

30
2da

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN



FLORA ANAEROBICA DE COLON EN PACIENTES DE
EDAD PEDIATRICA

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
ROSA ELENA SALAZAR ARAGON

Director de Tesis: Q.B.P. María Luisa Rojas Castañeda



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.

I N D I C E

	Página
I RESUMEN	1
II INTRODUCCION	2
III ANTECEDENTES	5
IV OBJETIVO	9
V MATERIAL Y METODOS	10
VI RESULTADOS	46
VII DISCUSION	111
VIII CONCLUSIONES	114
IX APENDICE	116
X BIBLIOGRAFIA	126

LISTA DE ABREVIATURAS

bact	-	bacterias
CDC	-	Centro de Control de Enfermedades
cfu	-	Unidades formadores de colonias
cm	-	centímetros
C.M.I.	-	Concentración mínima inhibi_toria
gr-g	-	gramos
hrs	-	horas
Lb/ft ²	-	Libras/pie ²
mcg	-	microgramos
min	-	minutos
ml	-	milímetros
u	-	unidades
seg	-	segundos

RESUMEN

Las cirugías colorrectales tienen un alto riesgo de sepsis debido a la contaminación del lugar por microorganismos propios del intestino, por lo que junto con el servicio de cirugía pediátrica del Hospital General del Centro Médico La Raza se realizó este estudio en el cual se plantearon dos objetivos principales:

1. Conocer la flora anaeróbica de colon y
2. Determinar su patron de susceptibilidad y resistencia a los antimicrobianos.

Se estudiaron 100 pacientes cuya edad oscilaba entre 1 día y 16 años, dividiéndose en cuatro grupos: recién nacido, lactantes, pre-escolares y escolares. Para el aislamiento e identificación de las bacterias anaerobias se emplearon los medios de cultivo y las pruebas bioquímicas recomendadas por el CDC de Atlanta, Georgia. La susceptibilidad a los antimicrobianos se hizo por el método de dilución en placa, probándose dos soportes: Sangre hemina-menadiona y medio de Schaeffer. Los anaerobios más frecuentemente aislados fueron:

1. Bacteroides fragilis con el 62-64%
2. Clostridium histolyticum con el 29-33%
3. Peptococcus magnus con el 25-29%

Los mejores agentes fueron:

1. Bacteroides fragilis el metronidazol con un 75-85% de susceptibilidad.
2. Para Clostridium, el Metronidazol con un 86-98% de susceptibilidad y
3. Paracocos anaeróbicos, la penicilina y la clindamicina con el 75-100% de susceptibilidad.

No se encontró variación de la flora anaeróbica con respecto a la edad. El método de dilución en placa aún necesita estandarización y control, por lo que es necesario que cada hospital tenga su propio patrón.

INTRODUCCION

En los últimos años se ha observado que las bacterias anaerobias son causa de varios tipos de infección, las cuales con frecuencia pasan desapercibidas ya que suelen encontrarse en cultivos mixtos. Así las bacterias anaerobias son aquellas que exigen una tensión reducida de oxígeno para su crecimiento.

Es importante el conocimiento de la flora normal específica en los diferentes sitios del organismo, ya que dicha flora cuando existen factores predisponentes puede causar enfermedades (38). Como parte de la flora normal de la piel y mucosas del hombre, las bacterias anaerobias se encuentran en una relación 1000:1 con respecto a las bacterias aerobias del colon, y en una relación 10:1 con respecto a las aerobias de la piel, boca y vagina (9). Aunque generalmente el lumen del estómago es estéril, los microorganismos encontrados están en pequeña cantidad de 10^4 microorganismos (17). Una de las especies de microorganismos anaerobios más comunes es Bacteroides fragilis, la cual se encuentra en el intestino a concentraciones de 10^5 - 10^7 /gr. (12).

Debido a las características del colon como son la presencia de gases entre ellos el nitrógeno, dióxido de carbono, metano, hidrógeno y oxígeno, siendo la fracción mayor las del nitrógeno, nos justifica la predominancia de anaerobios en este sitio. La principal fuente es el gas deglutido que representa el 70% del gas presente en el intestino grueso y la segunda fuente es el gas resultante de la acción bacteriana de los sustratos. Por esto se menciona que del 90-95% de las bacterias presentes en este sitio son anaerobios (16). La flora anaeróbica de colon ha sido analizado por diferentes investigadores y se han encontrado por lo menos 25 géneros de bacterias anaerobias (18).

El resultado de estudios de la mucosa colónica indican la predominan-

cia de la flora asociada encontrándose concentraciones desde 1.50×10^6 hasta 2.7×10^8 /gr. de anaerobios donde los aerobios se encuentran en concentraciones de 10^4 . Esta aparente asociación anaerobia-aerobio se encuentra todavía en investigación. Al parecer protege contra la colonización e invasión por bacterias patógenas y contribuyen a la vez en la función digestiva normal (8). Así mismo se han aislado anaerobios en un 92% de infecciones después de cirugía colónica (12).

En el paciente con enfermedad de Crohn y carcinoma de colon se han encontrado anaerobios asociados con la mucosa colónica de 10^3 - 10^8 /gr. y la relación anaerobio/aerobio es de 1.5:1, predominando los anaerobios del género Bacteroides (8).

De igual manera los estudios de la flora normal de colon a nivel mundial han aumentado, dada la importancia que representa en cuanto a complicaciones en cirugía tanto de urgencia como electiva a nivel abdominal principalmente en el intestino grueso. Por publicaciones extranjeras (6,8,9,17,24) se conocen los microorganismos habituales del tubo digestivo. En el cuadro I se indica la frecuencia en el ser humano de ciertos anaerobios en el intestino y otros sitios.

CUADRO I
CUADRO DE DIVERSOS ANAEROBIOS DE LA FLORA NORMAL
EN EL SER HUMANO

	PIEL	NASOFARINGE BOCA	INTESTINO	VAGINA
Bacilos Gram				
Positivos				
<u>Clostridium</u>	0	0	2	0
<u>Actinomyces</u>	0	1	0	0
<u>Bifidiobacterium</u>	0	1	2	1
<u>Eubacterium</u>	0	1	1	0
<u>Propionibacterium</u>	2	0	0	0
Bacilos Gram				
Negativos				
<u>Bacteroides fragilis</u>	0	0	2	0
<u>Bacteroides melaninogenicus</u>	0	2	1	2
<u>Fusobacterium</u>	0	2	1	0
Cocos Gram				
Positivos				
	0	2	1	2
Cocos Gram				
Negativos				
	0	2	1	2
Spiroquetas	0	1	0	0

Cuadro I.- En este cuadro se muestra la incidencia de algunos anaerobios pertenecientes a la flora normal en diferentes sitios del cuerpo humano, en donde 0=poco frecuente, 1=moderadamente frecuente y 2=frecuente.

ANTECEDENTES

Se ha aceptado por muchos años que la limpieza mecánica del intestino grueso antes de la cirugía colorrectal reduce el riesgo de complicación infecciosa postoperatoria. Actualmente el uso de agentes antimicrobianos junto con dicha limpieza ha sido objeto de análisis continuos.

Existen tres métodos de profilaxis antibiótica: administrar el antibiótico por vía oral junto con la preparación mecánica del intestino para reducir las bacterias presentes en el lumen del mismo al momento de la operación; usar antibióticos por vía local en la herida y por último antibióticos sistémicos durante la operación (11).

Keighley (23) en 1978 demostró en el Hospital General de Birmingham, Inglaterra que la lincomicina sistémica reduce la incidencia de sepsis producida por bacterias anaerobias no esporuladas. Estudió 60 pacientes y resultó que la lincomicina administrada por vía intravenosa durante 24 horas fue tan efectiva como la administrada por la misma vía durante 5 días, no obstante siguió siendo un problema la sepsis por aerobios gram negativos.

Al mismo tiempo Fiddian (11) encontró resultados similares cuando estudió a 46 pacientes programados para cirugía colónica en el Hospital de Luton, Inglaterra de los cuales 27 se trataron con metronidazol y en ninguno de ellos se desarrolló infección anaeróbica, en cambio se desarrolló la infección en 11 de los 19 pacientes control (58%).

También Bartlett, Condon y colaboradores (3) en el mismo año encontraron en el Hospital de los Veteranos en Boston, Massachusetts una reducción en las concentraciones tanto de aerobios como anaerobios en aproximadamente 10^5 bact/ml al estudiar la comparación de neomicina y eritromicina por vía oral contra placebo en 116 pacientes.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Gillespie y McNau--ght (14) en 1978 cuando realizaron un estudio clínico sobre adminis--tración profiláctica de kanamicina y metronidazol por vía oral en 71 pacientes programados para cirugía colónica, en donde hubo una dismi--nución de los microorganismos coliformes y los bacteroides de la flo--ra fecal después de la administración del antibiótico.

De la misma manera Eykyn y Phillips (10) encontraron en el Hospital -de Santo Tomás de Londres, Inglaterra que de 30 pacientes con sepsis anaeróbica tratados con metronidazol por vía intravenosa y oral, se aislaron bacterias aerobias y anaerobias en cultivo mixto en 22 de --ellos y sólo anaerobios en 8 de ellos. Esto representa una disminu--ción en la sepsis anaeróbica después del tratamiento.

Por otra parte Webb, Thadepalli y colaboradores (40) estudiaron en --1978 a 18 pacientes con infección anaeróbica tratados con ticarcilina disódica por vía intravenosa, aislando los siguientes microorganismos anaerobios: Peptococcus (10), Peptostreptococcus (10), Bacteroides --fragilis (6), Bacteroides no fragilis (10), Eubacterium (3), Fusobac--terium (2), Clostridium (1), Veillonella (1) y Acidamino coccus (1); encontrándose también microorganismos aerobios como Proteus, Klebsie--lla, Escherichia coli y Streptococcus. La mayoría de los pacientes -respondieron bien al tratamiento, comprobándose que la ticarcilina es útil para combatir a los microorganismos anaerobios.

En el mismo año Noone, Abeyundere y Bradley (30) estudiaron la rela--ción entre el choque séptico y la cirugía gastrointestinal, recopilan--do estudios de hemocultivos positivos de pacientes programados para -cirugía gastrointestinal durante el período de 1972-1976 en el Hospi--tal Royal Free en Londres, Inglaterra, encontrándose que no había di--ferencia en la incidencia de choque séptico entre los pacientes que -sufrieron cirugía del intestino delgado y cirugía colorrectal, siendo el mismo aparato gastrointestinal la puerta de entrada. Los microor--

ganismos coliformes predominaron en la sepsis después de cirugía del intestino delgado, mientras que Bacteroides fragilis predominó en la sepsis después de la cirugía colorrectal.

Igualmente Brook y colaboradores (5) en 1980 encontraron que el aparato gastrointestinal fue la puerta de entrada más importante predominando en 13 casos de los 28 pacientes pediátricos con bacteriemia estudiados. El oído y la nasofaringe fueron otras puertas de entrada - menos importantes. El resultado de los cultivos fue: Bacteroides fragilis (14), Cocos gram positivos (4), Clostridium sp. (4), Propionibacterium acnes (4) y Fusobacterium sp. (3).

Por otro lado Edmonson y Rissing (7) en 1982 encontraron en el Hospital de los Veteranos de Boston, Massachusetts que la mayoría de los cultivos de 123 pacientes programados para cirugía colónica dieron como resultado el aislamiento de Bacteroides fragilis, coincidiendo con los resultados de trabajos anteriores ya descritos. De estos 123 pacientes, 65 recibieron cefaloridina por vía intramuscular y los 58 -- restantes recibieron eritromicina y sulfato de neomicina por vía oral resultando que el 12% de los pacientes que recibieron cefaloridina tuvieron heridas infectadas, en cambio esto sucedió en el 1.7% de los pacientes que recibieron eritromicina y neomicina.

Estos resultados son similares a los obtenidos por Bartlett y Burton (4) en 1982 en el Hospital General de Boston, Massachusetts donde recopilaron durante el período de 1960-1980 42 estudiantes sobre profilaxis antibiótica, cada uno con 50 pacientes o más, observando que la infección de heridas como complicación de la cirugía colónica todavía es común, pero los agentes más efectivos son los que tienen actividad contra bacterias anaerobias.

De la información descrita anteriormente se puede observar que los resultados obtenidos por los diferentes investigadores son similares, - confirmando la importancia de la profilaxis antibiótica para reducir

las infecciones de heridas como complicaciones postoperatorias de la cirugía colónica que incluso pueden traer como consecuencia un choque séptico. No todos los agentes antimicrobianos poseen la misma eficacia, pero los mejores son aquellos que combaten a las bacterias anaerobias ya que son las que predominan en la flora normal del colon, - pero a pesar de esto no se ha podido encontrar todavía el antibiótico óptimo, así como la mejor vía de administración debido a que las infecciones de heridas no se han eliminado.

OBJETIVOS

Como ya se mencionó, las infecciones de heridas son una complicación común de las cirugías colónicas debido a la contaminación de las mismas por microorganismos propios del intestino. Existen varios padecimientos que requieren de dicha cirugía, por ejemplo: atresia del ano, atresia del esófago, enfermedad de Hirschprung, quemadura péptica o cáustica del esófago, estenosis del colon por secuela amibiana, etc. Aproximadamente de 8 a 10 pacientes que ingresan al servicio de cirugía pediátrica del Hospital General del Centro Médico La Raza sufren cirugía colónica. Asimismo se sabe que se han aislado anaerobios de infecciones de heridas después de cirugía colónica hasta en un 92%.

Además existen pocos estudios nacionales en el paciente pediátrico de la flora anaerobia normal del colon, debido a que los estudios de este sitio son bastante difíciles por la amplia variedad de especies -- presentes, entre las que destacan: Bacteroides fragilis, Bifidiobacterium, Peptococcus, Peptostreptococcus, Veillonella, Clostridium, etc.

Lo anterior nos indica la importancia de los anaerobios en este tipo de problema, por lo que se hace necesario el estudiarlos, de manera -- que en este estudio se plantearon los siguientes objetivos:

1. Conocer la flora anaeróbica de colon en pacientes pediátricos ya que en cirugía colorrectal representa un peligro las -- complicaciones infecciosas causadas por anaerobios.
2. Establecer el patrón de susceptibilidad a los antimicrobianos para estos anaerobios.

MATERIAL Y METODOS

Material Biológico

Se estudiaron un total de 100 pacientes cuya edad osciló entre 1 día y 16 años, que ingresaron al servicio de cirugía pediátrica del Centro Médico La Raza, sin importar sexo ni estado nutricional, durante el período de junio a diciembre de 1983. Se excluyeron aquellos que cursaron con proceso infeccioso del tubo digestivo sin antibioterapia y los que habían recibido antimicrobianos 10 días previos al estudio. Se dividieron en cuatro grupos de edades de la siguiente manera: recién nacido, que fueron 24 con un rango de edad de 1-30 días; lactantes, que fueron 24 con un rango de edad de 1 mes hasta 2 años; pre-escolares, que fueron 27 con un rango de edad de 2-5 años; y por último los escolares, que fueron 25 con un rango de edad de 5-16 años.

Toma de Muestras

Con el fin de tomar las muestras de colon para nuestro estudio se introdujo una sonda de alimentación de calibre 2.5mm (D730-E) a través del ano, hasta una distancia de aproximadamente 10-40cm según el tamaño y la edad del paciente. Por medio de una jeringa se inyectó tioglicolato enriquecido con la finalidad de disolver las heces y a la vez utilizarlo como medio de transporte. Posteriormente se succionó la muestra y se selló la jeringa con un tapón de hule. La muestra -- así obtenida se llevó inmediatamente al laboratorio para su procesamiento.

La muestra se procesó de la siguiente manera: se realizó una tinción de gram para comparar esta tinción original con las tinciones de gram de las diferentes cepas obtenidas de la misma muestra.

Tinción de Gram

Este método sirve para observar la morfología microscópica de las bacterias en base a su capacidad tintorea y se realiza como sigue:

Primeramente se fija la lámina con calor y se van añadiendo los colorantes en el siguiente orden: Cristal violeta (ver apéndice) por 30 segundos, se lava con agua, se añade lugol (ver apéndice) por 30 segundos, se lava con agua, se agrega una solución de alcohol-acetona (ver apéndice) por 4 segundos, se lava con agua, se añade por último safranina, por 30 segundos, se lava con agua, se deja secar y se observa al microscopio.

Método de Anaerobiosis

El sistema Gas Pak es el más común en los laboratorios clínicos. Es un sistema anaerobio independiente de hidrógeno-dióxido de carbono -- que elimina la necesidad de utilizar cilindros de gas, bombas de vacío, válvulas y calibradores. Usa la jarra anaeróbica común hecha de resina de policarbonato con una nueva tapa anaeróbica provista de un relleno de goma que cierra a presión, una agarradera y un portacatalizador que contiene granos de alúmina recubierta de paladio al 0.5%. Este catalizador es activo a temperatura ambiente. Este sistema usa un sobre generador de hidrógeno-dióxido de carbono y un indicador -- anaeróbico de azul de metileno. El sistema utiliza un sobre generador, un indicador y un catalizador.

Sobre Generador

Contiene una tableta de borohidruro de sodio que produce hidrógeno y una tableta de ácido cítrico + bicarbonato de sodio que produce dióxido de carbono. El sobre se activa por la adición de agua, la cual pasa a través de una serie de canales hacia un papel filtro, que regula



Figura 1.- Sistema Anaeróbico Gas Pak

el flujo del agua hacia las tabletas generadoras de gas, proporcionan do una liberación controlada de gases.

El hidrógeno generado a partir de la tableta de borohidruro de sodio, se combina en presencia del catalizador de paladio con el oxígeno que hay dentro de la jarra para formar agua. El papel filtro detiene la introducción de agua dentro del compartimiento donde están las tabletas mientras se coloca la tapa sobre la jarra. Aproximadamente se -- produce de 4-7% de dióxido de carbono a partir de la tableta de ácido cítrico + bicarbonato de sodio, que sirve para estimular el crecimiento de algunos anaerobios que lo requieren.

Indicador.- Las condiciones anaerobias deben ser controladas mediante un indicador de potencial de óxido-reducción. Este indicador está contenido en una bolsita de teflón unida a una tarjeta revestida de polietileno. La bolsita contiene un milimetro de solución indicadora compuesta por partes iguales de azul de metileno al 0,02%, dextrosa al 4% e hidroximetilaminometano, al 60%. Puede esterilizarse antes de unirla a la tarjeta con óxido de etileno (1.5 hrs. a 20 Lb/ft²).

El azul de metileno es azul cuando está oxidado e incoloro cuando está reducido. El indicador cambia gradualmente de azul a incoloro a medida que el oxígeno dentro de la jarra es utilizado, esto puede durar varias horas.

Catalizador.- Es importante mantener las tapas de las jarras anaeróbicas limpias y secas cuando no se usan, para prevenir la inactivación del catalizador. Este puede inactivar con gases como ácido sulfhídrico, cloro, dióxido de azufre, etc., por lo que los gránulos deben -- reemplazarse cada vez que la jarra se usa con gránulos nuevos o "rejuvenecidos". La actividad del catalizador puede restaurarse calentándolo en un horno de calor seco a 160-170°C durante dos horas, después se deben guardar en un recipiente limpio y seco hasta usarse.

El sistema Gas Pak se usa en la siguiente forma:

1. Quitar el catalizador de la tapa de la jarra y reemplazarlo con igual cantidad de gránulos nuevos o "rejuvenecidos"
2. Colocar el material a incubar y el indicador de azul de metileno en la jarra.
3. Cortar la esquina del sobre generador de hidrógeno-dióxido de carbono Gas Pak, formar una abertura y colocarlo en la jarra en posición vertical.
4. Pipetear 10 ml de agua a través de la abertura en el sobre. No se debe insertar la pipeta.
5. Colocar rápidamente la tapa de la jarra, apretar con el tornillo hasta asegurarse que se pueda sostener con la mano.
6. Colocar la jarra en la estufa de incubación.

Aislamiento de Anaerobios

La muestra se sembró en sangre hemina-menadiona (ver apéndice para su formulación) incubándose 48 hrs. para mantener la muestra se utilizó tioglicolato enriquecido (ver apéndice) por si se necesitaba repetir tanto el aislamiento como la identificación.

Después de transcurridas las 48 horas de incubación en anaerobiosis, se realizó la primera resiembra a partir de la placa. Las colonias que se desarrollaron en dicha placa, se sembraron en sangre hemina menadiona incubándose tanto en anaerobiosis como en aerobiosis para descartar a los microorganismos anaerobios facultativos. Se realizaron un mínimo de dos resiembras para tener la seguridad de que eran microorganismos anaerobios estrictos. Después de la segunda resiembra, se obtuvieron las cepas en cultivo puro. Este procedimiento de aislamiento se encuentra resumido en el diagrama 1.

DIAGRAMA I
METODO UTILIZADO PARA EL AISLAMIENTO DE
ANAEROBIOS

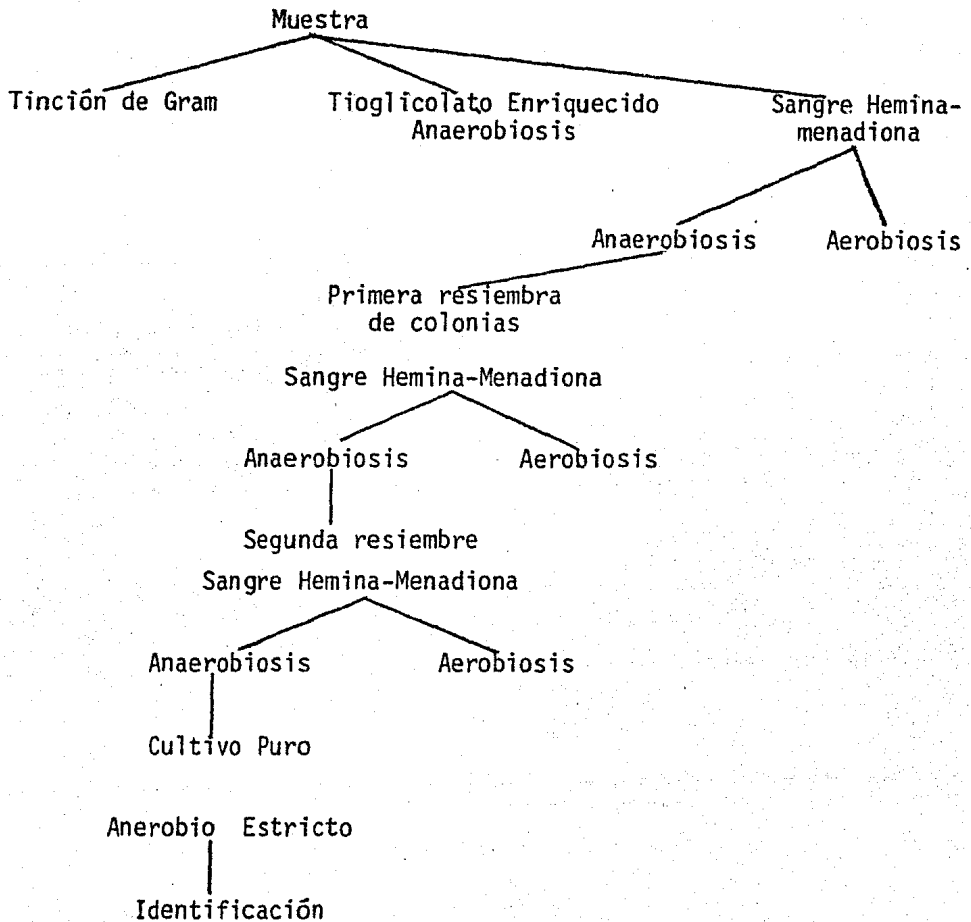
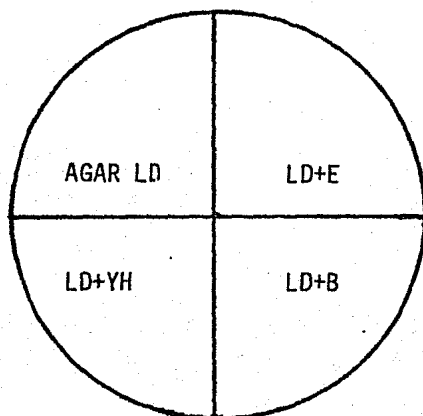


Diagrama I.- En este diagrama se muestra un esquema del procedimiento que se llevó a cabo para el aislamiento de las bacterias anaerobias.

Identificación de Anaerobios

El cultivo puro se le hizo una tinción de gram para observar su morfología microscópica y se sembró en tioglicolato enriquecido para pruebas posteriores.

Para su identificación parcial, la cepa se sembró en las pruebas presuntivas de Lombard Dowell (LD) que son: LD, LD esculina, LD yema de huevo y LD bilis. Estas pruebas son medios sólidos contenidos en una placa dividida en cuadrantes (ver apéndice). La distribución puede observarse en el siguiente dibujo:



Interpretación de las Pruebas Presuntivas

Las pruebas presuntivas fueron ideadas por Lombard y Dowell (15) y son de utilidad en la identificación porque descartan algunos géneros y permiten un diagnóstico más rápido. Su composición fue diseñada para que se pudieran leer varias pruebas bioquímicas. Su interpretación se hace como sigue:

Agar LD.— Este medio se utiliza como testigo para comparar el crecimiento de los microorganismos con el correspondiente al del medio de LD Bilis. (Para la formulación del medio ver el apéndice).

LD Esculina.- Este medio se utiliza para detectar la hidrólisis de la esculina, la producción de ácido sulfhídrico y la actividad de la catalasa. (Ver apéndice)

Hidrólisis de la Esculina.- La prueba positiva se manifiesta por la presencia de un color café rojizo oscuro alrededor de las colonias.

Producción de Acido Sulfhídrico.- La prueba positiva es el ennegrecimiento de las colonias, al sacar las placas de la jarra, éste desaparece rápidamente al exponerse las colonias al aire.

Catalasa.- Se expone la placa al aire por 30 min., se agrega una gota de peróxido de hidrógeno al 3% sobre el crecimiento. La prueba positiva es la presencia de burbujas.

LD Yema de Huevo.- Este medio permite la detección de la lecitinasa y lipasa. Es muy útil en la identificación de Clostridium. (Ver apéndice)

Lecitinasa.- La prueba positiva se manifiesta por la aparición de un halo blanquecino alrededor de las colonias. El color original del medio es amarillo claro.

Lipasa.- La prueba positiva se manifiesta por la apariencia aperlada sobre la colonia con brillo iridiscente. Se puede agregar una gota de solución saturada de sulfato de cobre, la presencia de color azul y verdoso indica la liberación de ácidos grasos de cadena corta.

LD Bilis.- Este medio debido a su contenido de bilis es un medio selectivo y diferencial, especialmente útil para la identificación de Bacteroides. (Ver apéndice) La identificación se hace comparando el desarrollo de los microorganismos en este medio con el correspondiente al medio LD que se toma como testigo. Si el crecimiento es mayor o igual se denota por la letra E. Si el crecimiento es menor, se denota por la letra l. Puede existir la formación de un precipitado --

Tabla I.- Tabla de referencia que muestra el comportamiento bioquímico de Bacteroides spp y Fusobacterium spp en diferentes medios presuntivos utilizados en el CDC de Atlanta, Georgia. Las pruebas presuntivas de Lombard-Dowell solamente comprenden la placa 1, los demás medios no se emplearon en este estudio.

Tomada de Dowell y Lombard, 1981.

T A B L A N O . 1
REACCIONES DE BACTEROIDES spp Y FUSOBACTERIUM spp EN DIVERSOS MEDIOS PRESUNTIVOS DEL CDC

E S P E C I E S	No. de Cepas	P L A C A 1						P L A C A 2				P L A C A 3					
		Indol	Derivada de Indol	Hidrólisis de esculina	H 2 S	Catalasa	Lecitinas	Lipasa	Crecimiento en Agar bilis	Fermentación glucosa	Hidrólisis de almidón	Digestión de la leche	DNA sa	Hidrólisis de gelatina	Fermentación manitol	Fermentación lactosa	Fermentación ramnosa
BACTEROIDES:																	
Bacteroides CDC grupo F ₂	5	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacteroides asaccharolyticus	5	+	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacteroides bivius	21	-	-	-	-	-	-	-	1	-	V	+	-	-	-	-	-
Bacteroides capillosus	1	-	-	+	-	-	-	-	1	-	-	+	+	-	-	-	-
Bacteroides distans	9	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	+	+	-	-	-	-
Bacteroides distasonis	16	-	-	+	-	+	-	-	E	+	-	+	-	-	+	+	+
Bacteroides fragilis	31	-	-	+	-	-	-	-	E-pp	+	-	-	-	-	-	+	+
<u>Bacteroides melaninogenicus</u>																	
Subsp. intermedius	1	+	-	-	-	-	-	-	1	+	+	+	+	-	-	-	-
Bacteroides ovalis	13	+	-	+	-	+	-	-	E-pp	+	+	-	+	-	-	-	-
Bacteroides splanchnicus	5	+	-	+	-	-	-	-	E	+	-	-	-	-	-	-	-
Bacteroides thetaioformis	21	+	-	+	-	+	-	-	E	+	-	-	-	-	+	+	+
Bacteroides uniformis	10	+	-	+	-	-	-	-	E	+	V	-	-	-	-	-	-
Bacteroides ureolyticus	1	-	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacteroides vulgus	14	-	-	+	-	-	-	-	E	+	-	-	-	-	-	+	+
FUSOBACTERIUM:																	
Fusobacterium gonidiaformas	1	+	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Fusobacterium mortiferum	19	+	-	+	-	-	-	-	E'	+	-	-	-	-	-	+	-
Fusobacterium naviforme	3	+	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Fusobacterium necrophorum	9	+	-	-	V	-	+	-	1	+	-	V	+	-	-	-	-
Fusobacterium nucleatum	10	+	-	-	V	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Fusobacterium varium	4	+	-	-	V	-	-	-	E	+	-	-	-	-	-	-	-

+= Positivo en 90%

- = Negativo en 90%

+- = la mayoría positivo

-+ = la mayoría negativa

V = Variable

1 = Inhibición de crecimiento

E = Crecimiento igual al control sin bilis

E' = Crecimiento igual con inhibición en algunas cepas

E-pp = Precipitación alrededor o de deajo del crecimiento

Tabla II.- Tabla de referencia que muestra el comportamiento bioquímico de Clostridium sp en diferentes medios presuntivos utilizados en el CDC de Atlanta, Georgia. Las pruebas presuntivas de Lombard-Dowell solamente comprenden la placa 1, los demás medios no se emplearon en este estudio.

Tomada de Dowell y Lombard, 1981

TABLA No. II
REACCIONES DE CLOSTRIDIUM spp EN LOS MEDIOS PRESUNTIVOS DE LOMBARD Y DOWELL (LD)
Y CDC

ESPECIES	No. de Cepas	P L A C A 1							PLACA 2				PLACA 3				
		Indol	Derivada de Indol	Hidrólisis de Esculina	H ₂ S	Catalasa	Lecitinasa	Lipasa	Crecimiento de Agar bilis	Fermentación glucosa	Hidrólisis de almidón	Digestión de la leche	DNA sa	Hidrólisis de gelatina	Fermentación manitol	Fermentación lactosa	Fermentación ramnosa
<i>Clostridium bifermentans</i>	30	+	-	+/-	-	-	+	-	E	+	-	-	+	-	-	-	-
<i>Clostridium butyricum</i>	9	-	-	+	-	-	-	-	E	+	-	-	+	-	-	-	-
<i>Clostridium cadaveris</i>	7	+	-	-	-	-	-	-	E	+	-	+	+	-	-	-	-
<i>Clostridium clostridiforme</i>	13	+	-	+	-	-	-	-	V	+	-	-	-	-	-	+	+
<i>Clostridium difficile</i>	59	-	-	+	-	-	-	-	V	+	-	+	+	+	-	-	-
<i>Clostridium histolyticum</i>	13	-	-	-	-	-	-	-	V	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>Clostridium innocuum</i>	24	-	-	+	-	-	-	-	V	+	-	-	+	+	V	-	-
<i>Clostridium limosum</i>	5	-	-	-	-	-	+	-	V	-	+	-	+	-	-	-	-
<i>Clostridium malenominatum</i>	4	+	-	-	-	-	+	-	V	-	-	V	-	-	-	-	-
<i>Clostridium paraputrificans</i>	2	-	-	+	-	-	+	-	E	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>Clostridium paraputrificum</i>	7	-	-	+	-	-	-	-	E	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>Clostridium perenne</i>	2	-	-	+	-	-	+	-	E	+	-	-	-	-	-	+	-
<i>Clostridium perfringens</i>	207	-	-	V	-	-	+	-	E	+	V	+	+	-	-	+	+
<i>Clostridium ramosum</i>	17	-	-	+	-	-	-	-	E	+	-	-	+	+	-	+	+
<i>Clostridium septicum</i>	33	-	-	+	-	-	-	-	E	+	-	+	+	-	-	+	+
<i>Clostridium sordellii</i>	25	+	-	-	+/-	-	+	-	E	+	-	+	+	-	-	+	+
<i>Clostridium sphenoides</i>	10	+	-	+	-	-	-	-	E	+	-	V	-	+	-	+	+
<i>Clostridium sporogenes</i>	55	-	+	+	-	-	+	-	E	+	-	+	+	-	-	-	-
<i>Clostridium sbermanale</i>	14	-	-	-	V	-	+	-	E'	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Clostridium symbiosum</i>	6	-	-	-	-	-	-	-	V	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Clostridium tertium</i>	13	-	-	+	-	-	-	-	E	+	-	-	+	-	+	-	-
<i>Clostridium tetani</i>	3-	V	-	-	V	-	-	V	E'	-	-	+	+	-	-	-	-

+ = Positivo en 90%
- = Negativo en 90%
+/- = la mayoría positiva

+/- = la mayoría negativa
E = crecimiento (igual al control sin bilis)
E' = crecimiento (igual con inhibición en algunas cepas)

Tabla III.- Tabla de referencia que muestra el comportamiento bioquímico de los cocos anaeróbicos en diferentes medios presuntivos utilizados en el CDC de Atlanta, Georgia. Las pruebas presuntivas de Lombard-Dowell solamente comprenden la placa 1, los demás medios no se emplearon en este estudio.

Tomad de Dowell y Lombard, 1981

TABLA No. III
REACCIONES DE COCOS ANAEROBIOS EN LOS MEDIOS PRESUNTIVOS DE LOMBARD Y DOWELL (LD)
Y CDC

ESPECIES	No. de cepas	Reacciones														
		Indol	Derivado del Indol	Hidrólisis de esculina	H ₂ S	Catalasa	Lecitinasa	Crecimiento agar bilis	Fermentación glucosa	Hidrólisis de almidón	Digestión de la leche	DNA asa	Hidrólisis de gelatina	Fermentación manitol	Fermentación de lactosa	Fermentación ramosa
PEPTOCOCCUS:																
<i>P. Asacchoralyticus</i>	16	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. mangus</i>	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. prevotii</i>	7	-	-	-	-	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. saccharolyticus</i>	2	-	-	-	-	+	-	-	V	+	-	-	-	-	-	-
PEPTOSTREPTOCOCCUS																
<i>P. anaerobius</i>	21	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>P. micros</i>	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
STREPTOCOCCUS																
<i>S. Informadus</i>	9	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
Veillonella:																
<i>V. parvula</i>	6	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ = Positivo en 90%
- = Negativo en 90%
-+ = la mayoría negativa
I = inhibición de crecimiento
V = Variable

(Dowell y Lombard, 1981)

Tabla IV.- Tabla de referencia que muestra el comportamiento bioquímico de los bacilos gram positivos no esporulados en diferentes medios presuntivos utilizados en el CDC de Atlanta, Georgia. Las pruebas --presuntivas de Lombard-Dowell solamente comprenden la placa 1, los de más medios no se emplearon en este estudio.

Tomada de Dowell y Lombard, 1981

TABLA No. IV
REACCIONES DE BACILOS GRAM POSITIVOS NO ESPORULADOS EN LOS MEDIOS PRESUNTIVOS DE LOMBARD
DOWELL (LD) CDC

E S P E C I E S	No. de cepas	P L A C A 1							PLACA 2			PLACA 3					
		Indol	Derivado de Indol	Hidrólisis de Esculina	H 2 S	Catalasa	Lecitinas	Lipasa	Crecimiento agar bilis	Fermentación glucosa	Hidrólisis de almidón	Digestión de la leche	DNA asa	Hidrólisis de gelatina	Fermentación manitol	Fermentación de lactosa	Fermentación ramosa
ACTINOMYCES:																	
A. bovis	6	-	-	+	-	-	-	1	-	+	-	-	-	-	-	-	-
A. israelii	6	-	-	+	-	-	-	1	+	-	-	-	-	-	-	-	-
A. odontolyticus	14	-	-	V-1	-	-	-	1	V	-	-	-	-	-	-	-	-
ARACHNIA:																	
A. propionica	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BIFIDOBACTERIUM																	
B. eriksonii	11	-	-	+-1	-	-	-	V	+	V	-	-	-	+	+	-	-
EUBACTERIUM																	
E. alactolyticum	4	-	-	1	-	-	-	1	V	-	-	-	-	-	-	-	-
E. lentum	12	-	-	-	-	-	-	E'	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E. limosum	8	-	-	-	-	-	-	E	+	-	-	-	-	+	-	-	-
E. moniliforme	5	-	-	-	-	-	-	E	+	-	-	-	-	-	-	-	-
PROPIONIBACTERIUM																	
P. acnes	45	+	-	-	-	+	-	V	+	-	+	-	-	+	-	-	-
P. avidium	3	-	-	-	-	-	-	E	+	-	+	-	+	-	-	-	-
P. granulosum	4	-	-	-	-	+	-	V	+	-	+	-	+	-	-	-	-

+ = Positivo en 90%
- = Negativo en 90%
+- = la mayoría positivo
-+ = la mayoría negativa

V = Variable
1 = Inhibición de crecimiento
E = Crecimiento igual al control sin bilis
E' = Crecimiento igual con inhibición en algunas cepas

blanco insoluble debajo del crecimiento, característico de B. fragilis. Una vez interpretadas las pruebas presuntivas, se recurre a la interpretación de los resultados basándose en las tablas I-IV que se muestran más adelante.

La identificación confirmatoria se llevó a cabo como sigue: a partir del tubo de tioglicolato enriquecido, se sembró la cepa en sangre hemina-manadiona incubándose tanto en anaerobiosis como en aerobiosis - para el control de la misma.

Las pruebas confirmatorias fueron:

1. Fermentación de azúcares, entre ellos se probaron a la glucosa, lactosa, maltosa, sacarosa, arabinosa, xilosa, manitol y salicina. (Para formulación de los medios ver el apéndice)
2. Indol-Nitrito. (Ver apéndice)

En el caso de que la cepa sea un presunto *Clostridium*, se le hizo además una tinción de esporas y se sembró en leche fierro (ver apéndice) Estas son pruebas importantes para la identificación de este género.

Tinción de Esporas

Esta tinción sirve para saber si la bacteria tiene la facultas de producir esporas. Se hace como sigue: al igual que la tinción de Gram - se fija primero la lámina al calor y se van añadiendo los colorantes en el siguiente orden: Verde de malaquita (ver apéndice) por 1 min, - con desprendimiento de vapores, se lava con agua, se añade por último safranina (ver apéndice) por 15 seg., se lava con agua, se deja sacar y se observa al microscopio. Las esporas se tiñen de verde y el cuerpo vegetativo de rojo.

Las pruebas confirmatorias son medios líquidos preparados en tubos -- con tapón de rosca, la cepa a probarse se siembra en el tubo corres--

pondiente. Este proceso de identificación se encuentra resumido en el diagrama II.

Interpretación de las Pruebas Confirmatorias

Estas pruebas sirven para determinar el género y la especie del microorganismo, llegando a la identificación total del mismo. Si interpretación se hace como sigue:

Fermentación de Carbohidratos.- La prueba positiva se manifiesta cuando el indicador que en este caso es el azul de bromotímol, vira a un color amarillo o naranja.

Indol-Nitrito.- Este medio se utiliza para detectar la producción de indol y la reducción de los nitratos. Se divide el tubo en dos partes al momento de hacer las pruebas.

Producción de Indol.- Se puede emplear el reactivo de Kovac o de Ehrlich (ver apéndice), se agrega unas gotas del reactivo sobre el tubo, la prueba positiva consiste en el desarrollo de un anillo de color rojo.

Reducción de nitratos.- Se agrega 1 ml de ácido sulfanílico y 1 ml de alfa-naftilamina (ver apéndice). La prueba positiva se manifiesta por la aparición de un color rojo. En caso contrario se agrega una pizca de polvo de Zinc. Si continua sin cambiar de color la prueba se considera positiva, pero si existe la aparición de un color rojo, la prueba es negativa.

Leche Fierro.- Este medio es útil para determinar la acción de las bacterias sobre la leche, las cuales la pueden coagular o peptonizar, así como fermentar la lactosa. En caso de que haya coagulación se denota por la letra C, en caso de que haya peptonización o digestión se denota por la letra D, y en caso de que haya formación de gas como --

DIAGRAMA II
METODO UTILIZADO PARA LA IDENTIFICACION
DE ANAEROBIOS

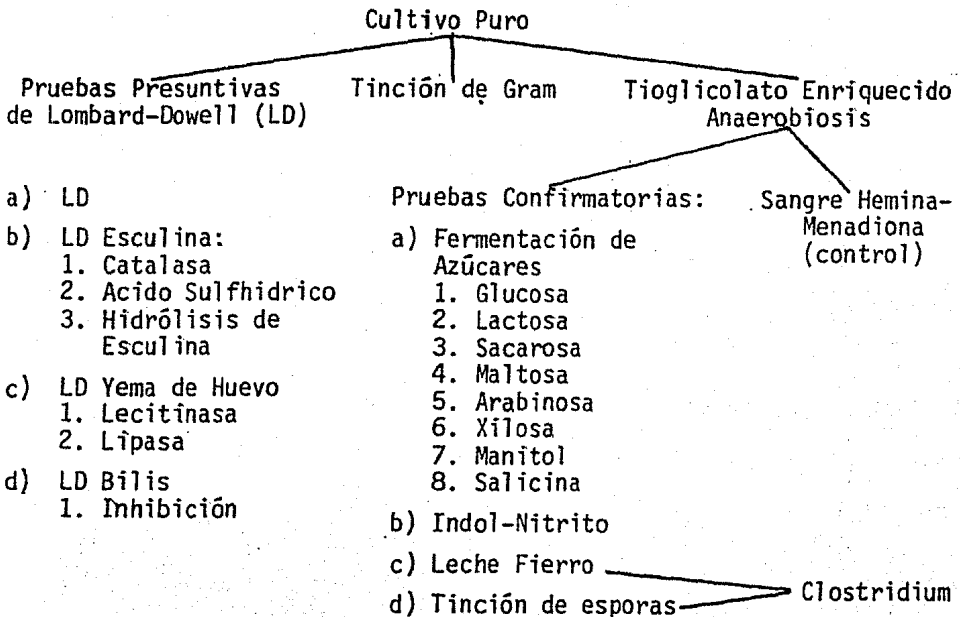


Diagrama II.- En este diagrama se muestra un esquema del procedimiento que se llevó a cabo para la identificación de las bacterias anaerobias.

Tabla V.- Tabla de referencia que muestra las diferentes reacciones de Bacteroides spp y Fusobacterium spp en los medios confirmatorios. Las cepas de probaron en estos medios después de su aislamiento en -- sangre hemina-menadiona.

Tomada de Dowell y col., 1978 pág. 29

T A B L A N o. V
 CARACTERISTICAS DIFERENCIALES DE CATEROIDES Y FUSOBACTERIUM Sp EN LOS MEDIOS CONFIRMATORIOS
 CDC

ESPECIES O GRUPOS	No. de cepas	Crecimiento aeróbico	Gelosa sangre color negras	Movilidad	Glucosa	Manitol	Lactosa	Sacarosa	Maltosa	Salicina	Xilosa	Arabinosa	Reducción de Nitratos	Hidrol esculina	Hidrol gelatina	Indol	Leche
BACTERIOIDE																	
<i>B. crrodens</i>	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	NC
CDC Grupo F-1	27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC
CDC Grupo F-2	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	NC
<i>B. Clostridiformis</i> ssp <i>glans</i>	7	-	-	+	A	-	A	A	A	A	A	A	A	+	-	-	C
<i>B. fragilis</i> ssp <i>distantis</i> **	11	-	-	-	A	-	A	A	V	A	A	A	-	+	-	-	C
<i>B. fragilis</i> spp <i>fragilis</i> **	376	-	-	-	A	-	A	A	A	-	A	-	-	+	-	-	C
<i>B. fragilis</i> ssp <i>thaptamicon</i> **	84	-	-	-	A	-	A	A	A	V	A	A	-	+	-	+	C
<i>B. fragilis</i> ssp <i>vulgatus</i> **	46	-	-	-	A	-	A	A	A	V	A	A	-	++	-	-	(C)
<i>B. melaninogenicus</i> ssp <i>asaccharolyticus</i>	12	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	+	V	CD
<i>B. melaninogenicus</i> ss <i>intermedius</i>	5	-	+	-	A	-	-	V	V	++	-	-	+	-	+	+	CD
FUSOBACTERIUM																	
<i>F. martiferum</i>	20	-	-	-	A	-	A	A	A	A	-	-	-	+-	-	-	(CG)
<i>F. necrophorum</i>	46	-	-	-	A	-	-	-	A	-	-	-	-	-	-	+	NC
<i>F. nucleatum</i>	76	-	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	NC

+ = Reacciones positivas en el 90-100 % de las cepas
 - = Reacciones negativas en el 90-100% de las cepas
 un índice sobre escrito indica que la reacción es en el 11-25% de las cepas

V = Reacción variable

() = Variable

A = Acido (color amarillo con indicador azul de bromotimol, pH menor a 6.0)

C = Coagulado

D = Digerido

G = gas

NC = No coagulación

A = Acido Acético

P = Acido propiónico

IB = Acido isabutírico

B = Acido butírico

IV = Acido isovalérico

L = Acido láctico

S = Acido succínico

Tabla VI.- Tabla de referencia que muestra las diferentes reacciones de Clostridium sp en los medios confirmatorios. Las cepas se probaron en estos medios después de su aislamiento en sangre hemina-menadiona.

Tomada de Dowell y col., 1978 pág. 25

T A B L A N o. V I
 CARACTERISTICAS DIFERENCIALES DE CLOSTRIDIUM sp EN LOS MEDIOS
 CONFIRMATORIOS

ESPECIES	No. de cepas	Crecimiento aeróbico	Esporas	Movilidad	Lecitinas	Lipasa	Glucosa	Manitol	Lactosa	Sacarosa	Maltosa	Salicina	Glicerol	Xilosa	Arabinosa	Red de nitratos	Indol	Hidrol Esculina	Hidrol Gelatina	Leche	Toxigenicidad en ratón
<u>C. bifermentans</u>	119	-	ST	+	+	-	A	-	-	-	A	V	V	-	-	+	-	V	+	CD	-
<u>C. botulinum</u> A	24	-	ST	+	+	+	A	-	-	-	A-	-A	V	-	-	-	-	+	+	CD	+
B	14	-	ST	+	-	+	A	-	-	-A	A-	-A	V	-	-	-	-	+	+	(C) (D)	+
C	14	-	ST	+	-	+	A	-	-	-A	V	-A	V	-	-	+	-	-	+	(NC) C	+
D	5	-	ST	+	-	+	A	-	-	-	V	-	V	-	-	-	-	V	V	NC	+
E	10	-	ST	+	+	+	A	-	-	A	A	V	V	-	-	-	-	-	+	NC	+
F	7	-	ST	+	-	+	A	-	-	V	A	V	V	-	-	-	-	V	V	(C) (D)	+
<u>C. butrificum</u>	74	-	ST	+	-	+	A	-	A	A	A	A	A-	A	A-	+	-	+	V	CG	-
<u>C. cadaveris</u> +	45	-	T	+	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	V	CG	+
<u>C. chauvoei</u>	13	-	ST	+	-	-	A	-	A	A-	A	-	-	-	-	+	-	+	+	(C)	V
<u>C. difficile</u>	10	-	ST	+	-	-	A	A	-	-	-	A-	-	V	-	-	-	+	V	NC	V
<u>C. histolyticum</u>	6	-	ST	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	CD	V
<u>C. innocuum</u>	84	-	T	+	-	-	A	A	-A	A-	A	-	-	-	-	-	-	+	-	NC	-
<u>C. limosum</u> +	47	-	ST	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	CD	-
<u>C. nocyli</u> A	13	-	ST	+	+	+	A	-	-	-	A-	-	A	-	-	+	-	V	+	(C) (G)	V
<u>C. paraputrificum</u>	29	-	T	+	-	-	A	-	A	A-	A	A	-	-	-	V	-	+	-	(C) (G)	-
<u>C. perfringens</u>	678	-	ST	-	+	-	A	-	A	A	A	V	A	-	-	+	-	V	+	CG	V
<u>C. romasum</u> +	61	-	T	-	-	-	A	A=	A	A	A	A	A	-	-	-	-	+	+	(C) (G)	-
<u>C. septicum</u>	83	-	ST	+	-	-	A	-	A	-	A	A	-	-	-	+	-	+	+	(C) (G)	+
<u>C. sordelli</u>	88	-	ST	+	+	-	A	-	-	-	A	A-	-	-	-	-	+	-	+	CD	-
<u>C. spilonoides</u>	9	-	ST	+	-	-	A	V	A-	-	A-	A	A-	A-	A-	+	V	+	+	(C) (G)	-
<u>C. porogenes</u>	132	-	ST	+	-	+	A	-	-	-A	A	V	V	-	-	-	-	+	+	(C) (G)	-
<u>C. sputerningle</u>	53	-	ST	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	CD	-
<u>C. tertium</u>	103	+	T	+	-	-	A	A	A	A	A	A	-	A-	-	+	-	+	-	(C) (G)	-
<u>C. tetoni</u>	52	-	T	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V	-	-	+	NC	+

+ = Reacción positiva en el 90-100% de las cepas.

- = Reacción negativa en el 90-100% de cepas

Un índice sobre escrito indica que la reacción se lleva a cabo en el 11-25% de las cepas

V = Reacción variable

() = Variable

A = Reacción (color amarillo con indicador de azul de bromotol)

C = Coagulado

D = Digerido

G = Gas

NC = No coagulación

C. cadaveris se enlistó como C. capitovale, C. limosum incluye organismos identificados como Clastridium CDC, Grupo P-1 y C. ramosum incluye organismos previamente listados - como Catenabacterium filamentosum y Bacteroides terebrans.

Tomas de: Dowell y col (1978) pág. 25

Tabla VII.- Tabla de referencia que muestra las diferentes reacciones de los cocos anaeróbicos en los medios confirmatorios. Las cepas se probaron en estos medios después de su aislamiento en sangre hemina-menadiona.

Tomada de Dowell y col., 1978 pág. 34

TABLA No. VII
CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES DE COCOS ANAEROBICOS EN LOS MEDIOS CONFIRMATORIOS

GRUPOS	No. de cepas	Tinción de Gram	Tolerancia al oxígeno	Movilidad	Glucosa	Manitol	Lactosa	Sacarosa	Maltosa	Salicina	Glicerol	Xilosa	Arabinosa	Hidrol Esculina	Hidrol Gelatina	Reacción de Nitratos	Indol	Leche	Catalasa
<u>Peptococcus</u>																			
<u>Peptococcus</u> CDC grupo 2	10	+	An	-	A	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	+	-	NC	+
<u>Peptostreptococcus</u>																			
<u>Peptosireptococcus</u> CDC gpo. 1	23	+	An	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	NC	-
<u>Peptostreptococcus</u> CDC gpo. 2	83	+	An	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC	-
<u>Peptosreptococcus</u> CDC gpo. 3	42	+	An	-	A	-A	-A	V	A	-	-	-	-	-	-	+	-	NC	-
<u>Peptostreptococcus</u> CDC gpo. 4**	5	+	An	-	A	V	A	A	A	A	-	V	V	+	-	-	-	NC	(C)
<u>Sarcina</u>																			
<u>Sarcina</u> sp	12	+	An	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	NC	-
<u>Veillonella</u>																			
<u>Veillonella alcalascens</u>	14	-	An	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	NC	+
<u>Veillonella pervula</u>	7	-	An	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	NC	-
<u>Veillonella</u> CDC grupo 3	13	-	An	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC	-

+ = Positiva
- = Negativa
() = Variable
V = Reacción variable

A = Reacción ácida
C = Coagulación
NC = No coagulación
An. = Anaerobico

** = Las características de Peptostreptococcus CDC grupo 4 están más relacionadas. AL GENERO Sirenotstreptococcus que al género Peptostreptococcus de acuerdo al esquema descrito por Rugosa M. (peptococcaceae), una nueva familia que incluye cocos anaerobicos Gram positivos de los géneros Peptococcus y ppl.

Tabla VIII.- Tabla de referencia que muestra las diferentes reacciones de los bacilos gram positivos no esporulados en los medios confirmatorios. Las cepas se probaron en estos medios después de su aislamiento en sangre hemina-menadiona.

Tomada de Dowell y col., 1978 pág. 32

TABLA No. VIII
CARACTERISTICAS DIFERENCIALES DE BACIOS GRAM POSITIVOS ANAEROBICOS
NO ESPORULADOS EN LOS MEDIOS CONFIRMATORIOS

ESPECIES	No. de cepas	Tolerancia al oxígeno	Movilidad	Glucosa	Manitol	Lactosa	Sacarosa	Maltosa	Salicina	Glicerol	Xilosa	Arabinosa	Hidrolisis Esculina	Hidrolisis Gelatina	Rec NO ₃ NO ₂	Indol	Leche	Catalasa	Ac. orgánicos GLC	Otros
<u>Actinomyces esroelli</u>		M OrAn	-	A	V	A-	A	A	V	-	A-	V	+-	-	V	-	(C)	-	A,L,S	No ac. diamino primélico en pared celular.
<u>Actinomyces noeslundii</u>		F	-	A	-	A-	A-	A-	V	V	-	A-	+-	-	+-	-	(C)	-	A,L,S	No es disimino primélico en pared celular.
<u>Arachala propionica</u>		M OrAn	-	A	A	A	A	A	A	-A	-A	-	+	+	+	-	(C)	-	A,L,S	No ac. dinamo primélico en pared celular
<u>Arachnia propionica</u>		M OrAn	-	A	A	A	A	A	A	-A	-A	-	+	+	+	-	(C)	-	A,L,S	Ac diamino primélico en pared celular
<u>B. eriksonii</u>	74	An	-	A	V	A	A	A	A	-	A	A	+-	-	-	-	(CG)	-	A,L,S	
<u>Eubacterium alactolyticum</u>	20	An	-	A	A-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC	-	A,B,C	
<u>Eubacterium lentum</u>	61	An	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V	-	NC	-	A,L,S	
<u>Eubacterium tinosum</u>	21	An	-	A	A-	-	-	-	-	-	-	-	V	-	-	-	NC	-	A,B	
<u>Propionibacterium acnes</u>	484	An	-	A	V	-	-	-	-	A	-	-	-	+-	+	+-	CG	+	A,P(IV)	
<u>Propionibacterium granulosum</u>	20	F	-	A	-	-	A	A	-A	A-	-	-	-	V	-	-	(C)	+-	A,P(IV)	

GLC = Cromografía líquida C = Coagulado G = Gas A = Acido acético
 + = Reacción positiva en el 90-100% de las cepas P = Acido propionico
 - = Reacción negativa en el 90-100% de las cepas B = Acido butírico
 Un índice sobre escrito indica que la reacción se lleva a cabo en el 11-25% de las cepas IV = Acido isovolórico
 V = Reacción variable An = Anaerobico NC = No coagulación C = Acido caproico
 () = Variable S = Acido succínico M = Microaerofílico L = Acido láctico
 A = Reacción ácido (color amarillo con indicador azul de pH60) F = Facultativo

Las reacciones para las especies de Actinomyces y Arachnia están basados principalmente en los datos de: Unidad de micología CDC

Tomada de: Dowell y Col. (1978) pág. 32

producto de fermentación, se denota por la letra G. El indicador de azul de bromotimol indica cambios de pH ácidos (amarillo) o alcalinos (azul). Una vez interpretadas las pruebas confirmatorias se recurrirá a la interpretación de los resultados, basándose en las tablas V, VII y VIII que se muestran más adelante.

Antibiograma

La sensibilidad a los antimicrobianos se realizó por el método de dilución en placa que implica el uso de una serie de placas de agar con diferentes concentraciones de antibióticos. Las concentraciones de antibiótico empleadas fueron diluciones al doble. Se eligieron concentraciones representativas de niveles alcanzables en el suero humano, junto con dosis más bajas y más altas de antibiótico.

El método de dilución en placa se simplificó utilizando un aparato -- descrito por Steers en 1959. (Ver esquema) Este aparato denominado replicador de Steers tiene como característica principal una cabeza de resorte provista de 32 púas inoculadoras de aproximadamente 3 mm de diámetro. La cabeza está adosada a un mecanismo de pistón y cilindro mediante el cual puede desplazarse hacia arriba y hacia abajo en plano vertical. La contraparte es una placa de siembra que contiene 32 concavidades, dispuestas de tal modo que las púas de inoculación de la cabeza móvil encajan dentro de éstas. Cada concavidad constituye un receptáculo dentro del cual se pueden colocar diferentes suspensiones bacterianas.

Preparación de Antibióticos

Para preparar las soluciones de antibióticos se tomó en consideración su potencia biológica y su capacidad de disolución. Cuando el antibiótico tiene una potencia biológica menor al 100%, es necesario calcular la cantidad real de la sal que se va a pesar, por medio de la siguiente fórmula:

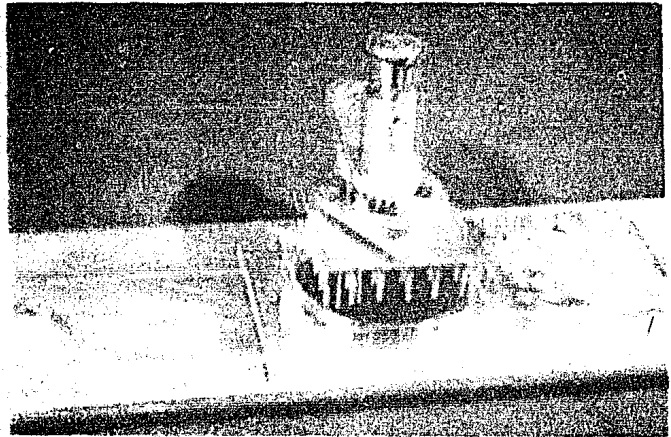
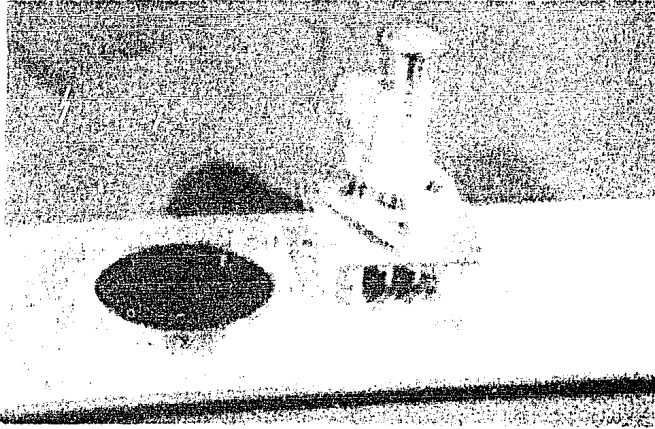


Figura 2.- Replicador de Steers

$$\text{Cantidad Real} = \frac{\text{Concentración en mcg del antibiótico} \times 100}{\text{Potencia Biológica}}$$

Los antibióticos usados en este estudio, así como su potencia biológica y solvente adecuado se encuentran resumidos en el cuadro II. Las cantidades necesarias para preparar las concentraciones finales de los antibióticos, se encuentran resumidas en el cuadro III. Una vez obtenidas las concentraciones de antibióticos incorporadas al agar -- soporte, se vacían en placa para su solidificación.

Preparación del Inóculo

Se procedió de la siguiente manera: a partir del tioglicolato enriquecido se sembró la cepa en sangre hemina-menadiona incubándose tanto en aerobiosis como en anaerobiosis para tener un control de la misma. Después de la incubación, se inocularon aproximadamente de 2-3 colonias de la placa anaeróbica de sangre hemina-menadiona en tubo. Los medios en tubo que se utilizaron fueron: tioglicolato enriquecido + bicarbonato de sodio y caldo Schaedler. Los tubos se incubaron dependiendo de las cepas. Las cepas de crecimiento rápido, se incubaron 12 horas, mientras que las cepas de crecimiento lento, se incubaron 30 horas.

La suspensión en caldo se comparó visualmente con un patrón de sulfato de bario equivalente a la turbidez que posee el tubo No. 1 de MacFarland, que representa aproximadamente 10^6 unidades formadoras de colonias/ml (cfu/ml) (1). Una vez alcanzada la turbidez adecuada, se procedió a la inoculación en placa. Las placas contenían un medio soporte al cual el antibiótico se había incorporado. Los medios soporte que se emplearon fueron: sangre hemina-menadiona con base agar brucella y medio de Schaedler. (Ver apéndice)

CUADRO II
ANTIMICROBIANOS UTILIZADOS EN EL ESTUDIO

ANTIMICROBIANO	POTENCIA BIOLOGICA	S O L V E N T E
Metronidazol	100.0 %	Agua Caliente
Clorafenicol	99.0 %	Etanol Absoluto más agua
Clindamicina	100.0 %	Agua
Penicilina	1670 u/mg	Agua
Tetraciclina	100.0 %	Agua Caliente
Carbenicilina	83.5 %	Agua

Cuadro II.- En este cuadro se muestran los antimicrobianos que se utilizaron en el estudio, así como su potencia biológica y su solvente.

CUADRO III

CALCULO DE LAS CONCENTRACIONES FINALES DE ANTIMICROBIANOS EMPLEADAS -
PARA EL METODO DE DILUCION EN PLACA

ANTIMICROBIANO	SOLUCION DE ANTIMICROBIANO VOLUMEN (ml)	CONCENTRACION *(mcg/ml o u/ml)	SOPORTE = (ml)	CONCENTRACION FINAL (mcg/ml o u/ml)
Tetracilina, -- Clindamicina y Penicilina	10*	1000*	200	50
	100	50	100	25
	100	25	100	12.5
	100	12.5	100	6.25
	100	6.25	100	3.12
Carbenicilina	10*	8000*	200	400
	100	400	100	200
	100	200	100	100
	100	100	100	50
	100	50	100	25
Clorafenicol y Metronidacol	10*	2000*	200	100
	100	100	100	50
	100	50	100	25
	100	25	100	12.5
	100	12.5	6.25	

* Datos pertenecientes a las soluciones madre respectivas.

Cuadro III.- Cuadro que muestra el cálculo necesario para obtener las concentraciones de antimicrobianos para el Método de Dilución en Placa.

CUADRO IV
CONCENTRACIONES FINALES DE ANTIMICROBIANO EMPLEADAS
EN EL ESTUDIO

ANTIMICROBIANO	CONCENTRACIONES FINALES EN				
			mcg/ml	ó	u/ml
Metronidazol	100	50	25	12.5	6.25
Cloranfenicol	100	50	25	12.5	6.25
Clindamicina	50	25	12.5	6.25	3.12
Penicilina	50	25	12.5	6.25	3.12
Tetraciclina	50	25	12.5	6.25	3.12
Carbenicilina	400	200	100	50	25

Cuadro IV.- Cuadro que muestra las cinco diferentes concentraciones finales de antimicrobiano que fueron empleados en este estudio.

La inoculación en placa se efectuó como sigue: Se tomaron 0.8 ml de cada tubo que se depositaron en los orificios correspondientes de la placa del replicador de Steers. El orden que se sigue es de izquierda a derecha y al terminar la fila se inicia la siguiente empezando nuevamente por la izquierda. Para inocular las cajas, se coloca la placa de siembra sobre la base del replicador, y el cabezal con las 32 varillas inoculadoras se ajusta de tal manera que al hacer presión sobre la caja de siembra, las varillas toquen la superficie sin romperla.

Cada varilla inocular 0.001 ml por lo que al inóculo final en la superficie del agar es de 10^3 cfu/ml. Las placas inoculadas se dejan secar y se incuban en anaerobiosis por 48 hrs. Se anota la lectura, indicando si hubo o no desarrollo.

Cuando el medio en tubo usado fue el tioglicolato enriquecido más bicarbonato de sodio, el medio soporte correspondiente fue agar sangre hemina-menadiona con base de agar brucella, mientras que cuando se usó caldo de Schaedler, el medio soporte correspondiente fue el medio de Schaedler. El procedimiento del antibiograma se encuentra resumido en el diagrama III.

Método Estadístico

Para poder valorar los resultados obtenidos se utilizó el método estadístico de regresión lineal. En este método se emplean dos parámetros principales: la media geométrica (\bar{x}) y la desviación estándar (s). La media geométrica es un valor promedio y se calcula por la siguiente fórmula:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 \cdot \cdot \cdot + x_n}{n}$$

La desviación estándar, nos representa la desviación de los datos individuales con respecto a la media geométrica. Se puede calcular por

DIAGRAMA III
METODO UTILIZADO PARA EL ANTIBIOGRAMA

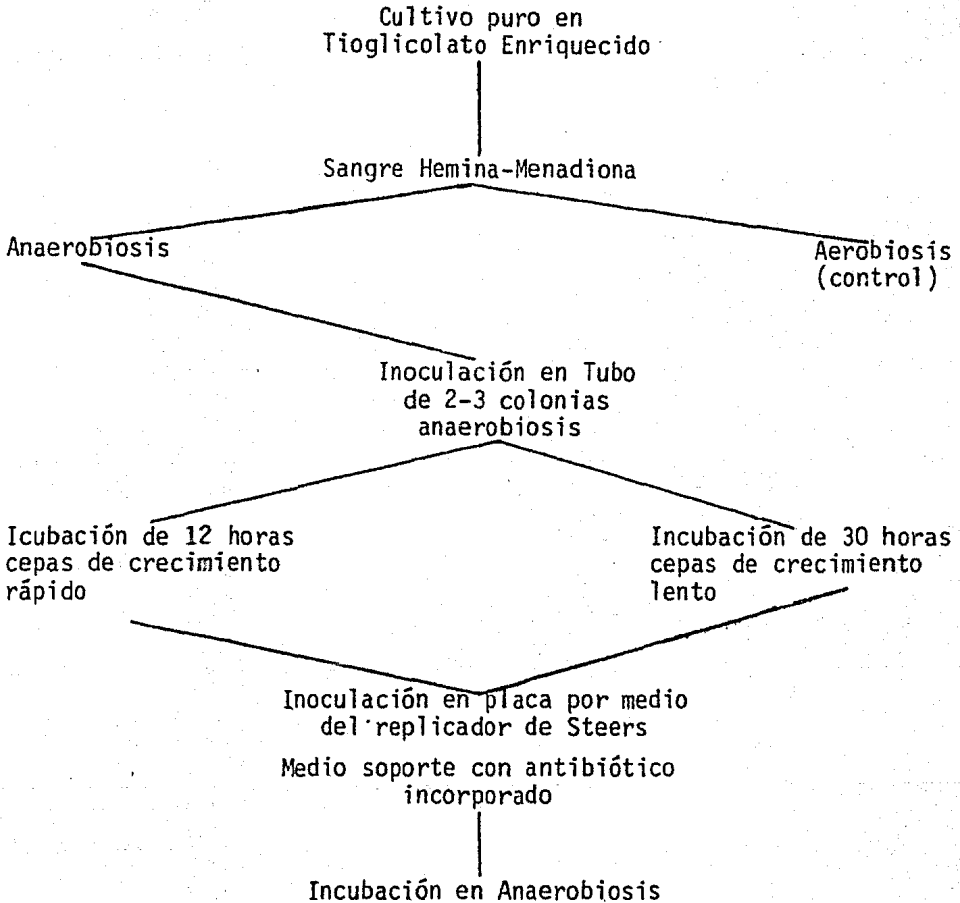


Diagrama III.- En este diagrama se muestra un esquema del procedimiento que se llevó a cabo para el antibiograma de los microorganismos.

la siguiente fórmula

$$s = \sqrt{\frac{(\bar{x}-x_1)^2 + (\bar{x}-x_2)^2 \dots + (\bar{x}-x_n)^2}{n-1}}$$

Para obtener los porcentajes de susceptibilidad a una concentración de antimicrobianos dada, para un microorganismo, se empleó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de susceptibilidad} = \frac{\text{Cepas susceptibles} \times 100}{\text{Cepas Totales}}$$

Para obtener la concentración mínima inhibitoria de un antimicrobiano para un microorganismo, se calculó la C.M.I. media a partir de las -- concentraciones mínimas inhibitorias individuales de cada cepa. La -- concentración mínima inhibitoria se define como la concentración de -- antimicrobiano menor que es capaz de impedir el desarrollo bacteriano.

RESULTADOS

De los 100 pacientes incluidos en el estudio, se obtuvieron los resultados siguientes:

En los recién nacidos se encontró el 62.5% de aislamiento para Bacteroides fragilis. En segundo lugar Clostridium histolyticum con 29.1% de aislamiento y Peptococcus magnus con 19.1%. Siendo el % total por género el siguiente: 87.5% de Bacteroides sp., 62.3% de Clostridium sp., y 29.1% de Peptococcus sp. (Ver tabla XI)

En los lactantes se encontró el 62.5% para B. fragilis el 33.3% para C. histolyticum y el 25% para Peptococcus magnus. Siendo el % total por género: 95.7% para Bacteroides sp., 70.7% para Clostridium sp., y 25% para Peptococcus sp.

En los pre-escolares se encontró el 66.6% para B. fragilis, el 29.6% para C. histolyticum y el 25.9% para P. magnus. Siendo el % total -- por género: 99.9% para Bacteroides sp., el 70.3% para Clostridium sp. y el 25.9% para Peptococcus sp.

Por último en los escolares se encontró el 64% para B. fragilis, el 32% para C. histolyticum y el 28% para P. magnus. Siendo el % total -- por género: 92% para Bacteroides sp., el 72% para Clostridium sp., y el 28% para Peptococcus sp.

Se procedió a efectuar el patrón de sensibilidad y resistencia a los antimicrobianos por el método de dilución en placa, utilizando el replicador de Steers, los resultados fueron los siguientes:

Con el soporte de sangre hemina-menadiona:

Para el género Bacteroides los % de susceptibilidad fueron los siguientes: Penicilina a concentración de 50 u/ml, el 49.8% de suscepti

bilidad. Tetraciclina a concentración de 50 mcg/ml, el 100% de susceptibilidad. Clindamicina a concentración de 50 mcg/ml, el 100% de susceptibilidad. (Ver tabla XII)

Carbenicilina a concentración de 400 mcg/ml, el 98.7% de susceptibilidad. Cloranfenicol a concentraciones desde 50-100 mcg/ml del 2-5% de susceptibilidad. Metronidazol a concentraciones desde 6.25 mcg/ml el % de susceptibilidad fue del 92-95%.

Para B. fragilis, el mejor fué el metronidazol que a concentraciones desde 6.25, 12, 5, 25, 50 y 100 mcg/ml, el % de susceptibilidad fue del 75-85%. Mientras que a concentraciones de 50 mcg/ml de tetraciclina y clindamicina se obtuvo un % de susceptibilidad del 70-100%. Con la carbenicilina a concentración de 400 mcg/ml se obtuvo el 96.2% de susceptibilidad. (Ver tabla XIV)

Dentro de las especies, el B. tetatamicron fue resistente a penicilina.

Para el género Clostridium, los % de susceptibilidad fueron: Penicilina, a concentración de 50 u/ml, el 90.1% de susceptibilidad. Tetraciclina a concentración de 50 mcg/ml, el 100% de susceptibilidad. Clindamicina a concentraciones desde 25-50 mcg/ml, del 76-95% de susceptibilidad. Carbenicilina a concentración de 400 mcg/ml el 100% de susceptibilidad. Cloranfenicol a concentración de 100 mcg/ml, del 78% de susceptibilidad. Metronidazol a concentraciones desde 6.25-100 mcg/ml, el % de susceptibilidad fue entre el 86-98%. (Ver Tabla XX)

El género Eubacterium, resultó ser sensible a la penicilina desde concentraciones de 12.5, 25 y 50 u/ml, obteniéndose el 100% de susceptibilidad. Con el cloranfenicol a concentraciones de 25 y 50 mcg/ml, el % de susceptibilidad fue del 70-100%. Para el metronidazol se obtuvo el 70% de susceptibilidad a concentraciones de 6.25, 12.5, 25, 50

y 100 mcg/ml. (Ver tabla XXXII)

Para cocos anaeróbicos (P. magnus) la penicilina, clindamicina, metronidazol y cloranfenicol fueron los mejores antibióticos, obteniéndose un % de susceptibilidad del 75-100% a concentraciones de 12.5 a 50 -- u/ml de penicilina; 12.5-50 mcg/ml de clindamicina y cloranfenicol; y de 6.25-100 mcg/ml de metronidazol, (Ver tabla XXX)

Con el medio sólido de Schaedler, los resultados fueron los siguientes:

Para el género Bacteroides los % de susceptibilidad fueron: penicilina a concentración de 50 u/ml, el 50% de susceptibilidad. Tetraciclina a concentración de 50 mcg/ml, el 98.8% de susceptibilidad. Clindamicina a concentración de 50 mcg/ml, el 93.6% de susceptibilidad. -- Carbenicilina a concentración de 400 mcg/ml, el 88.6% de susceptibilidad. Cloranfenicol a concentración de 100 mcg/ml, el 3.8% de susceptibilidad. Metronidazol a concentración desde 6.25-100 mcg/ml el % de susceptibilidad fue entre 91-95%. (Ver tabla XIII)

Con respecto al género y especie el % de susceptibilidad obtenido con este medio fue muy semejante al obtenido con el soporte sangre hemina menadiona, encontrándose un % de susceptibilidad para B. fragilis del 84% con metronidazol a concentraciones desde 6.25-100 mcg/ml. (Ver tabla XV)

Para el género Clostridium, los % de susceptibilidad fueron los siguientes: Penicilina a concentraciones de 25-50 u/ml, del 10-85% de susceptibilidad. Tetraciclina a concentración de 50 mcg/ml, el 100% de susceptibilidad. Clindamicina a concentraciones de 25-50 mcg/ml, el 98% de susceptibilidad. Cloranfenicol a concentración de 100 mcg/ml el 85% de susceptibilidad. Metronidazol a concentraciones desde 6.25-100 mcg/ml, el % de susceptibilidad fue del 92%. (Ver tabla XXI)

Para el género Eubacterium, con el metronidazol a concentraciones de

6.25 a 50 mcg/ml, se obtuvo del 70-90% de susceptibilidad. Con la -- clindamicina a concentración de 12.5 mcg/ml se obtuvo el u/ml, el % - de susceptibilidad fue entre el 90-100%. (Ver tabla XXXIII)

Con respecto a los cocos anaeróbicos, la penicilina, clindamicina, -- cloranfenicol y metronidazol fueron los mejores antibióticos obteniéndose un % de susceptibilidad entre el 75-100% para concentraciones de 12.5-50 u/ml de penicilina, 12.5-50 mcg/ml de clindamicina, de 25-100 mcg/ml de cloranfenicol y de 6.25-100 mcg/ml demetronidazol. (Ver tabla XXXI)

TABLA IX
 FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE ANAEROBIOS EN 100 MUESTRAS DE COLON

GENERO Y ESPECIE	% DE AISLAMIENTO
1. Bacteroides sp	94
a) Bacteroides fragilis	64
b) Bacteroides vulgatus	16
c) Bacteroides melaninogenicus	8
d) Bacteroides tetaiotamicron	6
2. Clostridium sp	69
a) Clostridium histolyticum	31
b) Clostridium sordellii	18
c) Clostridium perfringens	16
d) Clostridium chauvoei	4
3. Peptococcus magnus	27
4. Eubacterium lentum	24
5. Voillonella parvula	3

Tabla IX.- Tabla que muestra la frecuencia de aislamiento obtenida de anaerobios en las 100 muestras de colon estudiadas. Por el método Gas Pak.

TABLA X
GRUPOS BACTERIANOS AISLADOS EN 100 MUESTRAS DE COLON

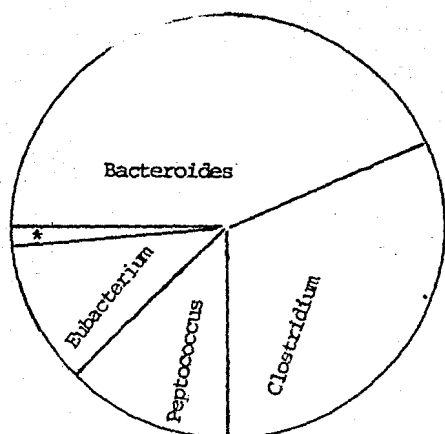
GRUPO BACTERIANO	NO. DE CEPAS
Bacilos Gram Negativos	94
Bacilos Gram Positivos Esporulados	69
Cocos Gram Positivos	27
Bacilos Gram Positivos no Esporulados	24
Cocos Gram Negativos	3

Tabla X.- Tabla que muestra los diferentes grupos bacterianos que se aislaron en las 100 muestras de colon estudiadas, clasificadas en base a su capacidad de tinción.

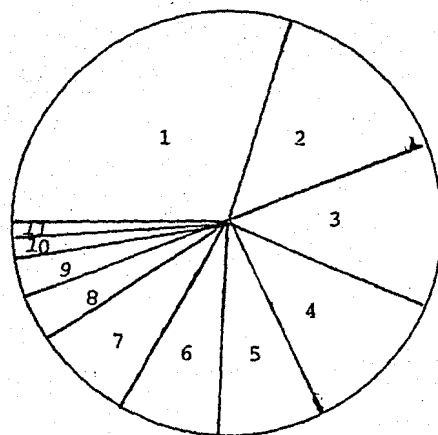
TABLA XI
FRECUENCIA PORCENTUAL DE AISLAMIENTO DE ANAEROBIOS EN
LAS DIFERENTES EDADES PEDIÁTRICAS EN UN TOTAL DE --
100 MUESTRAS DE COLON

GENERO Y ESPECIE	RECIENTOS NACIDOS	LACTANTES	% DE AISLAMIENTO	
			PRE-ESCOLARES	ESCOLARES
<i>Bacteroides fragilis</i>	62.5	62.5	66.6	64
<i>Bacteroides vulgatus</i>	12.5	16.6	18.5	16
<i>Bacteroides tetraiotami</i> <i>cron</i>	4.2	8.3	7.4	4
<i>Clostridium histolyticum</i>	29.1	33.3	29.6	32
<i>Clostridium sordellii</i>	16.6	16.6	18.5	20
<i>Clostridium perfringens</i>	16.6	16.6	14.8	16
<i>Clostridium chauvoei</i>	0.0	4.2	7.4	4
<i>Peptococcus magnus</i>	29.1	25	25.9	28
<i>Eubacterium lentum</i>	20.8	25	22.2	24
<i>Bacteroides melaninogenicus</i>	8.3	8.3	7.4	8
<i>Veillonella parvula</i>	4.2	0.0	3.7	4

Tabla XI.- Tabla que muestra la frecuencia de aislamiento de anaerobios obtenida en las diferentes edades pediátricas de un total de 100 muestras de colon estudiadas.



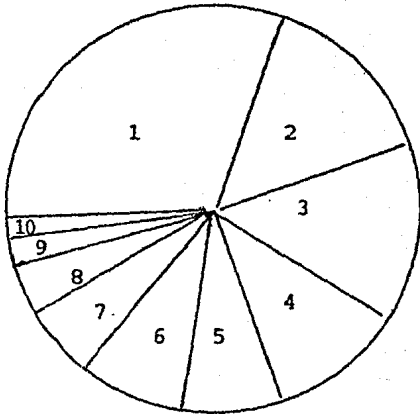
* Veillonella



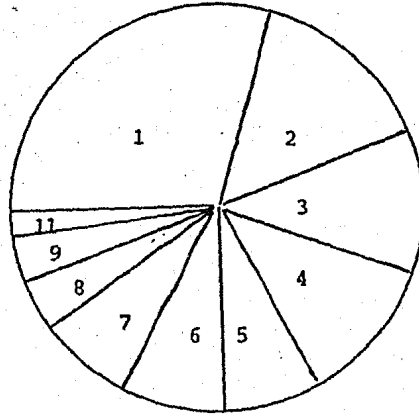
- 1.- *B. fragilis*
- 2.- *Cl. histolyticum*
- 3.- *P. magnus*
- 4.- *E. lentum*
- 5.- *Cl. sordellii*
- 6.- *Cl. perfringens*
- 7.- *B. vulgatus*
- 8.- *B. melaninogenicus*
- 9.- *B. tetaiotamicron*
- 10.- *Cl. chauvoei*
- 11.- *V. parvula*

Figura 3.- Representación esquemática de los porcentajes de aislamiento obtenidos en 100 muestras de colon.

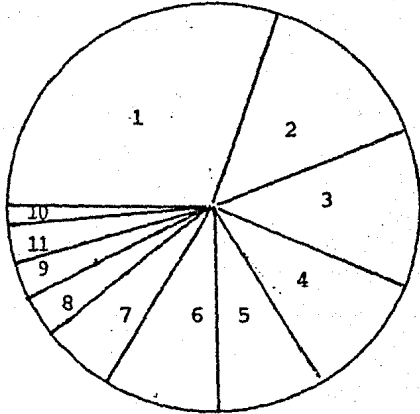
RECIENTE NACIDOS



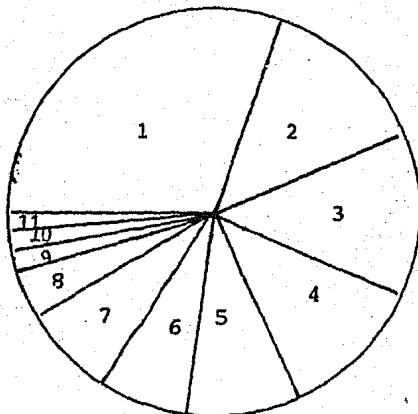
LACTANTES



PRE-ESCOLARES



ESCOLARES



- 1.-*B. fragilis*
- 2.-*Cl. histolyticum*
- 3.-*P. magnus*
- 4.-*E. lentum*
- 5.-*Cl. sordellii*
- 6.-*Cl. perfringens*

- 7.-*B. vulgatus*
- 8.-*B. melaninogenicus*
- 9.-*B. tetraiotamicron*
- 10.-*V. parvula*
- 11.-*Cl. chauvoei*

Figura 4.- Representación esquemática de los porcentajes de aislamiento obtenidos de un total de 100 muestras de colon, en las diferentes edades pediátricas.

TABLA XII
 SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
BACTEROIDES sp EN EL MEDIO SOPORTE DE SANGRE
 HEMINA-MENADIONA

Penicilina	^a 3.12 ^b 0.0	6.25 0.0	+12.5 0.0	25 0.0	50 49.8
Tetraciclina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Clindamicina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Carbenicilina	25 0.0	50 0.0	100 0.0	200 0.0	400 98.7
Cloranfenicol	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 2.5	100 5.1
Metronidazol	6.25 92.3	12.5 93.6	25 93.6	50 93.6	100 94.9

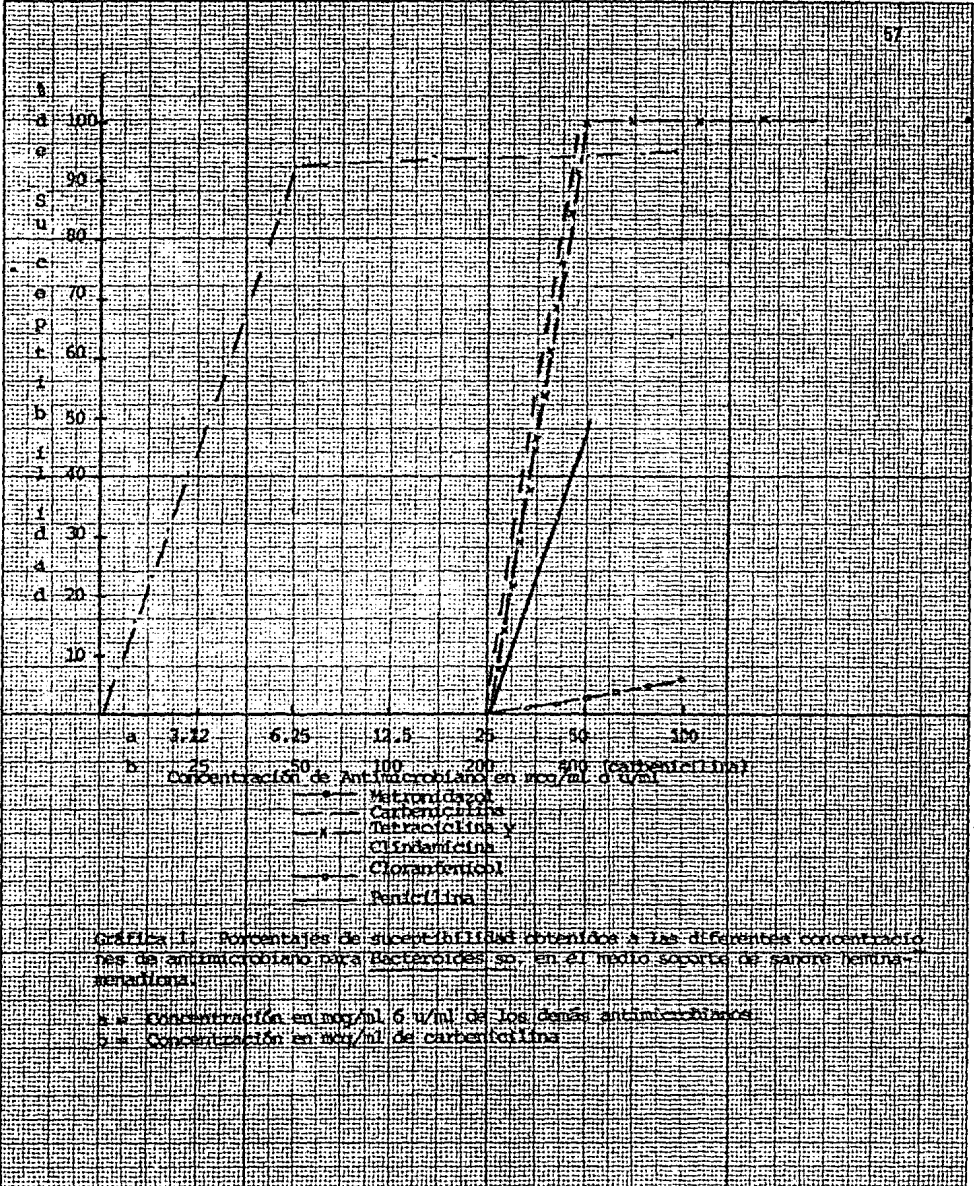
Tabla XII.- Porcentajes de susceptibilidad para Bacteroides sp obtenidas en el medio soporte de sangre hemina-menadiona a las diferentes - concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: a=concentración de antimicrobiano en u/ml o mcg/ml; b=% de susceptibilidad; +=niveles séricos alcanzados en u/ml o mcg/ml.

TABLA XIII

SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
BACTEROIDES sp EN EL MEDIO SOPORTE DE SHAEDLER

Penicilina	^a 3.12	6.25	+12.5	25	50
	^b 0.0	0.0	0.0	0.0	50
Tetraciclina	3.12	6.25	12.5	25	50
	0.0	0.0	0.0	0.0	98.8
Clindamicina	3.12	6.25	12.5	25	50
	0.0	0.0	0.0	9.2	93.6
Cloranfenicol	6.25	12.5	25	50	100
	0.0	0.0	0.0	0.0	3.8
Metronidazol	6.25	12.5	25	50	100
	91.0	91.0	91.0	94.9	94.9

Tabla XIII.- Porcentajes de susceptibilidad para Bacteroides sp obtenidos en el medio soporte de Schaedler a las diferentes concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: a=concentración de antimicrobiano en u/ml o mcg/ml; b=% de susceptibilidad +niveles séricos alcanzados de antimicrobiano en u/ml o mcg/ml.



Gráfica 1. Porcentajes de susceptibilidad obtenidos a las diferentes concentraciones de antimicrobiano para Bacteroides sp. en el medio soporte de sangre fermentada.

a = Concentración en mcg/ml ó u/ml de los demás antimicrobianos
 b = Concentración en mcg/ml de carbenicilina

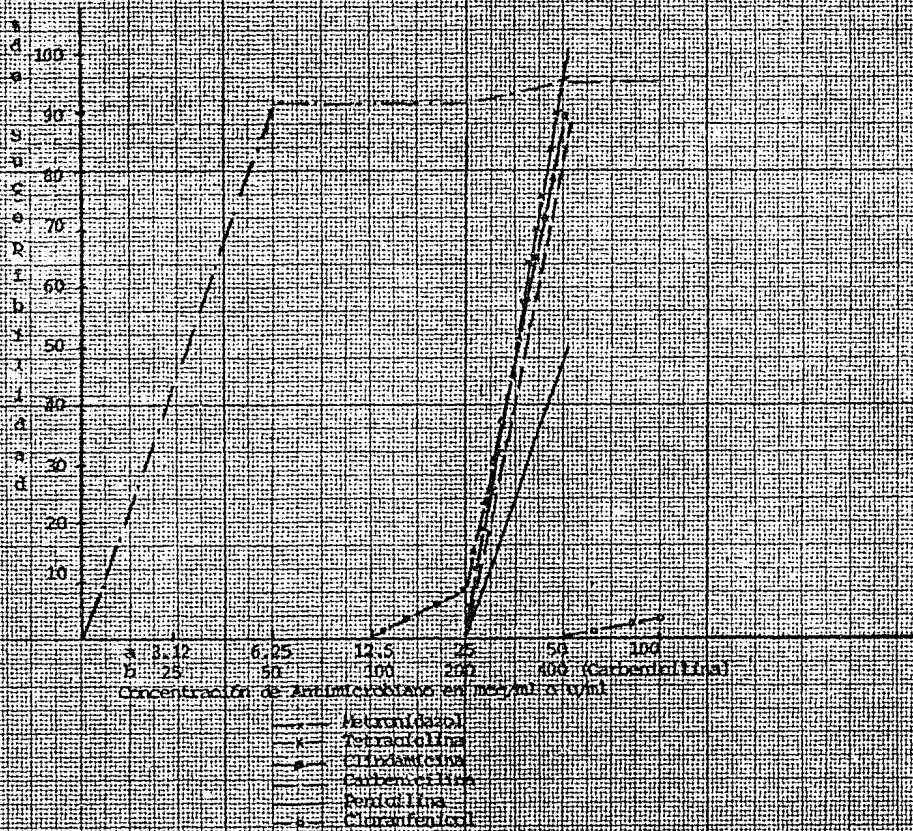


Gráfico 2. Porcentaje de manifestaciones observadas a las diferentes concentraciones de antituberculosos para Bacteroides sp. en el día 212 soporte de chachalaca.

a - Concentración en mg/ml (a) y (b) de los antibióticos.

b - Concentración en mg/ml de pacientes.

TABLA XIV
SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
BACTEROIDES fragilis EN EL MEDIO SOPORTE DE SANGRE
HEMINA-MENADIONA

Penicilina	^a 3.12	6.25	+12.5	25	50
	^b 0.0	0.0	0.0	0.0	69.3
Tetraciclina	3.12	6.25	12.5	25	50
	0.0	0.0	0.0	0.0	100
Clindamicina	3.12	6.25	12.5	25	50
	0.0	0.0	0.0	0.0	100
Carbenicilina	25	50	100	200	400
	0.0	0.0	0.0	0.0	96.2
Cloranfenicol	6.25	12.5	25	50	100
	0.0	0.0	0.0	7.6	15.2
Metronidazol	6.25	12.5	25	50	100
	76.9	80.8	80.8	80.8	84.7

Tabla XIV.- Porcentajes de susceptibilidad para Bacteroides fragilis obtenidos en el medio soporte de sangre hemina-menadiona a las diferentes concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: a=concentración de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml; - b=% de susceptibilidad; +=niveles séricos alcanzados en u/ml ó mcg/ml.

TABLA XV
SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
BACTEROIDES fragilis EN EL MEDIO SOPORTE DE SCHAEGLER

Penicilina	^a 3.12	6.25	+12.5	25	50
	^b 0.0	0.0	0.0	0.0	50
Tetraciclina	3.12	6.25	12.5	25	50
	0.0	0.0	0.0	0.0	96.6
Clindamicina	3.12	6.25	12.5	25	50
	0.0	0.0	0.0	7.6	80.8
Cloranfenicol	6.25	12.5	25	50	100
	0.0	0.0	0.0	0.0	11.5
Metronidazol	6.25	12.5	25	50	100
	73.1	73.1	73.1	84.7	74.7

Tabla XV.- Porcentajes de susceptibilidad para Bacteroides fragilis - obtenidos en el medio soporte de Schaedler a las diferentes concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: -- a=concentración de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml; b=% de susceptibilidad; +=niveles de séricos alcanzados de antimicrobiano en u/ml ó -- mcg/ml.

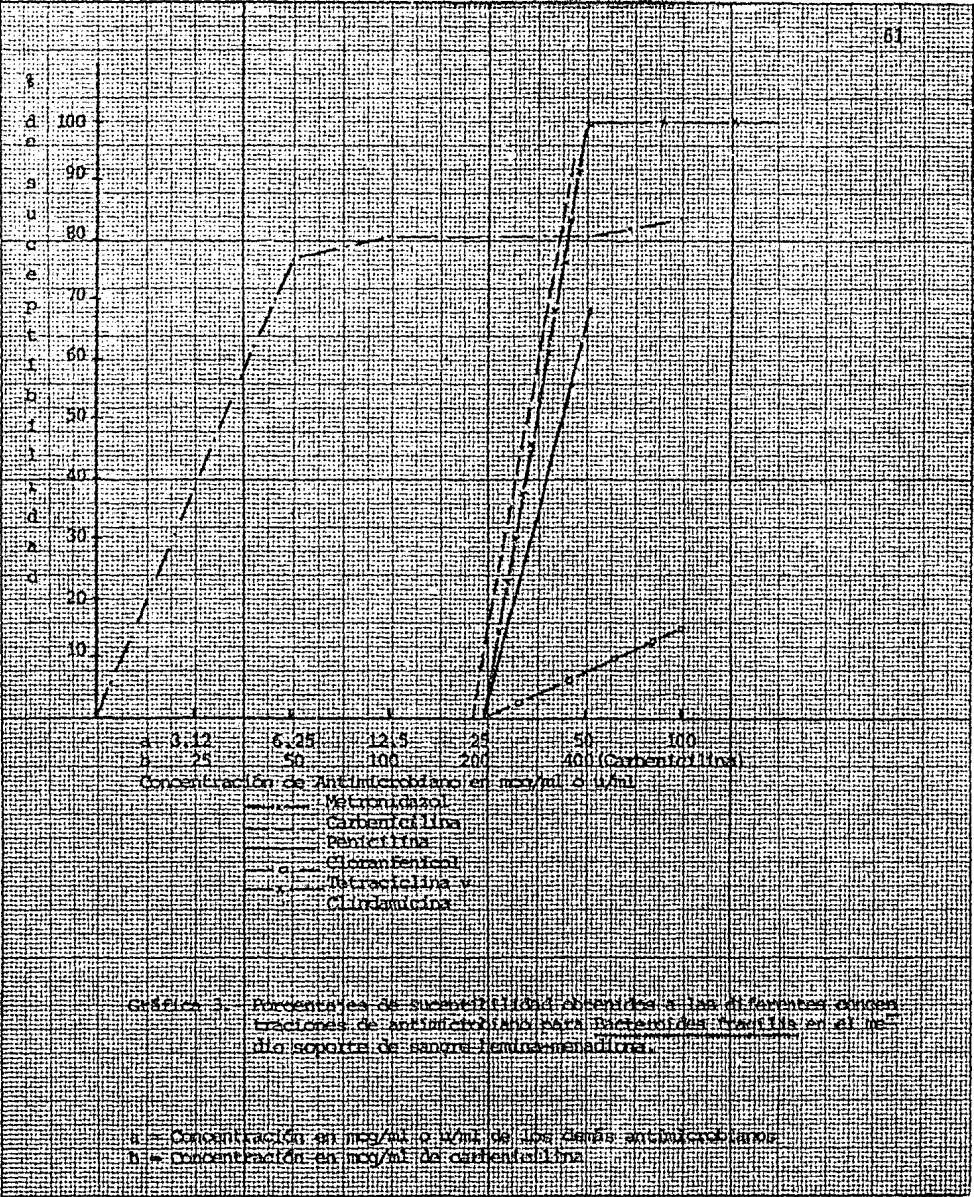
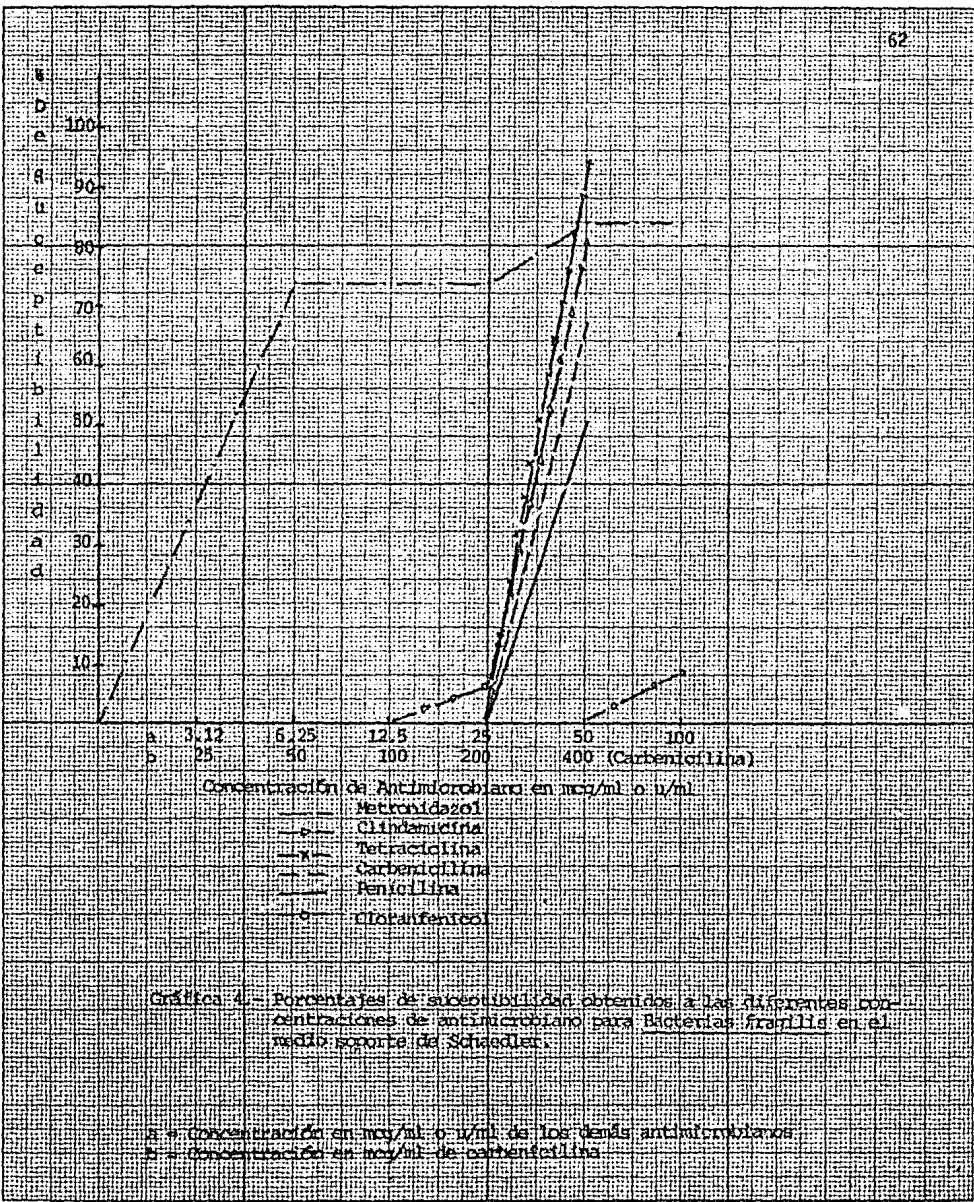


Gráfico 3. Porcentajes de suceso cultivo obtenidos a las diferentes concentraciones de antimicrobianos para bacterias trasplantadas en el medio soporte de sangre hemostasiada.

a = Concentración en mg/ml o μ g/ml de los demás antimicrobianos
 b = Concentración en mg/ml de carbencilina



Gráfica 4. Porcentajes de susceptibilidad obtenidos a las diferentes concentraciones de antimicrobiano para *Bacterias fragilis* en el medio soporte de Schaedler.

a = concentración en mcg/ml o u/ml de los demás antimicrobianos.
b = concentración en mcg/ml de carbenciclina

TABLA XVI
SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS
DE BACTEROIDES vulgatus EN EL MEDIO DE SANGRE -
HEMINA-MENADIONA

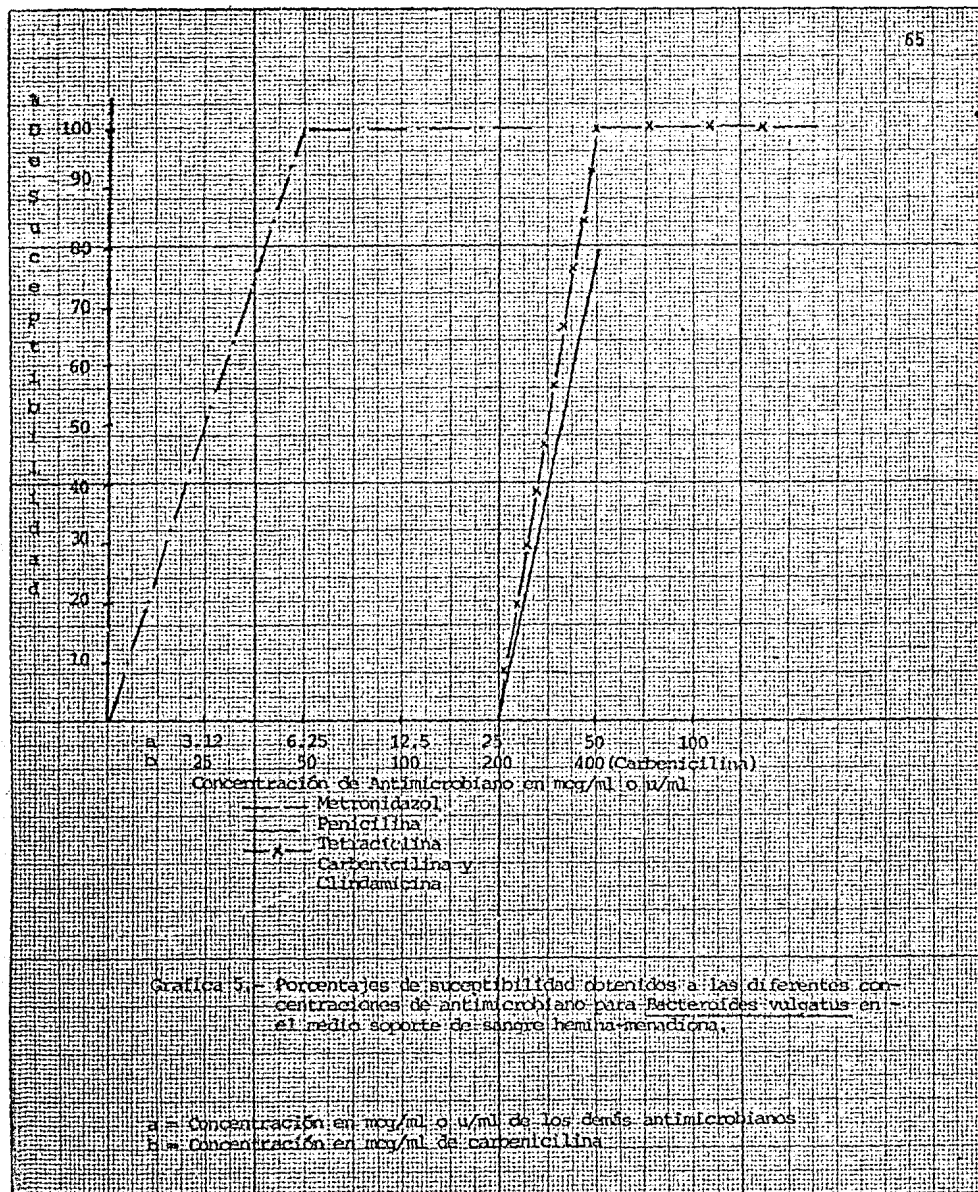
Penicilina	^a 3.12	6.25	+12.5	25	50
	^b 0.0	0.0	0.0	0.0	80
Tetraciclina	3.12	6.25	12.5	25	50
	0.0	0.0	0.0	0.0	100
Clindamicina	3.12	6.25	12.5	25	50
	0.0	0.0	0.0	0.0	100
Carbenicilina	25	50	100	200	400
	0.0	0.0	0.0	0.0	100
Cloranfenicol	6.25	12.5	25	50	100
	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Metronidazol	6.25	12.5	25	50	100
	100	100	100	100	100

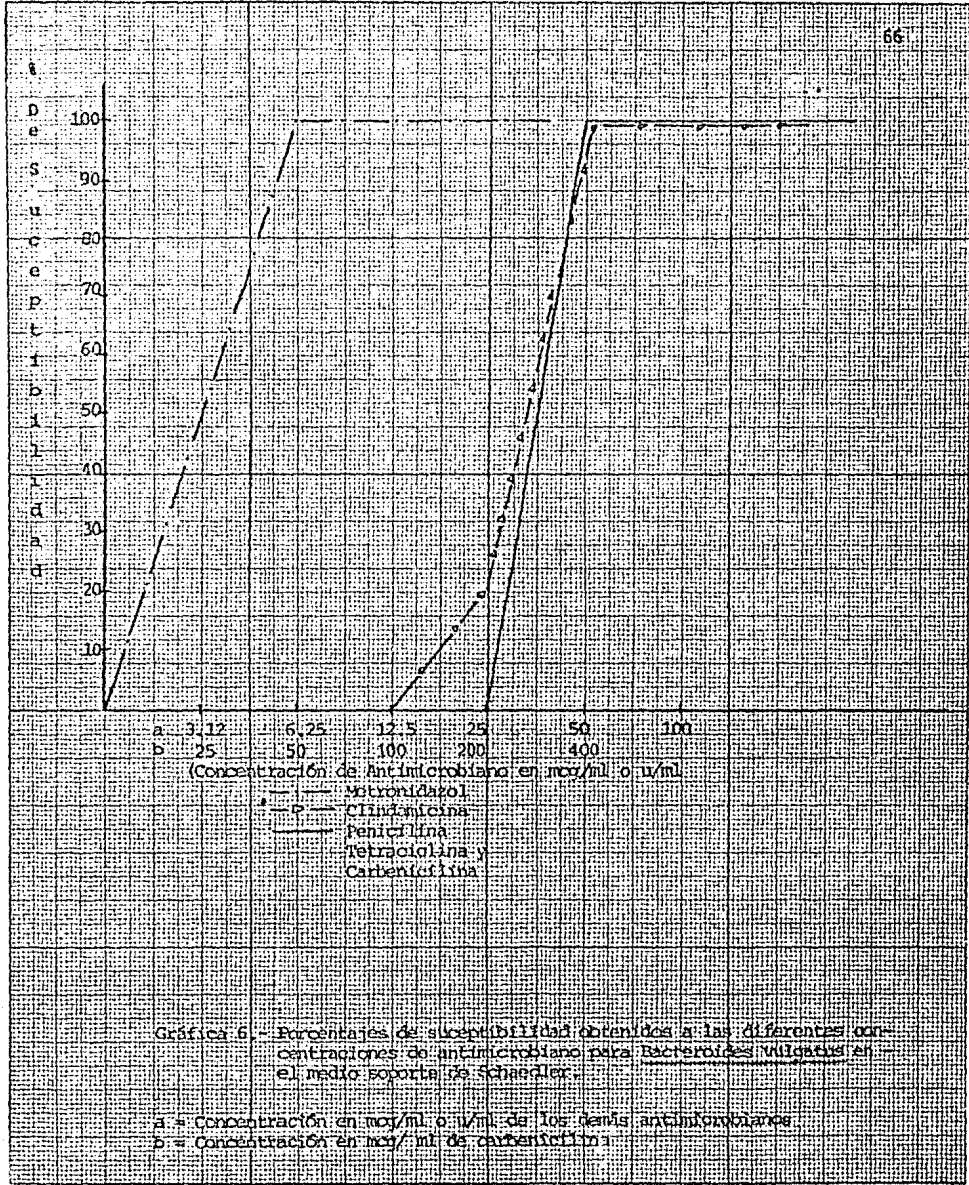
Tabla XVI.- Porcentajes de susceptibilidad para Bacteroides vulgatus obtenidos en el medio soporte de sangre hemina-menadiona a las diferentes concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: a=concentración de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml, - b=% de susceptibilidad, +=niveles séricos alcanzados en u/ml ó mcg/ml.

TABLA XVII
SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
BACTEROIDES vulgatus EN EL MEDIO SOPORTE DE SCHAEGLER

Penicilina	^a 3.12 ^b 0.0	6.25 0.0	+12.5 0.0	25 0.0	50 100
Tetraciclina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Clindamicina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 20	50 100
Carbenicilina	25 0.0	50 0.0	100 0.0	200 0.0	400 100
Cloranfenicol	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 0.0	100 0.0
Metronidazol	6.25 100	12.5 100	25 100	50 100	100 100

Tabla XVII.- Porcentajes de susceptibilidad para Bacteroides vulgatus obtenidos en el medio soporte de Schaedler a las diferentes concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: -- a=concentración de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml; b=% de susceptibilidad, +=niveles séricos alcanzados de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml.





Gráfica 6 - Porcentajes de susceptibilidad obtenidos a las diferentes concentraciones de antimicrobiano para *Bacteroides fragilis* en el medio soporte de Schaedler.

a = Concentración en mcg/ml o u/ml de los demás antimicrobianos
 b = Concentración en mcg/ml de carbenicilina

TABLA XVIII
SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
BACTEROIDES tetajotamicron EN EL MEDIO SUPERIOR DE
SANGRE HEMINA-MENADIONA

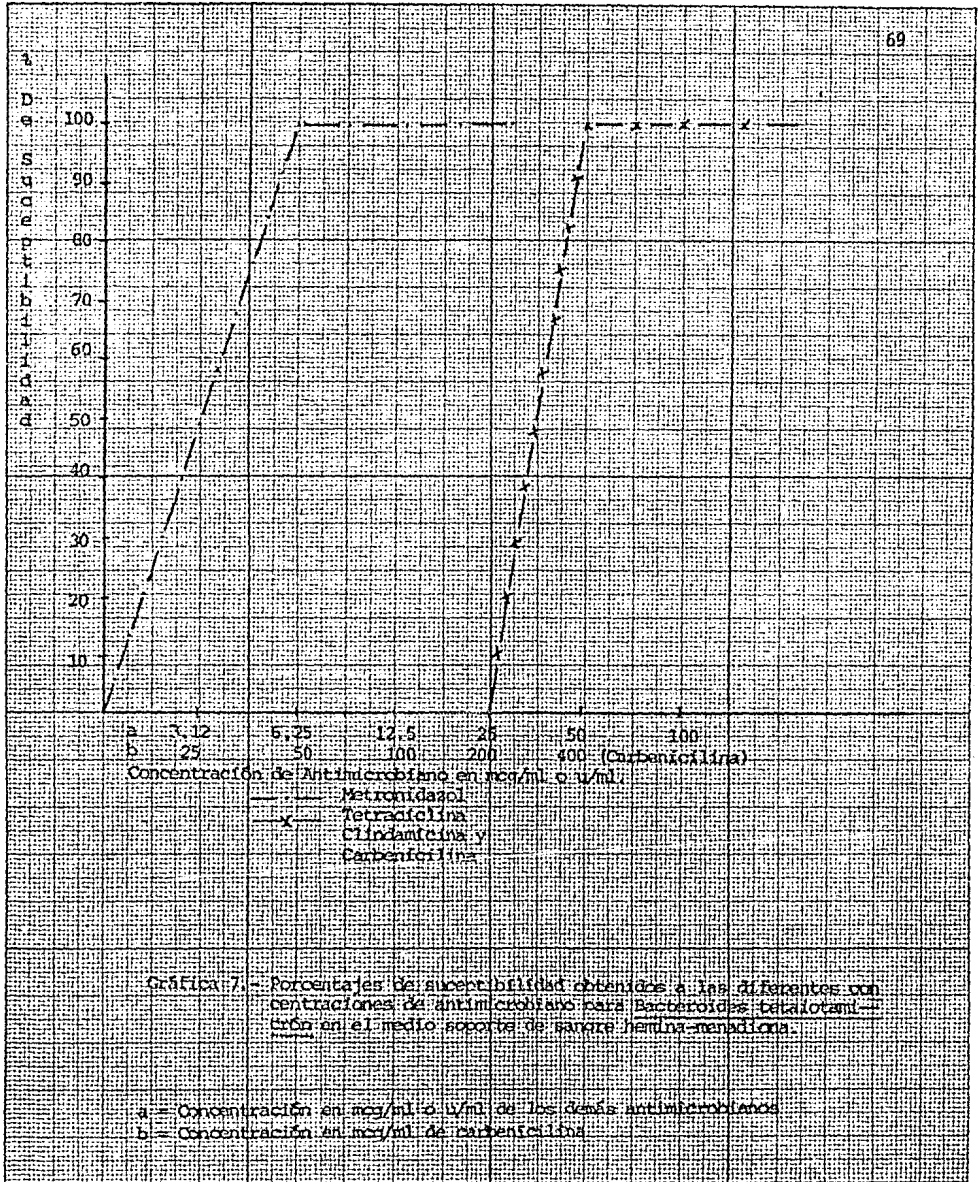
Penicilina	^a 3.12 ^b 0.0	6.25 0.0	+12.5 0.0	25 0.0	50 0.0
Tetraciclina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Clindamicina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Carbenicilina	25 0.0	50 0.0	100 0.0	200 0.0	400 100
Cloranfenicol	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 0.0	100 0.0
Metronidazol	6.25 100	12.5 100	25 100	50 100	100 100

Tabla XVIII.- Porcentajes de susceptibilidad para Bacteroides tetajotamicron obtenidos en el medio soporte de sangre hemina-menadiona a las diferentes concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: a=concentración de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml, b=% de susceptibilidad, +=niveles séricos alcanzados en u/ml ó -- mcg/ml.

TABLA XIX
SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
BACTEROIDES tetatamicron EN EL MEDIO SOPORTE
DE SCHAEGLER

Penicilina	^a 3.12 ^b 0.0	6.25 0.0	+12.5 0.0	25 0.0	50 0.0
Tetraciclina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Clindamicina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Carbenicilina	25 0.0	50 0.0	100 0.0	200 0.0	400 100
Cloranfenicol	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 0.0	100 0.0
Metronidazol	6.25 100	12.5 100	25 100	50 100	100 100

Tabla XIX.- Porcentajes de susceptibilidad para Bacteroides tetatamicron obtenidos en el medio soporte de Schaedler a las diferentes - concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: a=concentración de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml; b=% de susceptibilidad; +=niveles séricos alcanzados de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml.



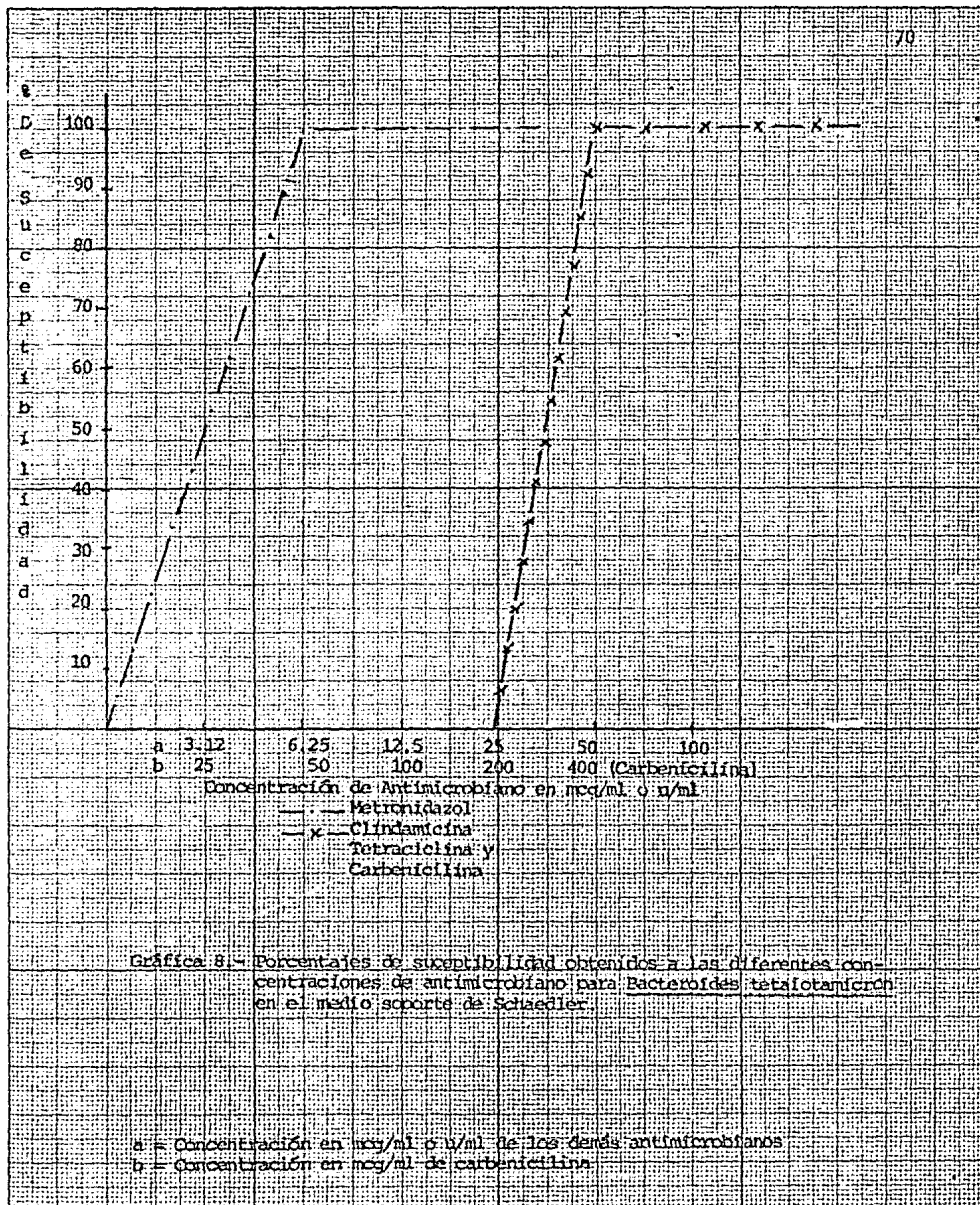


TABLA XX
SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
CLOSTRIDIUM sp EN EL MEDIO SOPORTE DE SANGRE HEMINA
MENADIONA

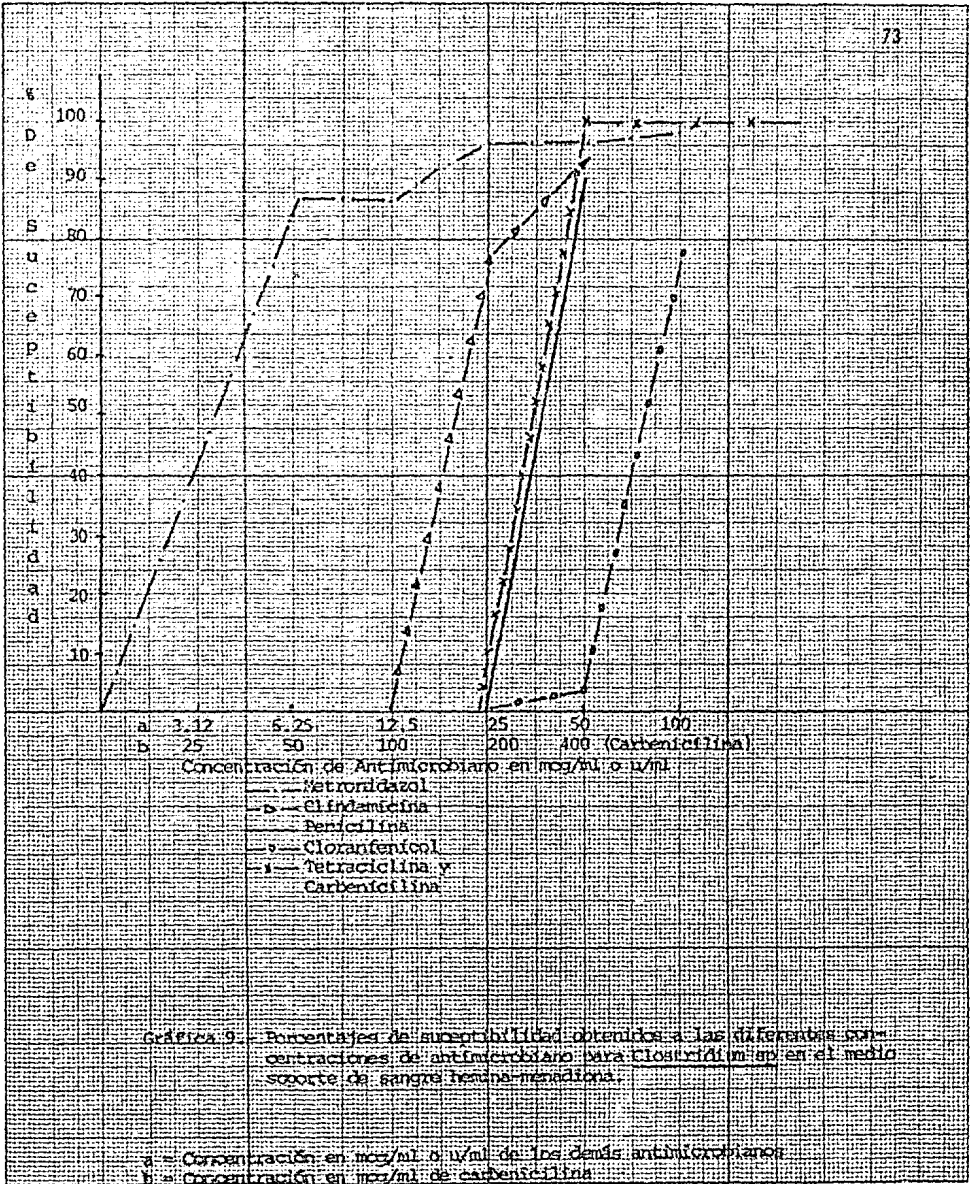
Penicilina	^a 3.12 ^b 0.0	6.25 0.0	+12.5 0.0	25 0.0	50 90.1
Tetraciclina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Clindamicina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 76.5	50 94.6
Carbenicilina	25 0.0	50 0.0	100 0.0	200 0.0	400 100
Cloranfenicol	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 3.6	100 77.3
Metronidazol	6.25 86.6	12.5 86.6	25 96.4	50 96.4	100 98.2

Tabla XX.- Porcentaje de susceptibilidad para Clostridium sp obtenidos en el medio soporte de sangre hemina-menadiona a las diferentes - concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: a=concentración de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml, b=% de susceptibilidad, +=niveles séricos alcanzados en u/ml ó mcg/ml.

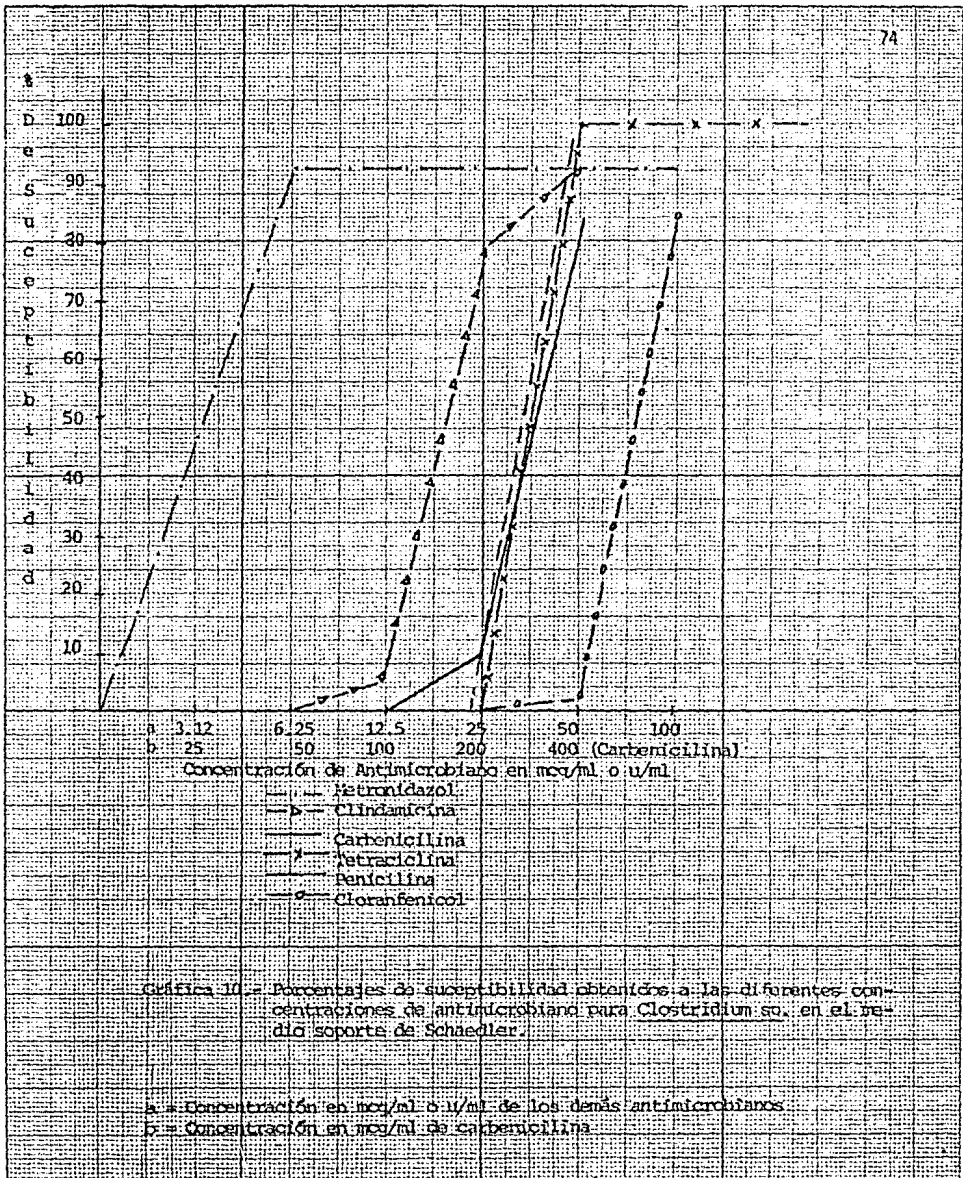
TABLA XXI
SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
CLOSTRIDIUM sp EN EL MEDIO SOPORTE DE SCHAEGLER

Penicilina	a2.12 b0.0	6.25 0.0	+12.5 0.0	25 10.1	50 84.8
Tetraciclina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Clindamicina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 5.3	25 78.3	50 91.9
Carbenicilina	25 0.0	50 0.0	100 0.0	200 0.0	400 98.2
Cloranfenicol	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 1.8	100 84.8
Metronidazol	6.25 91.9	12.5 91.9	25 91.9	50 91.9	100 91.9

Tabla XXI.- Porcentajes de susceptibilidad para Clostridium sp obtenidos en el emedio soporte de Schaedler a las diferentes concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: a=concentraci3n de antimicrobiano en u/ml 6 mcg/ml; b=% de susceptibilidad +=niveles s3ricos alcanzados de antimicrobiano en u/ml 6 mcg/ml.



Gráfica 9. Porcentajes de susceptibilidad obtenidos a las diferentes concentraciones de antimicrobiano para *Clostridium* en el medio soporte de sangre humana-menadiona.



Gráfica 10 - Porcentajes de susceptibilidad obtenidos a las diferentes concentraciones de antimicrobiano para *Clostridium so.* en el medio soporte de Schaedler.

a = Concentración en mcg/ml o u/ml de los demás antimicrobianos
 b = Concentración en mcg/ml de Carbencilina

TABLA XXII
SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
CLOSTRIDIUM histolyticum EN EL MEDIO SOPORTE DE - -
SANGRE HEMINA-MENADIONA

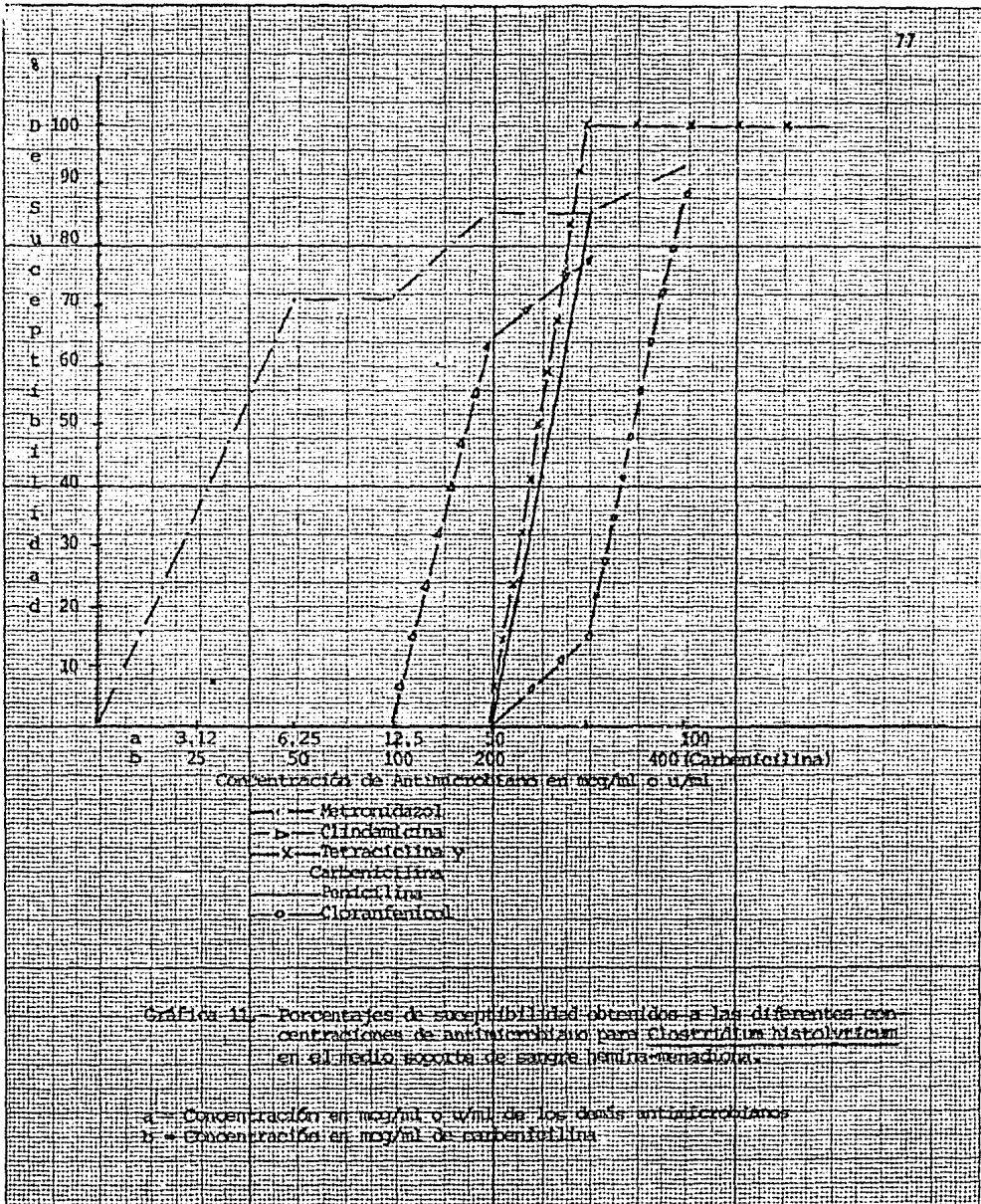
Penicilina	^a 3.12 ^b 0.0	6.25 0.0	+12.5 0.0	25 0.0	50 85.7
Tetraciclina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Clindamicina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 64.5	50 78.6
Carbenicilina	25 0.0	50 0.0	100 0.0	200 0.0	400 100
Cloranfenicol	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 14.3	100 92.4
Metronidazol	6.25 71.5	12.5 71.5	25 85.7	50 85	100 92.9

Tabla XXII.- Porcentajes de susceptibilidad para Clostridium histolyticum obtenidos en el medio soporte de sangre hemina-menadiona a las diferentes concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: a=concentración de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml, b=% de susceptibilidad; +=niveles séricos alcanzados en u/ml ó mcg/ml.

TABLA XXIII
SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
CLOSTRIDIUM histolyticum EN EL MEDIO SOPORTE DE
SCHAEDLER

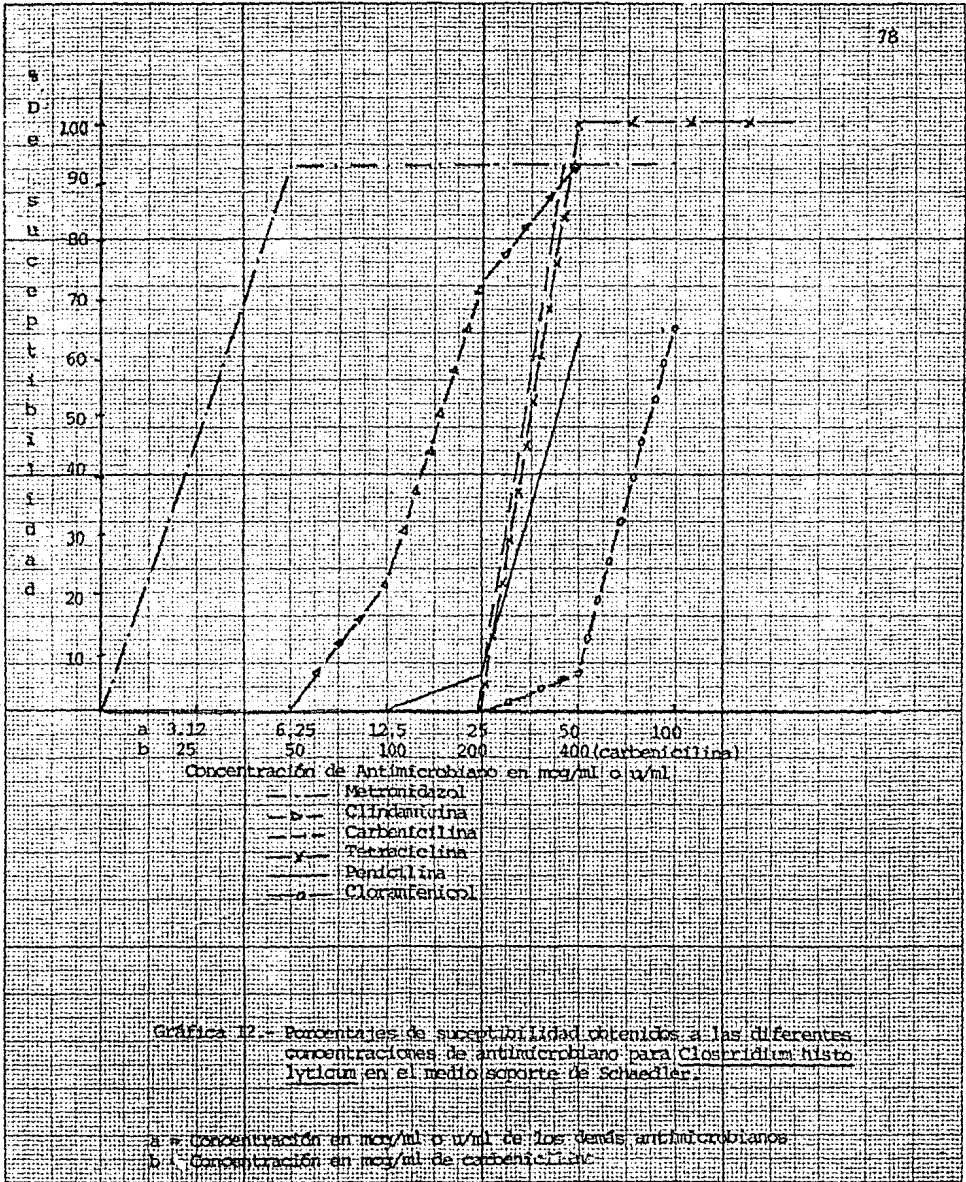
Penicilina	^a 3.12 ^b 0.0	6.25 0.0	+12.5 0.0	25 7.1	50 64.3
Tetraciclina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Clindamicina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 21.4	25 71.5	50 92.9
Carbenicilina	25 0.0	50 0.0	100 0.0	200 0.0	400 92.9
Cloranfenicol	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 7.1	100 64.3
Metronidazol	6.25 92.9	12.5 92.9	25 92.9	50 92.9	100 92.9

Tabla XXIII.- Porcentajes de susceptibilidad para Clostridium histolyticum obtenidos en el medio soporte de Schaedler a las diferentes concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: a=concentración de antimicrobiano en u/ml o mcg/ml; b=% de susceptibilidad; +=niveles séricos de antimicrobiano alcanzados en u/ml ó mcg/ml.



Gráfica 11. Porcentajes de susceptibilidad obtenidos a las diferentes concentraciones de antimicrobiano para Clostridium histolyticum en el medio coocultivo de sangre humana normal.

a = Concentración en mcg/ml o u/ml de los demás antimicrobianos
 b = Concentración en mcg/ml de carbenicilina



Gráfica 12. - Porcentajes de susceptibilidad obtenidos a las diferentes concentraciones de antimicrobiano para *Clostridium histolyticum* en el medio soporte de Schaedler.

TABLA XXIV
SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
CLOSTRIDIUM sordelli EN EL MEDIO SOPORTE DE SANGRE
HEMINA-MENADIONA

Penicilina	^a 3.12	6.25	+12.5	25	50
	^b 0.0	0.0	0.0	0.0	75
Tetraciclina	3.12	6.25	12.5	25	50
	0.0	0.0	0.0	0.0	100
Clindamicina	3.12	6.25	12.5	25	50
	0.0	0.0	0.0	75	100
Carbenicilina	25	50	100	200	400
	0.0	0.0	0.0	0.0	100
Cloranfenicol	6.25	12.5	25	50	100
	0.0	0.0	0.0	0.0	50
Metronidazol	6.25	12.5	25	50	100
	75	75	100	100	100

Tabla XXIV.- Porcentajes de susceptibilidad para Clostridium sordelli obtenidos en el medio soporte de sangre hemina-menadiona a las diferentes concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: a=concentración de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml b=% de susceptibilidad; +=niveles séricos alcanzados en u/ml ó mcg/ml.

TABLA XXV
SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
CLOSTRIDIUM sordelli EN EL MEDIO SOPORTE DE
SHAEDLER

Penicilina	^a 3.12 ^b 0.0	6.25 0.0	+12.5 0.0	25 0.0	50 75
Tetraciclina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Clindamicina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 75	50 75
Carbenicilina	25 0.0	50 0.0	100 0.0	200 0.0	400 100
Cloranfenicol	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 0.0	100 75
Metronidazol	6.25 75	12.5 75	25 75	50 75	100 75

Tabla XXV.- Porcentajes de susceptibilidad para Clostridium sordelli obtenidos en el soporte de Schaedler a las diferentes concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: a=concentración de antimicrobiano en u/ml o mcg/ml, b=% de susceptibilidad, -+=niveles séricos alcanzados de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml.

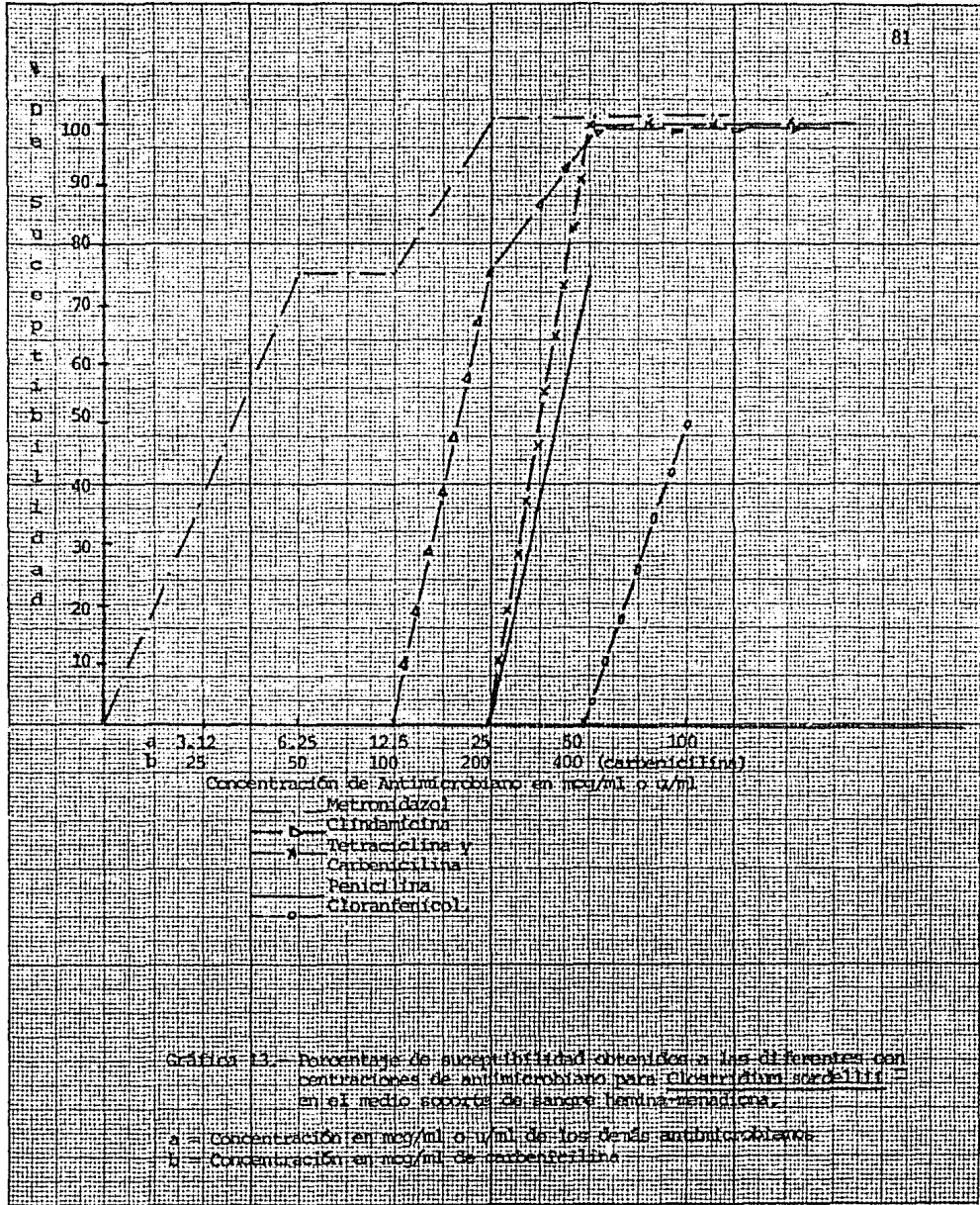
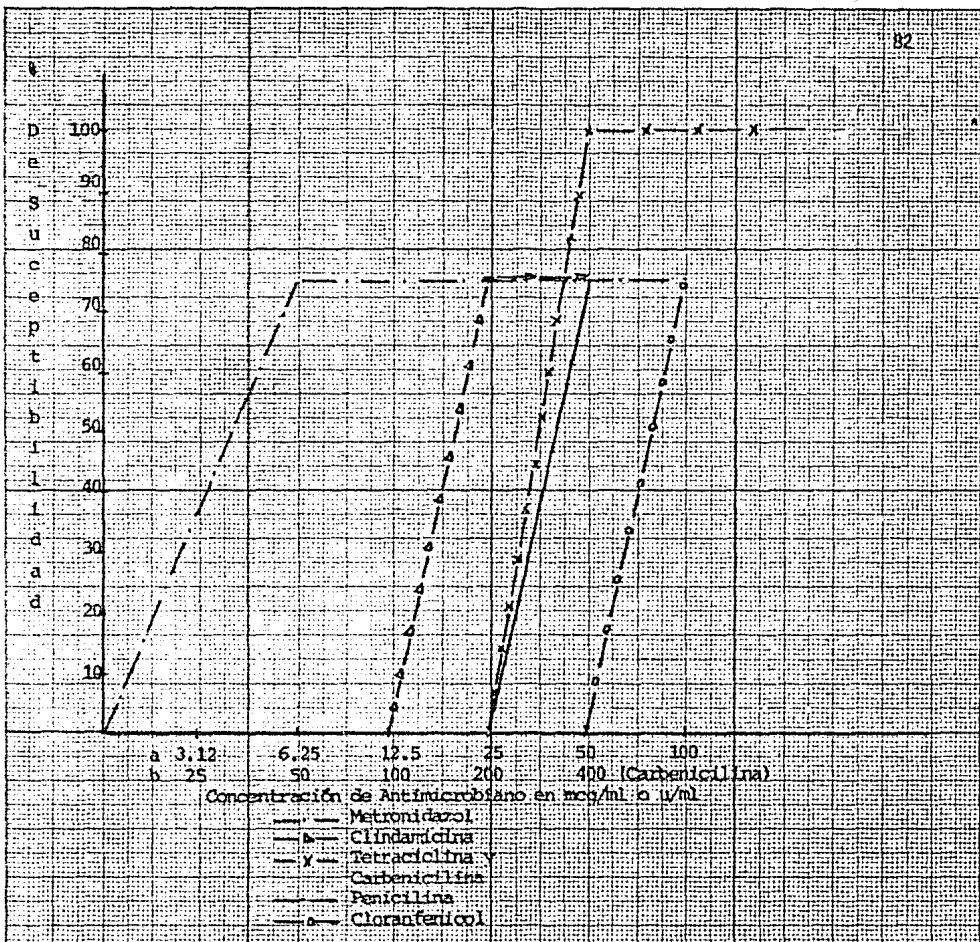


Gráfico 13.- Porcentaje de susceptibilidad obtenidos a las diferentes concentraciones de antimicrobianos para *Clostridium sordellii* en el medio soporte de sangre hemina-venadica.



Gráfica 14.- Porcentaje de susceptibilidad obtenidos a las diferentes concentraciones de Antimicrobiano para Clostridium sorbolii en el medio sorotte de Schedler.

a = Concentración en mcg/ml. o u/ml de los demás antimicrobianos
 b = Concentración en mcg/ml de carbenicilina

TABLA XXVI
SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
CLOSTRIDIUM perfringens EN EL MEDIO SOPORTE DE SAN-
GRE HEMINA-MENADIONA

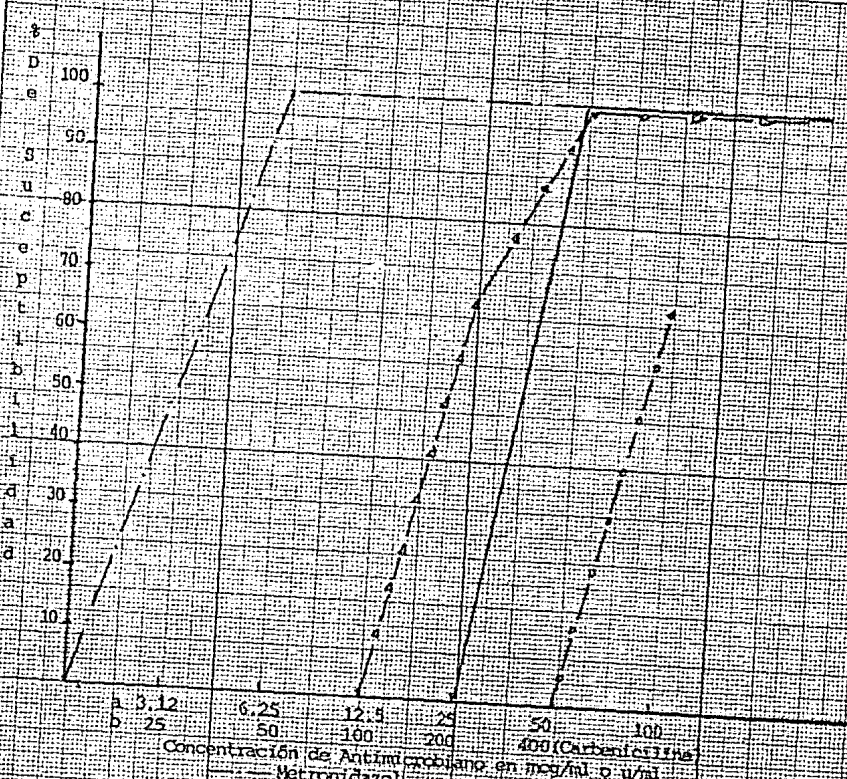
Penicilina	^a 3.12 ^b 0.0	6.25 0.0	+12.5 0.0	25 0.0	50 100
Tetraciclina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Clindamicina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 66.7	50 100
Carbenicilina	25 0.0	50 0.0	100 0.0	200 0.0	400 100
Cloranfenicol	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 0.0	100 66.7
Metronidazol	6.25 100	12.5 100	25 100	50 100	100 100

Tabla XXVI.- Porcentajes de susceptibilidad para Clostridium perfringens obtenidos en el medio soporte de sangre hemina-menadiona a las diferentes concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: a=concentración de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml, b=% de susceptibilidad, +=niveles séricos alcanzados de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml.

TABLA XXVII
 SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
CLOSTRIDIUM perfringens EN EL MEDIO SOPORTE DE
 SCHAEDLER

Penicilina	^a 3.12 ^b 0.0	6.25 0.0	+12.5 0.0	25 33.4	50 100
Tetraciclina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Clindamicina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 66.7	50 100
Carbenicilina	25 0.0	50 0.0	100 0.0	200 0.0	400 100
Cloranfenicol	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 0.0	100 100
Metronidazol	6.25 100	12.5 100	25 100	50 100	100 100

Tabla XXVII.- Porcentajes de susceptibilidad para Clostridium perfringens obtenidos en el medio soporte de Schaedler a las diferentes concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: a=concentración de antimicrobiano en u/ml o mcg/ml, b=% de susceptibilidad, +=niveles séricos alcanzados de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml.

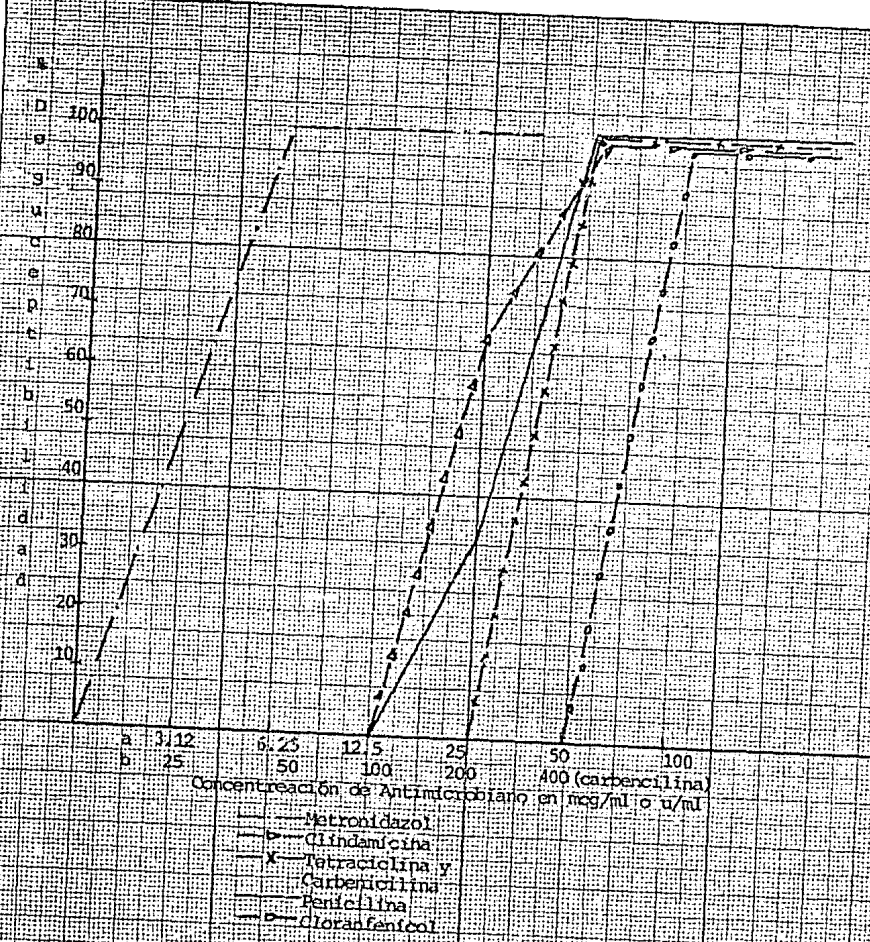


Concentración de Antimicrobiano en mcg/ml o u/ml

- Metronidazol
- Clindamicina
- Cloranfenicol
- Penicilina
- Tetraciclina y Carbenicilina

Gráfico 15. Porcentajes de susceptibilidad obtenidos a las diferentes concentraciones de antimicrobiano para *Clostridium perfringens* en el medio soporte sangre humana-manipulada.

a = Concentración en mcg/ml o u/ml de los demás antimicrobianos
 b = Concentración en mcg/ml de Carbenicilina



Gráfica 16 - Porcentajes de susceptibilidad obtenidos a las diferentes concentraciones de antimicrobiano para *Clostridium perfringens* en el medio soporte de Schaedler.

a = Concentración en mcg/ml o u/ml de los demás antimicrobianos
 b = Concentración en mcg/ml de carbenicilina

TABLA XXVIII
SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
CLOSTRIDIUM chauvoei EN EL MEDIO SOPORTE DE SANGRE
HEMINA-MENADIONA

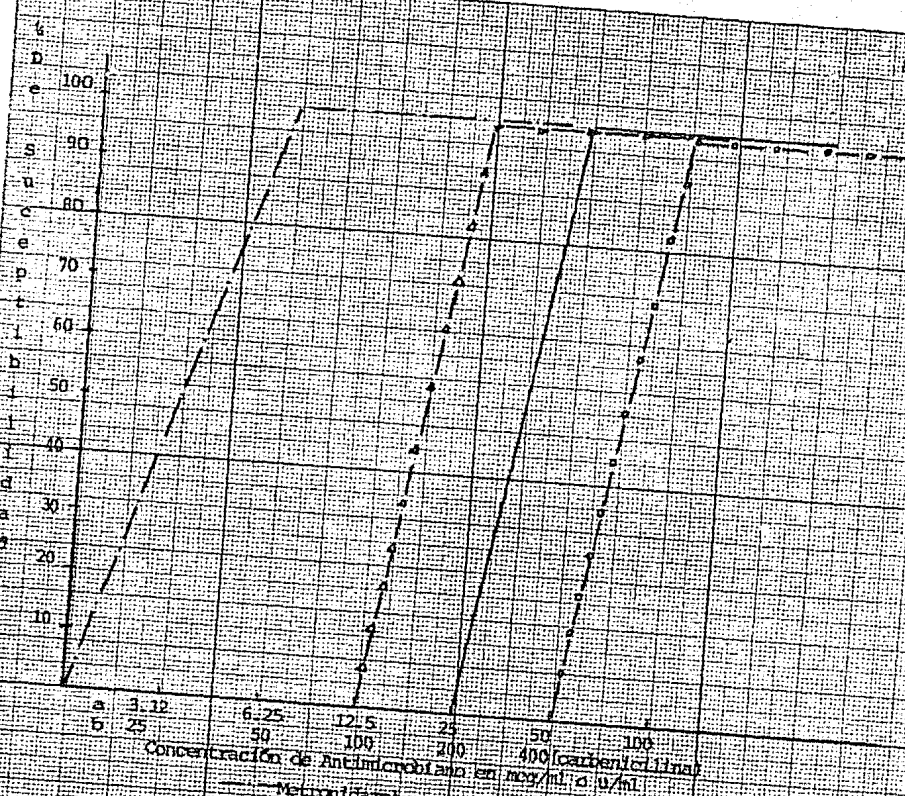
Penicilina	^a 3.12	6.25	+12.5	25	50
	^b 0.0	0.0	0.0	0.0	100
Tetraciclina	3.12	6.25	12.5	25	50
	0.0	0.0	0.0	0.0	100
Clindamicina	3.12	6.25	12.5	25	50
	0.0	0.0	0.0	100	100
Carbenicilina	25	50	100	200	400
	0.0	0.0	0.0	0.0	100
Cloranfenicol	6.25	12.5	25	50	100
	0.0	0.0	0.0	0.0	100
Metronidazol	6.25	12.5	25	50	100
	100	100	100	100	100

Tabla XXVIII.- Porcentaje de susceptibilidad para Clostridium Chauvoei obtenidos en el medio soporte de sangre hemina-menadiona a las diferentes concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: a=concentración de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml - b=% de susceptibilidad, +=niveles séricos alcanzados de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml.

TABLA XXIX
SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
CLOSTRIDIUM chauvoei EN EL MEDIO SOPORTE DE
SCHAEDLER

Penicilina	^a 3.12 ^b 0.0	6.25 0.0	+12.5 0.0	25 0.0	60 100
Tetraciclina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Clindamicina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 100	50 100
Carbenicilina	25 0.0	50 0.0	100 0.0	200 0.0	400 100
Cloranfenicol	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 0.0	100 100
Metronidazol	6.25 100	12.5 100	25 100	50 100	100 100

Tabla XXIX.- Porcentajes de susceptibilidad para Clostridium chauvoei obtenidos en el medio soporte de Schaedler a las diferentes concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: a=concentración de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml, b=% de susceptibilidad, +=niveles séricos alcanzados de antimicrobiano en u/ml o mcg/ml.



Concentración de Antimicrobiano en mcg/ml o u/ml

- Metronidazol
- ▲ Clindamicina
- Cloranfenicol
- Penicilina
- Tetraciclina y Carbenicilina

Gráfico 17. — Porcentajes de susceptibilidad obtenidos a las diferentes concentraciones de antimicrobiano para *Escherichia Coli* en el medio soporte de azúcar-harina-maduración.

a = Concentración en mcg/ml o u/ml de los demás antimicrobianos
 b = Concentración en mcg/ml de carbenicilina

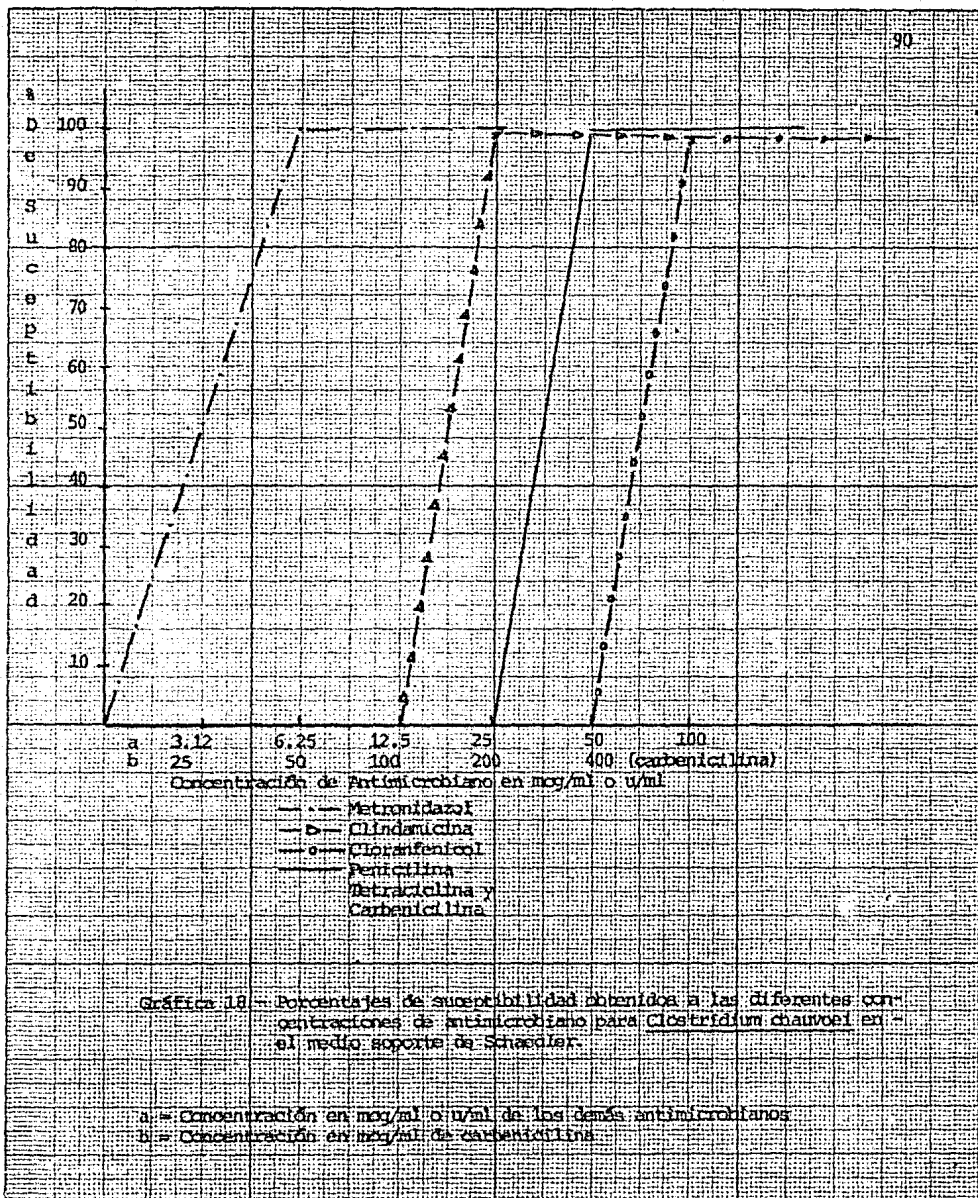


TABLA XXX
SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
PEPTOCOCCUS magnus EN EL MEDIO SOPORTE DE SANGRE --
HEMINA-MENADIONA

Penicilina	^a 3.12 ^b 0.0	6.25 0.0	+12.5 100	25 100	50 100
Tetraciclina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 75
Clindamicina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 100	25 100	50 100
Carbenicilina	25 0.0	50 0.0	1-0 0.0	200 0.0	400 100
Cloranfenicol	6.25 0.0	12.5 0.0	25 75	50 100	100 100
Metronidazol	75	100	100	100	100

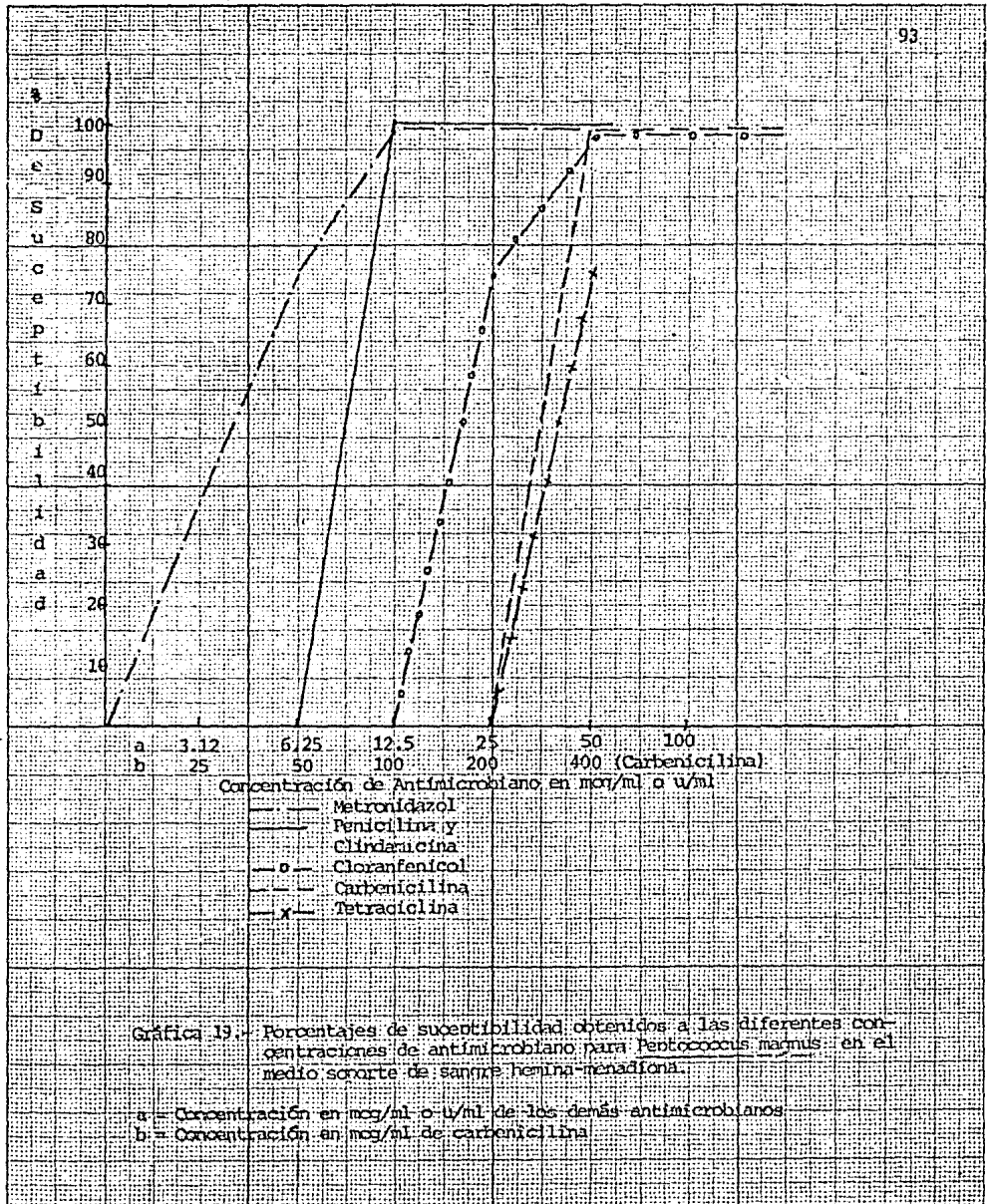
Tabla XXX.- Porcentajes de susceptibilidad para Peptococcus magnus obtenidos en el medio soporte de sangre hemina-menadiona a las diferentes concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla - significan: a=concentración de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml, b=% - de susceptibilidad, +=niveles séricos alcanzados de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml.

TABLA XXXI

SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
PEPTOCOCCUS magnus EN EL MEDIO SOPORTE DE SCHAEGLER

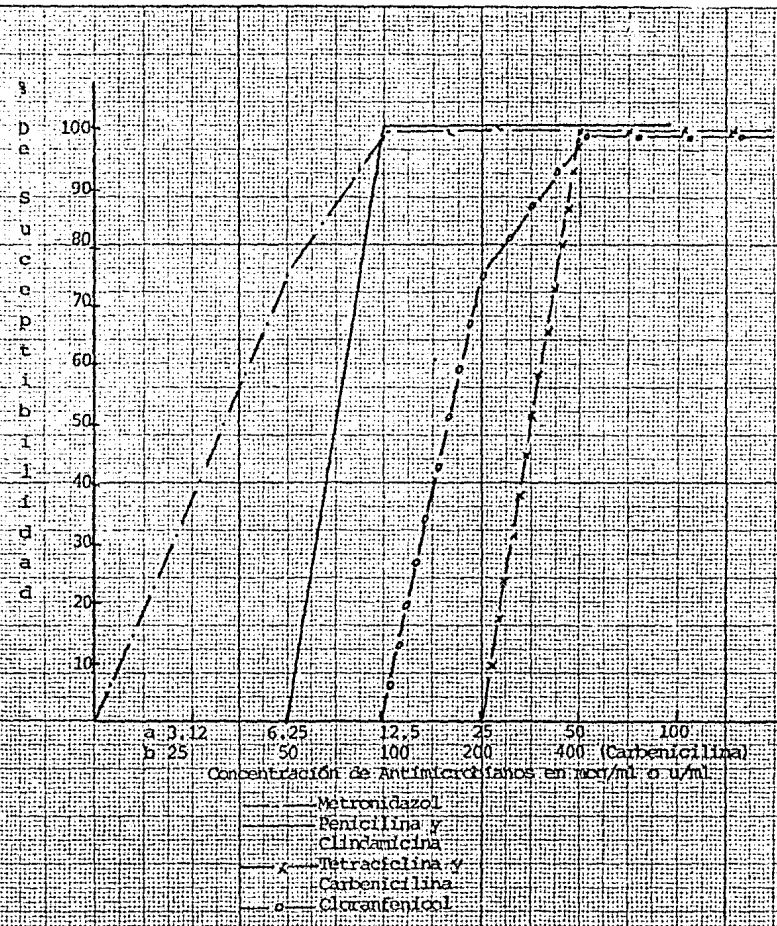
Penicilina	^a 3.12 ^b 0.0	6.25 0.0	+12.5 100	25 100	50 100
Tetraciclina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Clindamicina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 100	25 200	50 100
Carbenicilina	25 0.0	50 0.0	100 0.0	200 0.0	400 100
Cloranfenicol	6.25 0.0	12.5 0.0	25 75	50 100	100 100
Metronidazol	6.25 75	12.5 100	25 100	50 100	100 100

Tabla XXXI.- Porcentajes de susceptibilidad para Peptococcus magnus - obtenidos en el medio soporte de Schaedler a las diferentes concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: -- a=concentración de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml; b=% de susceptibilidad; +=niveles séricos alcanzados de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml.



Gráfica 19. Porcentajes de susceptibilidad obtenidos a las diferentes concentraciones de antimicrobiano para *Penicoccus magnus* en el medio suero de sangre humana-menadiona.

a = Concentración en mcg/ml o u/ml de los demás antimicrobianos
 b = Concentración en mcg/ml de carbenicilina



Gráfica 20.- Porcentajes de susceptibilidad obtenidos a las diferentes concentraciones de antimicrobianos para *Pectococcus naustus* en el medio soporte de Schaedler.

a = Concentración en mcg/ml o u/ml de los demás antimicrobianos.
 b = Concentración en mcg/ml de Carbenicilina.

TABLA XXXII
SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
EUBACTERIUM lentum EN EL MEDIO SOPORTE DE SANGRE --
HEMINA-MENADIONA

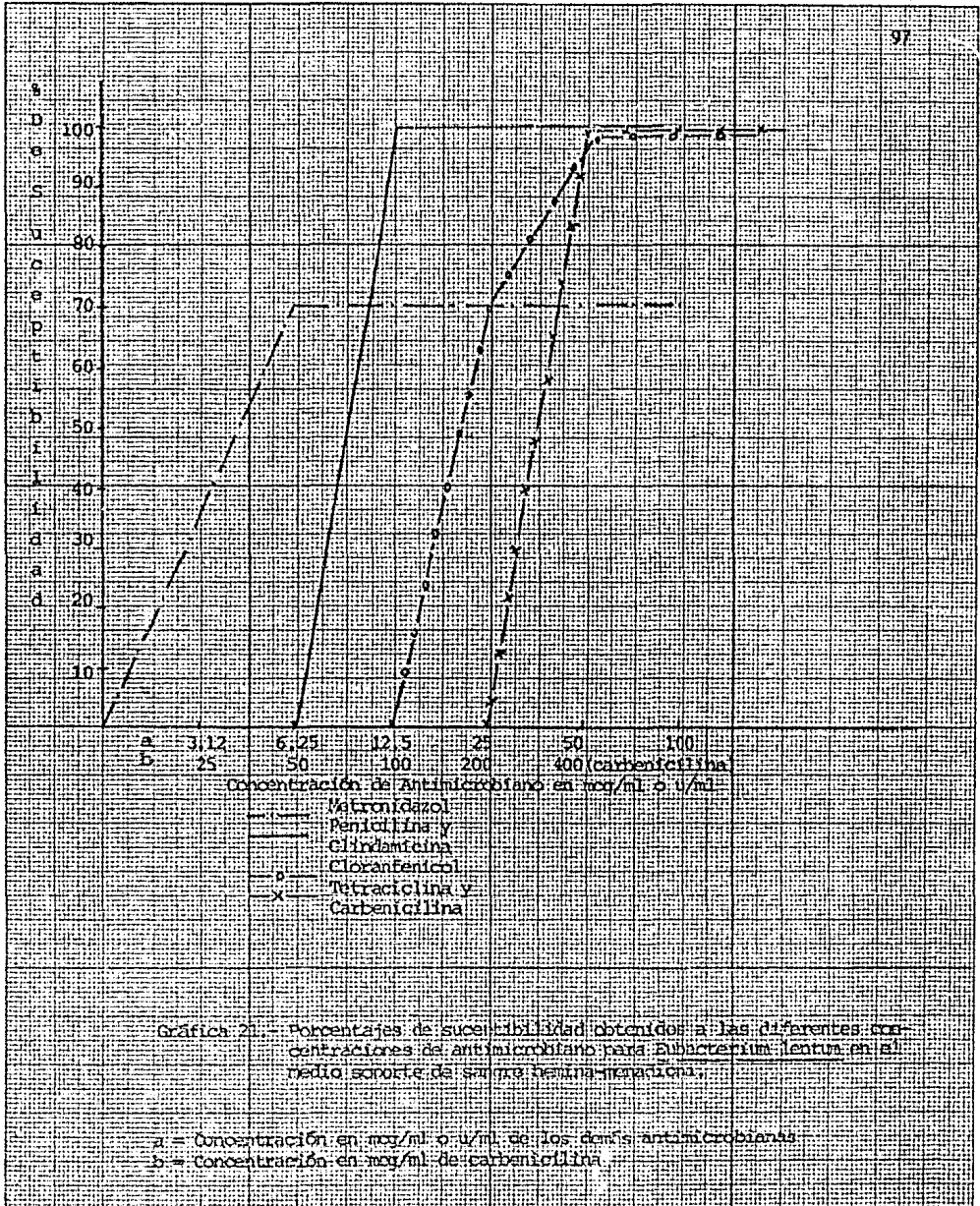
Penicilina	^a 3.12 ^b 0.0	6.25 0.0	+12.5 100	25 100	50 100
Tetraciclina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Clindamicina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Carbenicilina	25 0.0	50 0.0	100 0.0	200 0.0	400 100
Cloranfenicol	6.25 0.0	12.5 0.0	25 70	50 100	100 100
Metrinidazol	6.25 70	12.5 70	25 70	50 70	100 70

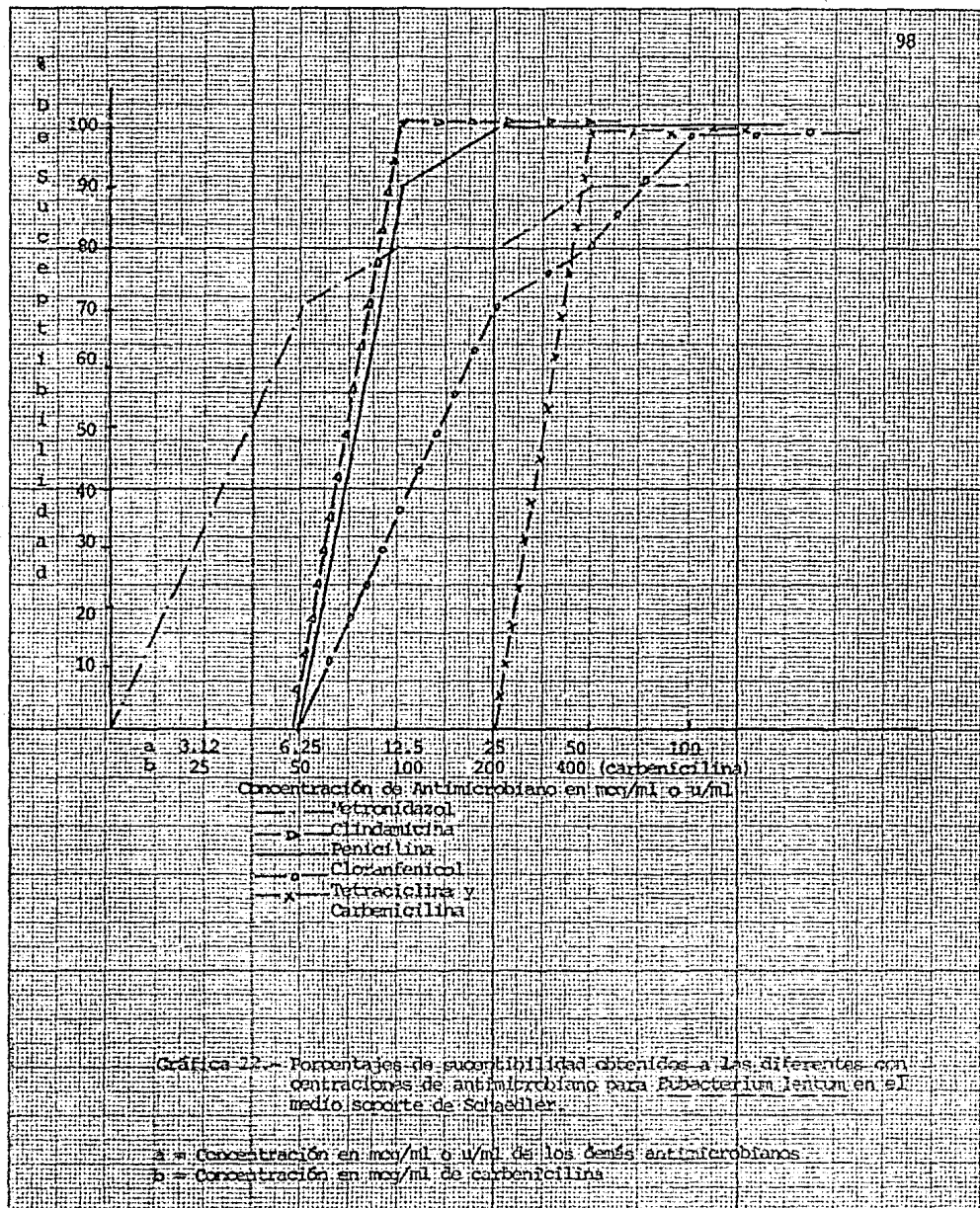
Tabla XXXII.- Porcentajes de susceptibilidad para Eubacterium lentum obtenidos en el medio soporte de sangre hemina-menadiona a las diferentes concentraciones de antimicrobiano. Las anotaciones de la tabla significan: a=concentración de antimicrobiano en u/ml o mcg/ml -- b=% de susceptibilidad, +=niveles séricos alcanzados de antimicrobiano en u/ml ó mcg/ml.

TABLA XXXIII
SUSCEPTIBILIDAD PORCENTUAL A LOS ANTIMICROBIANOS DE
EUBACTERIUM lentum EN EL MEDIO SOPORTE DE SCHAEGLER

Penicilina	^a 3.12 ^b 0.0	6.25 0.0	+12.5 88.9	25 100	50 100
Tetraciclina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 0.0	25 0.0	50 100
Clindamicina	3.12 0.0	6.25 0.0	12.5 100	25 100	50 100
Carbenicilina	25 0.0	50 0.0	100 0.0	200 0.0	400 100
Cloranfenicol	6.25 0.0	12.5 0.0	25 70	50 80	100 100
Metronidazol	6.25 70	12.5 80	25 80	50 90	100 90

Tabla XXXIII.- Porcentaje de susceptibilidad para Eubacterium lentum obtenidos en el medio soporte de Schaedler a las diferentes concentraciones de antimicrobianos. Las anotaciones de la tabla significan: - a=concentración de antimicrobianos en u/ml o mcg/ml, b=% de susceptibilidad, +=niveles séricos alcanzados de antimicrobiano en u/ml ó -- mcg/ml.





Gráfica 22.- Porcentajes de susceptibilidad obtenidos a las diferentes concentraciones de antimicrobiano para *Bacterium lentum* en el medio soporte de Schaedler.

TABLA XXXIV
COMPARACION DEL PORCENTAJE DE SUSCEPTIBILIDAD A
LOS ANTIMICROBIANOS EN LOS DOS SOPORTES UTILIZA
DOS PARA BACTEROIDES sp

ANTIMICROBIANOS	CONCENTRACION	MEDIO SOPORTE	
		SHM	MS
Penicilina	(50 u/ml)	49.8	50
Tetraciclina	(50 mcg/ml)	100	98.8
Clindamicina	(25 mcg/ml)	0.0	9.2
Cloranfenicol	(50 mcg/ml)	2.5	0.0
Carbenicilina	(400 mcg/ml)	98.7	88.6
Metronidazol	(25 mcg/ml)	93.6	91.0

Tabla XXXIV.- Tabla que muestra la comparación entre los % de susceptibilidad obtenidos en el medio de sangre hemina-menadiona y los obtenidos en el medio Schaedler para Bacteroides sp a una misma concentración de antimicrobiano, en las medidas SHM y MS.

SHM - Sangre hemina-menadiona

MS - Medio de Schaedler

TABLA XXXV
COMPARACION DEL PORCENTAJE DE SUSCEPTIBILIDAD A
LOS ANTIMICROBIANOS EN LOS DOS SOPORTES UTILIZA
DOS PARA CLOSTRIDIUM sp

ANTIMICROBIANOS	CONCENTRACION	MEDIO SOPORTE	
		SHM	MS
Penicilina	(25 u/ml)	0.0	10.1
Tetraciclina	(50 mcg/ml)	100	100
Clindamicina	(25 mcg/ml)	76.5	78.3
Carbenicilina	(400 mcg/ml)	100	91.9
Cloranfenicol	(100 mcg/ml)	77.3	84.8
Metronidazol	(100 mcg/ml)	98.2	91.9

Tabla XXXV.- Tabla que muestra la comparación entre los % de susceptibilidad obtenidos en el medio de sangre hemina-menadiona y los obtenidos en el medio de Schaedler para Clostridium sp a una misma concentración de antimicrobiano.

SHM - Sangre hemina-menadiona

SM - Medio de Schaedler

TABLA XXXVI
COMPARACION DEL PORCENTAJE DE SUSCEPTIBILIDAD A
LOS ANTIMICROBIANOS EN LOS DOS SOPORTES UTILIZA
DOS PARA PEPTOCOCCUS sp

ANTIMICROBIANO	CONCENTRACION	MEDIO SOPORTE	
		SHM	MS
Penicilina	(12.5 u/ml)	100	88.9
Tetraciclina	(50 mcg/ml)	100	100
Clindamicina	(12.5 mcg/ml)	100	100
Carbenicilina	(400 mcg/ml)	100	100
Cloranfenicol	(50 mcg/ml)	100	80
Metronidazol	(25 mcg/ml)	70	80

Tabla XXXVI.- Tabla que muestra la comparación entre los % de susceptibilidad obtenidos en el medio de sangre hemina-menadiona y los obtenidos en el medio de Schaedler para Peptococcus sp a una misma concentración de antimicrobiano.

TABLA XXXVII

COMPARACION DEL PORCENTAJE DE SUSCEPTIBILIDAD A
LOS ANTIMICROBIANOS EN LOS DOS SOPORTES UTILIZA
ZADOS PARA EUBACTERIUM sp

ANTIMICROBIANO	CONCENTRACION	MEDIO SOPORTE	
		SHM	MS
Penicilina	(12.5 u/ml)	100	88.9
Tetraciclina	(50 mcg/ml)	100	100
Clindamicina	(12.5 mcg/ml)	100	100
Carbenicilina	(400 mcg/ml)	100	100
Cloranfenicol	(50 mcg/ml)	100	80
Metronidazol	(25 mcg/ml)	70	80

Tabla XXXVII.- Tabla que muestra la comparación entre los % de susceptibilidad obtenidos en el medio de sangre hemina-menadiona y los obtenidos en el medio de Schaedler para Eubacterium sp a una misma concentración de antimicrobiano.

TABLA XXXVIII

CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA (C.M.I.) EN mcg/ml O
u/ml DE LAS CEPAS AISLADAS EN 100 MUESTRAS DE COLOR -
EN EL MEDIO SOPORTE DE SANGRE HEMINA-MENADIONA

GÉNERO Y ESPECIE	ANTIMICROBIANO					
	PEN	TETRA	CLIN	CAR	CLO	MET
<i>B. fragilis</i>	50	50	50	400	75	10.8
<i>B. vulgatus</i>	50	50	50	400	100	6.25
<i>B. tetaicotanicron</i>	50	50	50	400	100	6.25
<i>E. lentum</i>	12.5	50	12.5	400	32.5	18
<i>P. mangus</i>	12.5	50	12.5	400	31.2	7.8
<i>C. histolyticum</i>	50	50	29.5	400	93.3	16.3
<i>C. sordellii</i>	50	50	31.2	400	100	10.9
<i>C. perfringens</i>	50	50	33.3	400	100	6.25
<i>C. chuvoei</i>	50	50	25	400	100	6.25

Tabla XXXVIII.- Tabla que muestra las concentraciones mínimas inhibitorias de los diferentes antimicrobianos para los microorganismos ais lados en este estudio, obtenidas en el medio soporte de sangre hemina menadiona.

Los antibióticos probados fueron:

PEN	-	Penicilina
TETRA	-	Tetraciclina
CLIN	-	Clindamicina
CAR	-	Carbenicilina
CLO	-	Cloranfenicol
MET	-	Metronidazol

TABLA XXXIX

CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA (C.M.I.) EN mcg/ml
DE LAS CEPAS AISLADAS EN 100 MUESTRAS DE COLOR EN -
EL MEDIO SOPORTE DE SCHAEGLER.

GENERO Y ESPECIE	ANTIMICROBIANO					
	PEN	TETRA	CLIN	CAR	CLO	MET
<i>B. fragilis</i>	50	50	47.6	400	100	10.3
<i>E. vulgatus</i>	50	50	45	400	100	6.25
<i>B. tetraiotamicron</i>	50	50	50	400	100	6.25
<i>E. lentus</i>	13.7	50	12.5	400	42.5	10.6
<i>P. magnus</i>	12.5	50	12.5	400	43.7	7.8
<i>C. histolyticum</i>	47.2	50	27.8	400	95	6.25
<i>C. sordellii</i>	50	50	25	400	100	6.25
<i>C. perfringens</i>	47.6	50	33.3	400	100	6.25
<i>C. chauvoei</i>	50	50	25	400	100	6.25

Tabla XXXIX.- Tabla que muestra las concentraciones mínimas inhibitorias de los diferentes antimicrobianos para los microorganismos aislados en este estudio, obtenidas en el medio soporte de Schaedler.

Los antibióticos probados fueron:

- PEN - Penicilina
- TETRA - Tetraciclina
- CLIN - Clindamicina
- CAR - Carbenicilina
- CLO - Cloranfenicol
- MET - Metronidazol

TABLA XL
COMPARACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA EN LOS
DOS MEDIOS DE SOPORTE CONTRA BACTEROIDES sp.

ANTIMICROBIANO	% DE CEPAS		C.M.I. MEDIA*		DESVIACION ESTANDAR	
	SHM	MS	SHM	SM	DE LAS C.M.I. * SHM	MS
Penicilina	68.7	56.2	50	50	0.0	0.0
Tetraciclina	100	93.7	50	50	0.0	0.0
Clindamicina	100	84.4	50	47.5	0.0	2.5
Carbenicilina	96.8	71.8	400	400	0.0	0.0
Cloranfenicol	12.5	9.4	75	100	0.0	0.0
Metronidazol	87.5	87.5	7.7	7.6	2.6	2.3

Tabla XL.- Tabla que muestra la comparación de la actividad antimicrobiana contra Bacteroides sp en ambos medios soporte, tomando en cuenta el % de cepas susceptibles, la C.M.I. media, y la desviación estándar de las C.M.I.

SHM - Sangre Hemina-Menadiona
(en mcg/ml ó u/ml)

MS - Medio de Schaedler

TABLA XLI
COMPARACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA EN LOS
DOS MEDIO SOPORTE CONTRA CLOSTRIDIUM sp

ANTIMICROBIANO	% DE CEPAS		C.M.I. MEDIA*		DESVIACION ESTANDAR	
	SHM	MS	SHM	SM	DE LAS C.M.I. *	MS
Penicilina	86.3	72.7	50	48.7	0.0	2.6
Tetraciclina	100	100	50	50	0.0	0.0
Clindamicina	86.3	90.9	29.7	27.7	3.5	3.9
Carbenicilina	100	90.9	400	400	0.0	0.0
Cloranfenicol	8.28	72.7	98.8	98.7	5.8	4.3
Metronidazol	95.5	90.9	9.9	6.25	4.3	0.0

Tabla XLI.- Tabla que muestra la comparación de la actividad antimicrobiana contra Clostridium sp en ambos medios soporte, tomando en cuenta el % de cepas susceptibles, la C.M.I. media y la desviación estándar de las C.M.I.

SHM - Sangre Hemina-Menadiona
(en mcg/ml ó u/ml)

MS - Medio de Schaedler

TABLA XLII
COMPARACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA EN LOS
DOS MEDIOS SOPORTE CONTRA PEPTOCOCCUS sp

ANTIMICROBIANO	% DE CEPAS		C.M.I. MEDIA*		DESVIACION ESTANDAR	
	SHM	MS	SHM	SM	DE LAS C.M.I. * SHM	MS
Penicilina	100	100	12.5	12.5	0.0	0.0
Tetraciclina	75	100	50	50	0.0	0.0
Clindamicina	100	100	12.5	12.5	0.0	0.0
Carbenicilina	100	100	400	400	0.0	0.0
Cloranfenicol	100	100	31.2	43.7	0.0	0.0
Metronidazol	100	100	7.8	7.8	0.0	0.0

Tabla XLII.- Tabla que muestra la comparación de la actividad antimicrobiana contra Peptococcus sp en ambos medios soporte, tomando en cuenta el % de cepas susceptibles, la C.M.I. media y la desviación estándar de las C.M.I.

TABLA XLIII
COMPARACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA EN LOS
DOS MEDIOS SOPORTE CONTRA EUBACTERIUM sp

ANTIMICROBIANO	% DE CEPAS		DESVIACION ESTANDAR			
	SHM	MS	C.M.I. MEDIA*		DE LAS C.M.I. *	
			SHM	SM	SHM	MS
Penicilina	100	100	12.5	13.7	0.0	0.0
Tetraciclina	100	100	50	50	0.0	0.0
Clindamicina	100	100	12.5	12.5	0.0	0.0
Carbenicilina	100	100	400	400	0.0	0.0
Cloranfenicol	100	100	32.5	42.5	0.0	0.0
Metronidazol	80	90	18	10.6	0.0	0.0

Tabla XLIII.- Tabla que muestra la comparación de la actividad antimicrobiana contra Eubacterium sp en ambos medios soporte, tomando en cuenta el % de cepas susceptibles, la C.M.I. media y la desviación estándar de las C.M.I.

CUADRO V

CUADRO ILUSTRATIVO DE LA ACTIVIDAD DE ALGUNOS
AGENTES ANTIMICROBIANOS CONTRA LOS MICROORGA-
NISMOS ANAEROBIOS AISLADOS EN 100 MUESTRAS DE
COLOR

ANTIMICROBIANO	B. fragilis	CLOSTRIDIUM	COCOS ANAERO- BICOS	EUBACTERIUM
Carbenicilina	++	++	++	++
Clindamicina	++	+++	+++	+++
Cloranfenicol	+	++	++	++
Metronidazol	+++	+++	+++	+++
Penicilina	+	++	+++	+++
Tetraciclina	++	++	++	++

Cuadro V.- Cuadro que muestra la actividad de algunos agentes anti-
microbianos contra los microorganismos anaerobios.

- + Poca actividad
- ++ Moderada actividad
- +++ Buena actividad

Cuadro diseñado a base de los datos obtenidos en este estudio.

CUADRO VI

SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO DE LOS ANAEROBIOS HACIA ALGUNOS
AGENTES ANTIMICROBIANOS

ANTIMICROBIANO	COCOS ANACRO- BICOS	B/FRAGILIS	BACTEROIDES MELANINOGE- NICUS	FUSOBACTERIUM MORTIFERUM VARIUM	FUSOBACTERIUM NUCLEATUM NECROPHORUM	EUBACTERIUM ACTINOMYCES	CLOSTRIDIUM
Penicilina	+++ a ++++	+	+++*	+++*	+++	++++	+++
Clindamicina	++ a +++	+++	+++	++ a +++	+++	+++*	++
Metronidazol	++	+++*	+++	+++	+++	+ a ++	+++
Cloranfenicol	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++*
Tetraciclina	++	+ a ++	+++	++ a +++	++ a +++	++ a +++	++

Cuadro VI.- Cuadro que muestra la susceptibilidad de los microorganismos anaerobios hacia algunos agentes antimicrobianos.

* =Algunas cepas resistentes:

- ++++ Draga de elección
- +++ Buena actividad
- ++ Moderada actividad
- + Poca actividad

DISCUSION

El interés por conocer la flora anaeróbica de colon en nuestro medio, así como su patrón de susceptibilidad y resistencia, se debe a que en el servicio de cirugía pediátrica se practican cirugía electivas de colon, siendo las complicaciones infecciosas muy frecuentes. Por tal motivo se diseñó este trabajo. En el laboratorio se efectuaron una serie de técnicas desde la toma de muestra hasta la identificación para poder llevar a cabo este estudio.

Con respecto a la toma de muestra, el medio en el cual se hacia la -- suspensión fue caldo tioglicolato enriquecido. Existen reportes de -- que ciertos caldos de enriquecimiento y medios de transporte pueden -- actuar sobre la flora presente en ese u otros sitios, por lo que este medio no es el ideal para la toma de muestra, es decir hay que idear otro medio de suspensión que no afecte al paciente.

Los medios de cultivo utilizados en el aislamiento e identificación -- de anaerobios, son los empleados en el Centro de Control de Enfermedades (CDC) de Atlanta, Georgia, encontrándose que las pruebas presuntivas de Lombard-Dowell (LD) son de gran ayuda en la identificación de géneros, así como para establecer un diagnóstico rápido.

Los estudios de flora anaeróbica de colon casi no se realizan debido a la gran variedad de géneros y especies que existen, sin embargo, en este estudio se aislaron 11 microorganismos diferentes. Probablemente sean más los encontrados en el paciente pediátrico, pero por lo -- complicado que es aislar e identificar algunos géneros como Clostridium difficile, para lo cual la muestra debe tratarse con etanol y -- sembrarse en un medio específico, sea la razón de que no se haya aislado más microorganismos.

Los géneros Bacteroides, Clostridium y cocos anaeróbicos fueron los --

más frecuentemente aislados. Esto coincide con lo reportado anteriormente, no existiendo variación significativa de microorganismos en -- cuanto a la edad pediátrica, es decir, se observó que la flora anaerobia de colon es homogénea.

Es importante asimismo conocer el patrón de susceptibilidad y resis-- tencia a los antimicrobianos, así como la estandarización del método, ya que en la actualidad todavía no se encuentra estandarizado interna-- cionalmente. Se utilizó el método de dilución en agar con el replica-- dor de Steers modificado, ya que dicho método consta de 32 pozos en -- los cuales se pueden colocar 32 cepas anaerobias diferentes, prefiriéndose al de dilución en tubo que es el que se emplea normalmente y que tiene la desventaja de utilizar más material, medio de cultivo, -- antibiótico, espacio, tiempo, existe mayor contacto con el oxígeno, -- etc.

Se utilizaron dos soportes obteniéndose susceptibilidades similares en ambos, sin embargo en las gráficas representativas del metronida-- zol, se observan ligeras desviaciones que consisten en la formación -- de mesetas como las que se observan en el caso de B. fragilis, Cl. histolyticum y Cl. sordellii en el medio soporte de sangre hemina-- nadiona. Probablemente esto sea debido a que el metronidazol es muy sensible y pierde un poco su actividad a pH ácidos. Los Bacteroides producen durante su metabolismo ácido acético, succínico y en menor cantidad, ácido propiónico, isobutírico, isovalérico y láctico. De la misma manera el Cl. histolyticum produce ácido acético, isobutírico, butírico, isovalérico e isocaproico. Esto hace que el pH se modi-- fique y afecte ligeramente como se ve en la gráfica. Pero se podría pensar ¿por qué no afecta a los otros antimicrobianos? la respuesta -- es que algunos de ellos el pH no les afecte, es decir, no modifica su actividad, por ejemplo la penicilina y carbenicilina, y para otros su rango de pH es de 7.0-80 y de 1.5-50.

Este fenómeno se observa sólo en el medio soporte de sangre hemina--menadiona, no así en el medio de Schaedler que tiene dentro de su composición una solución buffer que mantiene un pH-7.6. Por lo tanto resulta el medio de Schaedler un mejor soporte además de que no se contamina tan fácilmente como la sangre hemina-menadiona.

Se manejaron cinco concentraciones, dos abajo y dos arriba de las alcanzadas a niveles séricos, siendo los resultados muy semejantes a lo ya reportado. Así se observó que para: B. fragilis, con el metronidazol a concentraciones de 6.25-100 mcg/ml, se obtiene un % de susceptibilidad entre el 75-85%. Para el género Clostridium con el metronidazol a concentraciones de 6.25-100 mcg/ml, se obtiene entre 86-98% de susceptibilidad, con la clindamicina a concentraciones de 25-50% mcg/ml se obtiene del 76-95% de susceptibilidad y con el cloranfenicol a concentración de 100 mcg/ml se obtiene un % de susceptibilidad del --78-85%. Para cocos anaeróbicos, con la penicilina y clindamicina a concentraciones de 12.5-50 u/ml ó mcg/ml respectivamente se obtiene entre el 75-100% de susceptibilidad, con el metronidazol a concentraciones de 6.25-100 mcg/ml se obtiene un % de susceptibilidad entre el 75-100%

Se observó que existe variación en la susceptibilidad a los antimicrobianos aún dentro del mismo género con respecto a las diferentes especies.

CONCLUSIONES

La flora anaeróbica de colon, no tiene variación en cuanto a la edad del paciente pediátrico, ya que los % de aislamiento encontrados en cada una de ellas fueron semejantes. Bacteroides fragilis es el que predomina como flora normal de colon, encontrándose un porcentaje de aislamiento del 62-64%.

Los agentes antimicrobianos más efectivos fueron:

Para Bacteroides fragilis, el metronidazol que a concentraciones de 6.25-100 mcg/ml se alcanza un porcentaje de susceptibilis entre el 75-85%.

Para cocos anaeróbicos (Peptococcus magnus), la penicilina y la clindamicina que a concentraciones de 12.5-50 u/ml y mcg/ml respectivamente se alcanza entre el 75-100% de susceptibilidad.

Para el género Eubacterium, la penicilina y la clindamicina que a concentraciones de 12.5-50 u/ml y mcg/ml respectivamente se alcanza entre el 90-100% de susceptibilidad.

El método de susceptibilidad a los antimicrobianos para anaerobios todavía necesita una estandarización y control, ya que este grupo de bacteris producen durante su metabolismo varios tipos de ácidos, que aunado a la producción de dióxido de carbono que se forma en las jarras hace que el antibiótico modifique un poco a un mucho su actividad. Se sugiere que cada hospital tenga un patrón de susceptibilidad y resistencia a los antimicrobianos para sus microorganismos aislados dentro del mismo, así como un control, corriendo las concentraciones mínimas inhibitorias por lo menos para este grupo de bacterias cada seis meses.

Este estudio de bacteriología anaeróbica sirvió para establecer el --

diagnóstico clínico de rutina en el laboratorio del quinto piso del Hospital General del Centro Médico La Raza. La metodología está sujeta a modificación para aumentar su eficacia en cuanto a la identificación y tiempo en el informe del resultado que estará en relación con la experiencia que se vaya adquiriendo.

Se necesita una comunicación con el médico, así como la acumulación de la información clínico-microbiológica para poder analizar la epidemiología.

APENDICE**MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS**

Medios para Aislamiento de Anaerobios:

Sangre Hemina-Menadiona

Soya tripticaseína	1000 ml
Extracto de levadura	5.0 g
Ajustar pH 7.3-7.5	
Sangre desfibrinada de carnero	50 ml
Solución hemina-menadiona	10 ml

Soya Tripticaseína

Peptona de caseína	17.0 g
Peptona de soya	3.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Fosfato de dipotásico	2.5 g
Dextrosa	<u>2.5 g</u>
	30.0 g

Solución Madre de Hemina

Hemina	50.0 mg
Hidróxido de sodio 1 N.	1 ml
Agua destilada	100 ml

Solución Madre de Menadiona

Menadiona	100 mg
-----------	--------

Alcohol etílico al 95°.	20 ml
Esterilización por filtración	

Solución Hemina-Menadiona

Solución estéril de menadiona	1 ml
Solución estéril de hemina	100 ml

Alcohol Feniletílico

Tripticasa	10 g
Extracto de care	3 g
Cloruro de sodio	5 g
Fenil etanol	2.5 g
Agar	<u>15</u> g
	35.5 g
Agua destilada	1000 ml
Sangre desfibrinada de carnero	.50 ml

Triglicolato Enriquecido

Tioglicolato sin dextrosa e indicador	1000 ml
Solución hemina-menadiona	10 ml

Triglicotato sin Dextrosa e Indicador

Peptona de caseína	20.0 g
Cloruro de sodio	2.5 g
Fosfato dipotásico	1.5 g
Tioglicolato de sodio	0.6 g
L-Cistina	0.4 g
Sulfito de sodio	0.2 g

Agar	0.5 g
Agua destilada	1000 ml

Medios para Pruebas Presuntivas de Lombard y Dowell (LD):

AGAR LD

Tripticasa	5.0 g
Extracto de levadura	5.0 g
Cloruro de Sodio	2.5 g
Sulfito de Sodio	0.1 g
L-Triptofano	0.2 g
Vitamina K ₁ (menadiona)	0.01 g
L-Cistina	0.4 g
Hemina	0.01 g
Agar	20.0 g
Agua destilada	1000 ml

LD ESCULINA

Tripticasa	5.0 g
Extracto de Levadura	5.0 g
Cloruro de sodio	2.5 g
L-Triptofano	0.2 g
Menadiona	0.01 g
L-Cistina	0.4 g
Hemina	0.01 g
Esculina	1.0 g
Citrato férrico	0.5 g
Agar	20.0 g
Agua destilada	1000 ml

LD YEMA DE HUEVO

Tripticasa	5.0 g
Extracto de levadura	5.0 g
Cloruro de sodio	2.5 g
Sulfito de sodio	0.1 g
L-Triptofano	0.2 g
Menadiona	0.01 g
L-Cistina	0.4 g
Hemina	0.01 g
Dextrosa	2.0 g
Fosfato dibásico de sodio	5.0 g
Sulfato de magnesio	0.2 ml
	(De una solución al 5%)
Agar	20.0 g
Agua destilada	900 ml
Suspensión estéril de yema de huevo	100 ml

LD BILIS

Tripticasa	5.0 g
Extracto de levadura	5.0 g
Cloruro de sodio	2.5 g
Sulfito de sodio	0.1 g
L-Triptofano	0.2 g
Menadiona	0.01 g
L-Cistina	0.4 g
Hemina	0.01 g
Oxgall	20.0 g
Agua destilada	1000 ml

Medios para Pruebas Confirmatorias:

Fermentación de Carbohidratos

Tioglicolato sin dextrosa e indicador (Medio líquido base)	8 ml
Solución Acuosa del azúcar	0.5 ml*
Solución de azul de bromotil al 1% (indicador)	gotas

CARBOHIDRATO	CONCENTRACION (Solución Acuosa)
Glucosa	6%
Sacarosa	10%
Lactosa	10%
Maltosa	10%
Arabinosa	10%
Xilosa	10%
Manitol	10%
Salicina	5%

Indicador de azul de Bromotimol

Azul de bromotimol	1.0 g
Hidróxido de sodio 0.1 N.	20 ml
Agua destilada	80 ml

Indol - Nitrito

Peptona de caseína	20.0 g
Fosfato disódico	2.0 g
Dextrosa	1.0 g
Nitrato de potasio	1.0 g
Agar	1.0 g
	<u>25.0 g</u>

* A excepción de la salicina que es de 1 ml.

Agua destilada	1000 ml
----------------	---------

Leche Fierro

Limadura de fierro	Trazas
Leche entera	8 ml
Indicador de azul de bromotimol	gotas

Medios para antibiograma:**Sangre Hemina-Menadiona
(Base agar Brucella)**

Peptona de caseína	10.0 g
Peptona de carne	10.0 g
Dextrosa	1.0 g
Extracto de levadura	2.0 g
Cloruro de Sodio	5.0 g
Bisulfito de sodio	0.1 g
Agar	<u>15.0 g</u>
	43.0 g
Agua Destilada	1000 ml
Sangre desfibrinada de carnero	50 ml
Tioglicolato enriquecido + bicarbonato de sodio	
Tioglicolato sin dextrosa e indicador	10 ml
Hemina	50 mcg
Menadiona	5 mcg
Bicarbonato de Sodio	10 mg

Caldo Schaedler

Caldo soya tripticaseína	15.0 g
Extracto de levadura	5.0 g

L-Cistina	0.4 g
Hemina	0.01 g
Tris	3.0 g
Agua destilada	1000 ml
pH = 7.6 ± 0.2	

Medio de Schaedler

Caldo soya tripticaseína	15.0 g
Extracto de levadura	5.0 g
L-Cistina	0.4 g
Tris	3.0 g
Hemina	0.01 g
Agar	13.5 g
Agua destilada	1000 ml
ph = 7.6 ± 0.2	

COLORANTES

Colorantes de la tinción de Gram:

Cristal Violeta (solución madre)

Cristal violeta	20.0 g
Etanol al 95%	100 ml

Oxalato de Amonio (solución madre)

Oxalato de amonio	1.0 g
Agua destilada	100 ml

Cristal violeta (solución de trabajo)

Cristal violeta (solución madre)	1 ml
Agua destilada	10 ml
Oxalato (solución madre)	4 volúmenes

Lugol

Yodo cristalino	1.0 g
Yoduro de potasio	2.0 g
Agua destilada	5 ml

Agregar:

Agua destilada	240 ml
Carbonato de sodio al 5% en solución acuosa	60 ml

Solución Alcohol-Acetona

Alcohol etílico absoluto	50 ml
Acetona	50 ml

Safranina (solución madre)

Safranina O	2.5 g
-------------	-------

Estanol al 95%	100 ml
----------------	--------

Safranina (solución de trabajo)

Safranina (solución madre)	1 ml
Agua destilada	10 ml

Colorantes de la tinción de esporas:
(Shaeffer y Fulton)

Verde de Malaquita

Verde de Malaquita	5.0 g
Agua destilada	100 ml

Safranina

Safranina	0.5 g
Agua destilada	100 ml

REACTIVOS

Reactivo de Indol de Kovac

Alcohol amílico o isoamílico	150 ml
p-dimetilaminobenzaldehído	10.0 g
Acido clorhídrico concentrado	50 ml

Reactivo de Indol de Enrich

Alcohol Etílico Absoluto	190 ml
p-dimetilaminobenzaldehído	2 g
Acido clorhídrico concentrado	40 ml

Reactivos para la prueba de nitratos:

Alfa-naftilamina

Alfa-naftilamina	5.0 g
Acido Acético (5N) al 30%	1000 ml

Acido Sulfanílico

Acido Sulfanílico	8.0 g
Acido Acético (5N) al 30%	1000 ml

BIBLIOGRAFIA

1. Bailey, W.R. y Scott, E.G. Diagnostic Microbiology
4a. Ed. The CV Mosby Company
pp 90-94 St. Louis 1974
2. Balows, A. Suceptibility to Antibiotics Test
6a. Ed. American Public Health Association
pp 741-745 Washington, D.C. 1981
3. Bartlett, J.G. Condon, R.E., Gorbach, S.L. Ciarke, J.S.
Nichols, R. y Ochi, S. Impact of oral antibiotic regimen
on colonic flora, woud irrigation, cultures, and bacteriology
of septic complications. *Annals of Surgery*
188 (2): 249-254, 1978
4. Bartlett, S.P. y Burton, R.C. Effects of prophylactic antibio--
tic on wound infection after elective colon surgery 1960-1980.
American Journal of Surgery
145 (2): 300-309, 1983
5. Brook, L. Controni, G. Rodríguez, W.J. y Martin, W.J.
Anaerobic bacteriemia in children. *American Journal of Disease
of Children*. 134 (2): 1052-1056, 1980
6. Croucher, S.C. Bacterial populations associated with different
regions of the human colon wall
Applied Environmental Microbiology.
45 (3): 1025-1033, 1983
7. Edmonson, H.T. y Rissing, J.P. Prophylactic antibiotics
in colon surgery. *Archives of Surgery*
199 (2): 227-231, 1983
8. Enander, L.K. The aerobic and anaerobic microflora of tha
gastric remnant moore than 15 years after Billroth II resection
Scandinavian Journal of Gastroenterology
17 (6): 715-720, 1982
9. Evaldson, G. Heindahl, A. Kager, L. y Nord, C.E.
The normal human anaerobic microflora.
Scandinavian Journal of Infectious Disease
Suppl 35: 9-15, 1982

10. Eykyn, S.J. y Phillips, I. Metronidazole in surgical infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 4 (suppl C): 75-81, 1978
11. Fiddian, R.V. Prophylaxis in colonic surgery *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 4 (Suppl C): 39-47, 1978
12. Finegold, S.M. Pathogenic anaerobes *Archives Of Internal Medicine* 142 (11): 1988-1992, 1982
13. Finegold, S.M. *Anaerobic Bacteria in Human Disease* Academic Press Inc. pp 30-35 New York 1977
14. Gillespie, G. y mc Naught, W. Prophylactic oral metronidazole in intestinal surgery *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 4 (Suppl C): 29-32, 1978
15. Giono, S. y García, E. Curso precongreso sobre bacteriología anaeróbica. Asociación Mexicana de Microbiología pp 25-115 México 1983
16. Godínes López Jaime. Flora bacteriana aerobia y anaerobia habitual en colon en pacientes de edad pediátrica. Tesis de postgrado para obtener la especialización en cirugía pediátrica. Facultad de Medicina UNAM México 1984
17. Goodman, L.S. y Gilman, A. *Bases farmacológicas de la terapéutica*. 5a. Ed. Interamericana pp 914-993, México 1975
18. Gorbach, S.L. Intestinal microflora *Gastroenterology*. 60 (7): 1110-1129, 1971
19. Gorbach, S.I. Nahas, L. Lerner, P.I. y Weinstein L. Studies of Intestinal microflora. *Gastroenterology* 53 (6): 845-855, 1967
20. Hnatko, S.I. Epidemiology of anaerobic infections *Surgery* 93 (1): 125-133, 1983
21. Irvin, T. Preparation for colonic surgery. *Lancet* 2(7945): 1150, 1975

22. Kalsner, M. H. Cohen, R. Arteaga, I. Yawn, E. Mayoral, L. Hoffert, W.R. y Frazier, D. Normal viral and bacterial flora of the human small and large intestine. *New England Journal of Medicine*. 274 (1): 500-505, 1966
23. Keighley, M.R. Arabi, y Matheson, D. y Williams, J.A. Aspects of preventig sepsis in colorrectal surgery: results of recent clinical trials. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 4 (Suppl C): 33-38, 1978
24. Koneman, E.W. Allen, S.D. Dowell, V.R. y Sommers, H.M. *Diagnóstico Microbiológico*. Ed. Panamericana pp 374-394, Buenos Aires 1983
25. Lennette, E.H. Belows, A. Hansler, W.J. y Truant, J.P. *Microbiología clínica*. 3a. Ed. Panamericana pp 480-483 Buenos Aires 1982
26. Lorian, V. Significance of medical microbiology in the care of patients. *The Williams and Wilkins Co.* pp 104-113 Baltimore 1977
27. Mac Faddin, J.F. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Ed. Panamericana pp 13-142 Buenos Aires 1980.
28. Mendoza Arredondo Ma. del Carmen. Comparación entre el método de dilución en placa y el método Kirby-Bauer para la susceptibilidad a los antimicrobianos. Tesis para obtener el título de Biólogo. ENEP-Iztacala UNAM México, 1983
29. Moore, W.E. Cato, E.P. y Haldeman, L.V. Anaerobic bacteri of the gastrointestinal flora and their ocurrence in clinical infection. *Journal of Infectious Disease* 119 (1): 641-649, 1969
30. Noone, P. Abeysondere, R.L. y Bradley, J.M. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 4 (Suppl C): 83-90, 1978
31. Nordbring, F. y Nord, C.E. Apects of antibacterial treatment of anaerobic infections *Scandinavian Journal of Infectious Disease* Suppl 35:59-62, 1982

32. Peache, S.L. Drasar, B.S. Hawley, P.R. Hill, M.J. y Marks, c.g. Proceedings: mucosal flora of the human colon Gut. 16 (10): 824, 1975
33. Shapton, D.A. y Board, R.G. Isolation of anaerobes Academic Press Inc. pp 93-97 New York 1975
34. Sherwood, L. Gorbach, L.S. y Bartlett, J.G. Anaerobic infections (first of three parts) New England Journal of Medicine. 290 (21): 1177-84, 1974
35. Sherwood, L. Gorbach, L.S. y Bartlett, J.G. Anaerobic infections (second of three parts) New England Journal Of Medicine. 290 (22): 1237-1244, 1974
36. Sherwood, L. Gorbach, L.S. y Bartlett, J.G. Anaerobic infections (third of three parts) New England Journal of Medicine. 290 (23): 1289-94, 1974
37. Sonnenwirth, A.C. y Jarret, L. Gradwohl's clinical laboratory methods and diagnosis. Vol. II 8a. Ed. The CV Masby Company. pp 1351-1423 St. Louis, 1980
38. Sutter, V.L. Vargo, V.L. y Finegold, S.M. Manual de bacteriología anaeróbica. Ed. Panamericana pp 25-43 Buenos Aires 1978
39. Tonlinson, R.J. Is colostomy closure a hazardous procedure? A comparison of elemental diet and routine bowel preparation. British Journal of Surgery. 63 (10): 799-800, 1976
40. Webb, D. Thadepalli, H. Roy, I. y Bach, V.T. Ticarcillin disodium in anaerobic infections Archives of Internal Medicine. 138 (2): 1618-1620, 1978