupo A. Se ha encontrado organismos del grupo A en el 95% de las infecciones humanas producidas por el Streptococcus beta hemolítico. (36, 49, 62).

El Streptococcus pyogenes es agente etiológico de las siguientes enfermedades:

1. Infecciones de la piel, como celulitis, dermatitis y erisipelas.
2. Enfermedades del aparato respiratorio. Laringitis séptica, faringitis, amigdalitis, escarlatina, empiema y neumonía lobular.
3. Enfermedades del oído y de los senos. Sinusitis, mastoiditis y otitis media.
4. Enfermedades de los huesos y las articulaciones. Artritis, fiebre reumática, osteomielitis y periostitis.
5. Enfermedades del aparato genital. Cervicitis.
6. Diversas complicaciones en apendicitis, peritonitis septicemia, meningitis y otras infecciones.
7. Fiebre reumática y glomerulonefritis aguda como secuela post-Streptococal. (7, 20, 41, 57, 62, 75).

Dos componentes cuando menos, de los Streptococcus patógenos parecen protegerlos de la fagocitosis por parte del huésped, a

saber: la cápsula de ácido hialurónico y la proteína M de superficie. Por otra parte la proteína M parece ser esencial para el establecimiento de la enfermedad clínica en el tracto respiratorio superior debido a la adherencia del Streptococcus a las células epiteliales. La proteína M directamente interfiere con la fagocitosis de Streptococcus en un huésped no inmune por restringir la deposición de C3b sobre la superficie de la célula, debido a la unión de un factor H (proteína reguladora del sistema del complemento). Wexler demostró que una proteína C5a endopeptidasa estreptococal enlaza a C3a en residuos de lisina, un enlace que destruye su capacidad para servir como un quimoatrayente por darle capacidad para ligar a receptores localizados sobre la superficie de polimorfonucleares. (29,36,69,74)

Toxinas producidas como resultado del metabolismo de diferentes cepas de Streptococcus pyogenes.

1. Hemolisina. De esta sustancia que produce la hemólisis de los glóbulos rojos, hay dos tipos. Estreptolisina O: oxígeno lábil, antigénica, termoestable y resistente al ácido. La producen los Streptococcus grupo A, C y G, y tienen como sustrato a los eritrocitos y los leucocitos. Estreptolisina S: oxígeno estable, no antigénico y sensible al calor y al ácido. Sólo es producida por los Streptococcus grupo A, su acción es inhibida por lipoproteínas séricas. (11,20,48).
2. Toxina eritrogénica. Es la que produce el exantema asociado a la escarlatina; es relativamente termoestable y antigénica. Hay tres clases de toxina eritrogénica inmunológicamente

distintas (tipo A,B y C) producidas por diferentes cepas de Streptococcus. Algunas cepas de Streptococcus Grupo C y G, como Staphylococcus producen toxinas eritrogénicas parecidas. (20,36).

3. Estreptocinasa. Produce lisis de los coágulos de sangre humana. Cataliza la conversión de plasminógeno en plasmina, es antigénica.
4. Leucocidina. Los filtrados preparados de Streptococcus del grupo A destruyen a los leucocitos.
5. Desoxirribonucleasa. Son enzimas que despolimerizan el DNA (DNasas). Se han reconocido 4 tipos inmunológica y electroforéticamente distintas (A,B,C y D). No penetran a través de membranas plasmáticas de células. Son capaces de despolimerizar las acumulaciones viscosas de DNA que existen en el pus como resultado de la desintegración de los leucocitos polimorfonucleares. (20).
6. Hialuronidasa. Actúa sobre el gel polisacárido de la cápsula estreptocócica, es antigénica.
7. Proteínasa. Destruye otros factores celulares relacionados con la patogenicidad: la proteína M, proteínas extracelulares como estreptolisinas y la estreptocinasa. Es activada por agentes reductores: compuestos sulfhídricos. (11,20,36,69)

Respecto a las secuelas pos-streptococales, la glomerulonefritis se desarrolla en 10-15% de pacientes infectados con un serotipo nefritogénico de Streptococcus Grupo A. La mayor parte de las cepas nefritógenas corresponden al tipo 12; unas pocas son del tipo 4,18,25 y 49 (esta última denominada Red Lake) 52 y 55.

J. Martínez reportó que 51 pacientes de 617 desarrollan fiebre escarlatina antes de la aparición de la glomerulonefritis aguda. En Estados Unidos se ha demostrado al *Streptococcus M-49* como nefritógeno y capaz de producir fiebre escarlatina o impétigo contagioso, mientras que en México el M-2, ha sido el responsable. La glomerulonefritis aguda se propone como enfermedad autoinmune, enfermedad por complejos inmunes. Las pruebas usadas para diagnosticar antecedentes de infecciones estreptocócicas son el título de antiestreptolisinas y el título de antihialuronidasa. (7,20,75).

La fiebre reumática (Artritis), es poliarticular y migratoria. El tipo M-12 se ha identificado como causante de la enfermedad. El factor reumatoide de las clases IgM e IgG muestran que forman complejos inmunes en suero y en fluido de conjunción por asociación misma o reacción con IgG nativa. Los complejos son capaces de fijar complemento, puede activar células fagocíticas y debe elucir inflamación erosiva en enfermedades en lesiones de conjunción y extracelular. Se diagnostica por título elevado de anticuerpo antiestreptocócico en el suero y por la presencia de proteína C reactiva (7,20,75).

Características morfológicas.

Los *Streptococcus pyogenes* son cocos pequeños 0.5 a 1 μ de diámetro, agrupados en cadenas o pares. Gram positivos, inmóviles, no esporulados, su formación de cápsula es variable. (11)

Características de cultivo.

Las colonias son puntiformes rodeadas de una zona de hemólisis (tipo beta) como resultado de la lisis de glóbulos rojos

y la liberación de hemoglobina. Temperatura óptima de 25 a 30°C. Es aerobio y anaerobio facultativo.

Características bioquímicas.

Son catalasa y oxidasa negativos. No reducen nitratos a nitritos, no forman indol, insolubles en bilis. Produce ácido orgánico a partir de glucosa, maltosa, lactosa, sacarosa, salicin, trealasa, pero no de inulina, rafinosa, arabinosa, glicina, manitol. Es sensible a bacitracina (diferencia a Streptococcus pyogenes de otros grupos beta hemolíticos). (11,52,62).

1.2.1.2. Streptococcus spp.

Los Streptococcus Grupo B ó (Streptococcus agalactiae) normalmente son organismos beta hemolíticos. Son miembros de la flora normal de las vías urinarias femeninas y en raras ocasiones llegan a causar faringitis, meningitis, endocarditis, neumonía, septicemias, sepsis neonatal y vaginitis. En infantes con sepsis existe depresión en los niveles de fibronectina. Hill mostró que la fibronectina aumenta la interacción de neutrófilos con Streptococcus grupo B tipo III. El serotipo III es aislado por la mayoría de los casos de meningitis, los serotipos Ia, Ib, Ic y II son importantes en casos de septicemias e infecciones focales en neonatos. La inmunidad de Streptococcus Grupo B parece ser mediada por fagocitosis dependiente de anticuerpos. (49,57,62,73,89).

Los Streptococcus del Grupo C son comúnmente beta hemolíticos y son responsables de una variedad de infecciones humanas. Hay cinco especies de este grupo: St. anginosus, St. equisimilis, St.

zoepidemicus, y el alfa hemolítico St. disgalactiae. Son encontrados normalmente en la faringe, vagina y piel. También se han aislado de heridas infectadas y de sepsis puerperal, celulitis, endocarditis y faringitis. La estreptolisina O es producida por este grupo. (11,62).

En los Streptococcus Grupo D se han aislado seis especies del tracto intestinal. La mayor parte de estos aislamientos son no hemolíticos, pero puede haber alfa o beta hemolíticos. Son comúnmente encontrados en pacientes con endocarditis, infecciones del tracto urinario, peritonitis y abscesos pélvicos. Debido a las especies enterococales (St. faecalis, St. faecium, St. durans y St. avium) a menudo responden a la terapia con penicilina, es importante diferenciar aislamientos de enterococos y no enterococos del Grupo D (St. bovis, St. equinos) que responden al tratamiento con penicilina. Los aislamientos de St. bovis se han encontrado en endocarditis bacteriana. (11,62).

Los Streptococcus del Grupo F (St. anginosus) son aislados de gargantas normales, vaginas y heces. Estos organismos tienen colonias puntiformes que producen áreas de hemólisis completa alrededor de las mismas. Se han aislado en pacientes con sinusitis, caries dental, meningitis, abscesos y neumonías. (11,62)

Los Streptococcus del Grupo G (St. canis) son beta hemolíticos, se han aislado en pacientes con faringitis,

generalmente de poca patogenicidad, al igual que los demás Grupos H,K-U. (11,62).

1.2.2 Streptococcus alfa hemolíticos.

1.2.2.1. Streptococcus viridans.

El Streptococcus del Grupo viridans es la causa más común de endocarditis bacterial. Las clases más aisladas son: St. morbillorum, St. salivaris, St. sanguis II, St. mutans, St. mitis, St. anginosus. Se caracterizan por su desarrollo en agar sangre, en cuyo medio las colonias están rodeadas de una zona verdosa de hemólisis parcial. Es constante su presencia en las vías respiratorias altas de personas sanas. Como resultado de un traumatismo puede llegar a flujo sanguíneo y son la principal causa de endocarditis infecciosa espontánea cuando se deposita sobre válvulas cardíacas normales. Los Streptococcus viridans producen un exopolisacárido (glucocalix) el cual correlaciona con la adherencia para dañar a la válvula cardíaca, además parece proteger a las bacterias de mecanismos de defensa del humano (leucocitos, anticuerpos y complemento). Los Streptococcus viridans además se encuentran en casos de meningitis e infecciones leves del oído, así como en amígdalas y abscesos dentales. (18,49)

1.2.2.2. Streptococcus pneumoniae.

El Streptococcus pneumoniae es alfa hemolítico y es parte de la flora normal de la faringe, 30-70% de la población. Invade los senos nasales o el oído medio, da lugar a meningitis, conjuntivitis purulenta, el neumococo se encuentra en el 85% de casos de neumonía lobular. Puede producir bronquitis, septicemia,

endocarditis, peritonitis, pericarditis, artritis, osteomielitis.
(11,49,57).

El neumococo se compone de un cuerpo celular y de una cápsula. Se han descrito tres tipos diferentes de antígenos somáticos: Antígeno R, poco conocido; la sustancia C que es un carbohidrato específico de especie, y una proteína tipospecífica Antígeno M que es inmunológicamente independiente de los polisacáridos capsulares tipospecíficos. La sustancia C estimula la producción de proteína C reactiva que puede ser detectada en ciertas enfermedades (fiebre reumática, neumonías, endocarditis). La proteína C es una proteína del suero que liga a polisacáridos de pared celular y activa al complemento. La infección neumococal es determinada por la ausencia de factores séricos de opsonización de neumococos para fagocitosis por polimorfonucleares y macrófagos alveolares en pulmón. Anticuerpos para fosforilcolina aparecen en respuesta a una infección neumococal por lo que se le asigna un papel protector a este constituyente de pared celular. Se considera que los anticuerpos anticapsulares proveen el mayor grado de protección contra la infección neumococal. Sujetos humanos vacunados con completo neumococo no viable de un serotipo los protegió contra infecciones para otros serotipos. Más de la mitad de los casos de neumonía lobular en adulto pertenecen a los tipos 1,2 y 3; en niños fue el tipo 14. La causa de otitis media en niños, en orden decreciente de frecuencia pertenecen a los tipos 19,23,6,14,3 y 18. El tipo 3 tiene el mayor porcentaje de mortalidad. (20,31,64,65).

Este organismo exhibe la usual variación lisa-rugosa, es virulento en la forma S y avirulento en la forma R. El cambio de S a R supone la pérdida de la cápsula y por lo tanto la pérdida de la tipospecificidad.

Entre las toxinas producidas por el Streptococcus pneumoniae están: Hemolisina, leucocidina, sustancia necrotizante y una sustancia purpurogénica.

Características morfológicas.

El Streptococcus pneumoniae es un coco Gram-positivo, se presenta en pares o en cadenas cortas, la forma típica son pares (Diplococcus), con los cocos en forma lanceolada y todos ellos están provistos de cápsula, tiene un diámetro de 0.5 a 1.25 μ . No móviles y no esporulados. (11,57).

Características de cultivo.

En placas de agar sangre producen colonias puntiformes rodeadas por una zona verdosa de hemólisis. Tienden a acumular peróxido de hidrógeno en el medio en el cual se cultivan lo cual afecta su viabilidad, además de poseer enzimas autolíticas. Es sensible al calor, la desecación y la luz solar. (11,20)

Características bioquímicas.

Son catalasa y oxidasa negativa, no reduce los nitratos, no forma indol, forma ácido orgánico pero no gas a partir de lactosa, sacarosa, glucosa. Pruebas diferenciales de los Streptococcus viridans: fermentación de la inulina, solubilidad en bilis, sensibilidad a etil hidrocupreína hidroclopírica (optoquina). (11,52,57,59)

1.3 Corynebacterium.

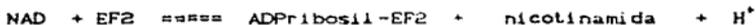
El género Corynebacterium o bacilo diftérico (Klebs y Loeffler, 1883) pertenece a la familia Corynebacteriaceae. Corynebacterium xerosi y Corynebacterium pseudodiphtheriae causan infecciones menores así como infecciones nosocomiales en pacientes comprometidos.

1.3.1 Corynebacterium diphtheriae.

Las cepas patógenas de Corynebacterium diphtheriae producen la difteria en el hombre, esta ocurre con mayor frecuencia en los niños. Los bacilos afectan la parte superior de las vías respiratorias especialmente la faringe donde forma una pseudomembrana grisácea o -falsa membrana- que ha veces se extiende por todo el árbol respiratorio, en cuyo caso el niño se pone cianótico y disnéico. Esta pseudomembrana se forma también en otras partes del cuerpo como la conjuntiva, la vulva, la vagina y en heridas, pero estos casos son raros. A la toxina producida por Corynebacterium diphtheriae se le atribuye las lesiones que ocurren en los riñones, los músculos del corazón y los nervios. El daño cardíaco y la parálisis son las secuelas más temibles de la difteria. El rango de casos fatales de 5-10% ha permanecido sin cambio, desde el uso extensivo de inmunización en 1920. Anderson y sus colaboradores británicos han descrito tres tipos de C. diphtheriae: gravis, intermedius y mitis. Las cepas gravis se distinguen por su mayor poder toxigénico, la facultad de fermentar el glucógeno y el almidón, su morfología difteroides corta en contraste con las formas más largas, con muchos gránulos metacromáticos, de mitis y las formas con barras transversales de

intermedius. (11,20,81).

Todas las cepas de C. diphtheriae produce una sola clase de exotoxina neutralizable por la misma antitoxina. La exotoxina es una proteína neutra con un peso molecular de 72,000. Como todas las exotoxinas es muy antigénica y se transforma en toxoide, con pérdida de su toxicidad, conservando su poder y especificidad antigénicos. La toxina diftérica es lisogénica (infectada por fago latente) para el profago B que es portador del gen mutante tox el cual tiene la información estructural de la toxina. La expresión de este gen es controlada por el estado metabólico y fisiológico de la bacteria huésped. La toxina se produce en grandes cantidades si la bacteria crece en un medio con escasa cantidad de hierro. La molécula intacta de la toxina diftérica carece de actividad enzimática; para su activación es necesario la reducción de uno de los puentes disulfuro, así como la hidrólisis de un enlace peptídico, manifestandose un fragmento A, el cual tiene la actividad transferasa 11-ADP-ribosilante, convirtiendo al contenido celular de el factor de traslocación en su derivado inactivo, esto es, un bloqueo de forma completa a la incorporación de aminoácidos por las células humanas .



Un fragmento B es producido también debido a la hidrólisis de la toxina, el cual es necesario para que el fragmento A alcance el citoplasma de las células humanas sensibles.(11,20)

Características morfológicas.

Bacilos pleomórficos Gram-positivos, las células varían considerablemente en forma y tamaño; algunos son curvados, suelen

teñirse en forma desigual, frecuentemente contienen gránulos metacromáticos que se disponen como cuerpos polares; las células se disponen en pares, o en formas angulares en L, V y en formas parecidas a los caracteres chinos. No poseen cápsulas, no esporulan, no móviles y no son acidorresistentes. Su tamaño es de 0.3 a 0.8 μ de grosor y de 1 a 8 μ de longitud con grandes variaciones. (11,57).

Características de cultivo.

En cultivo en agar sus colonias son granulosas, grises, convexas pequeñas con borde irregular. Aerobios y anaerobios facultativos, temperatura óptima 37°C.

Características bioquímicas.

Bacilos Gram-positivos, catalasa positivos y oxidasa negativo, forman ácido orgánico pero no gas a partir de glucosa y maltosa, reduce el nitrato a nitrito, licua la gelatina, son ureasa e indol negativos. (11,16,52,81).

1.3.2 Corynebacterium pseudodiphtheriae.

Este microorganismo es aislado por Hoffman en 1888, es más corto y más grueso que C. diphtheriae y es inócuo en el humano. No forma toxinas y no fermenta los azúcares, reduce los nitratos a nitritos, son ureasa positiva y no licuan la gelatina, H₂S negativo, VP negativo. (11,16).

1.3.3 Corynebacterium xerosis.

Generalmente considerado comenzal del saco conjuntival. Se han descrito en enfermedades como: endocarditis, neumonitis,

infecciones nosocomiales e infecciones cutaneas en huésped inmunocomprometido. Los organismos fermentan glucosa y sacarosa, pero no maltosa. Reduce nitratos, pero no licua la gelatina, ni hidrolisa urea. Muestra hemólisis alfa en agar sangre. (20,53,81).

1.4 Branhamella catarrhalis.

B. catarrhalis anteriormente conocida como Neisseria catarrhalis es aislada por Frosch y Kolle en 1896. Se aisló de la nasofaringe de personas sanas, así como de las que tienen inflamación catarral de las vías respiratorias superiores. Recientemente se han descrito en personas de edad avanzada, inmunosuprimidas y aquellos con una variedad de enfermedades pulmonares, fundamentalmente a B. catarrhalis como causante esporádico de meningitis, septicemia, endocarditis. Es causante del 6-9% de los casos de otitis media en niños y es frecuente en casos de sinusitis maxilar. También se han reportado casos de bronquitis, neumonía, conjuntivitis, artritis séptica. (11,22,43,44,85).

B. catarrhalis produce elastasa e histaminasa, como microorganismo Gram-negativo produce una endotoxina.

B. catarrhalis libera una quimiotaxina en su medio de crecimiento, secreciones teñidas de Gram revelaron cocos dentro de neutrófilos y macrófagos. El efecto bactericida es mediado a través de la vía clásica del complemento y se sugiere la producción de anticuerpos fijadores del complemento. Por eso se explica que pacientes con sistema inmunológico normal raramente tenga severas infecciones con B. catarrhalis. (13,38,87).

Características morfológicas.

Tiene características morfológicas similares a Neisseria meningitidis. Se presenta en pares de cocos Gram-negativos aplanados en sus lados adyacentes, dando los pares el aspecto de granos de café. Tienen un diámetro de 0.8 a 1 μ , inmóvil, no esporulado y por lo común no capsulado.

Características de cultivo.

En agar sangre las colonias son pequeñas, delicadas que no hemolisan la sangre. Temperatura óptima de 37°C, aerobio y anaerobio facultativo, se desarrolla a temperaturas inferiores a 20°C, es más resistente a la desecación y al calor.

Características bioquímicas.

Son catalasa y oxidasa positivas, producen DNasa y no fermentan los carbohidratos, reduce los nitratos a nitritos. (11,52, 85).

1.5 Klebsiella pneumoniae

Klebsiella pneumoniae (bacilo de Friedländer) pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Fue aislada por Friedländer. Se encuentran en las vías respiratorias y en las heces de un 5 a un 10% de individuos sanos. Es causante de un 3% de neumonías bacterianas agudas. También se ha encontrado como causa de otitis media, empiema, pericarditis, meningitis y septicemia, y se encuentra con frecuencia relacionado con la bronquitis aguda crónica. Es algunas veces la causa de abscesos en el aparato respiratorio, de supuración de los senos. (11,20).

K. pneumoniae como el neumococo, es virulento en la forma S

y avirulento en la forma R que no posee cápsula y no puede formar el antígeno capsular específico. Sus propiedades invasoras igual que el neumococo deriva de la capacidad antifagocítica de su cápsula. Se ha identificado en estos microorganismos 5 antígenos somáticos (O) y 14 antígenos capsulares (K), que son polisacáridos. La cápsula de K. pneumoniae contiene un polisacárido tipo específico, por el cual, mediante la hinchazón de la cápsula por la acción de antiseros específicos (Reacción de Neufeld) se determina el tipo a que pertenece. Infecciones nosocomiales han reportado ser causadas por el serotipo 19 de K. pneumoniae debido a la resistencia a gentamicina y la acción de plásmidos. (20,48,60).

Características morfológicas.

Son bastones gruesos, cortos, con cápsula. Gram-negativos. Se encuentran aislados o en pares extremo a extremo, con diámetro de 0.5 a 0.8 μ por 1 a 5 μ , es inmóvil y no esporulado.

Características de cultivo.

En cultivo en agar las colonias son blanco-grisáceas, translúcidas, mucosas, redondas, de borde entero. Temperatura óptima de 37°C, aerobio y anaerobio facultativo, es lábil a la luz solar y a la temperatura (a 55°C muere en 30 minutos).

Características bioquímicas.

Son catalasa positiva; oxidasa negativa. Produce ácido orgánico y gas a partir de glucosa, sacarosa, lactosa, pero no en maltosa, inulina, manitol, arabinosa y ductiol. Reduce nitratos a nitritos. citrato positivo, ureasa positiva, H₂S negativo, malonato positivo, no produce indol, VP negativa, MR positiva, no hidrolisa

la gelatina, ornitina descarboxilasa negativa. (11,16,52)

1.6 Haemophilus influenzae.

El Haemophilus influenzae (Bacilo de Pfeiffer) fue aislado por Pfeiffer en 1892. Son habitantes normales del tracto respiratorio superior del hombre mediante pruebas de precipitación se han identificado seis tipos de Haemophilus influenzae, designados a,b,c,d,e y f. H. influenzae tipo b es el responsable del más del 95% de las infecciones causadas por Haemophilus spp. en niños de edades comprendidas entre los 8 meses y 3 años, por lo que es considerado potencialmente patógeno, sin embargo en adultos se considera como flora normal. La infección comprende meningitis, epiglottitis, celulitis, bronquitis crónica, conjuntivitis, pericarditis, infección obstructiva laringotraqueal, faringitis, sinusitis, neumonía y otitis media. Algunas veces también causan endocarditis bacteriana y artritis séptica. La mayoría de cepas causantes de otitis media, sinusitis, conjuntivitis, bronquitis crónica, son H. influenzae no tipificables (no poseen cápsula). Cepas capsuladas a,c,d,e y f normalmente no son patógenas. (3,11,45,57,76,82).

H. influenza tipo b capsulado es el principal causante de la meningitis (95% de casos), atacando las células epiteliales nasofaríngeas no ciliadas e invade directamente la superficie epitelial por penetración pasiva en o entre las células epiteliales. El transporte también puede ser llevado por macrófagos. A semejanza de los neumococos, los antígenos de H. influenzae que despiertan la formación de anticuerpos protectores

son sus carbohidratos capsulares. Los carbohidratos específicos de los tipos a, b y c son fosfopolisacáridos y el tipo b es un polirribosafosfato. Estos anticuerpos tienen actividad opsonica y bactericida. Se sugiere que la respuesta inmunitaria a otros componentes de la pared celular como lipopolisacáridos (LPS) o proteínas de la membrana externa pueden ser igualmente importantes. Anticuerpos anticapsulares tienen acción protectora. La especificidad inmunológica se demuestra por las pruebas de aglutinación, precipitación e hinchazón de la cápsula realizada con antisueros específicos. La virulencia depende de la formación de cápsulas antifagocíticas, no produce exotoxinas, y su endotoxina no tiene un papel importante. El contacto familiar de H. influenzae tipo b en su enfermedad fue encontrado ser un alto riesgo de desarrollo de la infección. La vía de transmisión es a través de gotitas de saliva. (3,20,34,63).

Características morfológicas.

Son bacilos Gram negativos, a menudo cocobacilos; también es común la formación de filamentos y la aparición de pleomorfismos. Su tamaño es de 0.2 a 0.5 por 0.3 a 2 μ inmóviles y no esporulados. En muchas cepas se presentan cápsulas.

Características de cultivo.

En agar sangre a las 24 hr, forman colonias transparentes a manera de gotitas. Las colonias lisas que son hemolíticas deben ser diferenciadas de las colonias de *Streptococcus beta hemolíticos*. La presencia de organismos capsulados da a las colonias entre 4 y 8 hr una iridiscencia característica cuando se examinan oblicuamente respecto a la dirección de la luz que incide

sobre ellas. Después de 24 hr de incubación desaparecen las cápsulas y la iridiscencia. La autólisis y la destrucción capsular son consecuencia de la acción de las enzimas endógenas. Para su crecimiento requieren de medios de enriquecimiento que contengan el factor V (NAD, denominado nicotin adenin dinucleótido y el factor X, una protoporfirina, la cual se obtiene de los pigmentos hemáticos. Estos elementos además sirven para definir el género y especie de *Haemophilus*. Ambos factores se encuentran en sangre total. El factor X es termoestable y reemplazable por la hemoglobina o hemeína. El factor V, es termolábil, se extrae de levaduras, algunas otras células vegetales y muchas bacterias, en particular de determinadas cepas de *Staphylococcus*. El factor V se puede reemplazar por NAD (DPN) NADP (TPN), o nicotinamid nucleósido. *H. influenzae* requiere los factores X y V para su crecimiento aerobio incluso después de haber sido resembrado repetidas veces. En condiciones anaeróbicas no requiere el factor X. (3,20).

H. influenzae cuando se desarrolla junto con cultivos de *Staphylococcus* y otras bacterias, forman colonias más grandes en las cercanías de las colonias de otras bacterias que las más apartadas. A esto se le llama desarrollo satélite. Son aerobios y anaerobios facultativos con temperatura óptima de 37°C, mueren a la exposición al calor y a la desecación. (3)

Características bioquímicas.

Son catalasa positiva; oxidasa positiva. Del 40 al 50% de cepas producen indol, reduce los nitratos a nitritos. Algunas cepas atacan los carbohidratos, pero no fermentan el manitol ni la

lactosa. ureasa positiva, H₂S negativa. (11,52,57).

1.7 Bordetella pertussis.

Bordetella pertussis (Bacillus pertussis). Pertenece a la familia Brucelácea fue aislada por Bordet Gengou en 1906. Es el agente etiológico de la tosferina en las vías respiratorias. La tosferina ocurre con mayor frecuencia antes de los 5 años de edad y la mortalidad es mayor en los niños menores de un año, siendo de curso más grave en los lactantes mal nutridos. La tosferina o tos jadeante es una infección no invasiva del epitelio respiratorio ciliado que envuelve la adherencia específica de Bordetella pertussis a los cilios, así como su replicación. Después de un periodo de incubación de 10 días se inicia la fase catarral de comienzo insidioso, con tos irritativa seca que gradualmente se vuelve paroxística en una o dos semanas y que dura de uno a dos meses. Los paroxismos se caracterizan por accesos repetidos de tos violenta espasmódica, seguida de un estridor o hipido respiratorio, de tono alto, que termina frecuentemente con vómito y la expulsión de mucosidades claras y adherentes. (10,84).

Se han identificado formas virulentas y avirulentas de B. pertussis, así como tipo liso, rugoso o intermedio. Por medio de reacciones serológicas se han reconocido cuatro fases: I,II,III,IV. Los organismos aislados de pacientes con tosferina son por lo común de la fase I. Después del cultivo artificial los microorganismos pierden sus propiedades virulentas y entran en la fase II,III, y IV, que probablemente representan etapas en la transición lisa-rugosa. Sólo los organismos virulentos en la fase

I son capaces de estimular la formación de anticuerpos protectores en el hombre.

Factores implicados en la patogenicidad de Bordetella pertussis.

1. Factor promotor de la linfocitosis (FPL) o pertusigen (toxina pertussis) es una proteína globular de 117.000 dal. Está formado por 5 péptidos llamados S-1, S-2, S-3, S-4 y S-5; dos subunidades S-4 más una de S-2, S-3 y S-5 respectivamente, se combinan para formar un pentámero llamado oligómero-beta de unión. El FPL nativo está constituido por la combinación del protómero A (unidad S-1) y del oligómero beta; se sabe que el fragmento A es una ADP-ribosil-transferasa. La fracción beta sólo interviene en la unión de la toxina a la membrana celular; es pues un agente mitógeno y tiene una actividad de hemaglutinación baja, además de otros efectos biológicos: Estimulación a la secreción de insulina, leucocitosis y linfocitosis, sensibilidad aumentada a la histamina y el choque anafiláctico aumenta la permeabilidad vascular. Además tiene actividad de adhesina bacteriana y a cilios, al igual que la hemaglutinina filamentosas son moléculas bifuncionales con receptores en bacterias y cilios, y sus anticuerpos (IgG e IgA) para fitohemaglutininas y toxina pertussis tienen actividad antiadherente en la convalecencia. (23,68,79).

2. Hemaglutinina filamentosas (HFA). Es un polipéptido alargado con peso molecular de 130.000 dal., cuya actividad hemaglutinante se inhibe por el colesterol; esta sustancia se ha relacionado con procesos de adherencia de la bacteria a

los cilios (colonización) y es uno de los antígenos protectores. (23,58,79)

3. La adenilatociclasa (AdCi) aislada del sobrenadante de los cultivos, es una proteína monomérica de 70,000 dal. Esta puede entrar a las células fagocíticas, catalizando la formación de cAMP. interviniendo así con la fagocitosis. (10,58)
4. Los aglutinógenos (AgT) del 1 al 8, se les encuentra en algunas cepas de B. pertussis; algunos autores piensan que estos antígenos son protectores.
5. La toxina termolábil (TTL) o dermonecrotica se inactiva a 56°C por 10-15 minutos, es inmunogénica cuando se inactiva con formaldehído.
6. La citotoxina traqueal (CTT) es un glicopéptido pequeño, puede causar inhibición de la síntesis del ADN, se ha sugerido que se encuentra presente en la pared celular bacteriana.
7. El lipopolisacárido (LPS) o endotoxina de la pared celular, es un pirógeno capaz de activar el complemento. (48,49).

Características morfológicas.

Bastones pequeños, ovoides Gram-negativos, aislados y a veces en pares; en los exudados aparecen en masas y acúmulos, con tamaño de 0.2 a 0.3 μ de grosor y 0.5 μ de largo, inmóvil y no esporulado.

Características de cultivo.

En agar-sangre-glicerina (medio de Bordet-Gengou) sus colonias son apenas visibles al cabo de 24 hr, después de 48 a 72

hr se hacen visibles y son pequeñas, grisáceas brillantes y bastante compactas. En agar sangre produce hemólisis y las colonias son también pequeñas, transparentes y con borde continuo. su temperatura óptima es de 37°C, pero se desarrolla entre 5 y 10°C, aerobio estricto, lábil al calor, la desecación y la luz solar.

Características bioquímicas.

Son catalasa positiva; oxidasa positiva. No reduce los nitratos a nitritos, producen indol, no fermenta los carbohidratos. (10,11,52).

1.8 Mycobacterium tuberculosis.

Mycobacterium tuberculosis variación hominis (bacilo tuberculoso). Pertenece a la familia Mycobacteriaceae. Roberto Koch aisló por primera vez al bacilo de la tuberculosis en 1882. Causa la tuberculosis en el hombre. En México la tasa de tuberculosis infantil es de 5 por 100,000 habitantes. Hay dos formas de tuberculosis, la pulmonar y la no pulmonar. La pulmonar es más frecuente, siendo la causa del 90% de las muertes por tuberculosis en Estados Unidos. El 10% restante de fallecimientos obedece a la localización de la enfermedad en otras partes del cuerpo, las llamadas tuberculosis no pulmonares o extrapulmonares. La forma pulmonar es debido a la variedad humana del microorganismo, mientras que las tuberculosis no pulmonares, son causadas con frecuencia por el tipo bovino.

Tuberculosis pulmonar. El bacilo crece en los macrófagos y extracelularmente. Este tipo de infección suele iniciarse en el

vértice del pulmón (denominado tubérculo) y a medida que la enfermedad progresa, se forman cavidades tanto en el ápice como en otras partes del órgano.

Tuberculosis no pulmonar. Entre las formas no pulmonares del padecimiento, cabe incluir la tuberculosis articular y la adenitis cervical (escrófula). La Tuberculosis miliar (tuberculosis generalizada aguda). Los niños son más frecuentemente víctimas de meningitis tuberculosa, puede también observarse infección tuberculosa de los riñones o en las glándulas suprarrenales (Enfermedad de Addison). (20,36,83).

Un paso importante es diferenciar entre infección y enfermedad. En el primer caso la persona tiene la bacteria en algún lugar de los pulmones pero es asintomática, la radiografía de tórax es normal, pero la prueba de tuberculina es positiva. En cambio en el segundo caso, el sujeto tiene síntomas, la radiografía es positiva, y con frecuencia el esputo también lo es.

La tuberculosis pulmonar del adulto es bacilífera, por lo cual su diagnóstico es bacteriológico. En cambio, en el niño sucede lo contrario por lo que su confirmación es difícil. Por esta razón los criterios diagnósticos son: 1) cuadro clínico sugestivo; 2) prueba positiva a la tuberculina, sin BCG previa; 3) antecedentes de contacto; 4) radiografía sospechosa, y 5) biopsia positiva. El cultivo del jugo gástrico u otro material confirman el diagnóstico.

El cuadro clínico no es específico. La mitad de los niños con tuberculosis pulmonar son asintomáticos y se descubren por ser contactos de adulto bacilífero. La sospecha se basa en la

existencia de febrícula, anorexia, tos, pérdida de peso, palidez y síndrome respiratorio sintomático de más de tres semanas. Manifestaciones muy sugestivas son: linfadenitis crónica, meningitis de comienzo insidioso, giba del mal de Pott, granuloma cutáneo, eritema nudoso y conjuntivitis. (83).

Las cepas virulentas del microorganismo crecen como colonias R; las avirulentas, a veces en forma S, se desarrollan más fácilmente. Los productos tóxicos que producen estos microorganismos son las tuberculinas, causando inflamación local por necrosis. Un factor fundamental para pronosticar la tuberculosis pulmonar es la reactividad de los linfocitos a antígenos del bacilo tuberculoso. Los linfocitos liberan linfocinas tales como γ -interferon, el cual activa macrófagos para matar organismos intracelulares e inhibir el crecimiento micobacterial. Alternativamente deben matar células blanco infectadas por un mecanismo de citotoxicidad. La inmunidad mediada por células en general y linfocitos (T) dependientes del timo en número y funciones, en particular parece ser predecible y profundamente alterada en huéspedes malnutridos. Una tuberculosis severa precede la característica de infección oportunista de AIDS, quizá por que el M. tuberculosis es un patógeno virulento que causa infecciones cuando la inmunodeficiencia es menos avanzada. La prueba más prominente para el diagnóstico temprano son las técnicas inmunológicas in vitro: RIA para anticuerpo en CSF (fluido cerebroespinal) y ELISA para antígeno. (5,6,50,61,83).

Características morfológicas.

Presenta forma de bacilos arrosariados delgados, con

gránulos. Se observan las bacterias en pequeños grupos, pero nunca en cadenas, en cultivos viejos se encuentran formas filamentosas y arborizadas. Su tamaño es de 0.3 a 0.6 μ por 1.5 a 4 μ . Se tifen bien por los métodos de Ziehl-Neelsen, son Gram-positivos, inmóviles, no esporulados. Una envoltura grasosa envuelve al microorganismo.

Características de cultivo.

Los microorganismos tuberculosos se desarrollan muy lentamente en los cultivos, siendo a veces necesario que transcurran varias semanas para obtener crecimiento máximo en los medios más favorables. Estos gérmenes son aerobios y prefieren temperaturas de 37°C. El medio de Löwestein-Jensen, considerado como el mejor para el aislamiento del bacilo tuberculoso, muestra cepas humanas de color blanco, pero pueden tornarse amarillas o anaranjadas en cultivos viejos. El calor húmedo a 60°C mata a los bacilos en 15 o 20 minutos. En el esputo desecado llegan a sobrevivir algunos meses. La luz solar directa los mata en pocas horas.

Características bioquímicas.

La identificación bioquímica es muy larga y requiere de reactivos y material distinto del que se utiliza para el estudio de otros grupos de bacterias, entre ellas están: Catalasa positiva, pierde la actividad catalásica después de calentar a 68°C. Prueba de niacina positiva, reducción de nitratos positivos. Prueba de la amidasa (nicotinamidasas) positiva. Reducción del telurito negativa. Arilsulfatasa negativa. Normalmente sensible a la estreptomycin, a el ácido p-aminosalicílico y a la isoniacida. (52,57).

1.0 Generalidades sobre los antibióticos más comunes

1.0.1 Clasificación de antibióticos

La clasificación de los 12 antibióticos utilizada en el estudio se presenta a continuación:

- I) Aminoglucósidos: Estreptomina, Kanamicina, Gentamicina.
- II) Tetraciclinas.
- III) Macrólidos: Eritromicina.
- IV) Licomicinas (Se parecen a las eritromicinas en su modo de acción y espectro antibacteriano, pero son químicamente distintos).
- V) Penicilinas.
 - a) Grupo penicilinas sensible: Penicilina G;
 - b) Grupo penicilinas resistente: Cloxacilina;
 - c) Grupo de amplio espectro: Ampicilina.
- VI) Cefalosporinas: Cefalotina, Cefotaxima.
- VII) Trimetoprim-Sulfametoxazol.(57).

1.0.2. Mecanismo de acción de antibióticos

El mecanismo de acción de las drogas antimicrobianas en este estudio son:

- I) Inhibición del crecimiento mediante análogos de metabolitos esenciales: El trimetoprim (una diaminotrimetoxibencilpirimidina) inhibe a la reductasa del ácido dihidrofólico de las bacterias. Estas enzimas convierten al ácido dihidrofólico a tetrahidrofólico, una secuencia en la sucesión que conduce a la síntesis de purinas y de DNA. Las sulfonamidas y la trimetoprima

producen un bloqueo concatenado que tiene como resultado un aumento acentuado de la actividad.

II) Inhibición de la síntesis de pared celular. Las penicilinas y las cefalosporinas inhiben la actividad de las enzimas -transpeptidasas- (bloqueo del eslabonamiento entrecruzados de los glucopeptidos lineales del péptidoglucano). La susceptibilidad esta en parte determinada por enzimas que destruyen a la penicilina (lactamasa beta). Ciertas penicilinas (por ej. metecilina, cloxacilina, tienen afinidad por la lactamasa beta, captan la enzima y no son hidrolizadas por las enzimas, protegiendo las penicilinas hidrolizables que se hallen presentes (ej. ampicilina).

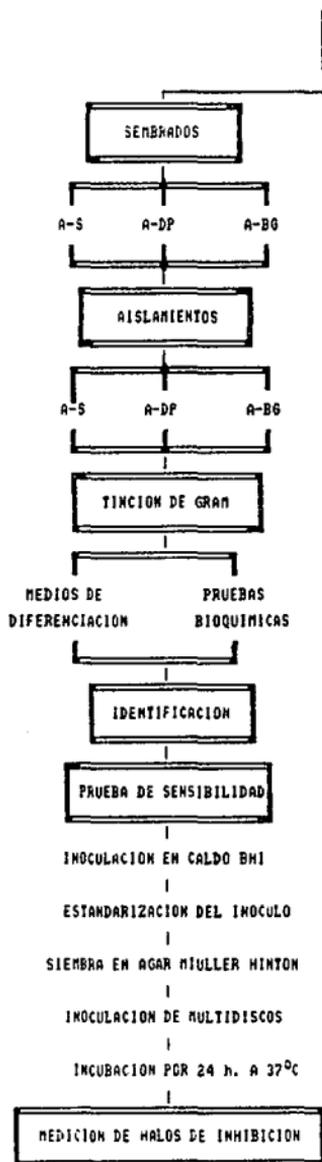
III) Inhibición de la síntesis de proteínas. Las tetraciclinas se ligan a la subunidad 30S de los ribosomas bacterianos. Inhiben la síntesis proteica al bloquear el enlace del aminoacil-RNA de transferencia (RNAt) a la subunidad 30S. Las tetraciclinas son bacteriostáticas para muchas bacterias y su acción es reversible al suprimir la administración del medicamento. Los microorganismos resistentes a las tetraciclinas poseen -permeabilidad alterada- para el medicamento o declinan para concentrar el medicamento existente en el medio. A veces la resistencia a las tetraciclinas se encuentra bajo control genético de un plasmidio transferible mediante conjugación, a veces se encuentra bajo control cromosómico. Los macrólidos (eritromicina) se ligan a la subunidad 50S de los ribosomas bacterianos compitiendo probablemente a los aminoácidos

(inhibición competitiva) por los sitios de enlace ribosómico (bloqueo de las reacciones de translocación aminoacilicas). Los microorganismos resistentes a la eritromicina tienen proteínas alteradas que se encuentran bajo control cromosómico sobre la subunidad ribosómica 50S. Las lincomicinas se eslabonan a la subunidad 50S de los ribosomas bacterianos, el sitio de fijación es similar o es el mismo que el sitio de fijación para los macrólidos (afecta la iniciación de la cadena peptídica). Los microorganismos resistentes a las lincomicinas tienen una proteína modificada sobre la subunidad ribosómica 50S. Los aminoglucósidos; Cada aminoglucósido se eslabona a una proteína superficial de la subunidad 30S del ribosoma bacteriano. Ahí el aminoglucósido distorsiona -la región de reconocimiento- del ribosoma y causante de una lectura equivocada del mensaje del RNAm. Esto origina la inserción de aminoácidos indebidos en la cadena peptídica y la síntesis de proteínas afuncionales. La resistencia a los aminoglucósidos manifestada por algunos microorganismos es debida a la producción de enzimas adenilantes, fosforilantes o acetilantes que destruyen el medicamento. El control genético de estas enzimas radica en un plasmidio transmisible. Otros microorganismos son resistentes debido a una proteína faltante o alterada de la subunidad 30S del ribosoma que no permite que se incerte el medicamento. La proteína receptora se encuentra bajo control cromosómico. (49).

3.0 OBJETIVOS

- Aislar e identificar las bacterias presentes en el tracto respiratorio superior de una población preescolar (1 a 5 años de edad).
- Señalar la importancia de las bacterias encontradas con mayor frecuencia en dicha población.
- Determinar el grado de resistencia de las bacterias aisladas a los antibióticos.
- Establecer la frecuencia de sensibilidad ó resistencia que presentaron las cepas probadas.

PLAN DE TRABAJO



A-S: Medio de Agar-Sangre.
 A-DP: Agar Dextrosa-Proteasa.
 A-BG: Agar Bordet-Gengou.
 ZN: Tinción de Ziehl-Neelsen.

4.0. MATERIAL Y METODOS.

4.1 Metodología.

4.1.1 Toma de muestra.

Se muestrearon 30 niños de 1 a 5 años de un colegio para preescolares. Las muestras fueron tomadas con hisópos para exudados faríngeos cada tres meses, haciendo un total de cuatro muestreos.

Las muestras se transportaron en medio Stuart al Laboratorio de Bacteriología de la unidad de Posgrado de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (Campo 1). (62)

4.1.2 Tinciones y aislamientos.

A cada una de las muestras tomadas, se les realizó un frotis con tinción Gram y otro con tinción Ziehl-Neelsen.

Las muestras se inocularon con el hisópo y se sembraron por la técnica de dilución con asa bacteriológica en tres medios de cultivo: Agar sangre, agar dextrosa-proteasa y agar Bordet-Gengou. En agar sangre en la segunda dilución se inoculó una estria de Staphylococcus aureus como nodriza para el posible aislamiento de Haemophilus spp. y se suplementó con atmósfera de CO₂, dada por el sistema de baja tensión de oxígeno, empleando una vela encendida en una campana de anaerobiosis. El agar dextrosa-proteasa se incubó en condiciones aeróbicas para el fácil crecimiento del género Corynebacterium. El agar Bordet-Gengou, se suplementó con antibiótico (penicilina G procaínica) y condiciones aeróbicas para diferenciar el género Bordetella. Todos fueron incubados a una temperatura de 37°C por 24 hr. (17,20,57)

Se aislaron las diferentes colonias en sus respectivos medios en base a: tamaño, consistencia, borde y presencia de hemólisis. Luego se incubaron 24 hr a 37°C. En el caso del medio Bordet-Gengou se dejaron crecer hasta 72 hr.

4.1.3 Identificación.

Después del aislamiento se procedió a realizar una tinción Gram y pruebas bioquímicas a cada una de las bacterias aisladas para su identificación.

4.1.3.1 Pruebas bioquímicas realizadas.

Las pruebas primarias son la base de la identificación bacterial: Tipo de hemólisis (α, β, γ); observación morfológica (por microscopio compuesto) y macroscópica (colonias). Prueba de la catalasa; oxidasa, OF y motilidad.

La llave para la identificación bioquímica de las bacterias aisladas fueron:

Para el género *Streptococcus* las pruebas diferenciales con sensidiscos de bacitracina y optoquina son consideradas las más manejables en el laboratorio para las especies más patógenas.

Prueba de bacitracina. La prueba de bacitracina se basa en el principio de que *Streptococcus* beta hemolítico Grupo A son sensibles a discos que contienen 0.04 unidades de bacitracina. La prueba sólo es designada para cepas beta hemolíticas. Alguna zona de inhibición alrededor del disco es considerada como una prueba positiva.

Método:

- Con una pinza pasada por la flama, retirar un disco de bacitracina y aplicarlo al centro de la placa de agar sangre previamente inoculada.
- Aplicar una suave presión al disco para que se adhiera a la superficie de la placa, sin hundirlo en el medio.
- Se incuba a 37°C por 24 hr.
- Se mide halo de inhibición. (9,62)

Prueba de la optoquina. La prueba del disco de optoquina (etil hidrocupreína hidrociónica), es utilizado para diferenciar St. pneumoniae que es sensible a la optoquina de otros Streptococcus alfa hemolíticos o del tipo viridans que son resistentes a la optoquina. La concentración óptima del clorhidrato de etilhidrocupreína para el St. pneumoniae es una dilución acuosa de 1:4000. Alguna zona de inhibición alrededor del disco es considerada como una prueba positiva.

Método:

- Tres o cuatro colonias alfa hemolíticas son estriadas en un cuadrante de agar sangre.
- Un disco de optoquina es puesto en el centro de el area estriada.
- Se incuba a 37°C por 24 hr.
- Se observa el halo de inhibición. (15,18)

Para el género *Staphylococcus* las pruebas diferenciales de especie fueron: La prueba de la coagulasa, manitol, gelatina y urea. (16).

Prueba de la coagulasa. La prueba de la coagulasa se utiliza de manera específica en la diferenciación de especies pertenecientes al género *Staphylococcus*: *S. aureus* (que por lo común tiene reacción positiva) del *S. epidermidis* (con reacción negativa). La coagulasa (enzima producida por *S. aureus*) tiene la propiedad de coagular el plasma. La coagulasa actúa sobre algún componente que se encuentra en el plasma para producir un coágulo o trombo.

bacteria
Plasma ----- coágulo de fibrina
coagulasa

Se sabe que el mecanismo normal de la coagulación es:

Protrombina
| ---- enzima trombocinasa
Trombina
|
Fibrinógeno ----- fibrina (coágulo o trombo)

Método:

- Colocar 0.5 ml de plasma humano en un tubo estéril.
- Añadir 0.5 ml de un cultivo en caldo puro de 24 hr o inocular con el asa una buena cantidad de un cultivo puro
- Hacer girar el tubo suavemente para lograr la suspensión del organismo.

- Incubar a 37°C en baño Maria por 4 hr.
- Cualquier grado de coagulación se considera positivo si al rotar el tubo el cuáguilo permanece. (59)

Para el género *Branhamella* las pruebas diferenciales son: glucosa, maltosa, lactosa, nitratos, urea, citratos, indol y H₂S.

Para el género *Corynebacterium* las pruebas diferenciales son: glucosa, maltosa, lactosa, nitratos, urea, gelatina, citratos, indol, H₂S.

Para el género *Klebsiella* las pruebas diferenciales son: Nitratos, ornitina descarboxilasa, MR, VP, urea, gelatina, malonato, citrato, H₂S, indol.

4.1.4 Sensibilidad bacteriana.

4.1.4.1. Prueba de sensibilidad a los antibióticos.

La prueba de difusión en disco, recomendada por la FDA es una ligera modificación del método descrito por Bauer, Kirby, Sherris y Turck. Esta prueba se fundamenta en que al colocar un disco impregnado con determinada cantidad de antimicrobiano, sobre un medio sólido inoculado con bacterias, el antimicrobiano difundirá, formándose un gradiente de concentración el cual inhibirá o permitirá el crecimiento de la bacteria.

Método:

- Inoculación. Tomar 4 o 5 colonias e inocular en caldo BHI. Incubar a 37°C hasta que aparezca una turbidez ligera.
- Estandarización. La suspensión inoculada se ajusta nefelométricamente con el estándar 0.5 de Mac-Farland.

- Inocular en agar Mueller-Hinton. Para inocular el agar se utiliza un hisopo estéril de algodón, el cual se humedece con la suspensión, se estría en tres direcciones y se efectúa un último barrido sobre el reborde de la caja.
- Inoculación de multidiscos. Los discos se toman con pinzas estériles y se colocan en el medio, debiendo presionarse ligeramente para asegurar su contacto con la superficie. Se incuba a 37°C por 24 hr..
- Medición de los halos de inhibición. La medición se hace con vernier o regla, por el fondo de la caja la cual se ilumina con luz reflejada. Cuando se utiliza medio adicionado con sangre, la lectura se efectúa sobre la superficie del agar.
- Los diámetros de zona para los antibióticos se correlacionan con la tabla estandarizada en las categorías de sensible, intermedio o resistente. La interpretación para los antibióticos en estudio se muestra en el cuadro 1, y esta es recomendada por la FDA (Food and Drug Administration). (57).

4.1.4.2. Técnicas de control de calidad.

Para controlar la precisión y exactitud de las pruebas de difusión se ha designado como organismo control estándares las cepas -Seattle- de S. aureus (ATCC 25923). La interpretación se hace conforme al diámetro de zona mostrado en el cuadro 2, y establecido por la FDA. El cual nos puede indicar fuentes de error técnicos como: El inóculo sea escaso, inóculo excesivo, deterioro de discos o pH incorrecto. (57).

4.2.3 Análisis estadístico.

Para el análisis estadístico se utilizó la distribución χ^2 por tablas de contingencia. Cuando se acepta la hipótesis nula estamos hablando de eventos independientes y cuando se rechaza la hipótesis nula estamos hablando de eventos dependientes.

CUADRO 1

ESTANDARES DE DIAMETRO DE ZONA Y CMI RELACIONADAS

Antibióticos	Contenido de disco	Diámetro zona (aproximado al mm)			CMI relacionado aproximado	
		Resistente	Intermedio	Sensible	Resistente	Sensible
Ampicilina cuando se prueban						
Enterococos y organismos entericos gramnegativos	10 µg	< 11	12-13	> 14	32 µg/ml	< 8 µg/ml
Estafilococos y microorganismos sensibles a la penicilina G	10 µg	< 20	21-28	> 29	2 µg/ml	< 0.2 µg/ml
Cefalotina	30 µg	< 14	15-17	> 18	32 µg/ml	< 10 µg/ml
	2 µg	< 14	15-16	> 17	2 µg/ml	< 1 µg/ml
Clindamicina	15 µg	< 13	14-17	> 18	8 µg/ml	< 8 µg/ml
Eritromicina	10 µg	< 12		> 13	6 µg/ml	< 6 µg/ml
Gentamicina	30 µg	< 13	14-17	> 18	25 µg/ml	< 6 µg/ml
Kanamicina						
Penicilina G cuando se prueban estafilococos	10 U	< 20	21-28	> 29	Penicilinas	< 0.1 µg/ml
Otros microorganismos	10 U	< 11	12-21	> 22		32 µg/ml
Estreptomicina	10 µg	< 11	12-14	> 15	15 µg/ml	< 6 µg/ml
Tetraciclina	30 µg	< 14	15-18	> 19	12 µg/ml	< 4 µg/ml
Sulfamida-trimetoprim	25 µg	< 18	11-15	> 16	200 µg/ml	< 35 µg/ml
Cefotaxima	30 µg	< 14	15-22	> 23		
Cloxacilina	1 µg	< 18	11-12	> 13		

CUADRO 2

MEDIA E INTERVALO DE DIAMETRO DE ZONA CON ORGANISMOS CONTROL ESTANDAR

Agente antimicrobiano	S. aureus (ATCC 25923)		
	Media	Limites de zona	Maxima DE
Penicilina G	31.5	26-37	2.9
Ampicilina	29.5	24-35	2.9
Cefalotina	31	25-37	1.3
Tetraciclina	23.5	19-28	1.6
Eritromicina	26	22-30	1.6
Lincomicina	26	23-29	1.6
Manamicina	22.5	19-26	1.6
Estreptomicina	18	14-22	1.3
Gentamicina	23	19-27	1.3

5.0 RESULTADOS.

Durante el estudio que comprendió cuatro muestreos durante un año, (del 28 de octubre de 1989 al 18 de octubre de 1990) se aislaron e identificaron en forma no serológica a las bacterias encontradas y se ordenaron en diferentes agrupaciones para su estudio estadístico, estas fueron: 1) Por año de edad de los escolares (1,2,3,4 y 5 años); 2) Por grado escolar (Maternal, Primero de kinder, Segundo de kinder y Preprimaria); 3) Por época del año, incluyendo las estaciones de Otoño, Invierno, Primavera y se repitió un muestreo en la estación de Otoño. (Esta estación del año se repitió por el cambio de ciclo escolar, en el cual, el verano fue de descanso escolar).

Con respecto a los antibiogramas, estos fueron realizados para cada bacteria identificada y sólo se comprendieron los multidiscos Gram positivos debido a que las bacterias aisladas fueron en su gran mayoría Gram-positivos. Para ver el efecto antimicrobiano se realizaron los siguientes estudios estadísticos: 1) Homogeneidad de la resistencia y de la sensibilidad para antibióticos que actúan a nivel de pared celular y a nivel de síntesis proteica. 2) Resistencia y sensibilidad específica para un solo antibiótico que actúa a nivel de pared celular y a nivel de síntesis proteica. 3) Resistencia y Sensibilidad no específica a los antibióticos en estudio.

5.1. Distribución de las bacterias aisladas.

Estos datos se muestran en el cuadro 3 y en la fig 1. Se observó el aislamiento de siete bacterias identificadas como

Gram-positivas y dos bacterias del tipo Gram negativo. Las bacterias Gram-positivas tuvieron un porcentaje de aislamiento más alto que las bacterias Gram-negativas. Los porcentaje de aislamientos para las bacterias Gram-positivas fueron: *Streptococcus* beta hemolíticos (35.15%), *Streptococcus* alfa hemolíticos (28.48%), *Streptococcus pyogenes* (15.76%), *Staphylococcus epidermidis* (6.67%), *Streptococcus pneumoniae* (6.06%), *Staphylococcus aureus* (4.24%), *Corynebacterium pseudodiphtheriae* (1.21%). Para las bacterias Gram-negativas se tuvieron los siguientes porcentajes: *Branhamella catarrhalis* (1.82%), y *Klebsiella pneumoniae* (0.61%).

5.2. Frecuencia de bacterias aisladas en los diferentes muestreos.

La frecuencia de bacterias aisladas en los cuatro muestreos se muestra en los cuadros 4 y 5. La frecuencia por individuo puede ser de una cepa en los cuatro muestreos, de dos cepas en los cuatro muestreos o de tres cepas en los cuatro muestreos, no encontrándose cuatro cepas en los cuatro muestreos. Así para *Streptococcus* alfa hemolítico, *Streptococcus* beta hemolítico y *Streptococcus pyogenes*, hay una mayor incidencia en los muestreos (frecuencia de dos y tres cepas en el transcurso de cuatro muestreos). *Streptococcus* beta hemolítico muestra el aislamiento de tres cepas en un 32.14%, para el aislamiento de dos cepas fue de 42.86% y para el aislamiento de una cepa 25%. Con respecto a *Streptococcus* alfa hemolítico, para el aislamiento de tres cepas fue de 18.52%, para el aislamiento de dos cepas fue de 37.04% y para el aislamiento de una cepa fue de 44.44%. Para el

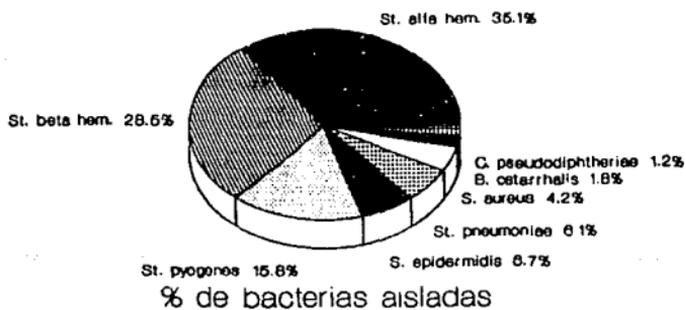
Streptococcus pyogenes se obtiene en el aislamiento de tres cepas un 5.55%, para el aislamiento de dos cepas es de 33.33% y para el aislamiento de una cepa 61.11%. Se observaron incidencias muy bajas para Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus y Neisseria catarrhalis, en el aislamiento de dos cepas (11.11%, 16.67% y 50% respectivamente). Presentaron una mayor frecuencia los aislamientos para Streptococcus pneumoniae (88.88%) y para Staphylococcus aureus (83.33%), no así para Branhamella catarrhalis la cual tuvo la misma frecuencia (50%). Con respecto a Staphylococcus epidermidis, Corynebacterium pseudodiphtheriae y Klebsiella pneumoniae, no tuvieron incidencia alguna y el número de aislamiento de una sola cepa fue sólo considerable para Staphylococcus epidermidis con 11 aislamientos, no así para Corynebacterium pseudodiphtheriae la cual tuvo dos aislamientos, y para Klebsiella pneumoniae solo tuvo un aislamiento. Para el estudio, el cual sometimos a datos estadísticos en el cual representamos datos significativos, no se tomaron en cuenta los aislamientos de Branhamella catarrhalis, Corynebacterium pseudodiphtheriae y Klebsiella pneumoniae, por ser poco significativos en sus aislamientos.

CUADRO 3

DISTRIBUCION DE LAS BACTERIAS AISLADAS

<u>ORGANISMO IDENTIFICADO</u>	<u>AISLAMIENOS</u>	<u>PORCENTAJE</u>
Gram-positivos		
St. beta hem.	58	35.15
St. alfa hem.	47	28.48
St. pyogenes	26	15.76
S. epidermidis	11	6.67
St. pneumoniae	18	6.06
S. aureus	7	4.24
C. pseudodiphtheriae	2	1.21
Gram-negativos		
B. catarrhalis	3	1.82
K. pneumoniae	1	0.61
	165	100 x

Fig. 1. DISTRIBUCION DE LAS BACTERIAS AISLADAS



CUADRO 4

FRECUENCIA DE BACTERIAS GRAM-POSITIVAS AISLADAS
EN LOS DIFERENTES MUESTREOS

FRECUENCIA POR INDIVIDUO	PORCIENTO DE FRECUENCIA						
	St. c hem.	St. ß hem.	St. pyogenes	St. pneum.	S. aureus	S. epidermidis	C. psd.
1	12/27 (44.4)	7/28 (25.0)	11/18 (61.1)	8/9 (88.9)	5/6 (83.3)	11/11 (100)	2/2 (100)
2	18/27 (37.8)	12/28 (42.9)	6/18 (33.3)	1/9 (11.1)	1/6 (16.7)	---	---
3	5/27 (18.5)	9/28 (32.1)	1/18 (5.5)	---	---	---	---

CUADRO 5

FRECUENCIA DE BACTERIAS GRAM-NEGATIVAS AISLADAS
EN LOS DIFERENTES MUESTREOS

FRECUENCIA POR INDIVIDUO	PORCIENTO DE FRECUENCIA	
	B. catarrhalis	K. pneumoniae
1	1/2 (50.0)	1/1 (100)
2	1/2 (50.0)	---
3	---	---

5.3 Frecuencia de bacterias aisladas en diferentes agrupaciones.

5.3.1 Frecuencia de las bacterias aisladas por año de edad de los escolares.

Los organismos identificados por año de edad en los muestreos realizados se encuentran representados en el cuadro 6 y fig. 2. Estos organismos son Gram-positivos, de los cuales se puede observar que los Streptococcus beta hemolíticos y alfa hemolíticos fueron los representantes principales. Los Streptococcus beta hemolíticos tuvieron un porcentaje promedio de 35.58%, en los Streptococcus alfa hemolíticos fue de 30.38%, en los Streptococcus pyogenes fue de 14.74%, en los Streptococcus pneumoniae fue de 8.06%, en los Staphylococcus epidermidis fue de 7.07%, y en los Staphylococcus aureus fue de 4.17%. Los Streptococcus beta hemolíticos tuvieron su mayor frecuencia en niños de un año de edad (46.67%). Los Streptococcus alfa hemolítico, Streptococcus pneumoniae, y Staphylococcus epidermidis tuvieron una mayor frecuencia en niños de dos años (42.86%, 14.29% y 14.29% respectivamente). Los Streptococcus pyogenes tuvieron una mayor frecuencia en niños de tres años de edad (22.84%), y los Staphylococcus aureus tuvieron una mayor frecuencia en niños de cinco años de edad (10.53%).

En la prueba de χ^2 por tablas de contingencia con $gl = 20$, $\alpha = 0.05$, se obtuvo una $\chi_C^2 < \chi_T^2$ por lo cual se aceptó la hipótesis nula, la cual establece que las bacterias aisladas en los muestreos fueron independientes de la edad de la población infantil en estudio

5.3.2 Frecuencia de las bacterias por grado escolar.

Los organismos identificados por grado escolar de los muestreos realizados se encuentran representados en el cuadro 7 y la fig 3. Estos organismos son Gram-positivos, en esta distribución también los organismos representantes son los Streptococcus beta y alfa hemolíticos. Los Streptococcus beta hemolíticos tuvieron un porcentaje promedio de 35.89%, en los Streptococcus alfa hemolíticos fue de 28.55%, en los Streptococcus pyogenes fue de 16.84%, en los Streptococcus pneumoniae fue de 7.11%, en los Staphylococcus epidermidis fue de 6.40%, y en los Staphylococcus aureus fue de 5.21%. Los Streptococcus beta y alfa hemolíticos tuvieron una mayor frecuencia en el grado maternal (40.91% y 31.82% respectivamente). Los Streptococcus pyogenes y el Staphylococcus epidermidis tuvieron una mayor frecuencia en Primero de kinder (22.64% y 11.32% respectivamente). Los Streptococcus pneumoniae y Staphylococcus aureus tuvieron una mayor frecuencia en Preprimaria (10.53% para cada uno).

En la prueba de χ^2 por tablas de contingencia con $gl = 15$, $\alpha = 0.05$, se obtuvo una $\chi_C^2 < \chi_T^2$ por la cual se aceptó la hipótesis nula, la cual establece que las bacterias aisladas en los muestreos fueron independientes del grado de escolaridad de la población infantil en estudio.

5.3.3 Frecuencia de las bacterias aisladas en las diferentes épocas del año.

Los organismos identificados por época del año de los muestreos realizados se encuentran representados en el cuadro 8 y

la fig. 4. Los mayores porcentajes pertenecieron a los Streptococcus alfa y beta hemolíticos. Los Streptococcus alfa hemolíticos fueron más frecuentes en el otoño (42.86%). Los Streptococcus beta hemolíticos fueron más frecuentes en primavera (42.86%), al igual que los Streptococcus pyogenes (23.81%). Los Streptococcus pneumoniae fueron más frecuentes en el invierno (12.24%). Los Staphylococcus aureus y los Staphylococcus epidermidis fueron más frecuentes en otoño (9.52% y 19.05% respectivamente).

En la prueba de χ^2 por tablas de contingencia con $gl = 15$, $\alpha = 0.05$, se obtuvo una $\chi_C^2 > \chi_T^2$ por lo que se rechazó la hipótesis nula, pero se aceptó la hipótesis alternativa, la cual establece que las bacterias aisladas en los muestreos fueron independientes de la época en que los muestreos se llevaron a cabo.

CUADRO 6

FRECUENCIA DE LAS BACTERIAS AISLADAS
POR AÑO DE EDAD DE LOS ESCOLARES.

BACTERIAS AISLADAS	FRECUENCIA POR AÑO DE EDAD DE LOS ESCOLARES					
	1 AÑO	2 AÑOS	3 AÑOS	4 AÑOS	5 AÑOS	\bar{x}
St. alfa hem.	4/15 (26.67)	3/7 (42.86)	15/53 (28.30)	20/72 (27.78)	5/19 (26.31)	30.38
St. beta hem.	7/15 (46.67)	2/7 (28.57)	15/53 (28.30)	27/72 (37.50)	7/19 (36.84)	35.58
St. pyogenes	3/15 (20.00)	0/7 (0.00)	12/53 (22.64)	11/72 (15.28)	3/19 (15.79)	14.74
St. pneumoniae	1/15 (6.67)	1/7 (14.29)	1/53 (1.89)	5/72 (6.94)	2/19 (10.53)	8.06
S. aureus	0/15 (0.00)	0/7 (0.00)	4/53 (7.55)	2/72 (2.78)	2/19 (10.53)	4.17
S. epidermidis	0/15 (0.00)	1/7 (14.29)	6/53 (11.32)	7/72 (9.72)	0/19 (0.00)	7.07

Se obtiene una $\chi^2 = 15.037$ con una probabilidad de 0.7743 por tablas de contingencia, siendo $\chi^2 < \chi^2_{\alpha}$, con $gl = 20$, $\alpha = 0.05$. Por lo cual se acepta la hipótesis nula.

CUADRO 7

FRECUENCIA DE LAS BACTERIAS
AISLADAS POR GRADO ESCOLAR.

BACTERIAS AISLADAS	FRECUENCIA POR GRADO ESCOLAR				
	Maternal	Primero de kinder	Segundo de kinder	Preprimaria	\bar{X}
St. alfa hem.	7/22 (31.82)	15/53 (28.30)	28/72 (27.78)	5/19 (26.32)	28.55
St. beta hem.	9/22 (40.91)	15/53 (28.30)	27/72 (37.50)	7/19 (36.84)	35.89
St. pyogenes	3/29 (13.64)	12/53 (22.64)	11/72 (15.28)	3/19 (15.79)	16.84
St. pneumoniae	2/22 (9.09)	1/53 (1.89)	5/72 (6.94)	2/19 (10.53)	7.11
S. aureus	8/22 (36.36)	4/53 (7.55)	2/72 (2.78)	2/19 (10.53)	5.21
S. epidermidis	1/22 (4.55)	6/53 (11.32)	7/72 (9.72)	8/19 (42.11)	6.48

Se obtiene una $\chi^2_c = 11.44$ con una probabilidad de 0.7288 por tablas de contingencia, siendo $\chi^2_c < \chi^2_{\alpha}$, con $gl = 15$, $\alpha = 0.05$. Por lo cual se acepta la hipótesis nula.

CUADRO B

FRECUENCIA DE LAS BACTERIAS AISLADAS
EN LAS DIFERENTES EPOCAS DE AÑO.

BACTERIAS AISLADAS	FRECUENCIA POR EPOCAS DEL AÑO			
	OTOÑO	INVIERNO	PRIMAVERA	OTOÑO
St. alfa hem.	16/47 (34.04)	13/49 (26.53)	9/42 (21.43)	9/21 (42.86)
St. beta hem.	18/47 (38.30)	17/49 (34.69)	18/42 (42.86)	5/21 (23.81)
St. pyogenes	9/47 (19.15)	7/49 (14.29)	18/42 (23.81)	8/21 (8.00)
St. pneumoniae	8/47 (8.00)	6/49 (12.24)	3/42 (7.14)	1/21 (4.76)
S. aureus	3/47 (6.38)	8/49 (8.00)	2/42 (4.76)	2/21 (9.52)
S. epidermidis	1/47 (2.13)	6/49 (12.24)	8/42 (8.00)	4/21 (19.05)

Se obtiene una $\chi_c^2 = 29.986$ con una probabilidad de 0.0128 por tablas de contingencia, siendo $\chi_c^2 > \chi_p^2$, con $gl = 15$, $\alpha = 0.05$. Por lo cual se rechaza la hipótesis nula.

Fig. 2. FRECUENCIA DE BACTERIAS POR AÑO DE EDAD

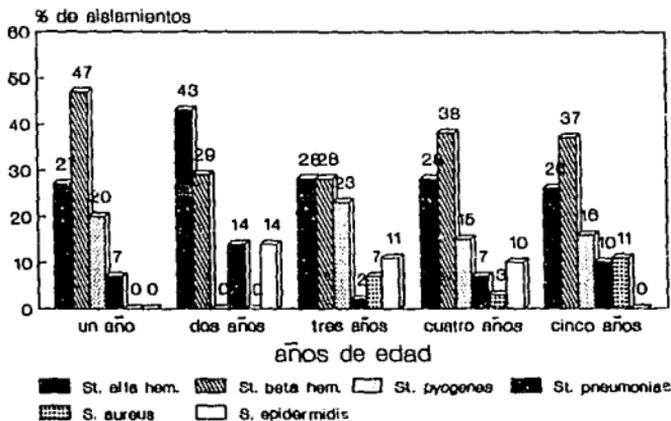


Fig. 3. FRECUENCIA DE BACTERIAS POR GRADO ESCOLAR

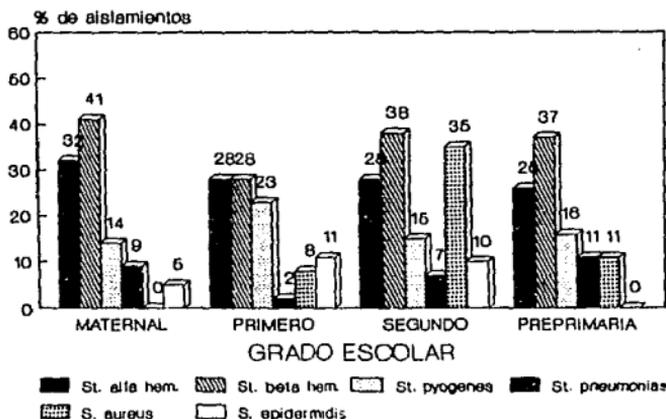
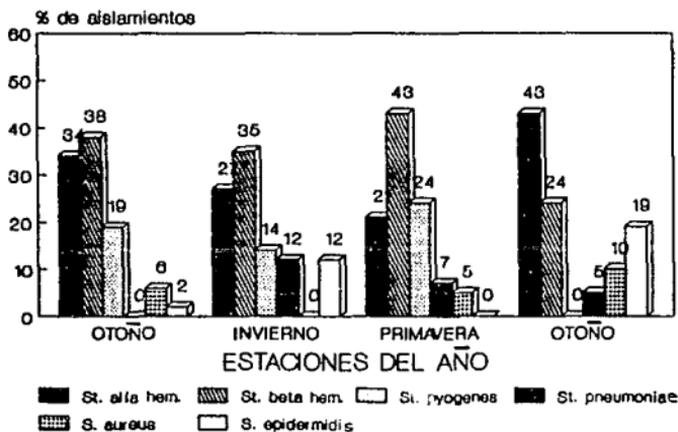


Fig. 4. FRECUENCIA DE BACTERIAS POR EPOCA DEL AÑO



5.4 Homogeneidad a la acción de antibióticos.

5.4.1. Homogeneidad de la resistencia para antibióticos que actúan a nivel de pared celular.

El número de antibióticos que actúan a nivel de pared celular en las bacterias (frecuencia), en las cuales se observó resistencia antimicrobiana se muestra en el cuadro 9 y en la fig. 5. En este cuadro se puede observar la frecuencia de cero, en el cual las cepas inoculadas no tuvieron resistencia a ningún antibiótico. Se observa también la frecuencia de cepas inoculadas las cuales fueron resistentes a un solo antibiótico, así como la frecuencia de cepas inoculadas las cuales fueron resistentes a dos antibióticos y por último se observa la frecuencia de cepas inoculadas, las cuales fueron resistentes de tres a cinco antibióticos. Los antibióticos que actúan a nivel de pared celular en este estudio fueron cinco: cefalotina (CEFA), penicilina (PENI), ampicilina (AMPI), cefotaxima (CTX) y dicloxacilina (CLOX). Los *Streptococcus* alfa hemolíticos mostraron una mayor frecuencia en su resistencia a dos y un antibióticos (35.29% y 31.25% respectivamente). Se presentó una mayor frecuencia en las cepas de *Streptococcus* beta hemolítico resistentes a un antibiótico (47.92%). Los *Streptococcus pyogenes* tuvieron una mayor frecuencia en su resistencia a dos y un antibióticos (21.57% y 12.50% respectivamente). El *Streptococcus pneumoniae* tuvo una mayor frecuencia en su resistencia a cero y dos antibióticos (15.38% y 7.84% respectivamente) y una menor frecuencia en su resistencia a un antibiótico (2.08%). Los *Staphylococcus aureus* tuvieron una mayor frecuencia en su resistencia de 3 a 5

antibióticos (4.35%) y una menor frecuencia en su resistencia a un antibiótico (2.08%). Los Staphylococcus epidermidis tuvieron una mayor frecuencia en su resistencia de tres a cinco antibióticos (26.09%).

En la prueba de χ^2 por tablas de contingencia con $gl = 15$, $\alpha = 0.05$, se obtuvo una $\chi_C^2 > \chi_T^2$ por lo que se rechazó la hipótesis nula, pero se aceptó la hipótesis alternativa, la cual establece que el número de antibióticos que actúa a nivel de pared celular en los cuales hay resistencia dependieron de la cepa inoculada.

5.4.2. Homogeneidad de la resistencia para antibióticos que actúan a nivel de síntesis proteica.

El número de antibióticos que actúa a nivel de síntesis proteica en las bacterias (frecuencia), en las cuales se observó resistencia antimicrobiana se muestra en el cuadro 10 y fig. 6. En este cuadro se puede ver la frecuencia de las cepas resistentes a 0,1,2,3,4 antibióticos y por último, la resistencia bacteriana de 5 a 6 antibióticos. Los antibióticos que actúan a nivel de síntesis proteica en este estudio fueron seis: lincomicina (LINCO), eritromicina (ERI), estreptomocina (STREP), tetraciclina (TET), gentamicina (GENTA) y kanamicina (KAN). Se observó una mayor frecuencia en su resistencia para 5 a 6 antibióticos de las cepas de Streptococcus alfa hemolíticos (42.86%). Las cepas de Streptococcus beta hemolíticos tuvieron una mayor frecuencia en su resistencia a cuatro antibióticos (41.67%), y una menor frecuencia en su resistencia a un solo antibiótico (22.22%). Se presentó una

mayor frecuencia en las cepas de Streptococcus pyogenes resistentes a un antibiótico (27.78%). Los Streptococcus pneumoniae tuvieron una mayor frecuencia en su resistencia a tres antibióticos (9.68%). Los Staphylococcus aureus tuvieron una mayor frecuencia en su resistencia a un antibiótico (5.56%). Los Staphylococcus epidermidis tuvieron una mayor frecuencia en su resistencia a dos antibióticos (14.29%).

En la prueba de χ^2 por tablas de contingencia con $gl = 25$, $\alpha = 0.05$, se obtuvo una $\chi_C^2 < \chi_T^2$ por lo cual se aceptó la hipótesis nula, la cual establece que el número de antibióticos que actúa a nivel de síntesis proteica en los cuales hay resistencia fueron independientes de la cepa inoculada.

5.4.3. Homogeneidad de la sensibilidad para antibióticos que actúan a nivel de pared celular.

El número de antibióticos que actúa a nivel de pared celular en las bacterias (frecuencia), en las cuales se observó sensibilidad antimicrobiana se muestra en el cuadro 11 y fig.7. En este cuadro se puede observar la frecuencia de sensibilidad bacteriana a 0,1,2,3 antibióticos y por último la sensibilidad bacteriana de 4 a 5 antibióticos. Los antibióticos que actúan a nivel de pared celular en este estudio fueron cinco: cefalotina (CEFA), penicilina (PENI), ampicilina (AMPI), cefotaxima (CTX), y dicloxacilina (CLOX). Los Streptococcus alfa hemolítico tuvieron una mayor frecuencia en su sensibilidad a 3 antibióticos (40%) y una menor frecuencia en su sensibilidad a un antibiótico (16%). Los Streptococcus beta hemolíticos tuvieron una mayor frecuencia

en su sensibilidad a cero y un antibiótico (44.44% y 40.0% respectivamente). Los Streptococcus pyogenes tuvieron una mayor frecuencia en su sensibilidad a tres antibióticos (20.0% y una menor frecuencia en su sensibilidad a cero y un antibiótico (5.56% y 16.0% respectivamente). Los Streptococcus pneumoniae tuvieron una mayor frecuencia en su sensibilidad para 4 a 5 antibióticos (10.87%. Los Staphylococcus aureus tuvieron una mayor frecuencia en su sensibilidad a cero, uno y tres antibióticos (11.11%, 4.0% y 4.0% respectivamente). Los Staphylococcus epidermidis tuvieron una mayor frecuencia en su sensibilidad a un antibiótico (20%).

En la prueba de χ^2 por tablas de contingencia con $gl = 20$, $\alpha = 0.05$, se obtuvo una $\chi_C^2 < \chi_T^2$ por lo cual se aceptó la hipótesis nula, la cual establece que el número de antibióticos que actúa a nivel de pared celular en los cuales hay sensibilidad fueron independientes de la cepa inoculada.

5.4.4. Homogeneidad de la sensibilidad para antibióticos que actúan a nivel de síntesis proteica.

El número de antibióticos que actúan a nivel de pared celular de las bacterias (frecuencia), en las cuales se observó resistencia antimicrobiana se muestra en el cuadro 12 y la fig. 8. En este cuadro se puede observar la incidencia de las cepas sensibles a 0,1,2,3,4 antibióticos, por último la sensibilidad bacteriana de 5 a 6 antibióticos. Los antibióticos que actúan a nivel de síntesis proteica en este estudio fueron seis: lincomicina (LINCO), eritromicina (ERI), estreptomina (STREP), tetraciclina (TET), gentamicina (GENTA) y kanamicina (KAN). Se observó una mayor

frecuencia en su sensibilidad a un antibiótico en los *Streptococcus* alfa hemolíticos (42.31%). Los *Streptococcus* beta hemolíticos tuvieron una mayor frecuencia en su sensibilidad para 5 a 8 antibióticos (38.89%). El *Streptococcus pyogenes* tuvo una mayor frecuencia en su sensibilidad a 4 antibióticos (28.67%), y una menor frecuencia en su sensibilidad a un antibiótico (11.54%). Los *Streptococcus pneumoniae* tuvieron una mayor frecuencia en su sensibilidad a dos antibióticos (12.50%), no se observó ninguna frecuencia en su sensibilidad a cero, uno y cuatro antibióticos. Los *Staphylococcus aureus* tuvieron una mayor frecuencia en su sensibilidad a cero y cuatro antibióticos (7.69% y 6.67% respectivamente), no se observó ninguna frecuencia en su sensibilidad a un antibiótico. Los *Staphylococcus epidermidis* tuvieron una mayor frecuencia en su sensibilidad a 1 y 3 antibióticos (11.54% para cada uno), no se observó ninguna frecuencia en su sensibilidad a cero y 4 antibióticos.

En la prueba de χ^2 por tablas de contingencia con $gl = 25$, $\alpha = 0.05$, se obtuvo una $\chi_C^2 < \chi_T^2$ por lo cual se aceptó la hipótesis nula, la cual establece que el número de antibióticos que actúa a nivel de síntesis proteica en los cuales hay sensibilidad fueron independientes de la cepa inoculada.

CUADRO 9

HOMOGENEIDAD DE LA RESISTENCIA PARA
ANTIBIOTICOS QUE ACTUAN A NIVEL
DE PARED CELULAR

BACTERIAS RESISTIDAS	FRECUENCIA DE RESISTENCIA A NIVEL DE PARED CELULAR			
	0	1	2	= o > 3
St. alfa hem.	7/26 (26.92)	15/48 (31.25)	18/51 (35.29)	6/23 (26.09)
St. beta hem.	9/26 (34.62)	23/48 (47.92)	14/51 (27.45)	7/23 (30.43)
St. pyogenes	5/26 (19.23)	6/48 (12.50)	11/51 (21.57)	2/23 (8.70)
St. pneumoniae	4/26 (15.38)	1/48 (2.08)	4/51 (7.84)	1/23 (4.35)
S. aureus	1/26 (3.85)	1/48 (2.08)	2/51 (3.92)	1/23 (4.35)
S. epidermidis	8/26 (30.77)	2/48 (4.17)	2/51 (3.92)	6/23 (26.09)

Se obtiene una $\chi^2 = 26.668$ con una probabilidad de 0.0316 por tablas
contingencia, siendo $\chi^2 > \chi^2_{\alpha}$, con $gl = 15$, $\alpha = 0.05$. Por lo cual
se rechaza la hipótesis: nula.

CUADRO 10

HOMOGENEIDAD DE LA RESISTENCIA PARA ANTIBIOTICOS
QUE ACTUAN A NIVEL DE SINTESIS PROTEICA

BACTERIAS AISLADAS	FRECUENCIA DE RESISTENCIA A NIVEL DE SINTESIS PROTEICA					
	0	1	2	3	4	= o > 5
St. alfa hem.	10/33 (30.30)	6/18 (33.33)	7/21 (33.33)	9/31 (29.03)	5/24 (20.83)	9/21 (42.86)
St. beta hem.	13/33 (39.39)	4/18 (22.22)	7/21 (33.33)	11/31 (35.48)	10/24 (41.67)	8/21 (38.10)
St. pyogenes	5/33 (15.15)	5/18 (27.78)	2/21 (9.52)	4/31 (12.90)	5/24 (20.83)	3/21 (14.29)
St. pneumoniae	3/33 (9.09)	1/18 (5.56)	1/21 (4.76)	3/31 (9.68)	2/24 (8.33)	0/21 (0.00)
S. aureus	1/33 (3.03)	1/18 (5.56)	1/21 (4.76)	1/31 (3.23)	0/24 (0.00)	1/21 (4.76)
S. epidermidis	1/33 (3.03)	1/18 (5.56)	3/21 (14.29)	3/31 (9.68)	2/24 (8.33)	0/21 (0.00)

Se obtiene una $\chi^2_c = 13.872$ con una probabilidad de 0.9639 por tablas de contingencia, siendo $\chi^2_c < \chi^2_{\alpha}$, con $gl = 25$, $\alpha = 0.05$. Por lo cual se acepta la hipótesis nula.

CUADRO 11

HOMOGENEIDAD DE LA SENSIBILIDAD PARA
ANTIBIOTICOS QUE ACTUAN A NIVEL DE
PARED CELULAR

BACTERIAS AISLADAS	FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD A NIVEL DE PARED CELULAR				
	0	1	2	3	= 0 > 4
St. alfa hem.	5/18 (27.78)	4/25 (16.00)	12/34 (35.29)	10/25 (40.00)	15/46 (32.61)
St. beta hem.	8/18 (44.44)	10/25 (40.00)	10/34 (29.41)	8/25 (32.00)	17/46 (36.96)
St. pyogenes	1/18 (5.56)	4/25 (16.00)	6/34 (17.65)	5/25 (20.00)	8/46 (17.39)
St. pneumoniae	1/18 (5.56)	1/25 (4.00)	3/34 (8.82)	8/25 (32.00)	5/46 (10.87)
S. aureus	2/18 (11.11)	1/25 (4.00)	1/34 (2.94)	1/25 (4.00)	8/46 (17.39)
S. epidermidis	1/18 (5.56)	5/25 (20.00)	2/34 (5.88)	1/25 (4.00)	1/46 (2.17)

Se obtiene una $\chi^2 = 21.799$ con una probabilidad de 0.3515 por tablas de contingencia, siendo $\chi^2 < \chi^2_{\alpha}$, con $gl = 20$, $\alpha = 0.05$. Por lo cual se acepta la hipótesis nula.

CUADRO 12

HOMOGENEIDAD DE LA SENSIBILIDAD PARA ANTIBIOTICOS
QUE ACTUAN A NIVEL DE SINTESIS PROTEICA

BACTERIAS AISLADAS	FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD A NIVEL DE SINTESIS PROTEICA					
	0	1	2	3	4	≥ 5
St. alfa hem.	5/13 (38.46)	11/26 (42.31)	7/32 (21.88)	5/26 (19.23)	5/15 (33.33)	13/36 (36.11)
St. beta hem.	4/13 (30.77)	9/26 (34.62)	12/32 (37.50)	9/26 (34.62)	5/15 (33.33)	14/36 (38.89)
St. pyogenes	3/13 (23.08)	3/26 (11.54)	4/32 (12.50)	5/26 (19.23)	4/15 (26.67)	5/36 (13.89)
St. pneumoniae	8/13 (61.54)	8/26 (30.77)	4/32 (12.50)	3/26 (11.54)	8/15 (53.33)	3/36 (8.33)
S. aureus	1/13 (7.69)	8/26 (30.77)	2/32 (6.25)	1/26 (3.85)	1/15 (6.67)	8/36 (22.22)
S. epidermidis	8/13 (61.54)	3/26 (11.54)	3/32 (9.38)	3/26 (11.54)	8/15 (53.33)	1/36 (2.78)

Se obtiene una $\chi^2 = 21.384$ con una probabilidad de 0.6755 por tablas de contingencia, siendo $\chi^2 < \chi^2_{\alpha}$, con $gl = 25$, $\alpha = 0.05$. Por lo cual se acepta la hipótesis nula.

Fig. 5. HOMOGENEIDAD DE LA RESISTENCIA PARA ANTIBIOTICOS A NIVEL DE PARED CELULAR

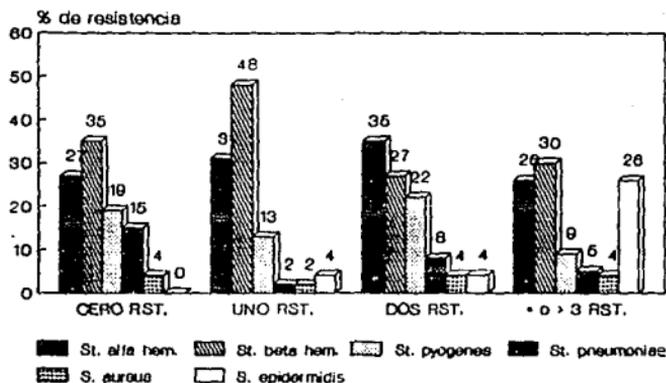


Fig. 6. HOMOGENEIDAD DE LA RESISTENCIA PARA ANTIBIOTICOS A NIVEL DE SINTESIS PROTEICA

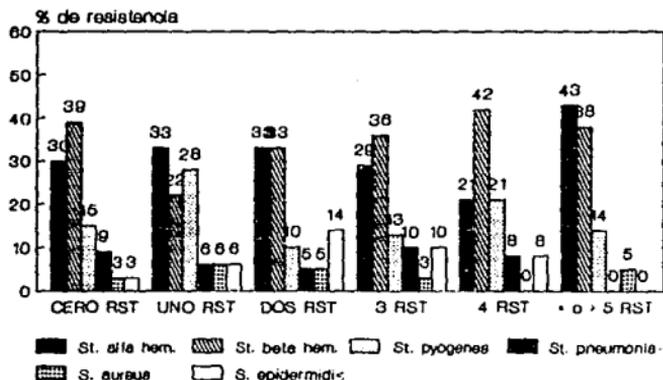


Fig. 7. HOMOGENEIDAD DE LA SENSIBILIDAD PARA ANTIBIOTICOS A NIVEL DE PARED CELULAR

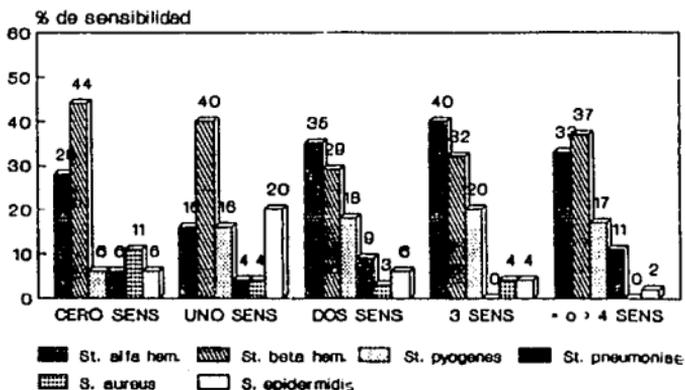
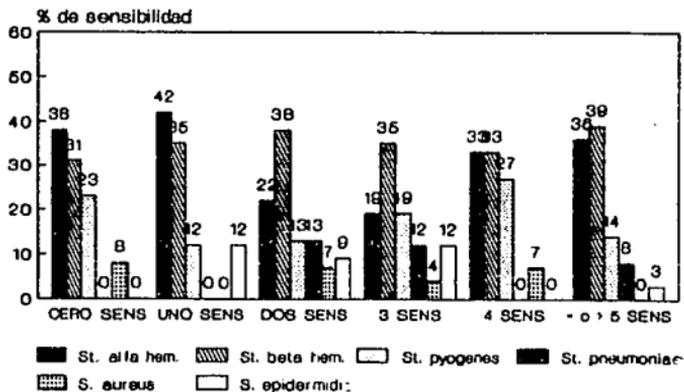


Fig. 8. HOMOGENEIDAD DE LA SENSIBILIDAD PARA ANTIBIOTICOS A NIVEL DE SINTESIS PROTEICA



5.5 Acción específica para antibióticos.

5.5.1. Resistencia específica para antibióticos que actúan a nivel de pared celular.

Al estudiar la resistencia que presentaba cada cepa por separado a un solo antibiótico el cual actúa a nivel de síntesis proteica no se encontró resistencia para cefalotina, penicilina y cefotaxima en todas las bacterias probadas. Los Streptococcus alfa hemolíticos solo tuvieron una cepa resistente a la ampicilina. Los Streptococcus beta hemolíticos mostraron gran resistencia a la dicloxacilina, la cual tuvo 23 cepas resistentes, para Streptococcus alfa hemolítico tuvo 14 cepas resistentes y para Streptococcus pyogenes tuvo 8 cepas resistentes. Siendo menos resistente para Staphylococcus epidermidis el cual tuvo dos cepas resistentes, para Streptococcus pneumoniae y Staphylococcus aureus tuvieron una cepa resistente para cada uno. (Cuadro 13)

5.5.2. Sensibilidad específica para antibióticos que actúan a nivel de pared celular.

Al estudiar la sensibilidad que presentaba cada cepa por separado a un solo antibiótico el cual actúa a nivel de pared celular no se observó sensibilidad para penicilina, ampicilina y cloxacilina. Los Staphylococcus epidermidis mostraron algo de sensibilidad a la cefotaxima (Se obtuvieron 3 cepas sensibles), con Streptococcus alfa hemolítico y Streptococcus pyogenes tuvieron una cepa sensible cada uno. Todas la cepas probadas mostraron sensibilidad en general a la cefalotina así; Los Streptococcus beta hemolíticos tuvieron 10 cepas sensibles.

Streptococcus alfa hemolíticos y Streptococcus pyogenes 3 cepas sensibles para cada antibiótico. Staphylococcus epidermidis tuvo dos cepas sensibles y el Streptococcus pneumoniae al igual que el Streptococcus aureus tuvieron una cepa sensible para cada uno. (Cuadro 14).

5.5.3. Resistencia específica para antibióticos que actúan a nivel de síntesis proteica.

Al estudiar la resistencia que presentaba cada cepa por separado a un solo antibiótico el cual actúa a nivel de síntesis proteica no se observó resistencia para gentamicina. Los Streptococcus alfa hemolítico. solo tuvieron una cepa resistente para lincomicina. Solo una cepa de Streptococcus pyogenes y una cepa de Staphylococcus epidermidis fueron resistentes a la estreptomina. Dos cepas de Streptococcus pyogenes fueron resistentes a la eritromicina. Tetraciclina y Kanamicina tendieron a ser los antibióticos con mayor resistencia antimicrobiana. Para tetraciclina, los Streptococcus alfa hemolíticos y los Streptococcus pyogenes tuvieron dos cepas resistentes para cada uno. En los Streptococcus pneumoniae y Staphylococcus aureus hubo una cepa resistente para cada uno. Con respecto a la Kanamicina los Streptococcus beta hemolíticos tuvieron 4 cepas resistentes y los Streptococcus alfa hemolíticos tuvieron 3 cepas resistentes. (Cuadro 15).

5.5.4. Sensibilidad específica para antibióticos que actúan a nivel de síntesis proteica.

Al estudiar la sensibilidad que presentaba cada cepa por separado a un solo antibiótico el cual actúa a nivel de síntesis proteica no se observó sensibilidad para la estreptomina, tetraciclina y kanamicina. Los Streptococcus beta hemolíticos tuvieron 3 cepas sensibles para la eritromicina, los Streptococcus alfa hemolíticos y Streptococcus pyogenes tuvieron una cepa sensible cada uno. Las bacterias probadas mostraron mayor sensibilidad a la lincomicina y a la gentamicina. Así; los Streptococcus alfa hemolítico tuvieron 5 cepas sensibles a la lincomicina, los Streptococcus beta hemolíticos tuvieron 4 cepas sensibles y el Staphylococcus epidermidis tuvo una cepa sensible. Para gentamicina los Streptococcus alfa hemolíticos tuvieron 3 cepas sensibles, los Streptococcus beta hemolíticos, Streptococcus pyogenes y Staphylococcus epidermidis tuvieron 2 cepas sensibles cada uno. (Cuadro 16)

CUADRO 13

RESISTENCIA ESPECIFICA PARA ANTIBIOTICOS
QUE ACTUAN A NIVEL DE PARED CELULAR

BACTERIAS AISLADAS	RESISTENCIA PARA ANTIBIOTICOS DE PARED CELULAR				
	CEFA	PENI	AMPI	CTX	CLOX
St. alfa hem.	0	0	1	0	14
St. beta hem.	0	0	0	0	23
St. pyogenes	0	0	0	0	6
St. pneumoniae	0	0	0	0	1
S. aureus	0	0	0	0	1
S. epidermidis	0	0	0	0	2

CUADRO 14

SENSIBILIDAD ESPECIFICA PARA ANTIBIOTICOS
QUE ACTUAN A NIVEL DE PARED CELULAR

BACTERIAS AISLADAS	SENSIBILIDAD PARA ANTIBIOTICOS DE PARED CELULAR				
	CEFA	PENI	ANPI	CTX	CLOX
St. alfa hem.	3	0	0	1	0
St. beta hem.	10	0	0	0	0
St. pyogenes	3	0	0	1	0
St. pneumoniae	1	0	0	0	0
S. aureus	1	0	0	0	0
S. epidermidis	2	0	0	3	0

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

CUADRO 15

RESISTENCIA ESPECIFICA PARA ANTIBIOTICOS
QUE ACTUAN A NIVEL DE SINTESIS PROTEICA

BACTERIAS AISLADAS	RESISTENCIA PARA ANTIBIOTICOS DE SINTESIS PROTEICA					
	LINCO	ERI	STREP	TET	GENTA	KAN
St. alfa hem.	1	0	0	2	0	3
St. beta hem.	0	0	0	0	0	4
St. pyogenes	0	2	1	2	0	0
St. pneumoniae	0	0	0	1	0	0
S. aureus	0	0	0	1	0	0
S. epidermidis	0	0	1	0	0	0

CUADRO 16

**SENSIBILIDAD ESPECIFICA PARA ANTIBIOTICOS
QUE ACTUAN A NIVEL DE SINTESIS PROTEICA**

BACTERIAS AISLADAS	SENSIBILIDAD PARA ANTIBIOTICOS DE SINTESIS PROTEICA					
	LINCO	ERI	STREP	TET	GENTA	XAM
St. alfa hem.	5	1	0	0	5	0
St. beta hem.	4	3	0	0	2	0
St. pyogenes	0	1	0	0	2	0
St. pneumoniae	0	0	0	0	0	0
S. aureus	0	0	0	0	0	0
S. epidermidis	1	0	0	0	2	0

5.6 Acción no específica para los antibióticos.

5.6.1 Resistencia no específica para los antibióticos en estudio.

La resistencia no específica para los antibióticos en estudio (uno o varios antibióticos los cuales pueden actuar en contra de las cepas inoculadas), se muestra en el cuadro 17. Los *St. alfa* hemolíticos fueron resistentes a cloxacilina (84.44%), tetraciclina (80.86%), ampicilina (60.0%), kanamicina (57.14%), estreptomina (50.0%). Los *St. beta* hemolíticos fueron resistentes a cloxacilina (84.32%), kanamicina (76.56%), estreptomina (60.42%), ampicilina (56.75%), tetraciclina (63.06%). Los *St. pyogenes* fueron resistentes a: cloxacilina (79.17%), ampicilina (72.20%), tetraciclina (70.0%), estreptomina (65.0%), kanamicina (55.0%). Los *St. pneumoniae* fueron resistentes a: kanamicina (62.5%), cloxacilina (60.0%), estreptomina (57.14%), ampicilina (55.56%), tetraciclina (55.56%). Los *S. aureus* fueron resistentes a: ampicilina (100%), tetraciclina (100%), penicilina (66.67%), estreptomina (66.67%), kanamicina (66.67%), cloxacilina (60.0%). Los *S. epidermidis* fueron resistentes a: estreptomina (100%), cloxacilina (90.0%), ampicilina (88.89%), penicilina (62.5%), kanamicina (37.14%), lincomicina (50.0%), eritromicina (50.0%).

5.6.2 Sensibilidad no específica para los antibióticos en estudio.

La sensibilidad no específica para los antibióticos en estudio (uno o varios antibióticos los cuales pueden actuar en contra de las cepas inoculadas), se muestra en la tabla 18. Los *St. alfa* hemolíticos fueron sensibles a: cefotaxima (97.23%),

cefalotina (90.89%), penicilina (90.0%), gentamicina (71.74%), lincomicina (68.19%), Trimetoprim-Sulfametoxazol (57.5%), eritromicina (52.63%). Los St. beta hemolíticos fueron sensibles a: cefotaxima (96.77%), penicilina (87.88%), cefalotina (86.54%), lincomicina (84.32%), Trimetoprim-Sulfametoxazol (72.73%), gentamicina (87.92%), eritromicina (57.14%). Los St. pyogenes fueron sensibles a: cefotaxima: (100%), cefalotina (95.65%), penicilina (86.87%), gentamicina (83.33%), lincomicina (72.73%), Trimetoprim-sulfametoxazol (71.40%), eritromicina (54.54%). Los St. pneumoniae fueron sensibles a: cefotaxima (100%), lincomicina (100%), cefalotina (90.0%), penicilina (83.33%), eritromicina (75.0%), Trimetoprim-Sulfametoxazol (66.87%), gentamicina (60.0%). Los S. aureus fueron sensibles a: Trimetoprim-Sulfametoxazol (80.0%), gentamicina (80.0%), cefalotina (75.0%), lincomicina (66.87%), eritromicina (60.0%). Estas cepas no mostraron resistencia ni sensibilidad a la cefotaxima. Los S. epidermidis fueron sensibles a: cefotaxima (83.33%), gentamicina (70.0%), tetraciclina (62.5%), cefalotina (60.0%), Trimetoprim-Sulfametoxazol (57.14%).

De estas dos tablas se dividen a los antibióticos según: a) Mecanismo de acción a nivel de Pared Celular; a nivel de Síntesis Proteica y a nivel de Análogos de Metabolitos Esenciales. b) Sensibilidad y resistencia, y c) Patógenos y no Patógenos. Lo cual se muestra en las figuras 9,10,11,12,13,14,15,16 y 17.

En las figuras 9 y 13 se aprecian los antibióticos que actúan a nivel de pared celular. Las bacterias potencialmente patógenas (St. pyogenes, St. pneumoniae y S. aureus) son sensibles a

cefalotina, penicilina (a excepción de S. aureus), y cefotaxima (S. aureus no mostró ni sensibilidad ni resistencia). Siendo resistentes para cloxacilina y ampicilina. Los antibióticos que actúan a nivel de síntesis proteica se aprecian en las figuras 10 y 14. Las bacterias potencialmente patógenas son sensibles para lincomicina, eritromicina y gentamicina. Siendo resistente para estreptomycinina y kanamicina.

También se aprecian en las figuras 11 y 15 los antibióticos que actúan a nivel de pared celular. Las bacterias no patógenas (St. alfa hemolíticos, St. beta hemolíticos y S. epidermidis) son sensibles a cefalotina, cefotaxima y penicilina (a excepción de S. epidermidis). Siendo resistentes para ampicilina y cloxacilina. Los antibióticos que actúan a nivel de síntesis proteica de bacterias no patógenas son sensibles para gentamicina, lincomicina (a excepción de S. epidermidis), eritromicina (a excepción de S. epidermidis), y S. epidermidis solo es sensible para tetraciclina. Siendo resistentes para kanamicina, estreptomycinina y tetraciclina (a excepción de S. epidermidis) figuras 12 y 16.

Trimetoprim-Sulfametoxazol es el único antibiótico que actúa a nivel de análogos de metabolitos esenciales. En donde todas las bacterias en estudio fueron sensibles a este antibiótico. (fig.17)

CUADRO 17

RESISTENCIA NO ESPECIFICA PARA
LOS ANTIBIOTICOS EN ESTUDIO

BACTERIAS AISLADAS	PORCIENTO DE RESISTENCIA PARA LOS ANTIBIOTICOS											
	CEFA	PENI	AMPI	CTX	CLOX	ST	LINCO	ERI	STREP	TET	GENTA	KAN
St. alfa hem.	9.3	28.8	68.8	2.8	84.4	42.5	31.8	47.4	58.8	68.9	28.3	57.1
St. beta hem.	13.4	12.1	56.8	3.2	84.3	27.3	15.7	42.9	68.4	53.1	32.1	75.6
St. pyogenes	4.4	13.3	72.2	8.8	79.2	28.6	27.3	45.5	65.8	78.8	16.7	55.8
St. pneumoniae	18.8	16.7	55.6	8.8	68.8	33.3	8.8	25.8	57.1	55.6	48.8	62.5
S. aureus	25.8	66.7	108.8	8.8	68.8	28.8	33.3	48.8	66.7	108.8	28.8	66.7
S. epidermidis	48.8	62.5	88.9	16.7	98.8	42.9	58.8	58.8	108.8	37.5	38.8	57.1

CUADRO 18

SENSIBILIDAD NO ESPECIFICA PARA
LOS ANTIBIOTICOS EN ESTUDIO

BACTERIAS AISLADAS	PORCIENTO DE SENSIBILIDAD PARA LOS ANTIBIOTICOS											
	CEFA	PENI	ANPI	CTX	CLBX	ST	LINCO	ERI	STREP	TET	GENTA	KAN
St. alfa hem.	98.7	98.0	48.0	97.2	15.6	57.5	68.2	52.6	58.0	34.1	71.7	42.9
St. beta hem.	86.5	87.9	43.3	96.8	15.7	72.7	84.3	57.1	39.6	46.9	67.9	24.4
St. pyogenes	95.7	86.7	27.8	100.0	28.8	71.4	72.7	54.5	35.8	38.0	83.3	45.8
St. pneumoniae	98.0	83.3	44.4	100.0	48.0	66.7	100.0	75.0	42.9	44.4	68.0	37.5
S. aureus	75.0	33.3	0.0	0.0	48.0	80.0	66.7	68.0	33.3	0.0	88.0	23.3
S. epidermidis	68.0	37.5	11.1	83.3	18.0	57.1	38.0	58.0	8.0	62.5	78.0	42.9

Fig. 9. RESISTENCIA NO ESPECIFICA PARA ANTIBIOTICOS A NIVEL DE PARED CELULAR

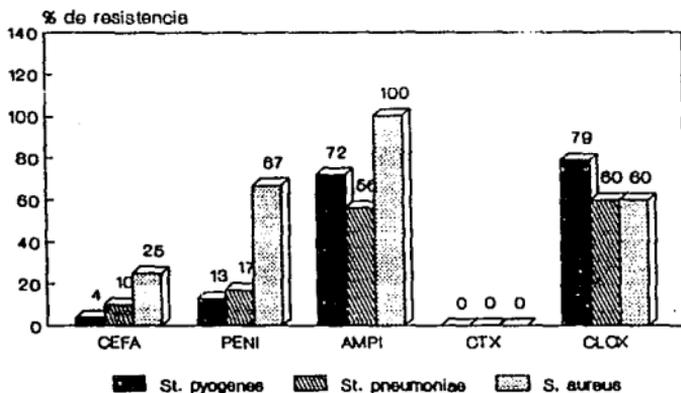


Fig. 10. RESISTENCIA NO ESPECIFICA PARA ANTIBIOTICOS A NIVEL DE SINTESIS PROTEICA

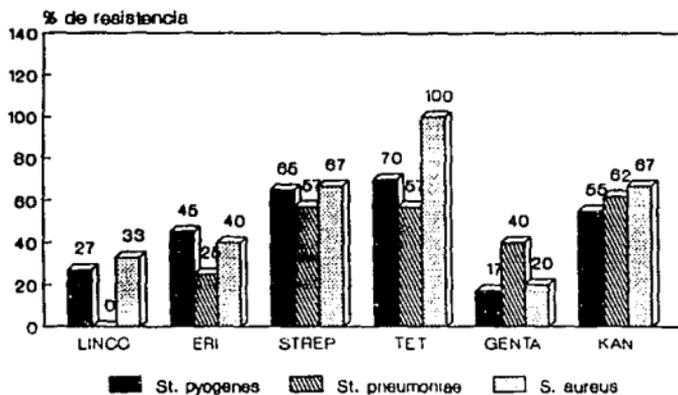


Fig. 11. RESISTENCIA NO ESPECIFICA PARA ANTIBIOTICOS A NIVEL DE PARED CELULAR

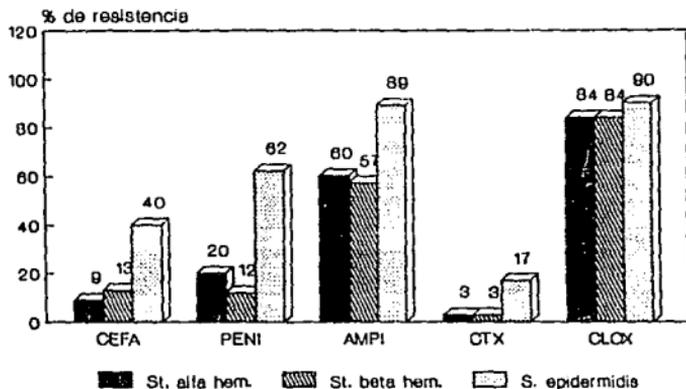


Fig. 12. RESISTENCIA NO ESPECIFICA PARA ANTIBIOTICOS A NIVEL DE SINTESIS PROTEICA

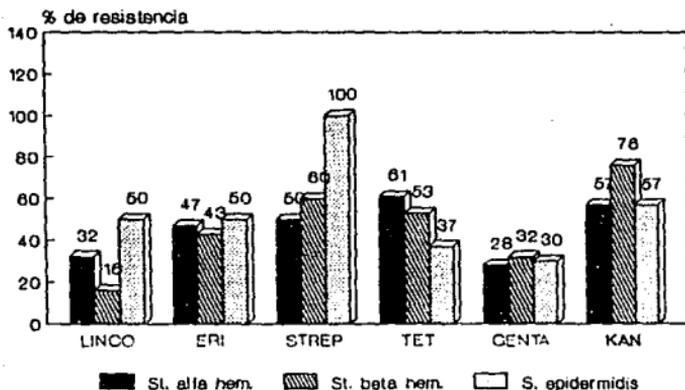


Fig. 13. SENSIBILIDAD NO ESPECIFICA PARA ANTIBIOTICOS A NIVEL DE PARED CELULAR

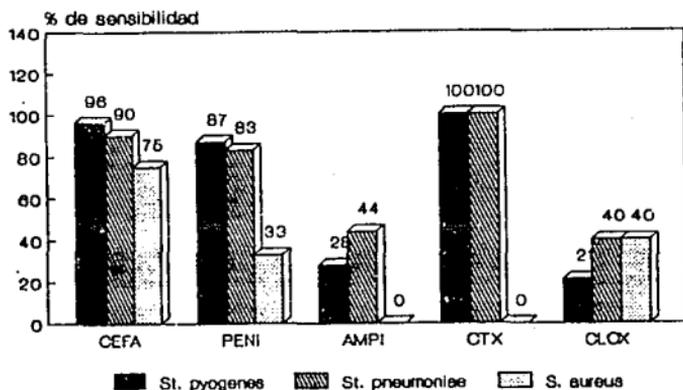


Fig. 14. SENSIBILIDAD NO ESPECIFICA PARA ANTIBIOTICOS A NIVEL DE SINTESIS PROTEICA

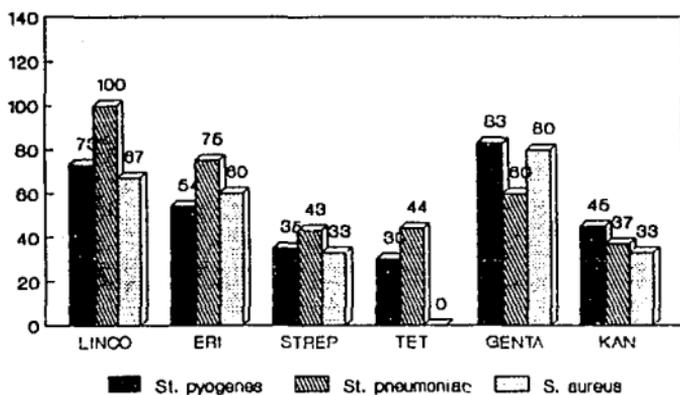


Fig. 15. SENSIBILIDAD NO ESPECIFICA PARA ANTIBIOTICOS A NIVEL DE PARED CELULAR

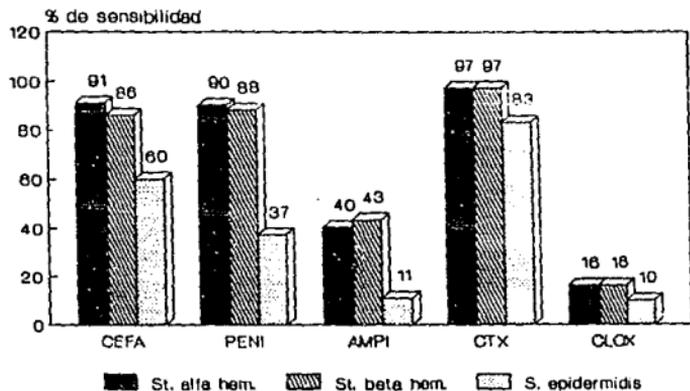


Fig. 16. SENSIBILIDAD NO ESPECIFICA PARA ANTIBIOTICOS A NIVEL DE SINTESIS PROTEICA

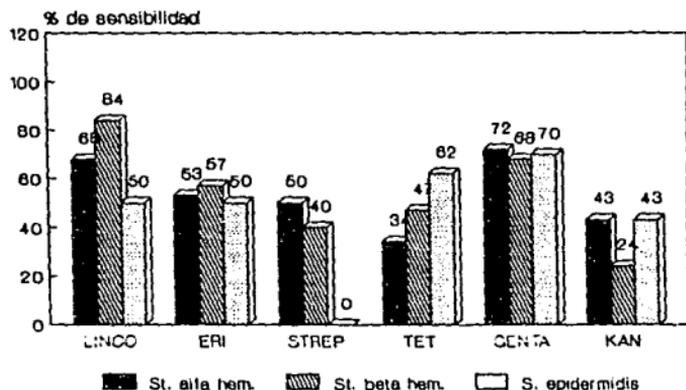
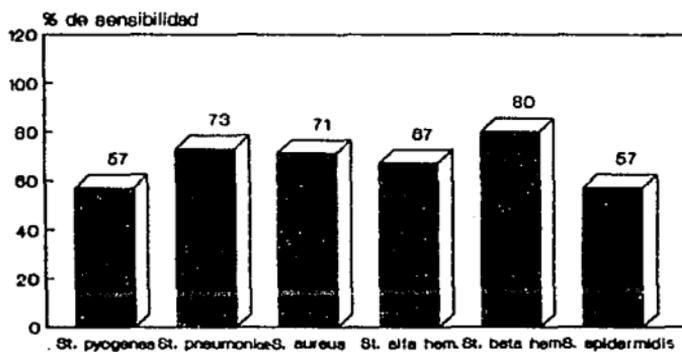


Fig. 17. SENSIBILIDAD NO ESPECIFICA A NIVEL DE ANALOGOS DE METABOLITOS



■ ST

G.O. DISCUSION

Las infecciosas respiratorias agudas ocupan el primer lugar de las enfermedades transmisibles, teniendo una mortalidad particularmente elevada en niños de países en desarrollo y con mala educación sanitaria. En relación con la variación estacional los valores máximos de casos se encuentran en los meses de enero a marzo y de octubre a diciembre. (47). Por lo que nuestros muestreos se encuentran dentro de las estaciones con más probabilidad de aislamiento (Invierno, Primavera y Otoño).

En este estudio las bacterias aisladas del tracto respiratorio superior son mostradas en el cuadro 3. La determinación de la hemólisis fue el paso más útil en este estudio para la identificación de los Streptococcus (49). Los Streptococcus gamma hemolíticos no se tomaron en cuenta en el estudio realizado, debido a su poca importancia (la mayoría son saprófitos) y a su enorme cantidad de aislamientos (dato no mostrado). Así, los St. beta hemolíticos no pertenecientes al grupo A (Estos son: St. del grupo B, C, G y F) y los St. alfa hemolíticos tuvieron los porcentajes más altos de aislamiento, lo cual esta de acuerdo con lo reportado por Lauer B. A. y colaboradores (1983). Sin embargo, Beltran D.A. (1987) reportó bajo porcentaje de aislamiento para los St. beta hemolíticos. Esto puede ser debido a el tipo de educación sanitaria, contacto social y medio ambiente en el que se encuentre la población en estudio, lo cual influirá en la microflora presente en los individuos. Los St. pyogenes aunque en menor proporción que los Streptococcus mencionados con anterioridad se encuentran en un porcentaje

considerable, ya que es una de las bacterias patógenas más frecuentemente aisladas (19,55). Los St. pneumoniae son los que se encuentran en menor frecuencia de los Streptococcus, esto es debido a que la instalación del neumococo en la nasofaringe de personas normales no se hace en forma libre, sino que esta supeditada al antagonismo bacteriano de la flora normal. Johnson ha encontrado que el 82% de las personas normales tiene en la nasofaringe St. viridans que ejerce un papel antagónico a la instalación del neumococo. (29,39,48). En cuanto a los Staphylococcus, el S. epidermidis estuvo presente con mayor frecuencia que S. aureus lo cual esta de acuerdo con la literatura revisada (9,47). El aislamiento de B. catarrhalis se encontró por debajo (1.82%) de el porcentaje reportado del 2 al 26% en los aislamientos del tracto respiratorio superior. (85).

Con respecto a la incidencia de las bacterias (individuos que portan la misma especie bacteriana). El mayor interés lo representan las bacterias consideradas potencialmente patógenas, las cuales son: St. pyogenes, St. pneumoniae y S. aureus. De estas los St. pyogenes presentaron una alta incidencia por lo que es importante hacer notar que esta bacteria es una fuente infecciosa muy común en la población infantil muestreada.

Estadísticamente no se encontró que hubiera una relación entre el grado y la edad de los escolares con las bacterias aisladas. Esto podría deberse a que la población en estudio no tuvo una verdadera división de agrupamientos, puesto que los niños de preescolar (guardería y kinder garden) tienen mucho contacto entre ellos, debido a que las instalaciones donde están son

pequeñas, resultando así una flora microbiana similar. En la agrupación ordenada por época del año, donde si hubo relación estadísticamente significativa ($p < 0.012$) con el tipo de bacteria aislada en el tracto respiratorio superior. Podemos establecer que los aislamientos de los St. alfa hemolíticos, los S. aureus y los S. epidermidis fueron más frecuentes en otoño; Los St. beta hemolíticos y los St. pyogenes fueron más frecuentes en primavera, y; Los St. pneumoniae fueron más frecuentes en invierno. Lo que podríamos concluir de esto es que en las bacterias consideradas potencialmente patógenas como el St. pneumoniae, tiene mayor riesgo la presentación de una infección cuando la temperatura ambiental es baja como en el caso de invierno, posiblemente encuentre el cuerpo un mayor estrés el cual favorezca su desarrollo en forma rápida (47,48). Los St. pyogenes a pesar de que se encuentra en todas las épocas del año, la primavera favorece su mayor incidencia tal vez debido a que en esta época hay mayor humedad y frecuentes cambios de temperatura que favorecen su desarrollo. Por lo visto anteriormente los St. pyogenes tienen un mayor riesgo de contagio de un niño a otro por ser flora más constante en la población, lo cual favorece su diseminación.

Con respecto a los antimicrobianos en estudio solo se tomaron en cuenta las pruebas de susceptibilidad de las cepas que presentaron con claridad un resultado de resistencia o de sensibilidad. Se rechazaron aquellas que según las medidas de inhibición del desarrollo bacteriano, fueron catalogadas como de susceptibilidad intermedia (28).

De los antibióticos usados cinco son los que actúan a nivel de pared celular (penicilina, ampicilina, cloxacilina, cefalotina y cefotaxima) y 8 actúan a nivel de síntesis proteica (lincomicina, eritromicina, tetraciclina, estreptomina, gentamicina y kanamicina), uno solo actúa a nivel de análogos de metabolitos esenciales (Trimetoprim-Sulfametoxazol). Por lo cual, solo los antibióticos que actúan a nivel de pared celular y a nivel de síntesis proteica fueron presentados en el estudio estadístico (χ^2).

La acción de los antibióticos que actuaron a nivel de pared celular y a nivel de síntesis proteica los cuales presentaron sensibilidad bacteriana, resultaron ser independientes de la cepa inoculada. Estadísticamente mostraron homogeneidad y no hubo diferencias significativas en la acción de los antibióticos contra las cepas probadas.

En cuanto a la resistencia bacteriana hubo una dependencia de los antibióticos que actuaron a nivel de pared celular con la cepa aislada y se confirma por que estadísticamente hubo dependencia significativa ($p < 0.0316$) del antibiótico con la cepa probada, esto quiere decir que el grado de resistencia de las bacterias en estudio varió con los diferentes antibióticos probados. En contraste a los antibióticos que actuaron a nivel de síntesis proteica en el cual el comportamiento de resistencia estadísticamente fue muy homogéneo, no hubo diferencias significativas entre las cepas.

Cuando se hizo el estudio para ver cuándo una bacteria era resistente específicamente a un antibiótico y sensible a los demás

o viceversa no dió un significado estadísticamente significativo ya que la población bacteriana estudiada no fue suficiente para obtener este resultado. Lo que sí pudo observarse fue el porcentaje de resistencia o sensibilidad que una bacteria tenía a más de un antibiótico. Así los Streptococcus en general fueron sensibles a cefalotina, cefotaxima, lincomicina, eritromicina, gentamicina y trimetoprim-sulfametoxazol. De los cuales, tomando en cuenta su acción farmacológica y experiencia clínica previamente reportada se recomienda el uso de: Penicilina G procaínica como antibiótico de primera elección (12,33). Muchos autores recomiendan a la ampicilina para niños menores de 5 años, debido a su mayor espectro antimicrobiano y a su vía de administración (oral). En nuestro estudio la ampicilina resultó ser resistente a los Streptococcus, algunas veces el comportamiento in vitro no es el mismo que in vivo (información personal), y debido a que la mayoría de la literatura maneja a las penicilinas y sus derivados sintéticos como clásicas bacterias sensibles a los Streptococcus, se recomiendan siempre como antibióticos de primera elección. (1,37,39,57,80). En individuos alérgicos a la penicilina (raro en niños) se recomienda el uso de eritromicina (12,17,35,56,76). La lincomicina también es recomendada (54,57). Los Streptococcus aunque sensibles a el trimetoprim-sulfametoxazol, se restringe su uso, debido a los efectos tóxicos que provoca (lesión de riñón, hígado, vasculitis, anemia hemolítica y trastornos intestinales) (48). Los Streptococcus también fueron altamente sensibles a las cefalosporinas, pero a su vez provocan una alta resistencia en la población, por lo cual sólo se podrán usar en infecciones muy

graves en las cuales el tratamiento inicial en el paciente no presente eficacia (67,90). Aunque los Streptococcus hayan sido sensibles a la gentamicina no se recomienda su uso debido a sus efectos tóxicos: a) Neurotoxicidad. Potencian el efecto de los relajantes musculares (succinilcolina), pudiendo ocasionar paro respiratorio; b) Ototoxicidad ; c) Nefrotoxicidad. Tubulopatía. Además, condicionan la aparición de cepas resistentes a ellos, en relación directa a la frecuencia con que se utilizan (30,40). Se ha reportado la acción combinada de antibióticos para St. viridans y St. beta hemolíticos grupo D (enterococos), en los cuales se recomienda el uso de penicilina con algún aminoglucósido, lo cual da por resultado un sinergismo en la acción inhibitoria (89). De acuerdo a la resistentes, los Streptococcus fueron resistentes a la ampicilina, cloxacilina, tetraciclina, estreptomycin y kanamicina. Para los Streptococcus como se explicó anteriormente es clásica la susceptibilidad a la ampicilina. La cloxacilina es un derivado semisintético de la penicilina por lo cual se debía esperar sensibilidad, aunque su uso solo se restringe a bacterias productoras de beta lactamasas. Las tetraciclinas se reportan como de susceptibilidad variable (80) o resistente (57), su acción predominante es bacteriostática. Los microorganismos resistentes a las tetraciclinas poseen -permeabilidad alterada- para el medicamento o declinan en su capacidad para concentrar el medicamento existente en el medio. A veces la resistencia a las tetraciclinas se encuentra bajo control genético de un plásmido transmisible mediante conjugación, a veces se encuentra bajo control cromosómico (49). La resistencia a kanamicina esta mediada

por plásmidos transmisibles y resulta en inactivación enzimática del medicamento. A las mutantes con resistencia cromosómica les falta una proteína sobre la subunidad 30S del ribosoma que no permite que se incerte el medicamento (49). Respecto a la resistencia de estreptomycin, todas las cepas microbianas producen mutantes cromosómicas resistentes a la estreptomycin con relativa frecuencia. De manera característica, las mutantes cromosómicas tienen baja resistencia, la resistencia mediada por plásmidos es alta como resultante de la destrucción enzimática del medicamento (enzimas adenilantes, fosforilantes o acetilantes) (49).

En cuanto a los *Staphylococcus*, los *S. aureus* presentaron susceptibilidad a cefalotina, cefotaxima, lincomicina, eritromicina, gentamicina y trimetoprim-sulfametoxazol. Debido a la producción de beta lactamasas (penicilinasas) por parte de los *Staphylococcus*, la cual destruye la acción de penicilina y ampicilina, sólo se recomienda el uso de penicilinas resistentes a las penicilinasas como la oxacilina. En nuestro estudio la cloxacilina fue resistente a los *Staphylococcus*, esto nos hace pensar que tal vez la cloxacilina no fue muy estable y perdió actividad inhibitoria. Esto se concluye puesto que la cloxacilina se prefiere como medicamento de primera elección debido a su buena absorción que permite lograr concentraciones sanguíneas terapéuticas en contra de los *Staphylococcus*. (8,12,25,29,33,37,46,71). Como alternativa se recomienda el uso de cefalosporinas, las cuales no se inactivan con penicilinasas. La cefalotina resiste mejor la inactivación que otras cefalosporinas

(pueden producir una cefalosporinasa o lactamasa beta). No se asegura la penetración de la droga en infecciones del SNC. (24,28). La gentamicina combinada con penicilinas estafilococales como la cloxacilina proporcionan sinérgismo y es recomendada como tratamiento inicial en endocarditis (12,28,37,71,77). La eritromicina también es recomendada, aún incluso en los S. aureus resistentes a la penicilina (28,78). La lincomicina se parece a la eritromicina en su modo de acción por lo cual se recomienda su uso (8,24,28,49). El trimetoprim-sulfametoxazol se ha reportado sensible a los S. aureus, pero no se recomienda su uso en serias infecciones estafilococales, puesto que enzimas β -lactámicas tienen propiedades bioquímicas similares a plásmidos que codifican la resistencia a la enzima dihidrofolato reductasa de trimetoprim, efectuandose una reacción cruzada (28,49,81). De acuerdo a la resistencia, los S. aureus presentaron resistencia a: Penicilina, ampicilina, cloxacilina, estreptomycin, tetraciclina, kanamicina. La cloxacilina aunque en nuestro estudio presentó resistencia, se atribuye a una alterada estabilidad por lo cual disminuyó su actividad inhibitoria. Los Staphylococcus son resistentes a la penicilina y la ampicilina debido a que son productores de β -lactamasas las cuales abren el anillo β -lactámico por el enlace -C-N- formandose entonces el ácido D-bencilpeniciloico microbiológicamente inactivo. El control genético de esta enzima en los Staphylococcus radica en un plásmido que es transmisible a otros Staphylococcus mediante la transducción. Recientemente se ha demostrado transferencia conjugativa de plásmido de DNA de St. faecalis a S. aureus. S.

epidermidis a S. aureus y de S. aureus a S. aureus (28,49,70,77). La resistencia a tetraciclina, estreptomina y kanamicina son también mediados por plásmidos y su modo de acción es igual a la explicada en los Streptococcus.

En contraste con los S. aureus, S. epidermidis presentó sensibilidad a tetraciclina y resistencia bacteriana tanto a eritromicina como a lincomicina. No se recomienda el uso de tetraciclinas debido a su toxicidad, la droga se deposita en estructuras óseas y en los dientes particularmente durante la vida fetal, y los primeros 6 años de vida. Además este medicamento se ha reportado como resistente y el crecimiento excesivo de Staphylococcus en el intestino durante la terapéutica puede dar lugar a enterocolitis y trastornos gastrointestinales (náuseas, vómito, diarrea) (25,49). La resistencia bacteriana a eritromicina y lincomicina puede estar bajo control de los plásmidos y puede hallarse asociada con la falta de un receptor de proteínas sobre la subunidad del ribosoma 50S (49).

Como se pudo observar los Staphylococcus presentaron una mayor resistencia a los antibióticos en general. Esto tiene importancia debido a que se podrá facilitar el desarrollo de estas bacterias en el tracto respiratorio superior causando o agravando serias infecciones y dificultando su tratamiento.

7.0 CONCLUSIONES

- En este estudio las bacterias que fueron aisladas del tracto respiratorio superior de una población infantil fueron: *St. beta hemolíticos* no pertenecientes al grupo A (35.15%), *St. alfa hemolíticos* ó *St. viridans* (28.48%), *St. beta hemolíticos* pertenecientes al grupo A ó *St. pyogenes* (15.78%), *S. epidermidis* (6.67%), *St. pneumoniae* (6.06%), *S. aureus* (4.24%), *B. catarrhalis* (1.82%), *C. pseudodiphtheriae* (1.21%) y *K. pneumoniae* (0.61%).
- Las bacterias Gram-positivas predominaron en los aislamientos, dentro de estas el *St. pyogenes* es el más importante en considerar puesto que es constante e incidente en la población. Así los *St. pyogenes* son las bacterias potencialmente patógenas con mayor tendencia a producir infección transmisible y diseminarse fácilmente en la población infantil estudiada.
- Un factor importante en el desarrollo de microorganismos potencialmente patógenos como se pudo comprobar fue el clima en las diferentes épocas del año. Los *St. pyogenes* a pesar de que son constantemente aislados en los muestreos, en la temporada de primavera aumentó su aislamiento del tracto respiratorio superior, influenciando el desarrollo de estos organismos los cambios de temperatura comunes en esta época. Para los *St. pneumoniae* también existió un marcado desarrollo de estas bacterias en la temporada invernal, parece ser que el frío provoca un tipo de estrés el cual permite que el microorganismo se desarrolle favorablemente.

- Con respecto a las bacterias patógenicas aisladas, los St. pyogenes presentaron resistencia a: cloxacilina (79.17%), ampicilina (72.20%), tetraciclina (70.0%), estreptomycin (65.0%), kanamicina (55.0%). Siendo sensibles a cefotaxima (100%), cefalotina (95.85%), penicilina (88.67%), gentamicina (83.33%), lincomicina (72.73%), Trimetroprim-sulfametoxazol (71.4%) y eritromicina (54.54%).

Los St. pneumoniae presentaron resistencia a: kanamicina (62.5%), cloxacilina (60.0%), estreptomycin (57.14%), ampicilina (55.56%), tetraciclina (55.56%). Siendo sensible a cefotaxima (100%), lincomicina (100%), cefalotina (90.0%), penicilina (83.33%), eritromicina (75.0%), Trimetroprim-Sulfametoxazol (66.67%) y gentamicina (60.0%).

Los S. aureus presentaron resistencia a: ampicilina (100%), tetraciclina (100%), penicilina (66.67%), estreptomycin (66.67%), kanamicina (66.67%), cloxacilina (60.0%). Siendo sensible a: Trimetroprim-Sulfametoxazol (80.0%), cefalotina (75.0%), lincomicina (66.67%), eritromicina (60.0%). Cefotaxima en estas cepas no mostró, ni resistencia ni sensibilidad.

- De acuerdo a las propiedades inhibitorias de los antibióticos hacia las bacterias, acción farmacológica y experiencia clínica previamente reportada, se recomiendan los siguientes agentes antimicrobianos para los Streptococcus. como primera elección se encuentran las penicilinas (penicilina G procaínica o ampicilina), si hay alergia a la penicilina se usa eritromicina, lincomicina ó Trimetroprim-Sulfametoxazol.

En infecciones muy graves en la cual el tratamiento inicial en el paciente no presente eficacia, se podrá usar la cefalotina ó la cefotaxima.

Para los S. aureus se recomienda como antibiótico de primera elección a la cloxacilina sólo o en combinación con gentamicina, y como alternativa se usa la cefalotina, eritromicina o lincomicina.

Para los S. epidermidis se recomienda el uso de: cloxacilina sólo o en combinación con gentamicina, y como alternativa se usa la cefalotina o la cefotaxima.

- Como se pudo observar los Staphylococcus pueden llegar a ocasionar problemas serios en el tracto respiratorio superior ya que son bacterias oportunistas y de restringido tratamiento.

B. O REFERENCIAS:

1. ALEXANDER J.B., GIACOIA G.P. (1978). Early onset nonenterococcal group D streptococcal infection in the newborn infant. *J. Pediatr.* 93: 489-490.
2. ARBUTHNOTT J.P., COLEMAN D.C., AZAVEDO J.S. (1990). Staphylococcal toxins in human disease. *Journal of Applied Bacteriology Supplement*. 101S-107S.
3. ARREDONDO J.L.G., ESPINOZA L.E., ZEPEDA H. (1987). Infecciones por Haemophilus influenzae. Problema actual en pediatría. *Bol. Méd. Hosp. Inf. Méx.* 44: 777-785.
4. BAIRD-PARKER A.C. (1990). The Staphylococci an introduction. *Journal of Applied Bacteriology Supplement*. 1s-8s.
5. BARNES P.F., AREVALO C. (1987). Six Cases of Mycobacterium tuberculosis Bacteremia. *J. Infect. Dis.* 156: 377-379.
6. BARNES P.F., LEEDOM J.M., CHAN L.S., WONG S.F., SHAH J., VACHON L.A., OVERTURF G.D., MODLIN R.L. (1988). Predictor of Short-Term Prognosis in Patient with Pulmonary Tuberculosis.. *J. Infect. Dis.* 158: 366-371.
7. BARRIDGE B.D., BISHR M., KAHN F., ALLEN J.L. (1988). Experimental arthritis induced by atypical strains of Streptococcus pyogenes. *J. Med. Microbiol.* 27: 23-31.
8. BAXTER R., CHAPMAN J., DREW W.L. (1990). Comparison of Bactericidal Activity of Five Antibiotics against Staphylococcus aureus. *J. Infect. Dis.* 161: 1023-1025.
9. Beltran D.A. (1987). Estudio de St. β hemolítico del grupo A (Identificación no serológica) y Staphylococcus aureus coagulasa positiva a partir de exudados faríngeos obtenidos

de la población de la zona metropolitana norte que acude al hospital 10 de octubre del I.S.S.S.T.E. Tesis. México.

10. BRAVO T.C. (1987). Biología molecular de Bordetella pertussis. Bol. Méd. Hosp. Inf. Méx. 44: 51-57.
11. BRYAN A.H., BRYAN C.A., BRYAN C.G. (1978). Bacteriología principios y practicas. Editorial C.E.C.S.A. Sexta edición. Impreso en México.
12. CARRILLO M.L.R. (1982). Neumonías bacterianas en niños. Revista Médica. IMSS. 20: 560-562.
13. CHAPMAN A.J.Jr., MUSER D.M., JONSSON S., CLARRIDGE J.E., WALLACE R.J.Jr. (1985). Development of Bactericidal Antibody Duryng Branhamella catarrhalis Infection. J. Infect. Dis. 151: 878-882.
14. CHRISTENSEN G.D., BADDOUR L.M., MADISON B.M., PARISI J.T., ABRAHAM S.N., HASTY D.L., LOWRANCE J.H., JOSEPHS J.A., SIMPSON W.A. (1990). Colonial Morphology of Staphylococci on Memphis Agar: Phase Variation of Slime Production, Resistance to β -Lactam Antibiotics, and Virulence. J. Infect. Dis. 161: 1153-1160.
15. CLYNE M., AZAVEDO J., CARLSON E., ARBUTHNOTT J. (1988). Production of Alpha-Hemolysin by Staphylococcus aureus Strains Associated with Toxic Shock Syndrome. J. Clin. Microbiol. 26: 535-539.
16. COWAN S.T., STEEL K.J. (1982). Manual para Identificación de Bacterias de Importancia Médica. Editorial C.E.C.S.A. Segunda edición. Impreso en México.

17. DAGAN R., FERNER M., SHEINIS M., ALKAN M., KATZENELSON. (1987). An Epidemic of Penicillin-Tolerant Group A Streptococcal Pharyngitis in Children Living in a Closed Community with Erythromycin. *J. Infect. Dis.* 158: 514-516.
18. DALL L., HERNDON B. (1989). Quantitative Assay of Glycocalyx Produced by Viridans Group Streptococci That Cause Endocarditis. *J. Clin. Microbiol.* 27: 2039-2041.
19. DARLING C.L. (1975). Standardization and Evaluation of the CAMP Reaction for the Prompt, Presumptive Identification of Streptococcus agalactiae (Lancefield Group B) in Clinical Material. *J. Clin. Microbiol.* 1: 171-174.
20. DAVIS B.D., DULBECCO R., EISEN H.N., GINSBERG H.S., WOOD W.B., Mc CARTY M. (1983). Tratado de Microbiología. Salvat editores. Segunda edición. Impreso en Barcelona España.
21. DEIGHTON M.A., BALKAU B. (1990). Adherence Measured by Microtiter Assay as a Virulence Marker for Staphylococcus epidermidis Infections. *J. Clin. Microbiol.* 28: 2442-2447.
22. DOERN G.V., TUBERT T. (1987). Effect of Inoculum Size on Results of Macrotube Broth Dilution Susceptibility Test with Branhamella catarrhalis. *J. Clin. Microbiol.* 25: 1576-1578.
23. EDWARDS K.M., BRADLEY R.B., DECKER M.D., PALMER P.S., SAVAGE J.V., TAYLOR J.C. DUPONT W.D., HAGER C.C., WRIGHT P.F. (1989). Evaluation of a New Highly Purified Pertussis Vaccine in Infants and Children. *J. Infect. Dis.* 160: 832-837.
24. ENG R.H.K., BISHBURG E., SMITH S.M., SCADUTTO P. (1987). Staphylococcus aureus Bacteremia During Therapy. *J. Infect. Dis.* 155: 1331-1335.

25. ETIENNE J., BRUN Y., EL SOLH N., DELORME V., MOUREN C., BES M., FLEURETTE J. (1988). Characterization of Clinically Significant Isolates of Staphylococcus epidermidis from Patients with Endocarditis. J. Clin. Microbiol. 25: 813-817.
26. FACKLAM R.R., PADULA J.F., WORTHAM E.C., COOKSEY R.C., ROUNTREE H.A. (1979). Presumptive Identification of Group A,B, and D Streptococci on Agar Plate Media. J. Clin. Microbiol. 9: 865-872.
27. FERGUSON M.A., TODD J.K. (1990). Toxic Shock Syndrome Associated with Staphylococcus aureus Sinusitis in Children. J. Infect. Dis. 161: 953-955.
28. FILLOY L., BORJAS E., SIERRA A. (1981). Susceptibilidad a los antimicrobianos de 2,060 cepas de diferentes bacterias aisladas en procesos infecciones de niños. Bol. Méd. Hosp. Infant. Méx. 38: 13-21.
29. FISCHETTI V.A. (1991). Streptococcal M protein. Scientific American. 32-39.
30. GAMES J.E. (1981). Aminoglucósidos. Revista médica. IMSS. 19: 584-586.
31. GIEBINK G.S., QUIE P.G. (1977). Comparison of Otitis Media Due to Types 3 and 23 Streptococcus pneumoniae in the Chinchilla Model. J. Infect. Dis. Supplement. 135: S191-S195.
32. GILL V.J., SELEPAK S.T., WILLIAM E.C. (1983). Species Identification and Antibiotic Susceptibilities of Coagulase-Negative Staphylococci Isolated from Clinical Specimens. J. Clin. Microbiol. 18: 1314-1319.

33. GONZALES S.N., TORRES T.A.N., GOMEZ B.D. (1988). *Infectología Clínica Pediatrica*. Editorial Trillas. Cuarta edición. Impreso en México.
34. GRANOFF D.M., BASDEN M. (1980). Haemophilus influenzae Infections in Fresno Country, California: A Prospective Study of the Effects of Age, Race, and Contact with a Case on Incide of Disease. *J. Infect. Dis.* 141: 40-46.
35. GRAVES A.M. (1987). Usefulness of the combination erythromycin/sulfisoxazole in the tratment of acute otitis media in children. *Rev.Fund. José Maria Vargas.* 11: 5-9.
36. GRAY Y.G. (1972). *Witton's Microbiología*. Editorial C.E.C.S.A. Tercera edición. Impreso en México.
37. GUISCAFRE H., MUÑOS O., GUTIERREZ G. (1987). Normas para el tratamiento de las infecciones respiratorias agudas. *Bol. Méd. Hosp. Infant. Méx.* 44: 58-64.
38. GUTHRIE R., BAKENHASTER K., NELSON R., WOSKOBNICK R. (1988). Branhamella catarrhalis Sepsis: A Case Report and Review of the Literature. *J. Infect. Dis.* 158: 907-908.
39. GUTIERREZ G., MARTINEZ M., GUISCAFRE H., GOMEZ G., PENICHE A., MUÑOS O. (1986). Encuesta sobre el uso de antimicrobianos en las enfermedades respiratorias agudas en la población rural mexicana. *Bol. Méd. Hosp. Infant. Méx.* 43: 761-767.
40. HAAGEN I.A., HEEZIUS H.C., VERKOOYEN R.P., VERHOEF J. (1990). Adherence of Peritonitis-Causing Staphylococci to Human Peritoneal Mesothelial Cell Monolayers. *J. Infect. Dis.* 161: 266-273.

41. HALPERIN S.A., FERRIERI P., GRAY E.D., KAPLAN E.L., WANNAMAKER L.W. (1987). Antibody Response to Bacteriophage Hyaluronidase in Acute Glomerulonephritis After Group A Streptococcal Infection. *J. Infect. Dis.* 158: 253-261.
42. HEBERT G.A., HANCOCK G.A. (1985). Synergistic Hemolysis Exhibited by Species of Staphylococci. *J. Clin. Microbiol.* 22: 409-415.
43. HENNY F.C., MULDER J.J., LAMPE A.S., VAN DER MEER J.W.M. (1984). Branhamella catarrhalis Septicemia in a Granulocytopenic Patient. *Infection.* 12: 208-209
44. HERNANDEZ J.L.S., NUNLEY D., HOLTSCLOW-BERK S., BERK S.L. (1988). Selective Medium with Dnase Test Agar and a Modified Toluidine Blue O Technique for Primary Isolation of Branhamella catarrhalis in Sputum. *J. Clin. Microbiol.* 26: 405-408.
45. HINER E.E., FRASCH C.E. (1988). Spectrum of Disease Due to Haemophilus influenzae Type b Occurring in Vaccinated Children. *J. Infect. Dis.* 158: 343-348.
46. IMMERMANN R.P., GREENMAN R.L. (1987). Toxic Shock Syndrome Associated with Pyomyositis Caused by a Strain of Staphylococcus aureus that Does not Produce Toxic-Shock-Syndrome Toxin-1. *J. Infect. Dis.* 156: 505-507.
47. Informe Epidemiológico Anual (1978). *Salud Publica de México.* 22: 289-346.
48. JABER L.F.B., DELGADO R.M. (1981). Microbiología Médica. Asociación Mexicana de Profesores de Microbiología y Parasitología en Escuelas de Medicina. A.C. Méx. D.F.

49. JAWETZ E., MELNICK J.M., ADELBERG E.A. (1983). Microbiología Médica. El Manual Moderno. Decima edición. Méx. D.F.
50. KADIVAL G.V., SAMUEL A.M., MAZARELO T.B.M., CHAPARAS S.D. (1987). Radioimmunoassay for Detecting Mycobacterium tuberculosis Antigen in Cerebrospinal Fluids of Patient with Tuberculous Meningitis. J. Infect. Dis. 155: 608-611.
51. KLINE M.W., MASON E.O., KAPLAN S.L. (1987). Outcome of Heteroresistant Staphylococcus aureus Infections in Children. J. Infect. Dis. 156: 205-208.
52. KRIEG N.R. (1984). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Editorial Board and Trustees. Impreso en USA.
53. KRISH G., BEAVER W., SARUBBI F., VERGHESE A. (1989). Corynebacterium xerosis as a Cause of Vertebral Osteomyelitis. J. Clin. Microbiol. 27: 2869-2870.
54. LAMARTINE P.J. (1987). Acute purulent pharyngoamygdalitis: treatment with lincomycin. Arq. Bras. Med. 61: 421-423.
55. LAUER B.A., RELLER L.B., MIRRETT S. (1983). Effect of Atmosphere and Duration of Incubation on Primary Isolation of Group A Streptococci from Throat Cultures. J. Clin. Microbiol. 17: 338-340.
56. LEE M.K. (1981). Otitis media. Conductas generales. Revista Médica. IMSS. 19: 586-589.
57. LENNETTE E.H., BALOWS A., HAUSTER W.J., TRUANT J.P. (1982). Manual de Microbiología Clínica. Editorial Médica Panamericana. Tercera edición. Buenos Aires Argentina.

58. LONG S.S., WELKON C.J. CLARK J.L. (1990). Widespread Silent Transmission of Pertussis in Families: Antibody Correlates of Infection and Symptomatology. *J. Infect. Dis.* 161: 480-486.
59. MAC FADDIN J.F. (1980). Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica. Editorial Panamericana S.A. Impreso en Argentina.
60. MARCOWITZ S.M., VEAZEY J.M., MACRINA F.L., MAYHALL C.G., LAMB V.A. (1980). Sequential Outbreaks of Infection due to Klebsiella pneumoniae in a Neonatal Intensive Care Unit: Implication of a Conjugative R Plasmid. *J. Infect. Dis.* 142: 106-112.
61. McMURRAY D.N., CARLOMAGNO M.A., MINTZER C.L. TETZLAFF C.L. (1985). Mycobacterium bovis BCG Vaccine Fails to Protect Protein-Deficient Guinea Pigs against Respiratory Challenge with Virulent Mycobacterium tuberculosis. *Infection and Immunity.* 50: 555-559.
62. MILLER J.M. (1984). Techniques Manual Isolation and Identification of Streptococci. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service Centers for Disease Control. Atlanta, Georgia.
63. MOXON E.R., ZWAHLEN A., RUBIN L.G., HOISETH S., CONNELLY C. (1984). Pathogenesis of Meningitis: Experimental Studies on the Molecular Basis of Haemophilus influenzae Infection. *Infection Suppl.* 1. 12: S23-S27.
64. MUSER D.M., CHAPMAN A.L., GOREE A., JONSSON S., BRILES D., BAUGHN R.E. (1988). Natural and Vaccine-Related Immunity to Streptococcus pneumoniae. *J. Infect. Dis.* 154: 245-256.

65. MUSHER D.M., WATSON D.A., BAUGHN R.E. (1990). Does Naturally Acquired IgG Antibody to Cell Wall Polysaccharide Protect Human Subjects against Pneumococcal Infection?. *J. Infect. Dis.* 161: 736-740.
66. NEILL R.J., FANNING G.R., DELAHOZ F., WOLF R., GEMSKI P. (1990). Oligonucleotide Probes for Detection and Differentiation of Staphylococcus aureus Strains Containing Genes for Enterotoxins A,B, and C and Toxic Shock Syndrome Toxin 1. *J. Clin. Microbiol.* 28: 1514-1518.
67. NEU H.C. (1987). New Antibiotics: Areas of Appropriate Use. *J. Infect. Dis.* 155: 403-417.
68. NOVOTNY P. (1990). Pathogenesis in *Bordetella* Species. *J. Infect. Dis.* 161: 581-582.
69. O'CONNOR S.P., CLEARY P.P. (1987). In Vivo Streptococcus pyogenes C5a Peptidase Activity; Analysis Using Transposon-and Nitrosoguanidine-Induced Mutants. *J. Infec. Dis.* 156: 495-504.
70. OLARTE J. (1978). Quimioterapia de las infecciones y resistencia bacteriana. *Bol. Méd. Hosp. Infant.* 35: 295-309.
71. OPAL S.M., JOHNSON-WINEGAR A.D., CROSS A.S. (1988). Staphylococcal Scalded Skin Syndrome in Two Immunocompetent Adults Caused by Exfoliatin B-Producing Staphylococcus aureus. *J. Clin. Microbiol.* 26: 1283-1286.
72. PATRICK C.C., PLAUNT M.R., SWEET S.M., PATRICK G.S. (1990). Defining Staphylococcus epidermidis Cell Wall Proteins. *J. Clin. Microbiol.* 28: 2757-2760.

73. PATTERSON L.E.R., BAKER C.J., RENCH M.A., EDWARDS M.S. (1988). Fibronectin and Age-Limited Susceptibility to Type III, Group B Streptococcus. J. Infect. Dis. 158: 471-473.
74. PINNEY A.M., WIDDOWSON J.P. (1977). Characteristics of the Extracellular M Proteins of Group-A Streptococci. J. Med. Microbiol. 10: 415-429.
75. RODRIGUEZ R.S. (1981). Glomerulonefritis aguda, fiebre escarlatina e impétigo. Problemas persistentes. Bol. Méd. Hosp. Infant. Méx. 38: 9-11.
76. RODRIGUEZ R.S., SANCHEZ C.S., GONZALEZ C.T. (1987). La bacteriología y respuesta al tratamiento con eritromicina-sulfisoxazol en niños con otitis media aguda. Bol. Méd. Hosp. Infant. Méx. 44: 728-734.
77. SCHABERG D.R., POWER G., BETZOLD J. (1985). Conjugative R Plasmids in Antimicrobial Resistance of Staphylococcus aureus Causing Nosocomial Infections. J. Infect. Dis. 152: 43-49.
78. SCHLEIFER K.H., KROPPENSTEDT. (1990). Chemical and molecular classification of Staphylococci. Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement. 9S-24S.
79. SKELTON S.K., WONG K.H. (1990). Simple, Efficient Purification of Filamentous Hemagglutinin and Pertussis Toxin from Bordetella pertussis by Hydrophobic and Affinity Interaction. J. Clin. Microbiol. 28: 1062-1065.
80. SMANIA A. Junior. (1988). Susceptibilidad de Streptococcus agalactiae a agentes antimicrobianos. Rev. Bras. Patol. Clin. 24: 6-9.

81. THOMPSON J.S., GATE-DAVIS D.R., YONG D.T. (1983). Rapid Microbiochemical Identification of Corynebacterium diphtheriae and Other Medically Important Corynebacteria. J. Clin. Microbiol. 18: 928-929.
82. TREJO J.A., GUISCAFRE H.G., GARCIA M.N., GONZALEZ S.A., MUÑOS O. (1981). Sensibilidad de Haemophilus influenzae a la ampicilina y al cloranfenicol en niños de la ciudad de México. Bol. Méd. Hosp. Infant. Méx. 38: 79-86.
83. TRUJILLO H. (1989). Diagnóstico, tratamiento y prevención de la Tuberculosis infantil. Revista de enfermedades infecciosas en Pediatría. 3: 9-11.
84. TUOMANEN E., WEISS A. (1985). Characterization of Two Adhesins of Bordetella pertussis for Human Ciliated Respiratory-Epithelial Cells. J. Infect. Dis. 152: 118-125.
85. VANECHOUTTE M., VERSCHRAEGEN G., CLAEYS G., VAN DEN ABEELE A.M. (1988). Selective Medium for Branhamella catarrhalis with Acetazolamide as a Specific Inhibitor of Neisseria spp. J. Clin. Microbiol. 26: 2544-2548.
86. VAUDAUX P., PITTET D., HAEBERLI A., HUGGLER E., NYDEGGER U.E., LEW D.P. (1989). Host Factors Selectively Increase Staphylococcal Adherence on Inserted Catheters: A Role for Fibrinectin and Fibrinogen o Fibrin. J. Infect. Dis. 160: 865-875.
87. VERGHESE A., BERRO E., BERRO J., FRANZUS B.W. (1990). Pulmonary Clearance and Phagocytic Cell Response in a Murine Model of Branhamella catarrhalis Infection. J. Infect. Dis. 162: 1189-1192.

88. VOGEL L.C., BOYER K.M. (1980). Prevalence of type-specific group B streptococcal. *The Journal Pediatrics*. 96: 1047-1051.
89. WATANAKUNAKORN C., GLOTZBECKER C. (1977). Synergism with aminoglycosides of penicillin, ampicillin and vancomycin against non-enterococcal group-D Streptococci and viridans Streptococci. *J. Med. Microbiol.* 10: 133-138.
90. ZAVALA I.T. (1988). Efficacy of cefotaxime in the treatment of lower respiratory tract infections in adults. *Invest. Méd. Int.* 14: 233-236.