

**Sensibilidad a los Antibióticos por los Métodos
del Disco y la Placa
en Cien Cepas de Gér-
menes Aislados de las
Vías Urinarias**

María Amparo Ruiz Piña



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

UNIVERSIDAD MOTOLINIA

**Sensibilidad a los Antibióticos por los Métodos
del Disco y la Placa en Cien Cepas de Gérmenes
Aislados de las Vías Urinarias**

TESIS
Que para su Examen Profesional de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
p r e s e n t a

María Amparo Ruiz Piña

TIPOGRAFICA ORTEGA
Emperadores 114
México, D. F. — 1954

A mis queridos Padres:
Sr. DELFINO RUIZ V. y
Sra. MARIA P. de RUIZ.
Que en esta fecha ven coronadas
sus máximas ilusiones.

A mis Hermanos queridos:
VENE y CARLOS.

A GUILLERMO SERGIO.
Con todo mi cariño.

Al Colegio SOR JUANA INES DE LA CRUZ
de Aguascalientes.

AL COLEGIO LABASTIDA
DE MONTERREY.

A MIS MAESTROS.
A MIS COMPAÑERAS.

El presente trabajo se realizó en el Hospital de Enfermedades de la Nutrición, bajo la dirección del Dr. José Ruiloba, y del Dr. Ricardo Mancera, para quienes es mi agradecimiento.

CAPITULOS

- I.—INTRODUCCION.
- II.—DEFINICION E HISTORIA.
- III.—MATERIAL Y METODOS.
- IV.—PRUEBAS VERIFICADAS.
- V.—RESULTADOS OBTENIDOS.
- VI.—CONCLUSIONES.
- VII.—REFERENCIAS.

CAPITULO I

INTRODUCCION

El estudio y la aplicación práctica de los antibióticos es relativamente reciente. Desde el descubrimiento de la penicilina por Fleming en 1929, son ya numerosos los antibióticos útiles que se han descubierto.

El conocimiento de su espectro antibacteriano "in vivo" e "in vitro" ha obligado a que médicos y bacteriólogos realicen una labor conjunta para el mayor éxito en su aplicación terapéutica. El estudio de la sensibilidad in vitro tiene por objeto orientar al médico tanto de una manera general, como en casos especiales, respecto al antibiótico de elección en el tratamiento de sus enfermos.

Es así que se presenta este estudio, relacionado con cien cepas de gérmenes aislados por cultivo de orina de enfermos encamados o bien de la consulta externa del Hospital de Enfermedades de la Nutrición.

Las cien cepas se pusieron en presencia de ocho antibióticos y un quimoterápico, proporcionados por la Casa Pfizer los primeros y la Casa Eaton el último.

CAPITULO II

DEFINICION E HISTORIA

El fenómeno de la antibiosis es la interferencia que ejerce un organismo en el crecimiento de otro, y antibiótico en terapéutica es la sustancia a la que se atribuye tal interferencia.

Son tres los grupos principales de microorganismos productores de antibióticos: las bacterias, los hongos y los actinomicetos, (pseudo hongos).

Desde 1877, Pasteur y Joubert mencionaron el hecho de que algunas bacterias y hongos interferían el crecimiento de ciertos microorganismos, en especial el bacilo de ántrax.

Posteriormente Emerich y Loew informaron que el ántrax experimental podía ser curado con aplicaciones locales de piciarina, antibiótico producido por cultivos de gérmenes del género de la *Pseudomona*.

Sin embargo, no es sino hasta 1929 en que Sir Alexander Fleming descubre, accidentalmente, que el *Penicillium notatum* interfería el crecimiento del estafilococo en los medios de cultivo.

Al medio de cultivo en que desarrolló el *Penicillium* y luego filtrado es a lo que Fleming llamó penicilina.

En 1939 Florey, después de múltiples experimentos, obtuvo una sustancia que, extraída del cultivo de *Penicillium notatum*, aplicó a un enfermo con infección estreptocócica y estafilocócica observando resultados curativos dramáticos.

Son ya varios cientos los preparados estudiados sobre la base del descubrimiento de la penicilina que han tenido propiedades antibióticas, de ellos se han seleccionado los de aplicación práctica antiinfecciosa y quizá resten aún muchos por descubrirse.

Sería imposible tratar de la evolución que han experimentado los estudios sobre estas sustancias, así como las propiedades de cada una de ellas. Concretaré mi información a aquellos que después de haber pasado la crítica, tanto bacteriológica como médica, constituyen actualmente un medicamento útil de valor práctico definido, comentando únicamente sus características más importantes relacionadas con el tema de esta tesis.

Penicilina. Este antibiótico ya ha sido aislado y clasificado químicamente, observándose inclusive que las variaciones en su fórmula permiten determinar su mayor o menor potencialidad antibacteriana.

El preparado obtenido por síntesis es menos efectivo que el producido por el hongo mismo y, por lo tanto, no se ha industrializado su producción sintética.

Seis son las penicilinas naturales aisladas hasta ahora del cultivo de *Penicillium notatum*, dominando una u otra de las variedades, no ya por la cepa en sí, sino según ciertas sustancias que se añaden al medio de cultivo para su desarrollo.

Las penicilinas son efectivas fundamentalmente sobre las bacterias gram-positivas y las espiroquetas; actúan también aunque con menos efectividad sobre algunas bacterias gram-negativas y algunos hongos.

Streptomycin. Cronológicamente después de la penicilina debe mencionarse la estreptomycin, antibiótico aislado del *Actinomyces griseus* por Schatz, Bugie y Waksman. La estructura química de la estreptomycin es N-methyl-l-glucosamido-estreptósido-estreptidina: sin embargo su síntesis aún no ha podido ser obtenida. Existen actualmente algunos variantes al preparado

inicial en los que se han demostrado iguales características farmacológicas y terapéuticas, pero con menor toxicidad, por su mayor pureza. Precipitando la solución obtenida del cultivo, se ha logrado obtener un complejo casi libre de impurezas que corresponde al clorhidrato de estreptomina. Después de éste se obtuvo, entre otros, la dihidroestreptomina que es, en general, el preparado actualmente empleado.

La estreptomina tiene una acción selectiva sobre un gran número de microorganismos gram-negativos, sobre algunos hongos y muy especialmente sobre bacilos ácido-resistentes.

Aureomicina. La aureomicina, descrita inicialmente por Duggar, de los Laboratorios Lederle, es un antibiótico aislado del *Streptomyces aureofaciens*; su nombre se debe al color amarillento de una de sus sales, el clorhidrato. Los primeros informes de este antibiótico fueron presentados ante la Sección de Biología de la Academia de Ciencias de Nueva York el 21 de julio de 1948.

La sal de aureomicina tiene un pH de 4.5, se deteriora rápidamente en medios alcalinos a la temperatura ambiente, y es estable a bajas temperaturas en forma de polvo seco o de solución acuosa a altas concentraciones. Su acción bacteriostática se presenta a bajas concentraciones, en cambio a altas es bactericida, esta actividad se ejerce tanto en los microorganismos gram-positivos como en los gram-negativos, de aquí el nombre de duomicina con que también se la describió.

A igualdad de peso, su acción es menor que la de la penicilina sobre los cocos, pero más efectiva que la estreptomina.

Cloromicina. Este antibiótico fué aislado casi simultáneamente por Burkholder y por Gottlieb en cultivo de tierra con paja y estiércol procedente de Caracas, Venezuela. Sus características morfológicas, culturales, antigénicas y de antibiosis lo identificaron como una especie de *Streptomyces* aún no clasificado en el manual de Bacteriología de Bergey, dándosele el nombre de *Streptomyces venezuelae*.

Este antibiótico se presenta en forma de agujas finas y placas cristalinas, a veces amarillentas; es soluble en agua, en algunos alcoholes y en acetona. Su solución acuosa es estable aún después de ebullición por cinco horas, teniendo la característica de no perder su poder antibiótico. Químicamente es un compuesto neutro que contiene nitrógeno y cloro no iónico.

Polimixina. Este antibiótico ha sido aislado por Stansly y sus colaboradores, del *Bacillus polymixa*, su característica fundamental es la de inhibir las bacterias gram-negativas, excepto *Proteus vulgaris* y las *Neisserias*.

Se obtiene del líquido de fermentación donde cultiva el bacilo señalado, extrayéndose el principio activo en forma de clorhidrato. El pH correspondiente a su mayor actividad oscila entre 2 y 7.

Terramicina. Este antibiótico fué descubierto por Finlay y sus colaboradores, en enero de 1950.

Es producido por una siembra de *Streptomyces rimosus*, que es un actinomiceto. Se presenta como hidrocloreto en forma de cristales amarillos; es una sustancia que no pierde su potencia por calentamiento a 100° durante cuatro días.

Es una sustancia anfótera, es decir, forma sales con ácidos y con álcalis.

La terramicina es más efectiva que la estreptomycinina contra organismos gram-positivos.

Bacitracina. La bacitracina es un antibiótico producido por el crecimiento de *Bacillus subtilis*.

Es un polipéptido neutro, higroscópico, soluble en agua, pero que precipita en soluciones acuosas de cloruro de sodio altamente concentradas. Su pH en solución alcalina es de 9.

Este antibiótico inhibe el crecimiento de las bacterias gram-positivas y de algunas gram-negativas. Por su gran actividad se

utiliza frecuentemente contra organismos resistentes a la penicilina.

Furadantina. Es un quimioterápico creado para las infecciones de las vías urinarias.

Es un compuesto crisalino, amarillo, de sabor amargo, soluble en agua a razón de 18 mg. por 100 c.c. con un pH de 7. En solución neutra o alcalina es mucho más soluble. Es estable en solución acuosa y a las temperaturas del autoclave. Funde a 250 C.

El excepcionalmente amplio espectro antibacteriano de los nitrofuranos, incluyendo furadantina, actúa sobre organismos gram-negativos y gram-positivos.

Estos nitrofuranos poseen una ventaja característica, ya que experimentando el desarrollo de la resistencia bacteriana a estas drogas *in vitro*, solamente se observa un grado muy bajo y limitado de resistencia aún después de repetidas verificaciones.

En pruebas preliminares, la furadantina no ejerció ningún efecto contra virus u hongos, pero pareció ser eficaz contra ciertos protozoarios tanto *in vitro* como *in vivo*.

Para la aplicación de los antibióticos "*in vivo*" es necesario conocer su espectro antibacteriano, el que se determina por medio de estudios bacteriológicos "*in vitro*".

Con este objeto se han ideado numerosos métodos: la prueba de la copa o cilindro, en placa de gelosa; la prueba del disco embebido en soluciones de antibiótico previamente titulados; la prueba de dilución en tubo y la prueba, la más moderna, de incluir dentro del medio sólido de cultivo una concentración uniforme del antibiótico.

Me referiré únicamente a las pruebas de la dilución sereada en tubo, de sensibilidad con disco y de sensibilidad en placa, pues la primera de la copa o cilindro por sus dificultades técnicas ha sido prácticamente sustituida por las otras.

El método de dilución en tubo está basado en determinar la cantidad mínima del antibiótico, que inhibe el crecimiento de determinada cepa del germen en estudio. Lo cual se logra mediante concentraciones progresivamente crecientes del antibiótico en los tubos de cultivo, a los cuales se ha añadido una cantidad uniforme de inóculo.

Esta técnica es muy laboriosa y aunque exacta en sus resultados nosotros prescindimos de ella por considerar que las de disco y placa son más accesibles y dan informes prácticos semejantes.

CAPITULO III

MATERIAL Y METODOS

Las cien cepas estudiadas por nosotros en la elaboración de esta tesis correspondieron a gérmenes aislados de la orina de enfermos encamados o de la consulta externa del Hospital de Enfermedades de la Nutrición.

En todos los casos la orina se colectó por métodos estériles.

El sedimento obtenido, mediante la centrifugación de dos tubos de 15 centímetros de capacidad durante 15 minutos a 1,500 revoluciones por minuto, fué el que se utilizó para la siembra sobre los medios de cultivo.

El medio de cultivo empleado para el aislamiento de los gérmenes fué inicialmente, la placa de McConkey; obtenida con los medios deshidratados de Difco. La identificación específica del germen, se realizó por métodos bioquímicos y serológicos. Finalmente se practicó la sensibilidad.

METODO DEL DISCO

Los antibióticos empleados fueron los contenidos en el "Equipo para determinar sensibilidad de antibióticos" de la Casa Pfizer. A cada frasco de antibiótico se le agregaron 10 c.c. de agua destilada estéril.

El germen aislado del cultivo se sembró en una placa de gelatina simple, la siembra se hizo de una manera uniforme en toda la superficie de la placa.

Los discos de papel filtro de tamaño uniforme y esterilizados con anterioridad se tomaron con pinzas flameadas y se embebieron en la solución del antibiótico, dejando escurrir el exceso en las paredes del frasco. Cada disco se colocó a una distancia conveniente para evitar la acción simultánea de dos o más antibióticos. Se incubó a 37 grados durante 24 horas al cabo de las cuales leímos los resultados.

Se hicieron las lecturas de la siguiente manera:

Si hubo una inhibición franca alrededor del disco con un diámetro aproximado de 5 a 7 milímetros, lo anotamos como sensible; si la zona de inhibición fué de 2 a 3 milímetros lo reportamos como ligeramente sensible; si la inhibición fué menor de 2 milímetros se consideró como resistente.

Diariamente verificamos un estudio comparativo entre los discos empleados por nosotros y los de la sensibilidad media de la Casa Difco para comprobar la eficacia y la potencia del método que seguimos.

La concentración media del antibiótico en cada disco de 7 mm. fué como sigue:

Cloromicetina: 30 mcg.

Terramicina: 30 mcg.

Aureomicina: 30 mcg.

Dihidromicina: 10 mcg.

Penicilina: 1 uni.

Polimixina: 10 mcg.

Bacitracina: 10 uni.

METODO DE PLACA *

Preparación de la solución madre.

A los frascos del antibiótico de Pfizer se añadieron 20 c.c. de agua destilada y se conservaron en el congelador.

Preparación del medio.

Se pesan 4.1 gr. de medio de B. H. I. de Difco y 1.65 de agar y se agregan 100 c.c. de agua destilada, después de llevarla a ebullición hasta disolver los medios; se esterilizan durante 15 minutos a 15 libras de presión. Inmediatamente después se pasan 9 c.c. del medio a tubos estériles y se dejan en baño de maría a 47° hasta que la temperatura se estabilice.

Manera de preparar las diferentes concentraciones de antibióticos.

Se toman cinco tubos para cada antibiótico, al primer tubo se le ponen 9 c.c. de agua destilada estéril, y a los otros cuatro solamente 5 c.c. Con una pipeta estéril para cada antibiótico se toma 1 c.c. de suspensión y se vacía en el primer tubo, de éste, se toman 5 c.c. y se pasan al siguiente tubo y así sucesivamente, teniendo cuidado de mezclar bien para homogeneizar las soluciones. De esta manera tenemos cinco concentraciones diferentes: 100, 50, 25, 12.5, 6.2 unidades por c.c.

De las anteriores concentraciones sólo se utilizaron la primera y la tercera por ser entre ellas donde se encontraban los límites de la máxima y mínima sensibilidad.

Un centímetro cúbico de las concentraciones de antibiótico se deposita en los medios de cultivo que deben estar a una temperatura de 47° C. Se invierte varias veces el tubo para obte-

* Agradezco a la Srita. Q. B. Georgete Figueredo y al Sr. Q. B. P. Jorge Olarte su colaboración.

ner una dilución homogénea y se vacía inmediatamente en la caja de Petri.

Las cepas a las que se les hizo sensibilidad en placa se sembraron en medio de B. H. I. líquido y se incubaron por 24 horas a 37°. Para tener gérmenes en pleno desarrollo resembramos nuevamente el B. H. I. e incubamos una hora antes de hacer la prueba de sensibilidad. La siembra sobre la placa del medio con el antibiótico, se efectuó con un hisopo de determinado volumen y procurando que la cantidad de inóculo sea uniforme.

La lectura de los resultados obtenidos en este caso fueron los siguientes:

Si en ambas concentraciones crecía el germen en estudio, lo informamos como resistente, si solamente crecía en la caja de la menor concentración se decía que era ligeramente sensible, y si no crecía en ninguna placa, la cepa se consideraba como sensible.

La concentración final del antibiótico fué de 10 U/c.c. para la mayor y de 2.5 U/c.c. para la menor.

CAPITULO IV

PRUEBAS VERIFICADAS

Se estudiaron cien cepas de gérmenes por el método de disco y por el de placa.

Los siguientes cuadros nos muestran los resultados en por ciento de las cepas estudiadas, de acuerdo con su mayor o menor sensibilidad "in vitro" al antibiótico.

El grupo I representa los resultados obtenidos por el método del disco.

El grupo II corresponde a los resultados obtenidos por el método de placa.

Las letras S, L, R, significan: sensible, ligeramente sensible, y resistente.

Klebsiella pneumoniae.

I —

	Cloro.	Terra.	Aureo.	Dihidro.	Peni.	Poli.	Baci.
S.	26%	14%	7%	7%	—	—	—
L.	42%	26%	32%	—	7%	—	—
R.	32%	60%	61%	93%	93%	100%	100%

II.—

S.	14%	7%	26%	20%	—	7%	—
L.	72%	20%	32%	7%	—	26%	—
R.	14%	73%	42%	73%	100%	67%	100%

Escherichia coli.

I.—

	Cloro.	Terra.	Aureo.	Dihidro.	Peni.	Poli.	Baci.
S.	25%	13%	13%	7%	—	7%	—
L.	56%	56%	50%	13%	—	19%	—
R.	19%	31%	37%	80%	100%	74%	100%

II.—

S.	7%	62%	38%	43%	—	—	—
L.	62%	—	24%	57%	—	50%	—
R.	31%	38%	38%	—	100%	50%	100%

Proteus.

I.—

	Cloro.	Terra.	Aureo.	Dihidro.	Peni.	Poli.	Baci.
S.	—	—	13%	—	—	—	—
L.	75%	13%	—	—	—	13%	—
R.	25%	87%	87%	100%	100%	87%	100%

II.—

S.	—	13%	13%	—	—	—	—
L.	13%	—	—	—	25%	—	—
R.	87%	87%	87%	100%	75%	100%	100%

Paracolon.

I.—

	Cloro.	Terra.	Aureo.	Dihidro.	Peni.	Poli.	Baci.
S.	25%	25%	—	25%	—	—	—
L.	50%	25%	25%	—	—	—	—
R.	25%	50%	75%	75%	100%	100%	100%

II.—

S.	25%	50%	—	—	—	—	—
L.	50%	50%	75%	25%	75%	75%	—
R.	25%	—	25%	75%	25%	25%	100%

Pseudomona aeruginosa.

I.—

	Cloro.	Terra.	Aureo.	Dihidro.	Peni.	Poli.	Baci.
S	—	—	—	—	—	—	—
L.	100%	—	—	—	—	—	—
R	—	100%	100%	100%	100%	100%	100%

II.—

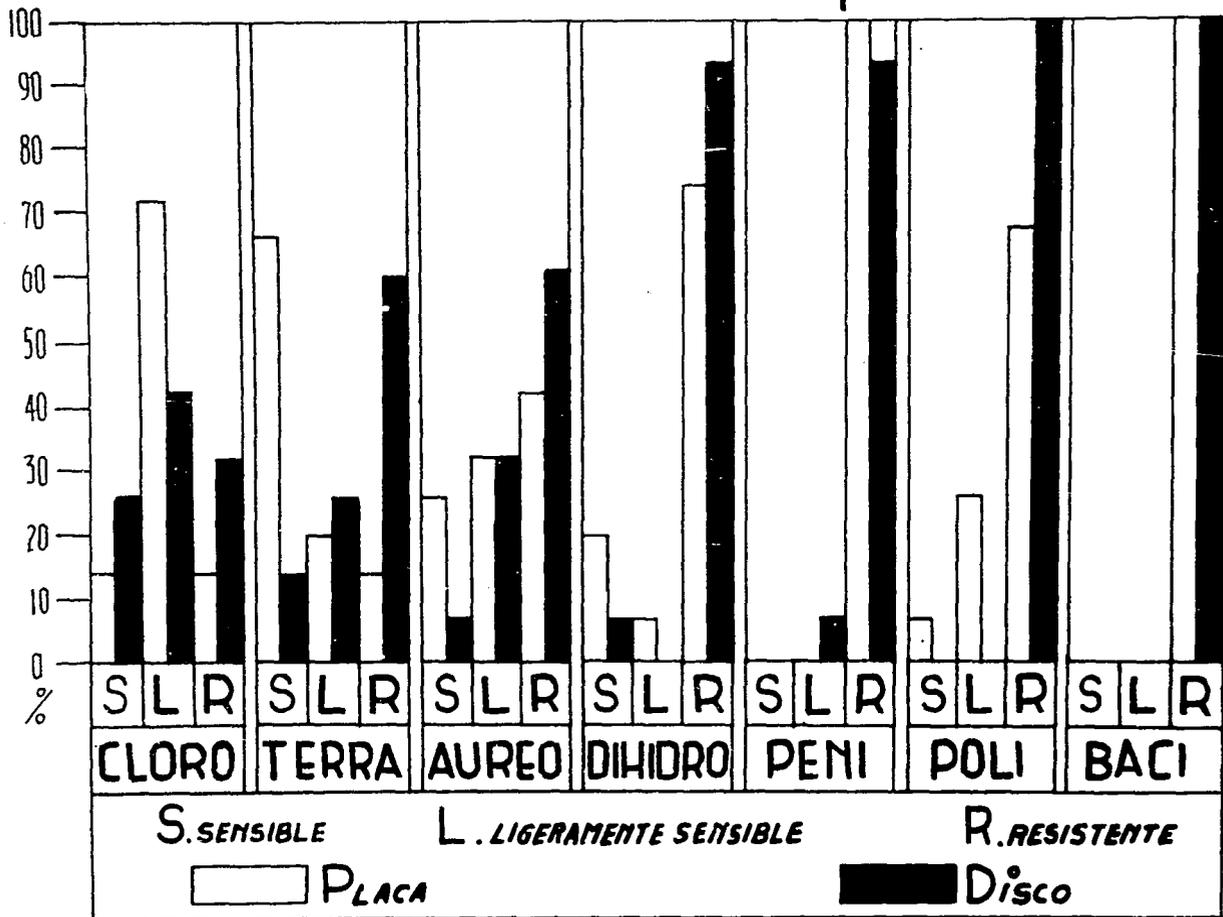
S	—	—	—	—	—	—	—
L.	—	100%	—	—	—	100%	—
R.	100%	—	100%	100%	100%	—	100%

Los cuadros siguientes muestran de una manera gráfica los resultados anteriores.

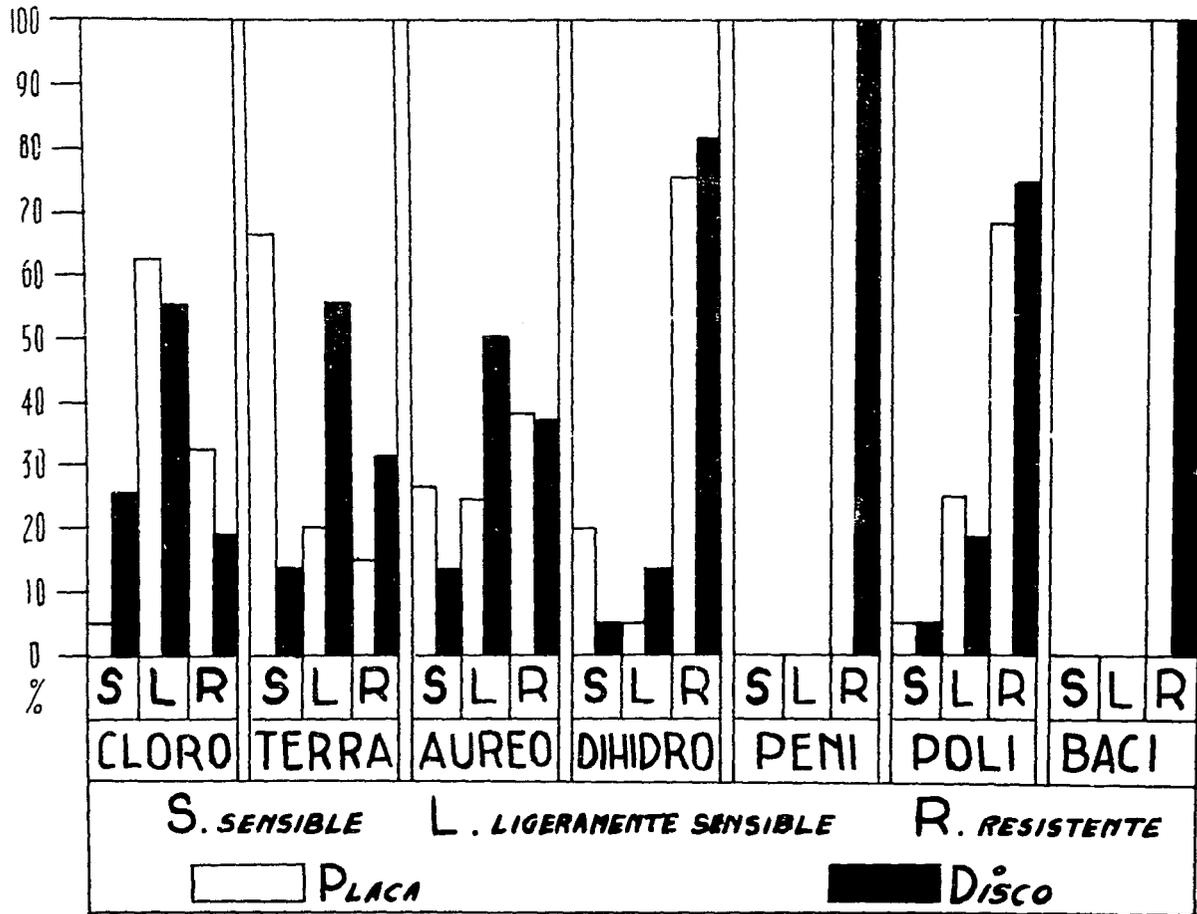
Con la Furadantina obtuvimos los siguientes resultados, para la cual empleamos únicamente el método del disco:

	S.	L.	R.
<i>Klebsiella penumoniae.</i>	19%	81%	—
<i>Escherichia coli.</i>	7%	93%	—
<i>Proteus.</i>	—	80%	20%
Paracolon	—	100%	—
<i>Pseudomona aeruginosa.</i>	—	—	100%

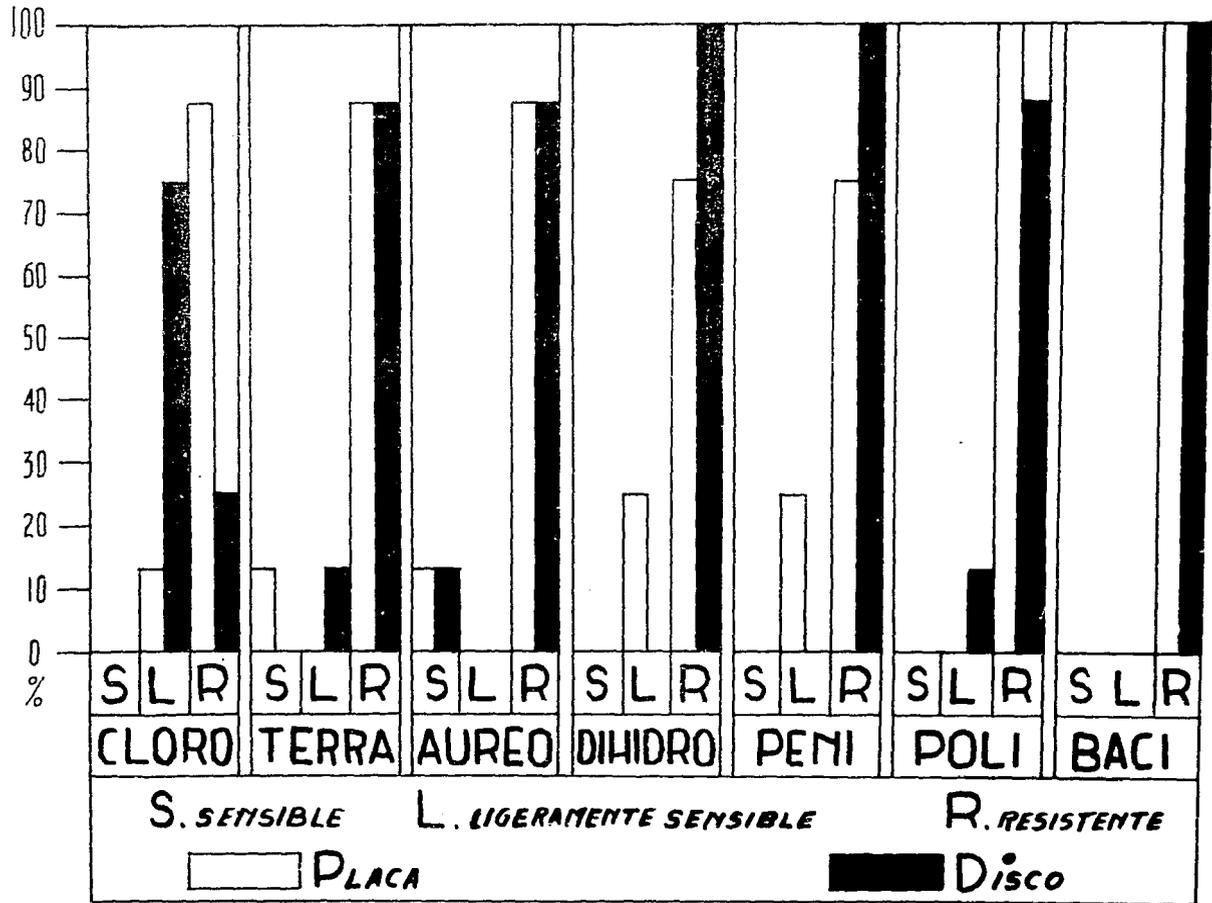
KLEBSIELLA p.



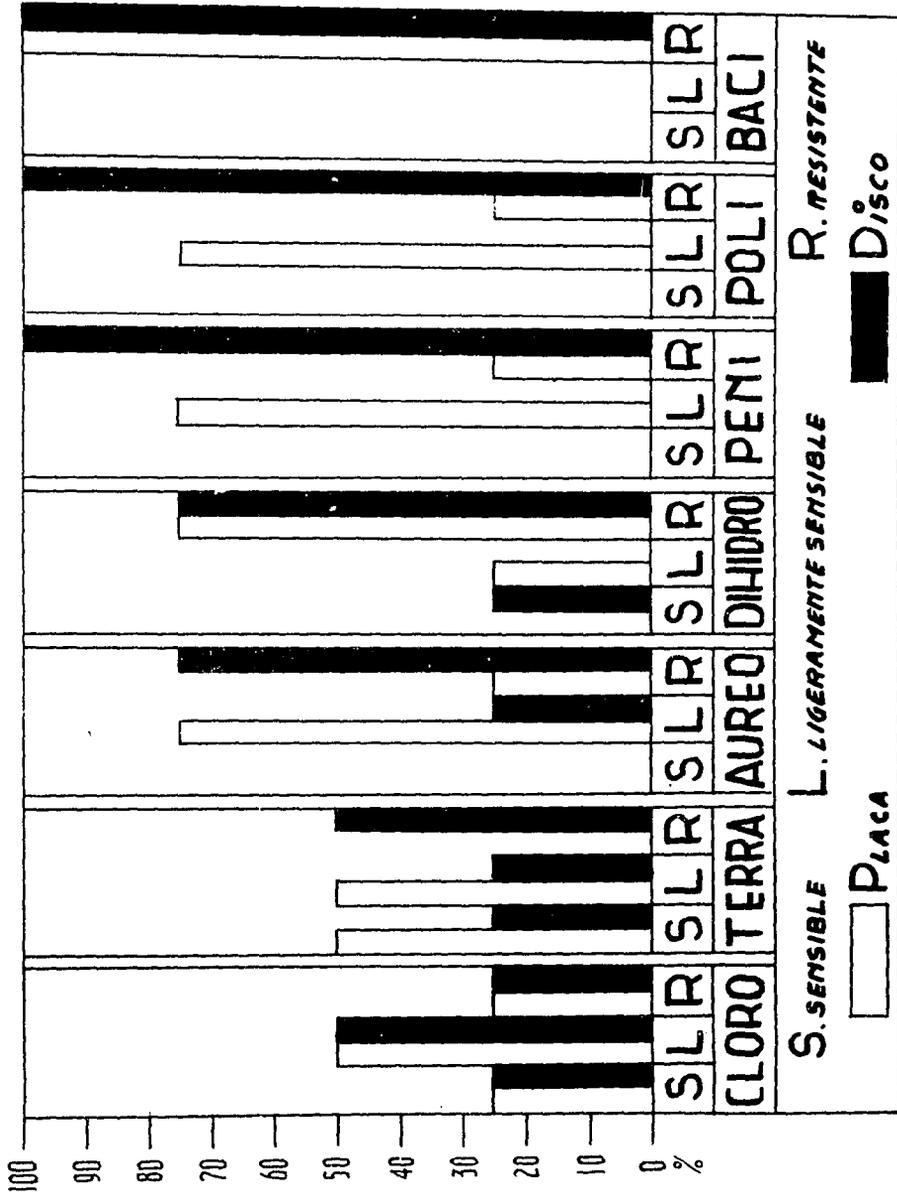
ESCHERICHIA .coli



PROTEUS

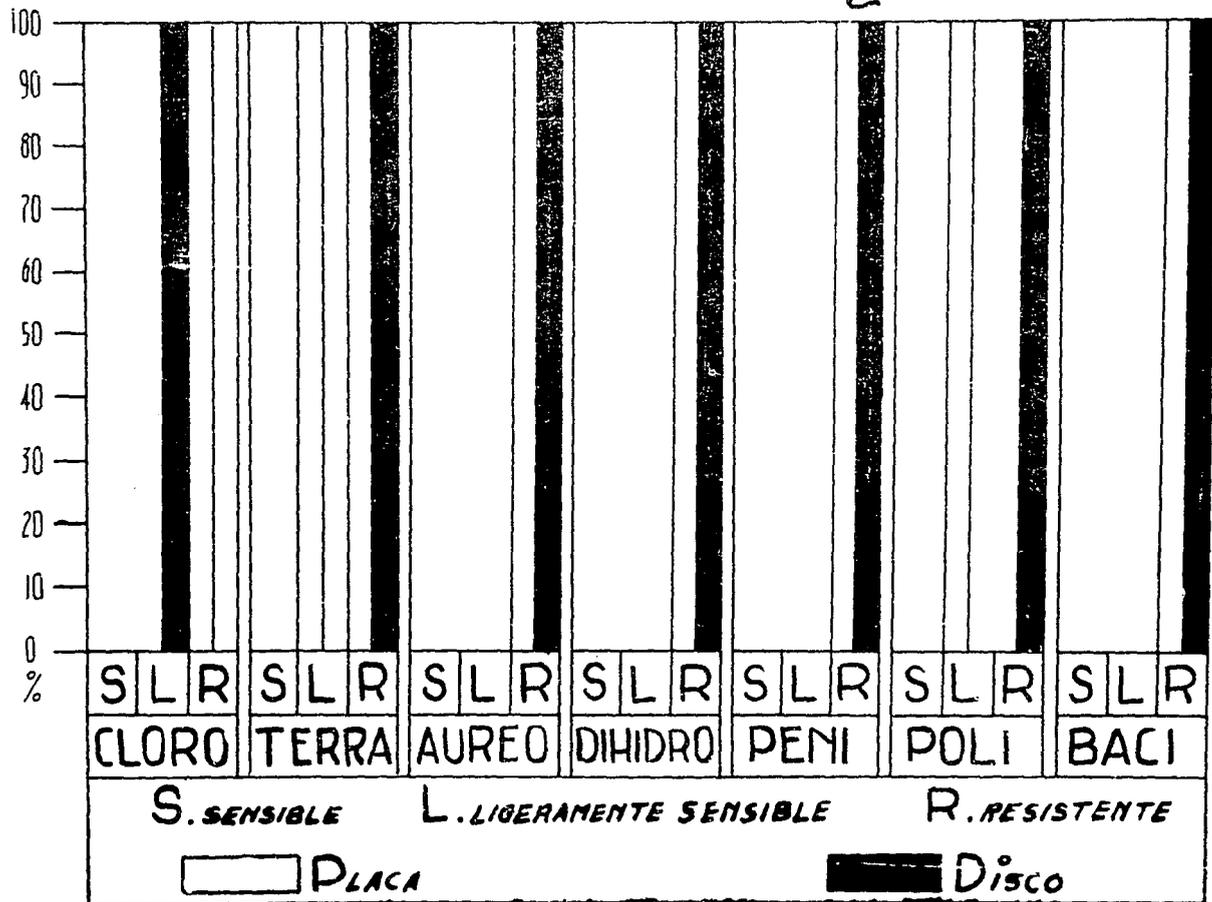


PARACOLON



S. SENSIBILE **L. LIGERAMENTE SENSIBILE** **R. RESISTENTE**
 PLACA **DISCO**

PSEUDOMONA aeruginosa



CAPITULO V

RESULTADOS OBTENIDOS

De acuerdo con los resultados que se expresan en los cuadros anteriores, se observa que existe una diferencia apreciable en el comportamiento de los gérmenes estudiados ante los diferentes antibióticos, según el método que se utilice.

En todos los casos se observa una mayor sensibilidad a la cloromicetina en las pruebas del disco.

La aureomicina y la terramicina muestran resultados semejantes en uno y en otro método, excepto en el caso de los Paracolon y de las Pseudomonas en que se observan resultados discordantes.

La dihidroestreptomicina dió resultados semejantes por uno u otro método excepto con las Escherichias en que la sensibilidad fué mayor por el método de placa.

La penicilina mostró, como era de esperarse, una resistencia casi total para los gérmenes estudiados, con excepción de los Paracolon en que por el método del disco se observó, sorpresivamente, sensibilidad media en el 75% de los gérmenes.

Para la polimixina los resultados también fueron diferentes de uno a otro método, observándose que el de la placa mostró un porcentaje mayor de gérmenes sensibles.

Con la bacitracina, los resultados fueron uniformemente negativos con ambos métodos.

Con la Furadantina, que es un medicamento creado especialmente para las infecciones de las vías urinarias, cabe hacer notar el hecho de que: de las cien cepas de gérmenes a las que se les hizo sensibilidad con los discos de la Casa Difco y con la Furadantina, presentaron ante ésta un porcentaje de sensibilidad muy satisfactorio y más elevado que a los demás antibióticos. pues a excepción de las Pseudomonas que mostraron un 100% de resistencia los demás gérmenes en estudio dieron excelentes resultados; es por eso, y por otros estudios que sobre este quimioterápico, se han hecho: que creemos que la Furadantina es un medicamento de muy alta efectividad.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

La diferencia en los resultados obtenidos no fué para nosotros un hecho inesperado, pues ya en la literatura numerosos autores se han referido a la variación de los resultados según el método empleado y aún se mencionan variaciones de un investigador a otro.

La explicación de estas variaciones la tenemos: 1o.—Debido a las cepas en estudio; 2o.—A los medios de cultivo utilizados; 3o.—A la cantidad del inóculo; 4o.—Al poder de difusibilidad del antibiótico; 5o.—Al período de incubación previo a la lectura, etc.

Para el caso de nuestro estudio las variaciones de un método a otro pueden referirse fundamentalmente, a dos factores; dado que las otras circunstancias fueron siempre las mismas, los que a nuestro juicio son: el poder de difusibilidad mayor de determinados antibióticos cuando se emplea el método del disco, y la variación en la cantidad del inóculo de un método a otro.

Por estos motivos y según nuestra experiencia el método del disco es menos exacto que el de placa.

Por otra parte los estudios comparativos, que con algunos de los gérmenes practicamos por el método de dilución en tubo, los resultados fueron semejantes a los obtenidos por el método de la placa.

Desde el punto de vista práctico, podemos inferir que, todos estos métodos de sensibilidad "in vitro" de los gérmenes a los antibióticos son útiles para el clínico, más en su aspecto cualitativo que en el cuantitativo, ya que la variación en los resultados se refiere fundamentalmente a la mayor o menor sensibilidad, siendo en cambio mucho más congruente por lo que respecta a su resistencia. En otros términos, al clínico se le debe de informar sobre la sensibilidad o la resistencia de un germen más que acerca del grado de la misma.

El clínico a su vez, al interpretar los resultados del laboratorio deberá tener en cuenta las limitaciones de los métodos empleados y las propiedades farmacológicas del fármaco que se va a emplear.

Además, creemos conveniente recomendar para pruebas de sensibilidad, el método de la placa por ser de más fácil elaboración que el de dilución en tubo y en cambio de igual efectividad.

CAPITULO VII

REFERENCIAS

- 1.—B. A. Thomson, Dried disc technique for determining sensitivity to the antibiotics. *J. Clin. Path.* 3-2. 118. 21 May 1950.
- 2.—A Bondi, E. H. Spauling, D. E. Smith & C. C. Dietz, A routine method for the rapid determination of susceptibility to Peniciline & other antibiotics. *Am. J. Med. Sciences* 213, 221, 1947.
- 3.—G. G. Jackson & M. Finland, Comparison of methods for determining sensitivity of bacteria to antibiotics. *Arch. Int. Med.* 88, 446, 1951.
- 4.—R. E. Hoyt & E. B. Golden, Antibiotic sensitivity testing. A survey of commercially available determinations. *Antibiotics & Chemotherapy* 2, 375, 1952.
- 5.—O. Felsenfeld, I. F. Volini, V. Mae Young & S. J. Ishihara, Laboratory tests with newer antibiotics on microorganisms commonly prevalentia tropics. *Am. Trop. Med.*, 30, 499, July, 1950.
- 6.—B. A. Waisbren, C. Carr & J. Dunnette. Tube dilution method of determining bacterial sensitivity. *Am. J. Clin. Path.*: 21, 884-891. Sep., 1951.
- 7.—W. C. Cutting. Actions in vivo. *Ann. Rev. Microbiol.* 3, 137-158. 1949.
- 8.—Q. B. P. Jorge Olarte. Sensibilidad de algunas bacterias patógenas intestinales, para las sulfonamidas y antibióticos. *Revista de investigaciones clínicas*, IV-245.