

UNIVERSIDAD MOTOLINIA

Con Estudios Incorporados a la Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA



SENSIBILIDAD A LOS ANTIBIOTICOS DE MAS DE
2.000 CEPAS AISLADAS DE DIFERENTES PRO-
CESOS INFECCIOSOS EN NIÑOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

P R E S E N T A :

ARACELI SIERRA AMOR



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 esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

Esta tesis se elaboró en el Hospital Infantil de México en el Laboratorio de Bacteriología del Depto. Central, bajo la dirección del Dr. Leoncio Filloy Yagüe, Jefe de estos servicios.

A mis padres y hermanos

A mis maestros.

A mi abuelita, tíos y amigos.

INDICE

INTRODUCCION.

CAPITULO 1

1.1. Generalidades	3
1.2. Pruebas de Dilución	9
1.3. Pruebas de Difusión	13
1.4. Método de Kirby-Bauer	15

CAPITULO 2

2.1. Material	19
2.2. Método	24
2.3. Prueba de susceptibilidad	26

CAPITULO 3

Resultados	32
------------	----

CAPITULO 4

Discusión	50
-----------	----

CAPITULO 5

Resumen y Conclusión	65
Bibliografía	71

INTRODUCCION

Los estudios de la susceptibilidad de cierto número de bacterias de una misma especie frente a varios antibióticos, son de suma utilidad cuando se presenta una infección cuya etiología se conoce. A esta clase de estudios se les denomina "antibiograma de especie".

Los resultados de estas pruebas son de gran ayuda para el manejo terapéutico en pacientes con infección bacteriana; ya que existe continuamente cambio en el comportamiento de las bacterias frente a los antibióticos.

Este cambio es consecuencia del uso indiscriminado de los antibióticos para el tratamiento de procesos infecciosos, ocasionando con ello mutaciones genéticas en las bacterias.

Dada la necesidad de conocer en determinado momento la susceptibilidad

2.

a los antibióticos de cierta bacteria, actualmente estos estudios son de gran orientación para la terapéutica, puesto que las pruebas "in vitro" sirven para medir la capacidad de un fármaco para inhibir el desarrollo bacteriano, así como la concentración necesaria para producirla. Por lo tanto se puede saber que tan sensible o resistente es la bacteria para determinado antibiótico, con lo que se puede orientar al médico, al considerar el nivel hemático de dicho fármaco.

Es recomendable identificar al germen causal de la infección y practicarle la prueba de la susceptibilidad, que comunmente se conoce como antibiograma, el cual se puede llevar a cabo por distintos métodos.

Este trabajo tiene como objetivo, determinar la susceptibilidad de las bacterias, de 2073 cepas, frente a los antibióticos por medio de pruebas "in vitro", utilizando la técnica de Kirby-Bauer y colaboradores, obteniendo de esta forma datos estadísticos que sean de utilidad al médico en la terapia.

CAPITULO 1

1.1. Generalidades.

La quimioterapia puede definirse como la administración de sustancias que poseen acción antimicrobiana. En la historia de la quimioterapia existen tres períodos:

En el primer período se desarrolló el uso de los alcaloides, esto fue en 1619, cuando se curó el paludismo usando extracto de la corteza de la cinchona. También pertenece a este período la emetina.

El segundo período comenzó con el descubrimiento de los compuestos sintéticos por Salvarsan y Paul Erlich en 1909. La creencia de que las bacterias no eran susceptibles a ningún medicamento que no fuera tóxico para el

cuerpo humano, desapareció con el descubrimiento del Pronostil (1); en 1935 Trefouel sugirió que la actividad desarrollada por Pronostil era debida a la liberación del compuesto para-amino-bencensulfonamida, lo cual fue comprobado por Fuller (2) en 1937, con ésto se desarrolló el uso de la sulfonamida.

Después aparecieron la sulfapiridina, el sulfatiazol y la sulfadiazina.

El tercer periodo fue el de los antibióticos, a partir de 1940, cuando por primera vez se le dió importancia a las propiedades que presentaba el extracto del cultivo de Penicillun notatum, realizado por Alexander Fleming en 1929 (3). Después de la penicilina, se obtuvieron otros antibióticos como la estreptomina en 1944, eritromicina en 1952, etc. (1).

-
1. Spring, M. A brief survey of the history of the antimicrobial agents. Bull. N.Y. Acad. Med. 51-9: 1013-1015, (1975).
 2. Fuller, A.T. Is p-aminobenzensulphonamide the active agent in pronostil therapy. Lancet 1: 194-198, (1937).
 3. Chain, E., H.W. Florey, A.D. Gardener, N.G. Heatley, M.A. Jennings, J. Orr-Ewing and A.G. Sanders. Penicillin as chemotherapeutic agent. Lancet 2: 226-228, (1940).

El nombre de antibiótico fue usado la primera vez por Waksman en 1942. Su identificación dice que son sustancias producidas por microorganismos capaces de producir efectos antagónicos, en el crecimiento o en la vida de otros organismos, sin causar graves daños en la mayoría de las células de los tejidos del cuerpo humano.

Actualmente las sustancias que se usan en la clínica y que se conocen como antibióticos, son capaces de realizar un efecto sistemático de exterminio y son producidas por microorganismos, aunque también los hay sintéticos.

El valor antimicrobiano de un fármaco, es de acuerdo con la acción que ejerce sobre un microorganismo específico para eliminarlo del sitio de la infección. Este efecto puede producirse al matar la bacteria o interfiriendo su multiplicación. Es por ello que en el manejo de una buena quimioterapia, al presentarse infección bacteriana, las pruebas de susceptibilidad "in vitro", son instrumento de gran utilidad para elegir el agente terapéutico más adecuado en el tratamiento de la infección. Sin olvidar que se tomará en cuenta el nivel hemático alcanzado por el fármaco, puesto que "in vitro" puede utilizarse cualquier concentración, no siendo esto posible "in vivo".

La gran mayoría de las bacterias incrementan su resistencia a los antibió

ficos, especialmente cuando se hace frecuente el uso de ellos, como son las bacterias gram-negativas, (Escherichia coli, Klebsiella, Proteus, Serratia y Pseudomonas) (4). Esta resistencia se encuentra muy marcada en el Staphylococcus aureus, coagulasa positiva, hacia muchos antibióticos y es por eso la necesidad de practicar la prueba de susceptibilidad de manera frecuente.

El constante cambio que experimentan las bacterias frente a los antibióticos, es debido a la aparición de mutantes resistentes a los antibióticos, en determinada población bacteriana así, en un momento las mutantes resistentes pueden predominar sobre la población que es susceptible.

La aparición de esas mutantes, puede deberse a la transferencia del material genético, que proporciona la resistencia hacia varios antibióticos, para las bacterias receptoras. Esta transferencia se efectúa a través del factor R, de la bacteria resistente a la susceptible.

4. Finland, M. Changing Patterns of Susceptibility of Common Bacterial Pathogens to Antimicrobial Agents. Ann. Int. Med. 76: 1009-1036 (1972.)

Se deben tomar en cuenta otros puntos que influyen en la resistencia desarrollada por las bacterias. Así en un artículo publicado sobre la transferencia del factor R y la resistencia a los fármacos, por Susumu Mitsuhashi (4), se recordó que esta resistencia de las bacterias hacia los antibióticos, ha sido reorganizada a partir del desarrollo de una nueva terapia antimicrobiana.

Existen otras especies de bacterias que no requieren de antibiograma de rutina, ya que permanecen muchos años sensibles a determinado antibiótico, tal es el caso de la marcada susceptibilidad del Treponema pallidum, el Diplococcus pneumoniae y el Streptococcus pyogenes, hacia la penicilina (5). Tampoco es necesario practicar el antibiograma para las bacterias de la flora normal cuando se encuentran en su habitat o para aquellas que se sabe no son patógenas al hombre.

La selección de los antibióticos que se prueban depende de la clase de bacteria aislada, siendo conveniente que se prueben antibióticos con diferente espectro antimicrobiano, aunque muchas veces, las bacterias pueden presentar resistencia hacia un antibiótico y ser sensible a otro de espectro semejante.

5. Patersdorf, R. G. and J. C. Sherris. Methods and Significance of "in vitro" Testing of Bacterial Sensitivity to Drugs. Am. J. Med. 39:766-779 (1965).

Es por ellos que se prueban gran variedad de antibióticos, incluyendo varios del mismo grupo.

El espectro de un antibiótico indica la actividad que tiene frente a diversas especies bacterianas. De acuerdo con esto tenemos antibióticos de amplio espectro como: cloranfenicol, ampicilina, cefalosporina, gentamicina, etc. Los cuales actúan sobre gran número de familias de bacterias. En este estudio fueron probados antibióticos de espectro semejante, como es el caso de los aminoglucósidos Kanamicina, Gentamicina, y Amikacina; puesto que mientras para unos son resistentes ciertos microorganismos, para otros no.

Por estudios realizados, sabemos que muchas cepas que en un principio fueron sensibles a la gentamicina, ahora no lo son, en tanto la amikacina, otro aminoglucósido, es un antibiótico efectivo en infecciones severas, producidas por bacterias gram-negativas resistentes a la gentamicina (6).

La forma de conocer si un microorganismo es sensible o resistente a determinado antibiótico, es por medio de la concentración inhibitoria mínima (CIM)

-
6. Valdivieso, M. and G. Bodey. Amikacin Therapy of severe infections produced by gram-negative bacilli resistant to gentamicin. *Am. J. Med. Sci.* 273: 177-183 (1977).

dicha medida es la menor concentración de un antibiótico necesaria para inhibir el desarrollo bacteriano "in vitro".

Han sido muchas las pruebas utilizadas para medir la susceptibilidad de las bacterias frente a los antibióticos, llevándose a cabo por técnicas de dilución y difusión. Todas ellas como pruebas "in vitro" que son, están sujetas a variaciones de acuerdo con las condiciones bajo las cuales se realizan, por ejemplo: el tamaño del inóculo, el pH del medio o del tiempo de incubación. Debiéndose tener en cuenta todos estos factores para evitar errores. Por lo tanto el primer requisito para las pruebas de susceptibilidad "in vitro", es el estar adecuadamente estandarizadas y controladas para poder dar resultados reproducibles y así establecer un punto de referencia, al hacer la comparación con la respuesta clínica (5).

1.2 Pruebas de dilución.

Por medio de estas pruebas es fácil conocer la concentración inhibitoria mínima (CIM), debido a que se trabaja con diferentes concentraciones.

Esta prueba se puede realizar en medio sólido o líquido, en ambos el medio posee diluciones progresivas seriadas del antibiótico para después ser inoculado de una manera estándar y así incubarlo de 18 a 24 horas a temperatura adecuada.

Cumplido el tiempo de incubación, podrá ser observado el desarrollo bacteriano y por lo tanto saber cual es la concentración menor necesaria para inhibir el desarrollo.

Las pruebas de dilución son de gran utilidad, cuando es sabido por otras técnicas, que una cepa presenta susceptibilidad media frente a determinado antimicrobiano y en caso de que éste no sea tóxico, la dosis se podrá aumentar adecuadamente de acuerdo con los resultados presentados en la prueba.

Técnica de dilución en caldo.

En esta técnica se utilizan tubos con caldo nutritivo, por lo general caldo de Mueller-Hinton; los tubos son inoculados por diluciones seriadas de antibiótico, preparadas a partir de concentraciones estándar. En seguida los tubos son inoculados con una suspensión de bacterias que previamente fue incubada, para obtener el mismo número de microorganismos por ml., el cual debe ser de 10^4 .

Los tubos se incuban de 18 a 24 horas a 37°C y después de este periodo, se efectúan las lecturas, para determinar la CIM que estará dada por el tubo que no presente desarrollo bacteriano, lo cual se podrá saber al observar los tubos que no posean turbidez.

Técnica de dilución en placa.

En esta técnica se utiliza medio sólido de Mueller-Hinton y de igual forma que en la técnica de dilución en caldo, al medio se le incorporan diluciones seriadas de antibiótico. La inoculación de las bacterias, después de su incubación previa, puede hacerse por medio de un replicador, como el diseñado por Steers (7), teniendo la ventaja con ello de probar muchas cepas en una caja (alrededor de 25 a 30).

También por esta técnica, es posible observar la morfología colonial y así saber si no existe alguna contaminación, al distinguir otro tipo de colonias. La CIM se conoce fácilmente al no obtener desarrollo bacteriano en las cajas.

7. Steers, E.E.L., G.B. Foltz, J. Riden. An Inocular replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. *Antibiot. Chemoter.* 9: 307 (1959).

Requisitos en la prueba de dilución:

El éxito de las pruebas de dilución depende de ciertos requisitos que deben cumplirse al realizarlas, como son:

- 1) Usar sales puras de los antibióticos obtenidas del fabricante y no productos comerciales.
- 2) La potencia del antibiótico debe estar expresada en microgramos o en unidades internacionales por miligramo.
- 3) Una vez preparados los antibióticos, deben ser usados lo más pronto posible, conservándolos a temperatura de 5°C.
- 4) Cuando se preparan las soluciones deben ser usadas inmediatamente, debido a que la potencia disminuye en forma muy rápida en algunos antibióticos.
- 5) Hacer una buena selección de los antibióticos a probar.

Esta selección será de acuerdo con la clase de cepa y del sitio donde se asiló.

Las pruebas de dilución en medio sólido son usadas ampliamente, pues han demostrado una satisfactoria correlación con las pruebas desarrolladas en cal-

do (8). Ambos métodos de dilución son indicados y usados cuando se quiere obtener un dato cuantitativo de la susceptibilidad de alguna bacteria, frente a un nuevo antibiótico o para determinar la interpretación de los estándares en las pruebas de difusión (5).

En la práctica las pruebas de dilución no se usan en el laboratorio de rutina, como pruebas de susceptibilidad, por que son más caras que las pruebas de difusión y requieren de más tiempo, material y además mayor habilidad para su desarrollo.

1.3 Pruebas de difusión.

En las pruebas de difusión el organismo que se va a probar es colocado sobre un medio de agar, sobre el cual se va a difundir un quimioterapéutico al ser colocado un disco de papel impregnado con éste.

El principio de esta prueba es el que se utilizó primeramente para saber el susceptibilidad a los antibióticos utilizando pedazos de papel filtro impregna

8. Baur, A.W., C.E. Roberts, and W.M.M. Kirby. Single disc versus multiple disc and plate dilution techniques for antibiotics sensitivity testing. *Antibiot. Ann.* 159: 574 (1960).

5. Art. cta. pag. 7.

dos con antibióticos para medir la capacidad de éste frente a varios microorganismos, observándose que aparecía una zona de inhibición alrededor del disco donde se había difundido el antibiótico y para los gérmenes que había sido efectivo.

Las pruebas de difusión como pruebas de susceptibilidad a los antibióticos que son, deben llevarse a cabo únicamente con las bacterias que no puede predecirse la respuesta que presentaran frente a los antibióticos, dado la gran resistencia que han desarrollado.

El proceso de la difusión del antibiótico, es un tanto complicado, ya que éste puede ser alterado por infinidad de factores, incluyendo el contenido del antibiótico en el disco, la densidad del gel, la velocidad de difusión y, con algunos antibióticos, la concentración iónica del medio. También debe tomarse en cuenta la velocidad de crecimiento bacteriano, así como el tamaño del inóculo, puesto que influyen marcadamente en el tamaño de las zonas de inhibición.

Colocado el disco de antibiótico sobre la superficie de agar, comienza a difundirse al mismo tiempo que los microorganismos se multiplican de una forma logarítmica, así para los microorganismos que resultan sensibles al antibió-

tico, el desarrollo será inhibido en toda la superficie donde se alcance la concentración necesaria; fuera de esta zona el desarrollo bacteriano continúa observándose a simple vista. La CIM se obtiene cuando las áreas de inhibición se hacen constantes a una concentración del antibiótico (9).

A pesar de los puntos que se deben tomar en cuenta para realizar esta prueba, se puede obtener resultados reproducibles cuando la prueba queda adecuadamente estandarizada.

1.4 Método de Kirby-Bauer y colaboradores.

Un buen método de difusión es el desarrollado por Kirby-Bauer y colaboradores, el cual ha sido debidamente estandarizado para medir la susceptibilidad de las bacterias frente a los antibióticos; esta técnica fue elegida para llevar a cabo este trabajo.

9. Bauer, A.W., W.M. Kirby, and M.D. Turck. Antibiotics Susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45: 493-496 (1966).

En este método se utilizan discos individuales impregnados con cada antibiótico; en él, los diámetros de las zonas de inhibición producidos después de la noche de incubación, son leídos y medidos cuidadosamente, para después ser interpretados de acuerdo con los estándares previamente desarrollados para cada antibiótico (10).

Dichos estándares se han establecido de acuerdo con estudios en los que se obtuvo la relación entre las pruebas de dilución, tanto en tubo como en placa, con las pruebas de disco único; obteniéndose también una correlación con la CIM y los niveles sanguíneos alcanzados por los antibióticos.

El método de Kirby-Bauer fue desarrollado en la Universidad de Washington primeramente y ha probado ser satisfactorio para realizar la prueba a bacterias patógenas de rápido crecimiento, tanto gram-negativas, como gram-positivas; además de ser lo suficientemente reproducible para ser usado como instrumento de laboratorio (5). Se requiere de microorganismos de rápido desarrollo,

10. Barry, A.L., F. García, L.D. Thrupp. An Improved Single disk Method for testing the antibiotics Susceptibility of Rapidly growing pathogens. Am. J. Clin. Pathol. 53: 149-158 (1970).

porque el antibiótico se sigue difundiendo y sufre inactivación en periodos más largos de 24 horas,

La concentración de los discos de antibiótico han sido establecidas internacionalmente por la Food and Drug Administration, (F.D.A.), con el fin de que la prueba sea siempre reproducible. Así por ejemplo, se utiliza: Kanamicina 30 mg, Ampicilina 10 mg, Meticilina 5 mg, etc.

Los antibióticos que comunmente se usan para la prueba de los organismos gram-positivos, son: Penicilina G, Meticilina, Tetraciclina, Cloranfenicol, Estreptomicina, Eritromicina, Cefalosporina, Kanamicina y algunas veces Ampicilina.

Para los organismos gram-negativos se utilizan rutinariamente: Cloranfenicol, Estreptomicina, Tetraciclina, Kanamicina, Polimixina B, Ampicilina, Nitrofuranos, Cefalosporina y aminoglucósidos.

Tomando en cuenta los estándares ya establecidos, la interpretación del tamaño de la zona de inhibición es diferente para cada agente, puesto que no sólo influye la potencia del disco, como se había expresado anteriormente, sino también la difusión y solubilidad del antibiótico en el medio de Mueller-Hinton, que es utilizado en esta técnica y en el cual se comportan de diferente

18.

forma cada agente quimioterápico. En este medio se desarrollan con facilidad los microorganismos a los que se les practica la prueba, aunque para ciertas bacterias es necesario agregar al medio 5% de sangre de borrego o humana desfibrinada, o agregar los factores V y X de la sangre para los hemófilus.

Para toda clase de estudios de susceptibilidad, se deben usar cepas control cuya respuesta a los antibióticos, sea conocida, asegurando con ello una buena realización de la prueba.

CAPITULO 2

Material y Método.

2.1 Material .

1. Cajas de Petri de 15 x 100 mm .
2. Porta objetos de 25 x 75 mm .
3. Tubos de 13 x 100 mm .
4. Jeringa automática de 2 ml .
5. Matríz aforado de 100 ml .
6. Asas de platino.
7. Hisopos.
8. Sensidiscos.

9. Mechero
10. Pinzas
11. Estufa de cultivo.
12. Gradillas metálicas.
13. Autoclave.
14. Microscopio compuesto binocular.
15. Vela
16. Regla.

Reactivos.

1. Cloruro de Bario ($BaCl_2$).
2. Acido sulfúrico (H_2SO_4).
3. Agua destilada.
4. Cristal violeta.
5. Lugol.
6. Alcohol-acetona.
7. Safranina.

Medios de Cultivo.

1. Agar Tergitol 7 (Tergit 7 Agar) (BBL).

2. Agar chocolate.
3. Agar Sangre
4. Agar de Mueller-Hinton (Mueller-Hinton Agar) (BBL).
5. Caldo de cerebro-corazón (Brain-Heart Infusion) (BBL).
6. Agar Kligler (Kligler Iron Agar) (BBL).
7. Medio SIM (SIM Medium) (BBL).
8. Urea Q. P.
9. Caldo sacarosa rojo de Fenol (Phenol Red Sucrose Broth).
10. Medio citrato de Koser (Koser Citrate Medium) (BBL).

Sensidiscos de Antibióticos.

- | | | |
|----|---------------------|--------|
| 1. | Tetraciclina ----- | 30 mg |
| 2. | Cloranfenicol ----- | 30 mg |
| 3. | Kanamicina ----- | 30 mg |
| 4. | Neomicina ----- | 30 mg |
| 5. | Cefalosporina ----- | 30 mg |
| 6. | Ampicilina ----- | 10 mg |
| 7. | Gentamicina ----- | 10 mg |
| 8. | Carbencilina ----- | 100 mg |
| 9. | Amikacina ----- | 10 mg |

22.

10. Trimethoprim-sulfamethoxazole (STX) ----- 25 mg

11. Cloxacilina ----- 5 mg

12. Eritromicina ----- 15 mg

13. Penicilina ----- 10 Uni.

14. Lincomicina ----- 2 mg

Material Biológico.

Un total de 2,073 cepas aisladas de diversos procesos infecciosos en niños; la lista que se dá a continuación muestra el número de cepas aisladas para cada microorganismo:

<u>MICROORGANISMO</u>	<u>No. DE CEPAS AISLADAS</u>
a) <u>Staphylococcus aureus</u>	687
b) <u>Escherichi coli.</u>	445
c) <u>Klebsiella pneumoniae</u>	260
d) <u>Salmonella s.p.</u>	184
e) <u>Salmonella typhimurium</u>	131
f) <u>Proteus mirabilis</u>	84
g) <u>Pseudomonas aeruginosa</u>	76
h) <u>Shigella</u>	53
i) <u>Heamophilus influenzae</u>	52
j) <u>Proteus morgani i</u>	47
k) <u>Klebsiella-Aerobacter</u>	26
l) <u>Salmonella typhi</u>	16
m) <u>Proteus vulgaris</u>	12
	<u>2073</u>

2.2 Método.

Obtención de las cepas puras.

Las 2,073 cepas que fueron probadas en este estudio, se aislaron de varias clases de productos de niños encamados en las diferentes salas del Hospital Infantil de México, durante el año de 1978.

Al recibirse los productos, primeramente éstos son sembrados en los siguientes medios:

Agar Tergitol

Agar Chocolate

Agar Sangre

Una vez inoculadas y estriadas las cajas, éstas son llevadas a la estufa donde permanecieran 24 horas a 37°C. Las cajas de Agar chocolate se incuban de la misma forma, únicamente que en atmósfera parcial de CO₂.

Al día siguiente las cajas son examinadas y procesadas de acuerdo con el microorganismo que haya desarrollado. En el caso de bacilos gram-negativos, se hace frotis con tinción de Gram y pruebas bioquímicas para su identificación.

TABLA 2

RESULTADO DE LAS PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA DIFERENTES ESPECIES DE BACTERIAS

	Escherichia coli	Klebsiella pneumoniae	Klebsiella aerobacter	Proteus mirabilis	Proteus morganii	Salmonella	Shigella	Pseudomonas aeruginosa
Glucosa	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactosa	+	+	+	-	-	-	-	-
Sacarosa	+	+	+	-	-	-	-	-
Urea	-	+	+	+	+	-	-	+
Indol	+	-	-	-	+	-	+	-
Movilidad	+	-	+	+	+	+	-	+
H ₂ S	-	-	-	+	+	+	-	-
Citrato	-	+	+	+	+	+	-	+

Para efectuar la bioquímica es necesario tomar una colonia perfectamente aislada y con ella sembrar los tubos que contienen medio Kligler, medio SIM, medio citrato de Kosery Surraco. Los tubos ya sembrados son llevados a la estufa para ser incubados a 37°C por 24 horas. Al día siguiente de acuerdo con las características que presente la bioquímica, se podrá identificar al agente causal de la infección.

La tabla 2 muestra las características propias de cada bacteria, necesarias para su identificación. Los cambios a los que están sujetos los medios, son debido a las reacciones químicas que efectúan las bacterias con los carbohidratos presentes. Además también es posible observar movilidad, característica importante en ciertas bacterias.

En el tubo inclinado que contiene el agar Kligler, se conserva el cultivo puro de la colonia aislada y así obtenemos una cepa lista para efectuar la prueba de susceptibilidad.

Para la identificación del Staphylococcus aureus coagulasa positiva, primero se realizó una resiembra en medio S-110 de las colonias consideradas como sospechosas. Después de una noche de incubación, si se obtiene crecimiento en este medio específico, se procederá a efectuar la prueba de la coagulasa,

con lo cual se determina si efectivamente se trata de un Staphylococcus aureus coagulasa positiva.

2.3 Prueba de susceptibilidad.

El método a seguir para saber la susceptibilidad de las cepas puras, frente a los antibióticos, fue el descrito por Kirby-Bauer y colaboradores (9). En este método se siguen los pasos que se dan a continuación:

1. De la cepa aislada tomar unas cuantas colonias (de 5-10) con una asa, para llevarlas a un tubo que contiene 2 ml de caldo nutritivo (caldo de infusión cerebro-corazón).
2. Una vez inoculado el tubo que contiene caldo, éste se coloca en la estufa para incubarlo a 37°C de 2 a 5 horas, que en el tiempo suficiente para que se produzca una moderada turbidez en el tubo, como consecuencia del desarrollo bacteriano.
3. La suspensión obtenida después es diluida, si es necesario, con solución salina o agua destilada, hasta alcanzar la turbidez que visualmente seme

je a la de un estándar que ha sido preparado con Cloruro de Bario y Acido Sulfúrico.

4. Preparación del estándar.

Agregar 0.5 ml de solución de $BaCl_2$ al 1% a 99.5 ml de H_2SO_4 al 1% (36 N). El estándar debe renovarse cada mes.

5. En este método son utilizadas cajas de Petri que contienen medio de Mueller-Hinton, la cantidad de medio que debe contener cada caja va de 5 a 6 mm. de profundidad; estas cajas deben permanecer 30 minutos en la estufa antes de ser inoculadas para que se encuentren bien secas. Además las cajas deben ser usadas en los 4 días de su preparación.

6. Después de esto se sigue con la suspensión de bacterias, la cual está lista para ser sembrada en la superficie del medio con el hisopo; éste es introducido en el tubo que contiene la suspensión y escurrido perfectamente en las paredes interiores del tubo. Después es llevado a la superficie del medio, donde se efectúa una siembra masiva en tres planos, para poder abarcar toda la superficie.

7. Una vez inoculadas las cajas se dejan secar de 5 a 10 minutos, para des-

pués proceder a colocar los discos con el antibiótico. Los discos serán puestos en la superficie del medio por medio de unas pinzas, previamente flameadas; una vez colocado en su lugar el disco, con las pinzas se ejerce una ligera presión sobre él, ésto es con el objeto de asegurar un buen contacto.

De preferencia los antibióticos que difunden poco, serán colocados en el exterior y los de difusión más amplia en el centro de la caja.

8. Inmediatamente después las cajas son llevadas a incubación de 37°C durante toda la noche, para que al día siguiente puedan ser leídos y medidos los diámetros de las zonas de inhibición (incluyendo los 6 mm del disco).

El tamaño de dicha zona es medido con una regla que se coloca sobre la superficie de la base de la caja. No hay necesidad de destaparla. Una lectura de 6 mm indica que no hubo inhibición de crecimiento, esto será determinado por la vista de la persona que realice la medida.

9. En caso de que exista "swarming" de *Proteus*, éste debe ser ignorado completamente para hacer la lectura de los diámetros de las zonas de inhibición.

10. El tamaño de las zonas de inhibición son interpretados de acuerdo con la siguiente tabla (11).

11. Baley and Scott's. M. Sydney, J. William, G. Elvyn. Diagnostic Microbiology. Quinta Edición. The C. V. Mosby Company. Saint Louis (1978).

INTERPRETACION DEL TAMAÑO DE LAS ZONAS DE

INHIBICION DE ACUERDO A LOS ESTANDARES

ANTIBIOTICO	POTENCIA DEL DISCO	TAMAÑO DE LAS ZONAS DE INHI		
		BICION mm RESISTENTE	INTERMEDIO	SENSIBLE
Amikacina	10 mg	11 o menos	12 - 13	14 o más
Ampicilina	10 mg			
Enterobacterias		11 o menos	12 - 13	14 o más
Staphylococci		20 o menos	21 - 28	29 o más
Haemophilus		19 o menos		20 o más
Acido Nalidixico ¹	30 mg	13 o menos	14 - 18	19 o más
Carbencilina	100 mg			
Pseudomonas s.p.		13 o menos	14 - 16	17 o más
Proteus y E. Coli		17 o menos	18 - 22	23 o más
Cefalosporina	30 mg	14 o menos	15 - 17	18 o más
Cloranfenicol	30 mg	12 o menos	13 - 17	18 o más
Clindamicina	2 mg	14 o menos	15 - 16	17 o más
Colistin	10 mg	8 o menos	9 - 10	11 o más
Eritromicina	15 mg	13 o menos	14 - 17	18 o más
Gentamicina	10 mg	12 o menos	13 - 16	15 o más
Kanamicina	30 mg	13 o menos	14 - 17	18 o más
Lincomicina ²	2 mg			17 o más
Meticilina ³	5 mg	9 o menos	10 - 13	14 o más
Neomicina	30 mg	12 o menos	13 - 16	17 o más
Nitrofurano ¹	100 mg	14 o menos	15 - 16	17 o más
Penicilina G				
Staphilococci	10 U	20 o menos	21 - 28	29 o más
Otros organis.	10 U	11 o menos	12 - 21	22 o más
Pólimixina B	300 U	8 o menos	9 - 11	12 o más
Streptomycina	10 mg	11 o menos	12 - 14	15 o más
Sulfonamidas ⁴	300 mg	12 o menos	13 - 16	17 o más
Tetraciclina	30 mg	14 o menos	15 - 18	19 o más
Tobramicina	10 mg	11 o menos	12 - 13	14 o más
Trimeroprimsulfametho xazole ¹	25 mg	10 o menos	11 - 15	16 o más
Vancomicina	30 mg	9 o menos	10 - 11	12 o más

31 .

1. Sólo para infecciones del tracto uterino.
2. Estándar en prueba .
3. El disco de meticilina es usado para las pruebas de susceptibilidad a la penicilina resistente: meticilina, cloxacilina, dicloxacilina, oxacilina.
4. Los estándares de interpretación son los mismos para los discos de 300 ó 250 mg .

CAPITULO 3

Resultados.

Analizando los resultados según el tipo de microorganismo estudiado, éstos se presentan mediante tablas individuales en las que se indica la sensibilidad, sensibilidad media, y resistencia, de las cepas probadas. Las variaciones en la susceptibilidad están expresados tanto en número de cepas, como en porcentaje acumulado.

TABLA 1

Sensibilidad a los antibióticos presentada por 445 cepas de Escherichia coli aisladas de diversos procesos infecciosos en niños.

ANTIBIOTICO	SUSCEPTIBLES		INTERMEDIAS		RESISTENTES	
	No. Cepas	%	No. Cepas	%	No. Cepas	%
Cloranfenicol	396	89	4	1	45	10
Gentamicina	387	87	17	4	40	9
Neomicina	338	76	9	2	98	22
Amikacina	334	75	89	20	22	5
Kanamicina	284	64	9	2	151	34
STX	285	64	62	14	98	22
Cefalosporina	200	45	102	23	138	31
Carbencilina	160	36	22	5	263	59
Ampicilina	71	16	71	16	303	68
Tetracilina	49	11	80	18	315	71

Escherichia coli, como se observó en la tabla anterior, 396 cepas (89%) fueron sensibles al cloranfenicol, 387 fueron sensibles a gentamicina, 338 a neomicina y 334 a amikacina.

34.

Los antibióticos que presentaron menos actividad para esta bacteria fueron la ampicilina con 71 cepas sensibles y tetraciclina con sólo 49 cepas sensibles.

TABLA 2

Sensibilidad a los antibióticos presentada por 260 cepas de Klebsiella pneumoniae aisladas de diversos procesos infecciosos en niños.

ANTIBIOTICO	SUSCEPTIBLES		INTERMEDIAS		RESISTENTES	
	No. cepas	%	No. cepas	%	No. cepas	%
Neomicina	221	85	10	4	29	11
Amikacina	221	85	34	13	5	2
Gentamicina	216	82	5	2	39	15
STX	190	73	16	6	55	30
Kanamicina	185	71	10	4	65	25
Cloranfenicol	177	68	8	3	75	29
Cefalosporina	133	51	26	10	101	39
Carbencilina	52	20	13	5	195	75
Tetraciclina	41	16	57	22	161	62
Ampicilina	21	8	10	4	229	88

Klebsiella pneumoniae, esta bacteria fue sensible a la neomicina y amikacina un 85 %, un total de 221 cepas, para gentamicina 216 cepas fueron sensibles, a STX y a amikacina 71 cepas. Resultaron resistentes 229 cepas a ampicilina, 195 a carbencilina y 161 a tetraciclina.

TABLA 3

Sensibilidad a los antibióticos presentada por 26 cepas de Klebsiella-Aerobacter aisladas de diversos procesos infecciosos en niños.

ANTIBIOTICO	SUSCEPTIBLES		INTERMEDIAS		RESISTENTES	
	No. cepas	%	No. cepas	%	No. cepas	%
Neomicina	26	100	0	0	0	0
Kanamicina	23	88	1	4	2	8
Amikacina	23	88	3	12	0	0
STX	22	83	0	0	4	17
Gentamicina	21	81	0	0	5	19
Cloranfenicol	21	81	1	4	4	15
Carbencilina	14	52	1	4	11	44
Cefalosporina	4	16	1	4	21	80
Tetraciclina	0	0	6	24	20	76
Ampicilina	0	0	1	4	25	96

Klebsiella-Aerobacter: ésta bacteria resultó sensible 100 % a neomicina, para amikacina y kanamicina fueron sensibles 23 cepas (88 %), a STX 22 cepas y a cloranfenicol y gentamicina 21. El número de cepas resistentes a la ampicilina fue de 25, (96 %), 21 a cefalosporina y 20 a tetraciclina.

TABLA 4

Sensibilidad a los antibióticos presentado por 184 cepas de Salmonella s.p. ais-
ladas de diversos procesos infecciosos en niños.

ANTIBIOTICO	SUSCEPTIBLES		INTERMEDIAS		RESISTENTES	
	No. cepas	%	No. cepas	%	No. cepas	%
Amikacina	178	97	5	3	0	0
STX	123	67	4	2	64	35
Cloranfenicol	110	60	0	0	74	40
Gentamicina	103	56	11	6	70	38
Kanamicina	83	45	6	1	98	54
Neomicina	79	43	35	19	70	38
Cefalosporina	79	43	35	19	70	38
Ampicilina	59	32	4	2	121	66
Carbencilina	59	32	6	3	118	65
Tetraciclina	9	5	39	21	134	73

Para Salmonella s. p. 178 cepas fueron sensibles a amikacina, un 97 %, 123 a STX y 110 al cloranfenicol. La resistencia desarrollada para la tetraciclina fue de 73 % o 134 cepas, a carbencilina fueron 121 cepas y para ampicilina 118 cepas resistentes.

TABLA 5

Sensibilidad a los antibióticos presentada por 131 cepas de Salmonella typhimurium aisladas de diversos procesos infecciosos en niños.

ANTIBIOTICO	SUSCEPTIBLES		INTERMEDIAS		RESISTENTES	
	No. cepas	%	No. cepas	%	No. cepas	%
Amikacina	127	97	4	3	0	0
Neomicina	84	64	3	2	45	34
STX	81	62	1	1	48	37
Cloranfenicol	72	55	0	0	59	45
Gentamicina	71	54	10	8	48	37
Cefalosporina	56	43	30	23	45	34
Kanamicina	55	42	3	2	73	56
Carbencilina	39	30	3	2	89	68
Ampicilina	37	28	3	2	92	70
Tetraciclina	9	7	29	22	96	72

De Salmonella typhimurium fueron sensibles a la amikacina 127 cepas, lo que es 97 %, a la neomicina 84 (64 %), y a STX 81 (62 %). La mayor resistencia fue desarrollada para la tetraciclina, obteniendo solo 9 cepas sensibles (7 %), para la ampicilina fueron sensibles 37 y a carbencilina 39, 28 % y 30% respectivamente.

TABLA 6

Sensibilidad a los antibióticos presentada por 16 cepas de Salmonella typhi aisladas en procesos infecciosos en niños.

ANTIBIOTICO	SUSCEPTIBLES		INTERMEDIAS		RESISTENTES	
	No. cepas	%	No. cepas	%	No. cepas	%
Gentamicina	16	100	0	0	0	0
Neomicina	16	100	0	0	0	0
Kanamicina	15	94	0	0	1	6
Cloranfenicol	14	88	0	0	2	12
Cefalosporina	14	88	0	0	2	12
Ampicilina	14	88	0	0	2	12
Carbencilina	14	88	1	6	1	6
STX	11	71	0	0	5	29
Tetraciclina	10	63	2	12	4	25
Amikacina	6	38	6	37	4	25

Las cepas de Salmonella typhi fueron sensibles 100 % a la gentamicina y neomicina; 15 fueron sensibles a kanamicina, 12 a cloranfenicol, cefalosporina, ampicilina y carbencilina. La amikacina fue el antibiótico que desarrolló menos actividad sobre estas bacterias, siendo sensibles sólo 38 %.

TABLA 7

Sensibilidad a los antibióticos presentada por 84 cepas de Proteus mirabilis aisladas de diversos procesos infecciosos en niños.

ANTIBIOTICO	SUSCEPTIBLES		INTERMEDIAS		RESISTENTES	
	No. cepas	%	No. cepas	%	No. cepas	%
Neomicina	70	83	0	0	14	17
Amikacina	69	82	13	15	2	3
STX	66	79	3	4	13	17
Gentamicina	56	69	3	4	23	27
Kanamicina	56	69	2	1	25	30
Cefalosporina	56	69	12	14	16	19
Cloranfenicol	52	62	4	5	28	33
Carbencilina	49	58	5	6	30	36
Ampicilina	40	48	4	3	40	49
Tetraciclina	8	9	0	0	76	90

Proteus mirabilis, resultarán sensibles a la neomicina 70 cepas (83 %), amikacina 69 cepas (82 %), y a STX 66 cepas, (79 %). La resistencia hacia la tetraciclina fue muy notable pues sólo 8 cepas fueron sensibles a ella, mientras que

41.

para los otros se obtuvo una sensibilidad media; así para gentamicina, kanami
cina y cefalosporina 56 cepas fueron las sensibles (69 %).

TABLA 8

Sensibilidad a los antibióticos presentada por 47 cepas de Proteus morganii aisladas de diversos procesos infecciosos en niños.

ANTIBIOTICO	SUSCEPTIBLES		INTERMEDIAS		RESISTENTES	
	No. cepas	%	No. cepas	%	No. cepas	%
Neomicina	38	81	0	0	9	19
Amikacina	38	80	9	20	0	0
STX	31	67	6	11	10	22
Gentamicina	26	55	0	0	21	45
Kanamicina	24	50	1	3	22	47
Cloranfenicol	21	44	1	3	25	52
Carbencilina	18	39	2	4	26	57
Cefalosporina	15	32	8	17	24	51
Ampicilina	6	13	3	7	38	80
Tetraciclina	4	9	3	7	39	84

Proteus morganii fue muy sensible a neomicina 81 % (38) cepas y para amikacina 80 %, un poco menos efectivo fue STX con 67 % de cepas sensibles. Poco efectivos para estas bacterias fueron la tetraciclina con 9 % y la ampicilina con 13 % de susceptibilidad.

TABLA 9

Sensibilidad a los antibióticos presentada por 12 cepas de Proteus vulgaris aisladas de diversos procesos infecciosos en niños.

ANTIBIOTICO	SUSCEPTIBLES		INTERMEDIAS		RESISTENTES	
	No. cepas	%	No. cepas	%	No. cepas	%
Gentamicina	12	100	0	0	0	0
Amikacina	12	100	0	0	0	0
Neomicina	11	92	0	0	1	8
Carbencilina	11	92	0	0	1	8
Ampicilina	10	89	1	8	0	0
Kanamicina	10	69	0	0	2	11
Cloranfenicol	10	89	0	0	2	11
Cefalosporina	9	83	0	0	3	17
STX	9	83	1	8	2	11
Tetraciclina	1	8	1	8	10	86

La sensibilidad de Proteus vulgaris fue muy amplia, 100 % para gentamicina y amikacina; 92 % para neomicina y carbencilina, así como más del 80 % para los otros antibióticos, excepto tetraciclina a la que únicamente fueron sensibles el 8 % de las cepas.

TABLA 10

Sensibilidad a los antibióticos presentada por 76 cepas de Pseudomonas aeruginosa aisladas de diversos procesos infecciosos en niños.

ANTIBIOTICO	SUSCEPTIBLES		INTERMEDIAS		RESISTENTES	
	No. cepas	%	No. cepas	%	No. cepas	%
Carbencilina	51	67	8	10	17	23
Amikacina	43	56	17	22	17	22
Gentamicina	32	42	28	37	16	21
STX	13	17	2	3	61	80
Neomicina	10	13	13	17	52	69
Cloranfenicol	8	10	11	15	57	75
Kanamicina	5	8	3	4	67	88
Tetraciclina	0	0	7	9	69	91
Ampicilina	0	0	2	3	74	97
Cefalosporina	0	0	1	2	75	98

Pseudomonas aeruginosa resultó sensible para carbencilina con 51 cepas (67 %) y amikacina 43 cepas (56 %), siendo estas las susceptibilidades más altas, los otros antibióticos fueron de poca actividad, sobre todo tetraciclina, ampicilina y cefalosporina con 0 % de cepas sensibles.

TABLA 11

Sensibilidad a los antibióticos presentada por 53 cepas de Shigella aisladas de diversos procesos infecciosos en niños.

ANTIBIOTICO	SUSCEPTIBLES		INTERMEDIAS		RESISTENTES	
	No. cepas	%	No. cepas	%	No. cepas	%
Gentamicina	49	90	3	6	1	2
Cefalosporina	41	77	6	12	6	11
Cloranfenicol	40	74	1	2	13	24
Kanamicina	34	64	6	11	13	25
Neomicina	33	63	10	19	10	18
Carbencilina	31	58	1	2	20	34
Ampicilina	26	49	7	13	20	38
STX	25	47	3	5	13	24
Amikacina	23	44	25	47	5	9
Tetraciclina	12	23	1	2	40	75

Para las cepas de Shigella la actividad más amplia fue de gentamicina al obtener 49 cepas (90 %) sensibles a ella. de amplia actividad también fueron cefalosporina 77 % y cloranfenicol 74 % de cepas sensibles. Por otra parte pocas cepas fueron sensibles a tetraciclina, sólo 23 % (12 cepas).

TABLA 12

Sensibilidad a los antibióticos presentada por 52 cepas de Haemophilus influenzae aisladas de diversos procesos infecciosos en niños.

ANTIBIOTICO	SUSCEPTIBLES		INTERMEDIAS		RESISTENTES	
	No. cepas	%	No. cepas	%	No. cepas	%
Tetraciclina	51	98	1	2	0	0
Cloranfenicol	50	96	2	4	0	0
Kanamicina	48	92	3	6	1	2
Carbencilina	47	91	0	0	5	9
Ampicilina	45	88	3	4	4	8
Cefalosporina	46	88	1	2	5	10
Gentamicina	42	80	7	13	4	9
STX	41	80	0	0	11	20
Amikacina	36	70	6	10	10	20
Neomicina	24	47	25	48	3	5

Las cepas de Haemophilus influenzae resultaron sensibles a la mayoría de los antibióticos, el más activo fue tetraciclina con 51 (98 %) cepas sensibles, Cloranfenicol fue efectivo a 50 cepas (96 %), kanamicina a las 48 (92 %), carbencili-

47.

na a 47 (91 %) y cefalosporina y ampicilina a el 88 %. Tuvieron poca actividad la amikacina y neomicina, a ést último sólo fueron sensibles 24 cepas (47 %).

TABLA 13

Sensibilidad a los antibióticos presentada por 687 cepas de Staphylococcus aureus aislada de diversos procesos infecciosos en niños.

ANTIBIOTICO	SUSCEPTIBLES		INTERMEDIAS		RESISTENTES	
	No. cepas	%	No. cepas	%	No. cepas	%
Cefalosporina	666	96	3	0.5	14	2
Cloxaciclina	660	96	0	0	27	4
Gentamicina	639	92	14	2	41	6
Eritromicina	625	91	14	2	48	7
Lincomicina	631	92	8	1	48	7
Kanamicina	529	74	75	12	82	14
Tetraciclina	391	57	82	12	213	31
Penicilina	158	23	110	16	419	61
Ampicilina	103	16	75	10	508	74

Staphylococcus aureus fue altamente sensible a la cloxaciclina y a la cefalosporina, para ambos 96 % de las cepas fueron sensibles; de gran actividad fueron también gentamicina con 639 cepas sensibles (92 %), eritromicina con 625 cepas (91 %), lincomicina con 631 cepas (92 %). Gran resistencia se presentó ha-

49.

cia la penicilina y ampicilina, pues sólo fueron sensibles a penicilina 158 cepas (23 %), y ampicilina 103 (16 %).

CAPITULO 4

Discusión.

De los resultados obtenidos en nuestro estudio y de datos recopilados de estudios anteriores, es posible observar el cambio que han experimentado ciertas especies de bacterias frente a la acción de los antibióticos.

Escherichia coli, durante el período de 1969-1970, en un estudio realizado por el Hospital General (12), se encontró que esta bacteria fue sensible

-
12. González Díaz, S., J. M. Hill Juárez, M. Luna Castro, M. Gutiérrez Dávila, C. Horta Sánchez. Antibiograma genérico 1969-1970. Rev. Med. Hosp. Gral. Vol. 34 No. 10 (1971)

100 % a la cefalosporina, cefalexina, cefaloridina, colimicina y gentamicina. Fue resistente a tetraciclina, kanamicina, ampicilina y cloranfenicol.

En 1971 (13) de otro estudio efectuado en el mismo hospital, resultaron 100 % sensibles a gentamicina, igual que el año anterior. A cefalotina, cefaloridina, cefalexina y colimicina más del 90%, observando así que la actividad de éstos continuaba casi sin modificación; haciendo notar que para el cloranfenicol se obtuvieron 61 % de cepas susceptibles, con lo que disminuyó la resistencia. Para tetraciclina sólo fueron sensibles 37 % y para ampicilina 44%.

En estudios efectuados durante 1971-1972 en el Hospital Infantil de México (14), con cepas de Escherichia coli, aisladas de urocultivos de niños con infección urinaria; se obtuvo como resultado una sensibilidad de 100 % para gentamicina y 73 % a colimicina; para la mayoría de los otros antibióticos que fue

-
13. Gutiérrez Dávila, M. S. González Díaz, J. Hill Juárez, C. Horta Sánchez, M. Luna Castro, E, Escárzega Tapia. Antibiograma genérico 1971. Sobre-tiro Rev. Med. Hosp. Gral. Vol. 35 No. 12 803-8035 (1972).
 14. Filloy, Y. L. Estudio bacteriológico de la orina en la infección urinaria. Bol. Nefrol (Mex). 4:5 (1974).

ron probados, la sensibilidad fue menor de 50 %.

Un estudio más reciente realizado en 1973-1974 (15), muestra que para esta bacteria el antibiótico más efectivo sigue siendo la gentamicina con 98 % de cepas sensibles, y siguiendo a éste, la cefalexina, cefaloridina, cefalotina y colimicina, al obtener más del 90%. La tetraciclina sigue siendo la menos efectiva con sólo 3 % de cepas sensibles y ampicilina con 22 %.

Durante 1974 a 1976 en un estudio realizado en el Hospital General de Massachusetts (16), de los aminoglucósidos que fueron probados, la sensibilidad fue la siguiente: gentamicina un 98 %, amikacina 97 %. En los resultados obtenidos por nosotros en 1978, la gentamicina como en los otros estudios, presentó gran actividad contra las cepas de Escherichia coli. También de gran actividad fue cloranfenicol, que al comparar con los otros estudios, se observa un efecto considerable en su efectividad. La tetraciclina probó de nuevo ser la menos activa, pues sólo fueron sensibles el 11 % de las 445 cepas probadas y

-
15. Luna Castro, M., Gutiérrez Dávila, R. Valadez, J. Ramírez, A. Hernández, L. Ortiz. Antibiograma genérico de 1973-1974. Sobretiro Rev. Med. Hosp. Gral. Vol. 38 No. 6 (1975).
 16. Moellering, R. C., C. Wennersten, L. J. Kunz, J. W. Poitras. Resistance to Gentamicin, Tobramycin and Amikacin among Clinical Isolates of Bacteria. Am. J. Med. 62: 873-881 (1977).

16 % para ampicilina; la amikacina también demuestra ser efectiva al obtener 75 % de cepas sensibles.

Klebsiella pneumoniae, de un estudio realizado en un hospital de Boston (17), en el que fueron probados 16 antibióticos, la gentamicina fue la que tuvo mayor actividad "in vitro". En 1971 los resultados del antibiograma genérico efectuado en el Hospital General (13), mostraron los siguientes porcentajes de susceptibilidad para las cepas de Klebsiella s. p.: 96 % a gentamicina, 94 % a colimicina, 72 % a cefalotina, 19 % a tetraciclina y 7 % a ampicilina; siendo éstos dos últimos, los antibióticos de menor actividad de todos los que fueron probados.

Durante 1972 el reporte del Hospital General (18), en el que se efectuó la prueba de susceptibilidad por el método de dilución seriada en placa de agar-agar, demuestra que las cepas de Klebsiella s.p. fueron sensibles: 100 %

-
17. Eickff, J. C., B.W. Steinnahauer and M. Finland. The Klebsiella-Enterobacter-Serratia Division Biochemical and Serological characteristics and susceptibility to antibiotics. *Ann. Int. Med.* 65 (6): 1173-1175 (1966).
 18. Gutiérrez Dávila, M., González Díaz, J. M. Hill Juárez. C. Horta Sánchez, M. Luna Castro, N. Nieto Crespo. E. Escárzaga Tapia. Antibiograma genérico 1972. *Rev. Med. Hosp. Gral.* Vol. 37 No. 2 (1974).
 13. Art. cta. pag. 51.

a gentamicina y colimicina, observando un aumento en la actividad de éstos an
tibióticos en comparación con el estudio del año anterior al mismo tiempo que
se observa una disminución en la sensibilidad hacia cefalotina y cefaloridina.
Para tetraciclina disminuye un poco la susceptibilidad ese año de 13 % y la re
sistencia es absoluta para ampicilina.

En el estudio realizado durante 1973-1974 (15), en el hospital antes cita
do, sigue siendo la gentamicina el antibiótico más efectivo para esta especie
bacteriana, al ser sensible 100 %, la colimicina fue de gran actividad con 98 %.
La tetraciclina, carbencilina y ampicilina fueron las menos efectivas.

Los resultados de los estudios de Massachusetts de 1974 a 1975 (16), efec
tuados por la técnica de difusión de disco en donde se probaron estreptomina,
kanamicina, gentamicina, amikacina y tobramicina, se obtuvo mayor suscepti-
bilidad hacia amikacina 99 %, que para gentamicina 92 %. Los resultados de
nosotros demuestran que la actividad más grande fue proporcionada por amikacin
a y neomicina (85 %), quedando en segundo lugar gentamicina (83 %). Con
lo que se demuestra una máyo r acti vidad de la amikacina, nuevo aminoglucósi-
do, en relación con gentamicina, sin que deje de ser efectivo ampliamente.

15. Art. cta. pag. 52.

16. Art. cta. pag. 52.

Klebsiella-Aerobacter, de las 100 cepas que fueron colectadas durante 1973-1974 en el Hospital General (15), se obtuvo una sensibilidad de 100 % a gentamicina, mostrando también gran actividad neomicina, kanamicina; tetraciclina fue la menos efectiva para esta especie. De los reportes del Hospital General de Massachusetts (16), sabemos que la actividad más amplia fue para amikacina, seguida de gentamicina. Para nosotros la actividad de amikacina también fue mayor que la de gentamicina. La neomicina desarrolló una actividad similar a amikacina y se pudo apreciar gran actividad del cloranfenicol. Carecieron de actividad tetraciclina y ampicilina.

Salmonella s. p. Las especies de Salmonella estudiadas durante 1971 (13) mostraron la siguiente sensibilidad: 100 % a gentamicina, 83 % a colimicina, más del 80 % a cefaléxina, cefalotina, cloranfenicol 50 %, ampicilina, tetraciclina y kanamicina fueron los menos efectivos. En 1972 del estudio realizado en el mismo hospital (18), no se observan cambios notorios en la susceptibilidad de las bacterias.

-
16. Art. cta. pag. 52.
13. Art. cta. pag. 51.
18. Art. cta. pag. 53.
15. Art. cta. pag. 52.

Del antibiograma genérico de 1973-1974 (15), se obtuvo 100 % de sensibilidad a gentamicina, muy seguida de colimicina. Aumentó la actividad de cefalexina (85 %), así como de ampicilina (13 %). Tetraciclina fue la menos efectiva.

Aunque últimamente han desarrollado resistencia hacia el cloranfenicol y otros antibióticos las diferentes especies de Salmonella (19), en nuestro estudio esta resistencia no fue muy marcada, puesto que el cloranfenicol resultó ser uno de los antibióticos más efectivos para estas bacterias, obteniendo 60 % de cepas sensibles. El antibiótico de mayor actividad en 1978 fue la amikacina con 97 % de cepas sensibles.

Para salmonella typhimurium, de datos recientes, sabemos que durante el período de 1973-1975, apareció una marcada resistencia de estas cepas hacia el cloranfenicol y a la ampicilina en Canadá (19), esta resistencia se desarrolló a partir de la epidemia producida por Salmonella typhi y desarrollo del factor R, durante el años de 1972 en México. Durante esta epidemia de fiebre de

-
19. Grant, R. B., R.M. Bannatyne, and A.J. Shapley. Resistance to Chloramphenicol and Ampicillin of Salmonella typhimurium in Ontario, Canada. J. Inf. Dis. 134 (4): 354-361 (1976).
 20. Anderson, E.S., The problem and implications of chloramphenicol resistance in the typhoid bacillus. J. Hyg. Camb. 74: 289-299 (1975).

tifoidea, 92 % de las cepas aisladas de Salmonella typhi, fueron resistentes al cloranfenicol, estreptomina, sulfonamidas y tetraciclina (21). Al observar nuestros resultados, comprobamos que existe resistencia hacia ampicilina y cloranfenicol, de las cepas de Salmonella typhimurium, aunque ésta ya no es tan marcada al ser sensibles 28 % a ampicilina y 55 % a cloranfenicol. El mayor número de cepas sensibles fue hacia la amikacina, con 97 %. Se observa diferencia con los resultados que obtuvimos con las cepas de Salmonella typhi, pues aunque la mayor actividad fue para gentamicina (100 %), neomicina y kanamicina; el cloranfenicol y la ampicilina fueron muy efectivos, con 88 % de las cepas sensibles. Con esto tenemos un cambio total, respecto a éstos últimos antibióticos, al comparar con los estudios realizados en México durante 1972, en este Hospital Infantil de México. La semejanza existente con los estudios de ese año, es la resistencia hacia la tetraciclina, aunque también ha disminuído marcadamente, al ser sensibles el 62 %.

Shigella s.p. Las cepas de Shigella también han mostrado incremento en la resistencia desarrollada hacia ciertos antibióticos. Para Shigella sonnei

21. Olarte, J., E. Galindo. Salmonella typhi resistant to chloramphenicol, ampicillin and other antimicrobial agents strains isolates during an extensive typhoid fever epidemic in Mexico. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 4:597-601 (1973).

en estudios realizados en Londres en 1967 (22), del 80 al 90 % de las cepas aisladas, fueron resistentes a la ampicilina y sulfonamidas, en ese entonces de 4,500 cepas que fueron probadas, sólo tres fueron resistentes a neomicina.

En el antibiograma genérico de 1971 (13), esta bacteria muestra la mayor sensibilidad a gentamicina (100 %) y mostrando gran actividad también cefalexina, cefaloridina y colimicina, más del 80 %. La sensibilidad para neomicina fue de 73 %. Durante el estudio de 1972 (17), se observa que disminuye la susceptibilidad a la cefalexina, cefaloridina y colimicina; gentamicina continúa siendo el antibiótico más activo; para kanamicina y cloranfenicol aumenta el número de cepas sensibles, no siendo lo mismo para neomicina en la que se nota una disminución, 71 %.

En 1973-1974 el antibiograma genérico del Hospital General (15), mostró la mayor sensibilidad para gentamicina, 100 %, observandose también gran actividad para colimicina y notable aumento del número de cepas sensibles al

22. Davies, J. R., W. N. Farrant, A. H. C. Uttey. Antibiotic resistance of *Shigella sonnei*. Lancet 2: 1157-9 (1970).

13. Art. cta. pag. 51.

17. Art. cta. pag. 53.

15. Art. cta. pag. 52.

cloranfenicol, ahora 78 %; los antibióticos de menor actividad fueron la ampicilina y tetraciclina con sólo 10 % y 17 % de cepas sensibles respectivamente.

De nuestros resultados, claramente se puede observar que aunque la gentamicina fue la más efectiva, de cualquier forma disminuyó su actividad, al ser sensibles 90 %; a cefalosporina y cloranfenicol 70 %, así al comparar con otros estudios, se puede observar que la sensibilidad al cloranfenicol ha ido aumentando, mientras que hacia la neomicina ha ido disminuyendo pues ahora sólo fueron sensibles 62 % de las cepas probadas.

Proteus s. p. Las especies estudiadas de este microorganismo en 1971 (13), mostraron la siguiente sensibilidad: gentamicina 96 %, neomicina y cloranfenicol 91 %, carbencilina 80 %, penicilina 88 %. Creció de actividad la tetraciclina. En 1972 (18) los estudios realizados demuestran la amplia actividad de gentamicina, aunque disminuye un poco la actividad del cloranfenicol, en relación con el trabajo del año anterior. Carbencilina y neomicina demuestran buena actividad y, también se observa aumento en la sensibilidad presentada hacia penicilina (94 %). El antibiograma genérico de 1973-1974 (15), muestra

13. Art. cta. pag. 51.

18. Art. cta. pag. 53.

15. Art. cta. pag. 52.

que los antibióticos más efectivos fueron: gentamicina, penicilina, carbencilina y cloranfenicol. La tetraciclina fue el único antibiótico de los probados, que no fue efectivo.

De los estudios realizados por Moellering et al (16), Proteus vulgaris, fue más sensible a amikacina que a gentamicina. Nosotros pudimos comprobar la actividad desarrollada por gentamicina y amikacina, sobre esta bacteria, al obtener una relación semejante. Para Proteus morgani, es posible observar un cambio respecto al trabajo de Moellering, ya que la gentamicina fue menos activa en este caso, mientras que la amikacina si lo fue junto con neomicina. La misma susceptibilidad fue presentada para Proteus mirabilis.

Pseudomonas aeruginosa, en un estudio realizado en 1970 (4), mostró gran sensibilidad para gentamicina y polimixina sin embargo, recientemente en otro estudio se encontró pequeño aumento en la resistencia hacia la gentamicina de los bacilos gram-negativos, siendo en particular este aumento de 9 a 14 % para Pseudomonas s.p. (6).

16. Art. cta. pag. 52.

4. Art. cta. pag. 6.

6. Art. cta. pag. 8.

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria que mostró muy poca sensibilidad hacia los antibióticos, ésto fue posible constatar al analizar los diferentes trabajos de susceptibilidad que se han realizado. El antibiograma genérico de 1972 (18), muestra la siguiente sensibilidad: gentamicina 97 %, colimicina 93 %, para los otros antibióticos que fueron probados, la sensibilidad fue menor de 50 %.

En el estudio efectuado de 1974-1975 (16), en el que se probaron únicamente aminoglucósidos, Pseudomonas aeruginosa fue sensible a amikacina 93 %, a gentamicina 92 %, mientras que para estreptomina y kanamicina, menos del 10 % de las cepas fueron sensibles. En nuestro estudio la sensibilidad más alta fue para carbencilina (67 %), algo que no era de esperarse ya que este antibiótico había demostrado una actividad menor de cualquier forma amikacina tuvo actividad amplia (56 %), aunque hubiera podido ser mayor. Se observó disminución en el número de cepas sensibles a gentamicina (42 %).

Haemophilus influenzae, los agentes comunmente empleados para combatir a este microorganismo, han sido ampicilina y tetraciclina, ya que es el causante de algunas formas de bronquitis crónicas. En las pruebas de sensibilidad realizadas por Williams y Andrews (23), las cepas probadas a una variedad de

18. Art. cta. pag. 53.

16. Art. cta. pag. 52.

23. Williams, J.D. and Andrews. Sensitivity of Haemophilus influenzae to antibiotics. British. Med. J. 1: 134-137 (1974).

antibióticos, fueron sensibles al cloranfenicol y a la ampicilina; para tetraciclina sólo el 12 % de las cepas probadas fueron resistentes, a pesar de que aparecieron nuevas cepas resistentes a este antibiótico.

De los trabajos de Finlad et al (24), las cepas de Haemophilus influenzae que fueron probadas a cuatro aminoglucósidos por la técnica de dilución en placa de agar-agar, los antibióticos más activos fueron gentamicina y kanamicina. Los resultados de nosotros muestran que la tetraciclina sigue siendo el antibiótico más efectivo para esta bacteria, con 98 % de sensibilidad, después sigue cloranfenicol con 96 % y kanamicina; el alto porcentaje de éste último, comprueba la efectividad expuesta en el trabajo de Finlad. La ampicilina también desarrolló amplia actividad, 88 % y en general esta bacteria no presentó mucha resistencia.

Staphylococcus aureus. De datos recopilados sabemos que durante una epidemia producida por esta bacteria, en tres hospitales (25), las cepas fueron

-
24. Finlad, M., C. Gardner, C. Wilcox, L.D. Sabath. Susceptibility of Recently isolated Bacteria to amikacin "in vitro": Comparisons with four others aminoglycosides Antibiotics. J.Inf.Dis. supp. 34: 297-307 (1976).
15. Speller, D. C., D. Raghunath, M. Stephens, A. C. Viat, D. S. Reeves, J. M. Broughall, P. J. Wilkinson, H.A. Holt Epidemic infection by a Gentamicin-resistant Staphylococcus aureus in three hospital. Lancet 1 (7957) 464-7 (1976).

sometidas a la prueba de disco y se observó que fueron resistentes a tetraciclina, eritromicina, clindamicina, lincomicina, estreptomina, amikacina, meticilina, Trimeroprimsulfametoxazol y cloranfenicol.

Los resultados de los estudios realizados durante el periodo comprendido de 1973-1974 en el Hospital Infantil de México (26), nos informa que esta bacteria fue sensible 99.8 % a gentamicina; cefalotina y cloxacilina 99 %, así como más del 90 % para kanamicina y eritromicina. Con esto se observa una notable diferencia en la susceptibilidad, al considerar el trabajo mencionado anteriormente; es posible que la causa de dicha epidemia haya sido precisamente la existencia y desarrollo de mutantes resistentes, también la diferencia de resultados puede deberse al lugar donde se desarrolló la prueba, pues son muchas las clases de cepas existentes.

Del estudio realizado en 1978, la sensibilidad presentada por esta bacteria no cambió mucho; cloxacilina fué la de mayor actividad al obtener 98 % de cepas sensibles, seguida de cefalosporina 97 %; disminuyó un poco la sensibili-

26. Filloy, L. Y., E. G. Borjas, A. E. Vitela. Sensibilidad a varios antibióticos de 609 cepas de Staphylococcus aureus aislados durante 1973-1974 en diversos procesos infecciosos en niños. Bol. Med. Hosp. Inf. Vol.33 No.2 473-79 (1976).

64.

dad hacia gentamicina 92 %, en relación con el trabajo efectuado en 1976, lo mismo ocurrió con kanamicina, pues ahora fueron sensibles 74 %. La menor sensibilidad fue para ampicilina 15 % y penicilina 22 %, sin ser un cambio notorio en comparación con el estudio realizado antes en el Hospital Infantil de México.

CAPITULO 5

Resumen y Conclusión.

Con el fin de conocer las variaciones actuales en la susceptibilidad de di versas especies bacterianas, frente a 10 antimicrobianos, se aislaron 2,073 ce- pas de diversos procesos infecciosos en niños, durante el año de 1978 en el Hos- pital Infantil de México y se les practicó la prueba de la susceptibilidad a los antibióticos.

Los microorganismos estudiados fueron los siguientes: Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella-Aerobacter, Pseudomonas aeruginosa, Pro- teus morgani, Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, Salmonella s. p., Salmone- lla tphi, Salmonella typhimurium, Shigella s. p., Haemophilus influenzae y Staphylococcus aureus.

La prueba se realizó utilizando el método de Kirby-Bauer y colaboradores; en él se utilizan discos únicos impregnados de antibiótico, para que éste se difunda sobre una placa de agar de Mueller-Hinton. Esta placa previamente ha sido inoculada con una suspensión preparada con el microorganismo que se va a estudiar. La sensibilidad o resistencia desarrollada hacia determinado antibiótico, podrá saberse después de la noche de incubación cuando se mida el diámetro de la zona de inhibición si es que existe, y al comparar esta medida con los estándares establecidos.

Por medio de los resultados obtenidos, sabemos cuales fueron los antibióticos más efectivos para cada bacteria; a continuación se nombran los antibióticos que alcanzaron más alto porcentaje de cepas sensibles.

<u>Escherichia coli.</u>	Cloranfenicol	89 %
	Gentamicina	86 %
	Amikacina	75 %

<u>Klebsiella pneumoniae.</u>	Amikacina	85 %
	Gentamicina	83 %
	Neomicina	85 %
<u>Klebsiella-Aerobacter.</u>	Neomicina	100 %
	Kanamicina	88 %
	Amikacina	87 %
<u>Pseudomonas aeruginosa.</u>	Carbencilina	67 %
	Amikacina	56 %
<u>Proteus mirabilis.</u>	Neomicina	83 %
	Amikacina	82 %
	STX	79 %
<u>Proteus morganii.</u>	Neomicina	81 %
	Amikacina	80 %
	STX	67 %
<u>Proteus vulgaris.</u>	Gentamicina	100 %
	Amikacina	100 %
	Carbencilina	92 %

<u>Salmonella typhi.</u>	Gentamicina	100 %
	Neomicina	100 %
	Kanamicina	94 %
<u>Salmonella typhimurium.</u>	Amikacina	97 %
	Neomicina	64 %
<u>Salmonella s.p.</u>	Amikacina	97 %
	STX	67 %
	Cloranfenicol	60 %
<u>Shigella s. p.</u>	Gentamicina	90 %
	Cefalosporina	77 %
	Cloranfenicol	74 %
<u>Haemophilus influenzae.</u>	Tetraciclina	98 %
	Cloranfenicol	96 %
	Kanamicina	92 %
<u>Staphylococcus aureus.</u>	Cefalosporina	97 %
	Cloxacilina	96 %
	Gentamicina	93 %

Se observó que la Amikacina, antibiótico de uso reciente, fue altamente efectiva para la mayoría de las bacterias que fueron estudiadas. Después de hacer una comparación de estos resultados con los obtenidos en otros trabajos, no fue posible constatar el cambio al que se encuentran expuestas las bacterias, respecto a su comportamiento frente a los antibióticos, y con ello la necesidad de efectuar este tipo de pruebas.

Con los datos anteriormente expuestos, no es posible concluir, que las bacterias modifican su comportamiento frente a los antibióticos por diversos mecanismos, sin que se pueda predecir la norma a seguir por ellas; es posible que se observe resistencia creciente y en un momento dado, esta disminuye originando de nuevo susceptibilidad frente a determinado antibiótico. Un ejemplo de este hecho, es la acción de la neomicina al actuar sobre las cepas de Shigella s.p., observada en este estudio; durante dos años seguidos se observó una disminución en la actividad de este antibiótico, después en un estudio posterior se notó un aumento en el número de cepas sensibles y por último en 1978 la sensibilidad vuelve a disminuir.

Este comportamiento que presentan las bacterias, puede depender del uso frecuente de algún antibiótico, en caso de que disminuya la efectividad y su-

70.

cederá lo contrario cuando se limita por algún tiempo su uso, ocasionando con ello el retorno a la susceptibilidad. De ahí la importancia de realizar este tipo de pruebas periódicamente, obteniendo así un dato de valor práctico en el manejo de la terapia.

BIBLIOGRAFIA

ANDERSON E. S. The problem and implications of chloramphenicol resistance in the typhoid bacillus.
J. H. G. (Camb) 74: 289-299 (1975).

BARRY A. L., F. GARCIA, L. D. THRUPP. An Improved Single-disk Method for testing the Antibiotic Susceptibility of Rapidly growing Pathogens.
Am. J. Clin. Path. 53: 149-158 (1970).

BAUER A. W., W. M. KIRBY, J. C. SHERRIS, and M. D. TURK. Antibiotic Susceptibility testing by a Standardized single disk method.
Am. J. Clin. Pathol. 45: 493-496 (1966).

BAUER A. W., C. E. ROBERTS, W. M. KIRBY. Single disk and plate dilution techniques for antibiotics sensitivity testing.
Antibiotics Ann. 196-574 (1960).

BESSUDO D., E. MOHS, A. HEREDIA y A. MARTINEZ. Sensibilidad a los antibióticos de las bacterias gram-negativas aisladas en el Hospital Infantil de México, 1963.
Bol. Med. Hosp. Inf. (Mex). (1963).

BESSUDO D., F. A. SOSA, A. H. HEREDIA. Susceptibilidad a 10 antibióticos de 123 cepas de Staphylococcus aureus aisladas en el Hospital Infantil de México 1964-65.
Bol. Med. Hosp. Inf. Mex. Vol. 23, 195-198 (1966).

BAILEY AND SCOTT'S. M. SYDNEY, J. WILLIAM, G. ELVYN. Diagnostic Microbiology. 5^a Ed. The C. V. Mosby Company. Saint Louis (1978).

CHAIN E., H. W. FLOREY, A. D. GARDENER, N. G. HEALTY, A. M. JENNINGS. J. ORR-EWING and A. C. SANDERS. Penicillin as a chemotherapeutic agent.
Lancet 2: 226-229 (1940).

DAVIES J. R., W. N. FARRANT, A. H. C. UTTLEY. Antibiotic resistance of Shigella sonnei.
Lancet 2: 1157-1159 (1970).

ESCARZAGA E. T., D. S. GONZALEZ, J. J. HILL, C. M. LUNA y P. S. MONTERO. La prescripción de los antibióticos en la práctica médica. Prensa Med. Mex. Suplemento Año XXXIV., Nos. 5-6 (1969).

EICOKOFF J. C., B. W. SYEINHAUER, and M. FINLAD. The Klebsiella Enterobacter-Serratia. Division. Biochemical and serological characteristics and susceptibility to antibiotics. Ann. Int. Med. 65 (6): 1173-1175 (1966).

FILLOY Y. L. Estudio bacteriológico de la orina en la infección urinaria. Bol. Nefrol (mex). 4: 5 (1974).

FILLOY Y. L., E. G. BORJAS, A. E. VITELA. Susceptibilidad a varios antibióticos de 609 cepas de Staphylococcus aureus, aisladas durante 1973-1974 en diversos procesos infecciosos en niños. Bol. Med. Hosp. Inf. Vol. 33 No. 2 473-479 (1976).

FACKLAN R. R. and P. P. L. SMITH. The gram-positive cocci. Human Pathol. 7: 187-184 (1976).

GRANT R. B., R. M. BANNATYNE and A. J. SHAPLEY. Resistance to Chloramphenicol and Ampicillin of Salmonella typhimurium in Ontario, Canada. J. Inf. Dis. 134 (4): 354-361 (1976).

GUTIERREZ D. M., D. S. GONZALEZ, J. J. Hill, S. C. HORTA, C. M. LUNA, C. N. NIETO, T. E. ESCARZAGA. Antibiograma genérico 1972. Rev. Med. Hosp. Gral. Vol. 37 No. 2 73-104 (1974).

GUTIERREZ D. M., D. S. GONZALEZ, J. J. HILL, S. C. HORTA, C. M. LUNA, T. E. ESCARZAGA. Antibiograma genérico 1971. Rev. Med. Hosp. Gral. Vol. 35 No. 12 803-835 (1972).

GONZALEZ D. S., J. J. HILL, C. M. LUNA, GUTIERREZ, S. C. HORTA. Antibiograma genérico 1969-1970. Rev. Med. Hosp. Gral. Vol. 34 No. 10 481-496 (1971).

JACKSON G. G. and M. FINLAND. Comparison of methods for determining sensitivity of bacteria to antibiotics "in vitro". A. M. A. Arch. Int. Med. 88-446 (1951).

JAWETZ E., J. L. MELWICK, E. A. ADELBERG. Microbiología Médica. 6a. Edición. El Manual Moderno (1975).

KNOTHE, H. "In vitro". Susceptibility Isolated Gram-negative Bacteria to Gentamicin, Sisomicin, Tobramycin and Amikacin. J. Inf. Dis. Vol. 134 Supp. 271-274 (1976).

LORIAN V. M. Some effects of subinhibitory concentrations of antibiotics on bacteria. Bull. N. Y. Acad. Med. 51 (9): 1046-1055 (1975).

LUNA C. M. y ESCARZAGA T. E. Variaciones de la susceptibilidad de bacterias negativas al Gram a cuatro antibióticos aminoglucósidos, en tres años de observación. Rev. lat-amer. Microbiol. 16: 13-19 (1974).

LUNA C. M., D. M. GUTIERREZ, R. VALDEZ, J. RAMIREZ, A. HERANDEZ, L. MUÑOS, A. ORTIZ. Antibiograma genético 1973-1974. Rev. Med. Hosp. Gral. Vol. 38 No. 6 (1975).

MAXWELL FINLAND. Changing Patterns of Susceptibility of Common Bacterial Pathogens to Antimicrobial Agents. Ann. Int. Med. 76: 1099-1036 (1972).

MAXWELL SPRING. A Brief survey of the history of the antimicrobial agents. Bull. N. Y. 51 (9), 1013-1015 (1975).

MAWNER T. J. and D. GREENGOOD. Specific and non-specific resistance to aminoglucosides in *Escherichia coli*. J. Clin. Pathol. 31 (1): 12-15 (1978).

MARRIE T. J., M. J. GURWTH, A. R. RONALD, H. G. STIVER, B. LANK, L. FOX. Clinical and Laboratory study of tobramycin in the treatment of infections due to gram-negative organisms. C. M. A. Journal 117: 140-143 (1977).

MAXWELL FINLAND, C. GARDNER, C. WILCOX, and L. D. SABATH, Susceptibility of Recently Isolated Bacteria to Amikacin in Vitro: Comparisons with four aminoglycosides Antibiotics. J. Inf. Dis. 34 supp. 297-307 (1976).

MOELLERING C. R., M. S. WENNERSTEN, L. J. KUNZ, W. J. POITRAS. Resistance to Gentamicin, Tobramycin, and Amikacin among Clinical Isolates of Bacteria.
Am. J. Med. 62: 873-881 (1977).

OLARTE J., E. GALINDO. Salmonella typhi resistant to chloramphenicol, ampicillin and other antimicrobial agents: strains isolated during and extensive typhoid fever epidemic in Mexico.
Antimicrobial. Agent. Chemother. 4: 597-601 (1973).

OLSEN R. H., P. SHIPLEY. Host Range and Properties of the Pseudomonas aeruginosa R factor R-1822.
J. Bact. 113: 772-780 (1973).

PETERSDORF R. G., and J. C. SHERRIS. Methods and Significance of "in vitro" testing of bacterial sensitivity to Drugs.
Am. J. Med. 39: 766-779 (1965).

REYNOLDS A. V., J. M. T. HALMINYON-MILLER and W. BRUMFITT. In vitro activity of Amikacin and ten other aminoglycoside antibiotics against Gentamicin-resistant Bacterial Strains.
J. Inf. Dis. supp. 134: 291-296 (1976).

STEERS E. L., B. S. FOLTZ GRAVES, J. RIDEN. An inocular replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics.
Antibiot. Chemother. 9: 307 (1959).

SEAL D. V. and J. E. M. STRANGWAYS. Gentamicin-resistant Pseudomonas aeruginosa.
Lancet I (7962) 747 (1976).

SPELLER D. C. D. RAGHUNA T. H., M. SEPHERS, A., D. C. REEVES, J. M. BROUGHAL J. M., P. J. WILKINSON, H. A. HO LT.
Lancet I (7957): 464-466. (1976).

TILTON C. R., O. STEENGRIMSSON and W. R. RYAN. Susceptibilities of Pseudomonas aeruginosa species to tetracycline, minocyclines gentamicin and tobramycin.
Am. J. Clin. Patho. 69: 410-413 (1978).

VALDIVIESO M., and G. BODEY. Amikacin therapy of severe infection produced by gram-negative bacilli resistant to gentamicin.
Am. J. Med. Sci. 273: 177-183 (1977).

WAISLVEN B. A., and C. CARR. Penicillin and chloramphenicol in treatments of infections due to *Proteus* organisms.
Am. J. Med. Sci. 223: 418-421 (1952).

WARREN R. E. and S. O. ROBERTS. Gentamicin resistant Staphylococci.
Lancet 1 (7958): 543-544 (1976).

WILLIAMS J. D., J. ANDREWS. Sensitivity of Haemophilus influenzae to antibiotics.
British. Med. J. 1: 134-137 (1974).

WARREN E. W., A. D. PRESTON, C. L. HOWLEY, S. R. GRIFFITH. Prueba de laboratorio para determinar la susceptibilidad de las bacterias a los antibióticos; teoría y práctica.
Lilly Research Laboratories. Indianápolis, Indiana.