



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**Facultad de Estudios Superiores
"CUAUTITLÁN"**

"Identificación Bioquímica y Pruebas de Susceptibilidad a Antimicrobianos por el Método de Dilución Seriada en Placa en Bacilos Gram Negativos no Fermentadores de Glucosa Aislados de Pacientes del C. H. 20 de Noviembre".

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

MARIA MARTHA GARCIA FLORES

DIRECTOR DE TESIS:

Q. F. B. MA. DEL CARMEN BASUALDO SIGALES



Universidad Nacional
Autónoma de México

UNAM



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

	Pág.
Lista de Abreviaturas	10
Lista de Cuadros	11
Lista de Tablas	12
Lista de Esquemas y Figuras	13
I. I N T R O D U C C I O N .	14
II. G E N E R A L I D A D E S .	
1. BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES DE GLUCOSA.	16
- Identificación.	17
2. GENERO PSEUDOMONAS.	18
- Clasificación.	19
3. BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES DE GLUCOSA DIFERENTES DEL GENERO PSEUDOMONAS..	28
4. ANTIMICROBIANOS Y SUSCEPTIBILIDAD.	29
5. OBJETIVOS.	37
III. M A T E R I A L Y M E T O D O S .	
1. MATERIAL.	
a) Material Biológico.	39
b) Medios de Cultivo para Aislamiento e I-- dentificación Bioquímica.	40
c) Reactivos.	44
2. METODOS.	
a) Aislamiento Primario.	46

b) Pruebas Metabólicas.	49
c) Caracterización Bioquímica de los Baci-- los Gram Negativos No Fermentadores de - Glucosa.	58
d) Dilución Seriada en Placa de Agar.	59
e) Análisis Estadístico.	65

IV. RESULTADOS Y DISCUSION.

1. PROPORCION DE AISLAMIENTOS.	68
2. SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS. ...	68
3. DISCUSION.	71

V. CONCLUSIONES.

74

VI. BIBLIOGRAFIA.

76

LISTA DE ABREVIATURAS

1. Agar SS Agar Salmonella - Shigella
2. C.E. Consulta Externa
3. C.H. Centro Hospitalario
4. DNA Acido Desoxiribonucleico
5. LDC Lisina Descarboxilasa
6. NEM Medio Mínimo Basal de Acetato
7. N. Plasmatice Nivel Plasmatice
8. O - F Oxidación - Fermentación
9. Pigmento F Pigmento Fluoresceína
10. Pigmento P Pigmento Píocianina
11. R. Dosis Rango de Dosis
12. RNA Acido Ribonucleico
13. RNA_r Acido Ribonucleico Ribosomal
14. SIM Medio de Movilidad, Indol y Azufre (S)
15. S-I Solución I
16. S-II Solución II
17. S-III Solución III
18. ug Microgramo
19. um Milimicra
20. MR - VP Voges - Proskauer y Rojo de Metilo

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Pág.
I	Lista de algunas especies caracterizadas del género <u>Pseudomonas</u> 21-22
II	Propiedades Farmacológicas de algunos Antimicrobianos -Lactámicos. 33
III	Propiedades Farmacológicas de algunos Antimicrobianos Aminoglucósidos. 34
IV	Propiedades Farmacológicas de Cloranfenicol y Colimicina. 35

LISTA DE TABLAS

Tabla	Pág.
1 Microorganismos No Fermentadores de Gluco <u>sa</u> . Desarrollo en Mac Conkey +, Oxidasa +... 60	60
2 Microorganismos No Fermentadores de Gluco <u>sa</u> . Desarrollo en Mac Conkey +, Oxidasa +... 61	61
3 Microorganismos No Fermentadores de Gluco <u>sa</u> . Desarrollo en Mac Conkey -, Oxidasa +... 62	62
4 Microorganismos No Fermentadores de Gluco <u>sa</u> . Desarrollo en Mac Conkey +, Oxidasa -... 63	63
5 Microorganismos No Fermentadores de Gluco <u>sa</u> . Desarrollo en Mac Conkey -, Oxidasa -... 63	63
6 Susceptibilidad de 149 cepas de <u>Pseudomonas aeruginosa</u> a 14 diferentes Antimicrobianos más usados en la clínica en el C.H. 20 de Noviembre, expresada en Porcentajes (%) de Frecuencia. 69	69
7 Susceptibilidad de 9 cepas de Bacilos Gram Negativos diferentes de <u>Pseudomonas aeruginosa</u> a los mismos antimicrobianos expresada en Porcentajes (%) de Frecuencia. 70	70

LISTA DE ESQUEMAS Y FIGURAS

Esquema	Pág.
I Identificación Primaria de un Bacilo Gram Negativo No Fermentador de Glucosa y Pruebas Bioquímicas que ayudan a su clasificación.	48

Figura	Pág.
1 Replicador de Steers.	66

I N T R O D U C C I O N

La alta incidencia de Infecciones por microorganismos "oportunistas" en los medios hospitalarios, causantes de Infecciones severas y no localizadas hace necesario el estudio de su etiología, con el objeto de hallar su prevención y control.

Tal problemática la constituye el hecho de que los agentes etiológicos, saprófitos o comensales se establecen aprovechándose de las condiciones de compromiso en que se encuentra el paciente, que lo hacen más susceptible a las infecciones, como son: tratamientos indiscriminados con diversos antimicrobianos, Inmunosupresores, hormonas esteroides, cirujías, quemaduras, edad, iatrogenia en general; para causar severos efectos patológicos.

Entre los agentes etiológicos que más frecuentemente se encuentran involucrados en éste tipo de Infecciones están: Staphylococcus aureus y Streptococcus pyogenes de los Gram Positivos y de los Gram Negativos, Pseudomonas aeruginosa y Proteus sp. Hasta la fecha numerosos investigadores en el mundo han reportado Bacilos Gram Negativos No Fermentadores de Glucosa, como agentes etiológicos de Infecciones tanto en pacientes hospitalizados como ambulatorios (1, 2, 5, 7, 9, - 18, 22, 23 y 26) y tratan de esclarecer el problema a pesar de que no se cuenta con una clasificación taxonómica, ni tan

poco con un protocolo para su tipificación, adecuados.

Por otro lado, se ha encontrado diferente evolución en la incidencia de Infecciones por Bacilos Gram Negativos no Fermentadores de Glucosa en Poblaciones Hospitalarias de diversos países y su estimación epidemiológica, no ha sido considerada con atención (8, 13, 18, 24 y 27).

Actualmente en la Ciudad de México no se cuenta con datos epidemiológicos al respecto, esto, aunado a la frecuencia de aparición en la práctica médica es lo que ha motivado el presente estudio.

CAPITULO II GENERALIDADES

1. BACILLOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES DE GLUCOSA

Este grupo comprende aproximadamente el 15% de todos los aislamientos que se realizan en el laboratorio de Bacteriología Médica de este Hospital. Incluye géneros diversos y su estudio tiene importancia, como resultado de su papel en las infecciones adquiridas en el hospital y su frecuente resistencia a los agentes microbianos, (16).

Son aerobios, no formadores de esporas, que son capaces de utilizar carbohidratos por la vía metabólica "oxidativa" en vez de la fermentativa. Muchos miembros de este grupo crean problemas de identificación en el laboratorio, porque son de crecimiento lento ó tienen requerimientos metabólicos tales que necesitan el uso de medios de cultivo especiales. Frecuentemente sucede que no pueden ser detectados con sistemas bioquímicos rutinarios usados con otros grupos de bacterias, porque algunos de estos producen metabolitos débilmente ácidos (15). Su relativa baja proporción de recuperación, la falta de personal capacitado, así como el casi interminable cambio de nomenclatura y reclasificación de

estas bacterias ha hecho difícil la identificación, pero los avances obtenidos durante las dos décadas pasadas han aclarado de la caracterización y significancia médica, lo cual ha permitido establecer esquemas de identificación prácticos al alcance de muchos laboratorios.

I d e n t i f i c a c i ó n . -

Después del crecimiento de colonias en un medio de aislamiento primario, que puede ser agar Mac Conkey, HMB ó gelosa sangre, se puede sospechar de presencia de Bacilos no fermentadores de glucosa, por las características bioquímicas (16):

- 1). Reacción alcalina intensa y completa en agar hierro de Kligler ó agar de hierro y triple azúcar.
- 2). Reacción positiva a la prueba de citocromo oxidasa (aunque no todos la presentan), que excluye a los microorganismos de la familia Enterobacteriaceae.
- 3). Incapacidad de la bacteria para crecer en agar Mac Conkey; pero, por su morfología colonial, en agar sangre donde sí crece habitualmente, ya que ambos medios se siembran para efectuar la prueba.

Cuando una o más de estas características se observan se puede considerar que estamos ante un Bacilo Gram Negativo No Fermentador de Glucosa y se procederá a identificar el género y la especie, según caracteres bioquímicos.

2. GENERO PSEUDOMONAS

Como anteriormente se mencionó, éste género comprende 66% de las bacterias que constituyen el grupo no fermentadores de glucosa, (16). Este género incluye microorganismos de importancia en enfermedades de plantas y animales. Algunas especies se han transformado extensamente en especies clínicas, debido a su resistencia a muchos antimicrobianos, incluyendo agentes deletorios. Entre ellas están la Pseudomonas aeruginosa que normalmente es un patógeno ocasional; pero en la práctica médica, la causa de considerables problemas infecciosos, (3).

El problema de la caracterización estaba latente, debido al gran número de microorganismos que pertenecen al género y es hasta 1966 que Stainer, Palleroni y Doudoroff dan una definición general de las "Pseudomonas aeróbicas". La bacteria posee las siguientes propiedades fenotípicas: es un bastón recto o curvado, pero no helicoidal. Mide de 0.5 a 1.0 μ m por 1.5 a 4.0 μ m. Móvil por medio de uno o más flagelos polares; un miembro del grupo es permanentemente inmóvil, otros, producen flagelo lateral en adición al polar, es Gram negativo, no forma endosporas o envoltura y la energía producida durante el metabolismo es respiratoria, nunca fermentativa o fotosintética. El oxígeno molecular es usado como oxidante terminal, pero algunos miembros del grupo pueden vivir anaeróbicamente, en medio conteniendo nitrato. Todos los miembros del grupo son quimioorganotro-

fos, pero algunos son quimiótrofos facultativos capaces de usar el gas hidrógeno como una fuente de energía. El contenido de guanina más citocina del DNA de éstas bacterias es considerado del rango de 58-69 moles %, estos límites han sido establecidos por el análisis de un gran número de cepas representativas, (3).

Clasificación. -

Hasta ahora no se han podido elaborar una estructura taxonómica adecuada en Pseudomonas, ya que la transferencia genética no permite establecer una relación directa entre genética y filogenia. Con afán de buscar dicha relación y sin contar con medios prácticos para hacer estudios genéticos de muchas especies del género, se buscaron técnicas que los substituyeran, resultando la hibridización de material genético in vitro, la más adecuada (3).

En las investigaciones efectuadas con Pseudomonas, la hibridización in vitro con ambos sistemas, DNA-DNA y DNA-RNA, han dado información interesante, lo cual ha servido para --- construir un Sistema Taxonómico Natural. La homología DNA-DNA, exclusivamente da información sobre las diferencias fenotípicas de las cepas cuya composición del DNA está directamente relacionada y deja de tener valor, al comparar miembros de diferentes subgrupos. Los experimentos con RNA, revelan las distintas relaciones entre organismos; permiten comparación entre Pseudomonas de diferentes complejos homólo-

gos DNA; con los resultados de éste último, ha sido posible el agrupamiento de las especies del género Pseudomonas en al menos 5 grupos bastante definidos, que han sido denominados "Grupos de homología RNA".(cuadro I). En él se puede apreciar el número del grupo de homología RNA, el nombre de los constituyentes, las sinónimas y algún comentario de ellos. Al respecto del grupo, es necesario mencionar que, también pueden ser llamados por la especie, que toma la posición central dentro de él. Esta consideración se toma en cuenta para hacer las descripciones sobre la subdivisión interna que presentan, (3).

Grupo Pseudomonas fluorescens de homología RNA (Grupo I)

Gran grupo cuyas propiedades fenotípicas son heterogéneas, constituido tanto de especies fluorescentes como no fluorescentes. Entre las fluorescentes está Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens (con varios biótipos), Pseudomonas putida (con dos biótipos) y muchas de plantas. Las no fluorescentes pueden a su vez ser subdivididas en el Subgrupo stutzeri (Pseudomonas stutzeri) y Pseudomonas mendocina y el Subgrupo alcaligenes (Pseudomonas alcaligenes y Pseudomonas pseudoalcaligenes). Todas ellas tienen la incapacidad para acumular poli-beta-hidroxibutirato como material de reserva de carbono.

Pseudomonas aeruginosa, especie en la que más se detallará por ser de interés clínico, además de ser una de las mg

**Cuadro I Lista de algunas de las especies caracteri-
zadas del género Pseudomonas**

**GRUPO SEGUN
HOMOLOGIA DE
RNA.**

ESPECIES	SINONIMOS	COMENTARIO
<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. pyocyanea</i> <i>P. policolor</i>	
<i>P. fluorescens</i>	<i>P. marginalis</i> <i>P. chlororaphis</i> <i>P. aureofaciens</i> <i>P. lemonniere</i> <i>P. geniculata</i>	Subdividida en 7 Biotipos. Algunos de los biotipos, sin em- bargo, merecen una posicion relativa in- dependiente de la especie
<i>P. putida</i>	<i>P. ovalis</i> <i>P. convexa</i>	Subdividida en 2 Biotipos; (A), uno de los cuales es " <i>P.</i> <i>putida</i> ", "tipica".
Patogenos Fluores- centes de Plantas		
<i>P. sutzeri</i>	<i>P. stanieri</i>	
<i>P. mendocina</i>		
<i>P. alcaligenes</i>		Especie no fluo- rescentes
<i>P. pseudo alcaligenes</i>		
<i>P. cepacia</i>	<i>P. multivorans</i>	
<i>P. marginata</i>	<i>P. sillicola</i>	
	<i>P. gladioli (?)</i>	
<i>P. caryophylli</i>		
<i>P. pseudomallei</i>		
<i>P. mallei</i>		El nombre especifico, <i>mallei</i> , ha sido atribuido a varios generos: Bacil- lus, Acinetobacter, Lue- fiterella, Matleomyces, etc.
<i>P. solanacearum</i>		
<i>P. pickettii</i>		

1

2

Cuadro I Lista de algunas de las especies caracterizadas del género *Pseudomonas*. (Continuación)

GRUPO SEGUN

HOMOLOGIA DE RNA	ESPECIES	SINONIMOS	COMENTARIO
3	<i>P. acidovorans</i>	<i>P. indoloxydans</i> <i>P. desinolytica</i>	
	<i>P. testosteroni</i>		
	<i>P. facilis</i>	<i>Hydrogenomonas facilis</i>	Bacteria de Hidrógeno
	<i>P. delafieldii</i> <i>P. saccharophila</i>		
4	<i>P. diminuta</i> <i>P. vesicularis</i>		
	<i>P. maltophilia</i>		
*	<i>P. lemogni</i> <i>P. ruhlandii</i> <i>P. flava</i> <i>P. palleronni</i>	<i>Hydrogenomonas ruhlandii</i>	Bacteria de Hidrógeno

* Especies que no han sido analizadas por hibridación de Ácidos Nucléicos.

por definidas. Su nombre se refiere al color que presenta el cultivo que es semejante al sarro del cobre o verdigris. Otra característica de la especie es la producción de pigmentos fluoresceína y picocianina, aunque algunas pueden perder uno o ambos de éstos pigmentos, (3).

Las cepas de Pseudomonas aeruginosa se reconocen por: la tendencia al efecto visual como de olas localizado en la orilla de las colonias, los pigmentos, el olor característico (descrito como de fruta), el brillo metálico sobre la superficie de las colonias, todas éstas características son frecuentes en la mayoría de los cultivos y son de gran utilidad en su diagnóstico. Todas las cepas crecen rápidamente a 37°C algunas de éstas crecen a 4°C, entre ellas está Pseudomonas aeruginosa y cuya característica permite diferenciarla de las otras fluorescentes, otras crecen a 42-44°C, — siendo ésta última, la temperatura máxima de crecimiento.

Es un organismo aerobio estricto, reduce nitratos a nitrógeno gaseoso, las reacciones oxidasa, catalasa, arginina - dehidrolasa e hidrólisis de gelatina son positivas; aunque almidón, reacción yema de huevo y poli-beta-hidroxi-butarato, — son negativas, muchas tienen acción lipolítica débil (3).

Poseen una versatilidad nutricional grande (pueden metabolizar cerca de 80 ó más compuestos orgánicos). Todas las cepas crecen en amonio, valina, lisina o urea como fuente de nitrógeno y también pueden usar nitrato y creatinina (pero no creatina). Toleran concentraciones de sal del 3% hasta

la máxima concentración del 6%, (3).

Pseudomonas aeruginosa es aislada de muestras clínicas de pacientes hospitalizados y la capacidad patogénica potencial del microorganismo ha provocado preocupación en la práctica médica debido a la resistencia a los antimicrobianos comunes. Se ha encontrado también que algunas especies son

fitopatogénicas y representan un caso raro de un microorganismo patogénico para plantas y animales. El nombre: -----

Pseudomonas polycolor se ha aplicado a cepas de origen vegetal. Aunque ahora es aceptada la sinonimia con -----

Pseudomonas aeruginosa .

Pseudomonas fluorescens, es la especie probablemente más compleja del género, la subdivisión en biotipos está basada en dos pruebas que son: la denitrificación y la síntesis de Levanas a partir de sacarosa; tienen en común con -----

Pseudomonas putida que son especies fluorescentes saprófitas y entre sí se diferencian por la licuefacción de gelatina así como en otras propiedades fenotípicas.

Pseudomonas glutacri es de las especies no fluorescentes encontradas en suelo, internamente muy heterogénea, reconocida por las colonias característicamente arrugadas en la placa.

Pseudomonas mandocina, es uniforme internamente, ocasionalmente produce denitrificación, al igual que la anterior esporádicamente se aísla de material clínico.

Grupo pseudomallei-cepacia de homología RNA (Grupo II)

Grupo interesante ya que en él se hallan reunidas todas las *Pseudomonas* aeróbicas que son patógenas de animales y plantas, con excepción de una, *Pseudomonas pickettii*. Aunque tienen pocas características en común entre ellas, la más relevante es la acumulación de poli-beta-hidroxi-butirato como material de reserva de carbono. Las dos especies más virulentas para animales en el género son:

Pseudomonas pseudomallei y *Pseudomonas mallei*.

Pseudomonas cepacia (*Pseudomonas multiverans*), una de las especies más importantes del grupo. Algunas de las cepas de estas especies son las más versátiles nutricionalmente del género *Pseudomonas*. Aunque no es claro porque están tan bien dotadas con la capacidad de usar una gran variedad de compuestos orgánicos para su crecimiento, no se aislan frecuentemente de materiales naturales, este es un interesante problema que merece más consideración. Las especies no son muy homogéneas internamente en propiedades fenotípicas.

Pseudomonas marginata es una de las fitopatógenas que incluye otras especies, otra *Pseudomonas alliicola* que se incluye porque se ha demostrado entre ellas una estrecha relación. Estos dos nombres pueden caer en desuso en el futuro aunque el nombre de *Pseudomonas gladioli* puede tener prioridad y la tercera especie de bacterias de plantas en este grupo *Pseudomonas carverburyi*.

Pseudomonas pseudomallei y *Pseudomonas mallei*, agentes

en las enfermedades en animales melioidosis y "glanders" respectivamente y pueden ser transmitidas al hombre. Son especies nutricionalmente versátiles y probablemente jueguen un papel importante en la mineralización de materia orgánica.

Las últimas especies del grupo -----
Pseudomonas solanacearum y Pseudomonas pickettii están relacionadas por la homología DNA. La primera es fitopatógena de regiones tropicales. La recientemente descrita -----
Pseudomonas pickettii, es una especie muy uniforme internamente, de origen clínico, pero su papel como patógeno doble no se ha estudiado, representa un eslabón entre -----
Pseudomonas solanacearum y otros miembros del grupo.

Grupo acidovorans de homología RNA (Grupo III)

Constituido por 5 especies: Pseudomonas acidovorans, -----
Pseudomonas testosteroni, Pseudomonas facilis, -----
Pseudomonas delafieldii y Pseudomonas saccharophila.

Pseudomonas acidovorans y Pseudomonas testosteroni son semejantes unas a otras fenotípicamente y son de entre las especies del género, las más definidas y más fácilmente reconocidas, se pueden diferenciar, por pruebas bioquímicas.

El resto tiene algunas semejanzas fenotípicas (3).

Grupo diminuta de homología RNA (Grupo IV)

Grupo pequeño que contiene dos especies -----
Pseudomonas diminuta y Pseudomonas vesicularis, morfología ca

racterística única, por lo corto de las longitudes del flagelo polar simple y también fisiológicamente debido a los requerimientos de factores de crecimiento orgánicos y su incapacidad para reducir nitratos a nitrógeno gaseoso, (3).

Grupo F. maltophilis-xantomonas de homología RNA (Grupo V)

Pseudomonas maltophilis, son muchas las propiedades fenotípicas que posee para su diferenciación, como es, la reacción oxidasa y la reducción de nitratos a nitrógeno gaseoso es negativa, necesita metionina para crecer en medio mineral, es la única que usa lactosa como fuente de carbono. Los experimentos de homología RNA han demostrado que tienen relación con especies de xantomonas. Las especies de xantomonas son patógenos de plantas capaces de producir pigmentos especiales parecidos a carotenoides, lo cual parece tener poco en común con Pseudomonas maltophilis, (3).

La clasificación que se ha presentado de las especies de Pseudomonas está aún incompleta en relación a algunas de las especies de los grupos por lo que se hace necesario que se trabaje más sobre ello. Por ahora solo se ha asignado esta taxonomía convencional que es bastante aceptable.

3. BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES DE GLUCOSA DIFERENTES DEL GENERO PSEUDOMONAS.

En virtud de que el grupo de Bacilos Gram Negativos - No Fermentadores de Glucosa lo integran dos terceras partes el género Pseudomonas y el resto los géneros Acinetobacter, Alcaligenes, Achromobacter, Agrobacterium, Flavobacterium, - Moraxella, Kingella, Bikenella y parecidas a Pseudomonas(16). Para los propósitos de éste trabajo se han conjuntado todos los géneros excepto Pseudomonas y se han designado como Bacilos Gram Negativos No Fermentadores de Glucosa diferentes del género Pseudomonas.

Estos microorganismos han venido cobrando importancia clínica básicamente porque cada vez es más frecuente recuperarlos de pacientes con infecciones severas y no localizadas como úlceras de córneas (1,6), septicemias (28,19), e inclusive de tracto urinario (30,31). Por lo que es necesario contar con un esquema de identificación práctico para su clasificación.

Actualmente se cuenta con un buen número de protocolos entre ellos están, los propuestos por King y colaboradores (14), los de Gilardi (10); otros que utilizan resultados de las dos anteriores (31); todos intentan proporcionar sencillas, rápidas y reproducibilidad en cualquier laboratorio bacteriológico. En consecuencia, no se han unificado ---

critérios como para proporcionar alguno que satisfaga a tan diversas condiciones de personal y laboratorio existentes.

4. ANTIMICROBIANOS Y SUSCEPTIBILIDAD.

En la actualidad se conocen centenares de antimicrobianos y muchos de ellos son útiles en el tratamiento de enfermedades infecciosas (6). Estas sustancias químicas son producidas por bacterias, actinomicetos u hongos y tienen por finalidad reprimir la proliferación de otros organismos y en muchos casos llegan a destruirlos. Todos ellos difieren considerablemente en propiedades físicas, químicas y farmacológicas, en el espectro antimicrobiano y en el mecanismo de acción.

A nivel investigación son aprovechadas las propiedades antes mencionadas, así como, los procesos químicos adecuados, para sintetizar e identificar nuevos antimicrobianos. Esto explica el número tan considerable de antimicrobianos que existen actualmente.

Con respecto a la manera de clasificarlos, se han designado tres formas: 1. Por su mecanismo de acción: a) Inhibición de la síntesis de pared celular de la bacteria, b) Efectos en la permeabilidad de la membrana celular bacteriana, c) Inhibición de la síntesis de proteínas de la bacteria, -- d) Alteración del metabolismo de los Ácidos Nucléicos, e) Acción antimetabólica. 2. Según su origen: Apartir de hon-

gos, bacterias o actinomicetos. 3. Por el espectro de acción que exhiben: Amplio, a Gram Positivas y Negativas; como la Tetraciclina que además actúa contra Rickettsias, Mycoplasma, Chlamydia y Amebas; Intermedio, a gran variedad, como es el caso de Eritromicina que es eficaz contra Cocos Gram Positivos, muchos Bacilos Gram Positivos, Neisserias, algunas cepas de Haemophilus influenzae, Pasteurella multocida, Brucella, Rickettsias y Treponemas; y Reducido, como es el caso de Penicilina G, que sólo actúa contra Gram Positivas y Neisserias.

Con respecto a la función que debe de cumplir un antimicrobiano, desgraciadamente, ha venido decreciendo e inclusive se ha llegado a perder principalmente porque los microorganismos han desarrollado, con el paso del tiempo y presencia del antimicrobiano (por uso continuo o indiscriminado), mecanismos de resistencia como son el mediado por transferencia de plásmidos (factor R) y enzimas que cambian la estructura conformacional del antimicrobiano.

Gracias al empeño de muchos investigadores se han desarrollado técnicas para medir la susceptibilidad (antibiogramas), como son el método de Bauer-Kirby, con discos impregnados de antimicrobiano, la dilución seriada en placa y tubo por macro y micrométodos; así como la determinación de plásmidos (factor R) y las diferentes enzimas que inactivan los antimicrobianos. Esto ha dado la pauta para realizar estu--

dios sobre resistencia de algún género o especies a uno o más antimicrobianos.

Se ha encontrado que la susceptibilidad a antimicrobianos ha variado geográficamente y con el tiempo. El surgimiento de cepas resistentes para un agente particular es debido frecuentemente, además del uso extensivo del agente en un hospital o comunidad, a que éste último, sirve como nicho ecológico para varios miembros del género Pseudomonas (23) y que si perduran en el medio, serán tipos resistentes clínicamente los cuáles presentarán clonas virulentas oportunistas (32).

La tan controvertida diferencia en origen, mecanismo y significancia de resistencia en microorganismos se aclara - al considerar que todo ecosistema bacteriano comprende poblaciones tipo silvestre susceptibles a antimicrobianos y poblaciones resistentes al antimicrobiano. La frecuencia de mutantes en la ausencia del antimicrobiano es completamente baja debido a la proporción de mutación favoreciendo el crecimiento de la población susceptible. En presencia del antimicrobiano, la población susceptible declina y la población resistente es selectivamente favorecida a causa del tiempo(20)

En la actualidad no se puede establecer un modelo del comportamiento de Bacilos Gram Negativos No Fermentadores de Glucosa a los antimicrobianos, pero se sabe que tienen que - ver la forma estructural, la dosificación, el nivel plásmático que se alcanza y el mecanismo de acción para adquirir la -

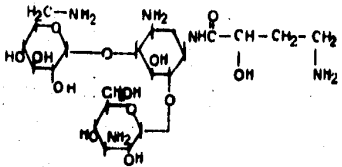
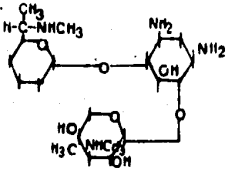
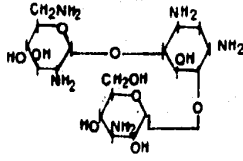
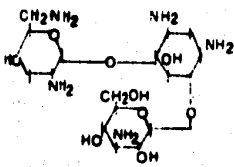
resistencia. Al respecto se encuentran dispuestos estos -- datos para los antimicrobianos con los que se realizó éste -- trabajo en los cuadros II, III y IV.

Sobre actividad y resistencia de Bacilos Gram Negati-- vos No Fermentadores de Glucosa se han reportado cepas de -- Pseudomonas aeruginosa susceptibles a carbenicilina y ticarci-- lina (que es más efectiva que la anterior) (14), por otro, -- resistentes a carbenicilina debido a la presencia de un plás-- mido (26). La colimicina es muy efectiva contra ----- Pseudomonas aeruginosa incluyendo en infecciones de brónquios (2,29). Hay reportes de Pseudomonas aeruginosa resisten-- tes a gentamicina por tres enzimas que inactivan el antimicro-- biano y dos isoenzimas que inactivan a tobramicina (30), to-- bramicina es más activa contra Pseudomonas que la gentamicina (27). Tobramicina y kanamicina son más efectivas que ami-- kacina para cepas susceptibles de Pseudomonas aeruginosa y a mikacina actúa contra la mayoría de cepas resistentes a genta-- micina pero no contra todas (21), amikacina, indiscriminada -- no ocasiona resistencia (20).

Acinetobacter calcoaceticus variedad anitratus presen-- ta resistencia a gentamicina, aunque, tobramicina es efectiva pero no contra todos (19).

Hasta aquí se ha tratado la resistencia a un sólo anti-- microbiano y en dado caso el antimicrobiano contra el que es efectivo al organismo resistente, pero no ha sido considerado

Cuadro III Propiedades Farmacológicas de Algunos Antimicrobianos Aminoglicosidos

FORMULA	NOMBRE	R. DE DOSIS	N. PLASMATICO	MEC. DE ACCION
	AMIKACINA	$\frac{15 \text{ mg/kg/día}}{2}$	15-32 mcg/ml	ALTERA LA COEFICIENTE EN LA SINTESIS DE PROTEINAS. EL ANTIMICROBIANO SE COMBINA CON LA SENSIBILIDAD RESISTENCIA 305 PRO- VOCANDO QUE HAYA ERRORES EN LA LECTURA DEL RNA -- MENSAJERO EN CONSECUENCIA SE FORMAN ENZIMAS INACTIVAS O PROTEINAS ANORMALES.
	GENTAMICINA	$\frac{3-5 \text{ mg/kg/día}}{3}$	5-7 mcg/ml	
	KANAMICINA	$\frac{15 \text{ mg/kg/día}}{3}$	11- 0 mcg/ml	
	SISOMICINA	$\frac{3-5 \text{ mg/kg/día}}{3}$	5-7 mcg/ml	
	TOBRAMICINA	$\frac{3-5 \text{ mg/kg/día}}{3}$	5-7 mcg/ml	

Cuadro IV Propiedades Farmacologicas de Cloranfenicol y Colimicina

FORMULA	NOMBRE	R. DE DOSIS	N. PLASMATICO	MEC. DE ACCION
	CLORANFENICOL	$\frac{25-40 \text{ mg/kg/día}}{4}$	10-15 mcg/ml	<p>ALTA LA EFECTIVIDAD DE LA ACCION DEL CLORANFENICOL POR LA ALTA ACTIVIDAD DE LA ETILAMIDA ASPECIA QUE CATALIZA LA FORMACION DE ENZIMAS TIPOICOS QUE SUPLENEN ALGUNOS DE LOS SERVICIOS FUELEN TANTO EN LA JARSA A LOS TIPOS DE BACTERIAS AEROBICAS Y OBLIGATORIAS A LA LARGA DE LOS NISOS.</p>
	COLIMICINA	$\frac{2.4 \text{ mg/kg/día}}{3}$	3.7 mcg/ml	<p>ALTA LA EFECTIVIDAD DE LA ACCION DEL CLORANFENICOL POR LA ALTA ACTIVIDAD DE LA ETILAMIDA ASPECIA QUE CATALIZA LA FORMACION DE ENZIMAS TIPOICOS QUE SUPLENEN ALGUNOS DE LOS SERVICIOS FUELEN TANTO EN LA JARSA A LOS TIPOS DE BACTERIAS AEROBICAS Y OBLIGATORIAS A LA LARGA DE LOS NISOS.</p>

la multiresistencia a antimicrobianos manifestada principalmente para aminoglucósidos ya que no ha sido común mundialmente. El mecanismo que lo explica es una mutación en la permeabilidad de la membrana (13), en la que el rango de elevación del aminoglucósido depende de la magnitud de la diferencia de potencial eléctrico a través de la membrana, por lo tanto, una mutación que reduce la diferencia de potencial eléctrico también reduce marcadamente el rango de susceptibilidad del aminoglucósido y el rango de crecimiento de la bacteria se eleva (20). La resistencia amikacina-tobramicina está basada en éste mecanismo para Pseudomonas aeruginosa al igual que para gentamicina sola (13). Otro tipo de resistencia cruzada reportada para Pseudomonas aeruginosa es de tobramicina-gentamicina y puede ser inhibida por amikacina (21).

Con el objeto de combatir a los microorganismos tanto resistentes como multiresistentes se han asociado antimicrobianos principalmente para potencializar su actividad de manera que se encuentran aminoglucósidos combinados con antimicrobianos que inhiben la biosíntesis de la pared bacteriana, como la tobramicina-carbenicilina que en algunos casos ha sido activa contra Pseudomonas aeruginosa, especialmente ha dado buen resultado en pacientes con neutropenia (21). Carbenicilina-sisomicina en combinación son más activas que alguna de las dos sola (23), la combinación gentamicina-ticarcilina

es de elección cuando se sospecha de septicemia por Pseudomonas aeruginosa (27), también es efectiva la combinación gentamicina-carbenicilina contra Pseudomonas aeruginosa si se evita la mezcla física, pues de lo contrario inactiva - carbenicilina a gentamicina (25).

La causa de la resistencia ha sido atribuida a una serie de mecanismos que ha venido adquiriendo la bacteria, entre los que se cuenta: 1) La variación intrabacterial in vivo del factor R (24), 2) El transporte de un plásmido o plásmidos que están estrechamente relacionados como en el caso de Pseudomonas aeruginosa el IncP2, S-a, pMG2, pMG5 y el recientemente descubierto por Sinclair y colaboradores (1981) PAO25 que proporciona un nivel más alto de resistencia a gentamicina que los otros y si persiste en el microorganismo se vuelve resistente a tobramicina; 3) La modificación e inactivación del antimicrobiano por enzimas presentes en el espacio periplásmico de la bacteria, por cualquiera de los tres mecanismos que son: Acetilación de los grupos amino, Adenilación y Fosforilación de los grupos oxhidrilo.

5. OBJETIVOS .

a). Conocer la proporción de Bacilos Gram Negativos No Fermentadores de Glucosa, recuperados de muestras clínicas de pacientes en el C.H. 20 de Noviembre de la Ciudad de México.

b). Poner en práctica el método de clasificación de Bacilos Gram Negativos No Fermentadores de Glucosa, que consta de 11-20 pruebas metabólicas propuesto por, Basualdo S., M.C. y Hill J.,J.

c). Observar la respuesta in vitro, de éstas cepas --- frente a los antimicrobianos de mayor uso en la terapéutica - médica, utilizando el método de dilución seriada en placa de agar.

d). Conocer la susceptibilidad actual de ----- Pseudomonas aeruginosa en éste hospital y las diferencias que existen con otros Bacilos Gram Negativos No Fermentadores de Glucosa, difíciles de identificar y a la fecha muy importantes como contaminantes intrahospitalarios.

e). Dar la pauta a investigaciones sobre resistencia - y su posible relación con factores tales como: Concentración del antimicrobiano, Origen (pacientes hospitalizados o no hospitalizados), Flora mixta y Sexo.

C A P I T U L O I I I

MATERIAL Y METODOS.

I. M A T E R I A L .

a) M A T E R I A L B I O L O G I C O .

Se colectaron durante seis meses (Julio 82 - Enero 83) los Bacilos Gram Negativos No Fermentadores de Glucosa, aislados de muestras clínicas, tales como exudados nasales, faríngeos, brónquiales, traqueales, uretrales y vaginales; de heridas quirúrgicas y traumáticas; de secreciones óticas, óculares, abdominales y biliares; de líquidos cefaloraquídeos, pleurales, de sonda y catéter; sangre, orina y pus. De 130 pacientes internos y 28 externos del C.H. 20 de Noviembre I.S.S.S.T.B. de la Ciudad de México.

b) MEDIOS DE CULTIVO PARA AISLAMIENTO E IDENTIFICACION BIOQUIMICA.

Los medios de cultivo utilizados para desarrollar el presente trabajo fuerón los siguientes:

A. Medios sólidos en placa.

1. Agar Mac Conkey (Bioxón de México, S.A. Lote # 18JB9A2).
2. Base para Agar Sangre (Bioxón de México, S.A. - Lote # 21EB0B2).
3. Agar SS (Merck. Lote # 20213).
4. Agar Mueller-Hinton (Bioxón de México, S.A. - Lote # 25B11031).

B. Medios sólidos inclinados en tubo.

1. Agar hierro de Kligler (Bioxón de México, S.A. - Lote # 21CB70).
2. Base para agar urea según Christensen (Bioxón de México, S.A. Lote # 25C21433).
3. Agar Pseudomonas F (Bioxón de México, S.A. Lote # 21BB1A1).
4. Agar Pseudomonas P (Bioxón de México, S.A. Lote # 13CBOA1).

5. Agar Fenil-Alanina (16).

Extracto de levadura 3.0g.

NaCl 5.0g.

Agar-agar12.0g.

NaH_2PO_4 1.0g.

A Fenil Alanina DL 2.0g.

6 B Fenil Alanina L 1.0g.

Agua destilada 1000 ml.

Nota: sólo se pone de un tipo de Fenil Alanina, A ó B, en la cantidad especificada.

Tubos de 13 X 100 mm. con 3 ml., se esterilizan a 121°C , por 15 minutos. Para dejar solidificar, se inclinan.

C. Medios semisólidos.

1. Medio de movilidad de Gilardi (16).

Peptona de caseína 10.0 g.

Extracto de levadura 3.0 g.

NaCl 5.0 g.

Agar 3.0 g.

Agua destilada 1000 ml.

pH final 7.2

Repartir 4 ml. por tubo de 13 X 100 mm. y esterilizar en autoclave a 121°C , por 15 minutos.

2. Medio de Gelatina nutritiva (16).

Gelatina 120.0 g.

Caldo nutritivo 1000 ml.

Poner 3 ml. en tubos de 13 X 100 mm. y esterilizar a 121°C, por 15 minutos.

3. Caldo para reducción de nitratos (16).

KNO_3 químicamente puro 1.0 g.

Caldo infusión de corazón 1 000 ml.

Los tubos conteniendo 2 ml. (de 13 X 100), son esterilizados a 121°C, durante 15 minutos.

4. Medio de Oxidación-Fermentación.

Peptona 2.00 g.

NaCl 5.00 g.

K_2HPO_4 0.30 g.

Azul de bromotimol 0.03 g.

Agar 3.00 g.

Agua destilada 1 000 ml.

pH final 7.1

Colocar 3ml. en tubos de 13 X 100 mm. y esterilizar a 121°C, por 15 minutos. Frío a --

temperatura de 45°C, se adiciona de solución --

estéril acuosa al 10% de glucosa, lactosa, mal
tosa, fructosa o manitol para una concentración
final de 1% de azúcar.

D. Medios líquidos**1. Cloruro de sodio al 6.5%**

Peptona 10.0 g.

NaCl 65.0 g.

Agua destilada 1 000 ml.

Se esterilizan a 121°C, durante 15 minutos, -
tubos de 13 X 100 mm. conteniendo 3 ml. del -
medio.

2. Agua Peptonada al 1%

Peptona 10.0 g.

Agua destilada 1 000 ml.

Se sirven 3 ml. de medio a tubos de 13 X ---
100 mm. y esterilizar a 121°C, por 15 minu--
tos, en autoclave.

c) REACTIVOS .

1. Cloruro Férrico al 10% , en agua.
2. Cloroformo.
3. Vaselina estéril.
4. Metanol.
5. Solución salina fisiológica estéril.
6. Reactivo para Oxidasas (Reactivo de Gaby y Hadley).
 - a. Indofenol oxidasa.
7. Reactivos para reacción de nitratos.
 - a. alfa-naftil-amina 0.5% en agua.
 - b. ácido sulfanílico 0.8% en agua.
8. Sustancias antimicrobianas en polvo.
 - a) Penicilina (SQUIB AND SONS DE MEXICO, S.A. DE C.V.
Lote pcs 864 Pot.1256 U/mg.)
 - b) Ampicilina (LABORATORIOS BRISTOL DE MEXICO, S.A.-
DE C.V. Lote 313 Pot.890 mcg/mg.)
 - c) Carbenicilina (LABORATORIOS SANFER, S.A. Lote -
234013-E Pot. 810.6 mcg/mg.)
 - d) Amikacina (SCHERAMEX S.A. DE C.V. Lote G1083K4-013
Pot. 905 mcg/mg.)
 - e) Kanamicina (SCHERAMEX S.A. DE C.V. Lote DAM 804-129
Pot. 790 mcg/mg.)
 - f) Gentamicina (SCHERAMEX S.A. DE C.V. Lote 83-G1-10
Pot. 628 mcg/mg.)

- g) Sisomicina (SCHERAMEX S.A. DE C.V. Lote 22855-2
Pot. 584 mcg/mg.)
- h) Tobramicina (SCHERAMEX S.A. DE C.V. Lote W 3732
835A40B Pot. 980 mcg/mg.)
- i) Cloranfenicol (LABORATORIOS INFAN S.A. Lote --
CL-81-180 Pot. 1 000 mcg/mg.)
- j) Colimicina (CARTER WALLACE S.A. Lote 168071 --
Pot. 13 500 U.I./mg.)
- k) Cefasolina (ELI LILY Y CIA. DE MEXICO S.A. DE C.V.
Lote 33282 w Pot. 925 mcg/mg.)
- l) Cefalotina (ELI LILY Y CIA. DE MEXICO S.A. DE C.-
V. Lote 33958 W Pot. 915 mcg/mg.)
- m) Cefoxitina (ELI LILY Y CIA. DE MEXICO S.A. DE C.-
V. Lote W 5354 Pot. 937 mcg/mg.)
- n) Cefalexina (ELI LILY Y CIA. DE MEXICO S.A. DE C.V.
Lote W 5352 Pot. 990.47 mcg/mg.)

2. M E T O D O S.

a) AISLAMIENTO PRIMARIO.

La muestra clínica se siembra de acuerdo al siguiente cuadro:

Exudados Faríngeos y Nasaes: Agar sangre con raya de -----
Staphylococcus aureus y agar -
Mac Conkey (por estría de aislam
niento).

Orina: Agar sangre (siembra masiva pa
cuenta de colonias) y agar Mac
Conkey (por estría de aislamien
to).

Exudados Vaginales y Uretra-
les: Agar sangre, agar Mac Conkey, -
agar chocolate (por estría de -
aislamiento y raya de -----
Staphylococcus aureus para el -
primero y el último) y tioglicol
lato con dextrosa y con indica
dor, reducido.

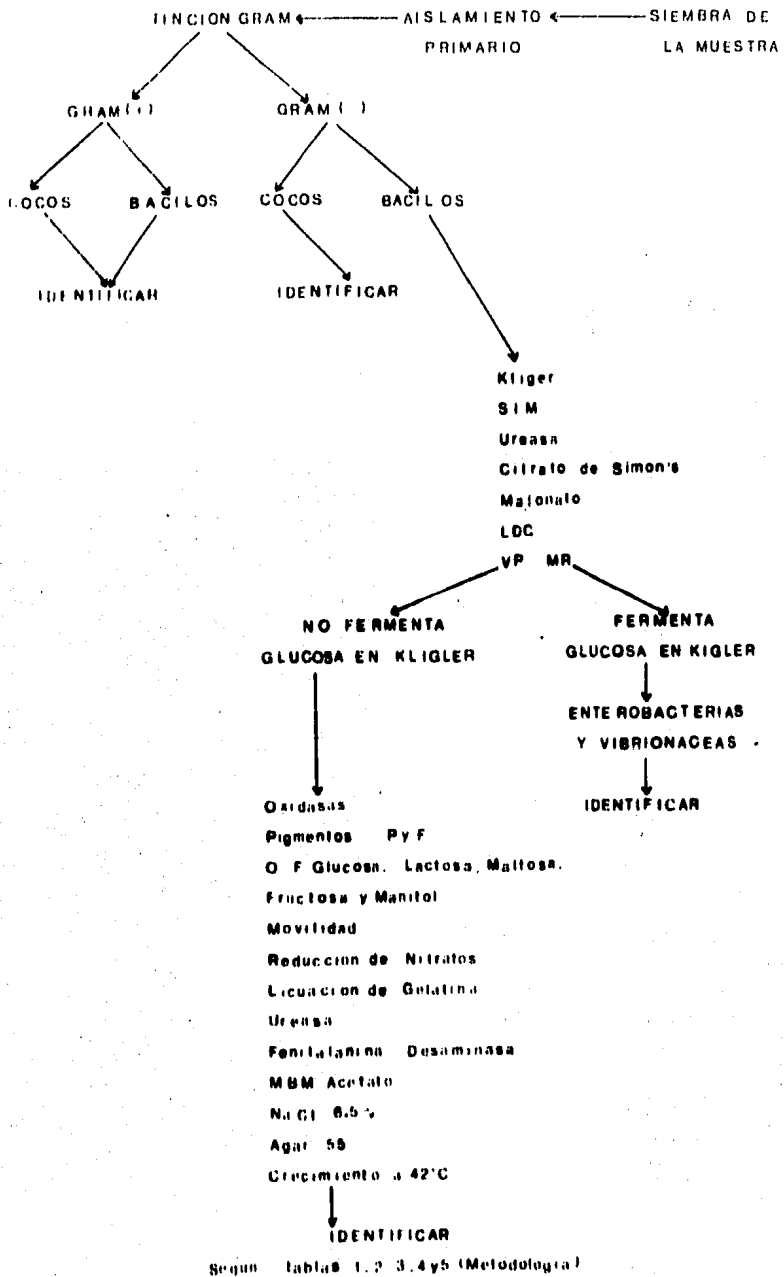
Sangre: En cada uno de dos tubos B-D pa
ra hemocultivos (anexar unidad
de ventilación para aeróbicos y
anaeróbicos). La resiembra -

se hace en agar sangre, agar chocolate y agar Mac Conkey; para aeróbios y tioglicolato con dextrosa, - sin indicador, reducido y agar sangre con hemina para anaeróbios.

Diversos: Agar sangre, agar chocolate (éstos con raya de Staphylococcus aureus), agar Mac Conkey y tioglicolato con dextrosa y con indicador, reducido para microorganismos aeróbios y agar sangre con hemina y tioglicolato -- con dextrosa, sin indicador, reducido, para microorganismos anaeróbios.

(Diversos: Los diferentes tipos de muestras que no entran en las anteriores, excluyendo también coprocultivos).

Una vez que se logra el crecimiento de colonias de microorganismos, según la metodología empleada, se procede a identificarlos: primero, con la ayuda de los medios de cultivo, la morfología de las colonias y la afinidad tintorial que presentan; posteriormente, se realizan las pruebas metabólicas, según esquema I y dependiendo de los resultados de la serie de pruebas metabólicas primarias los microorganismos se someten a pruebas bioquímicas más especializadas para clasificarlos en géneros y especies. A continuación, se describen algunas características metabólicas que nos permi-



ESQUEMA: Identificación primaria de un Bacterio Gram Negativo no fermentador de Glucosa y Pruebas Bioquímicas que ayudan a su clasificación.

ten cumplir dicho propósito.

b) PRUEBAS METABOLICAS.

1. Fermentación de glucosa y lactosa

Se requiere agar hierro de Kligler para efectuar ésta prueba; se siembra por estría y picadura y se incuba a 37°C , durante 24 horas. La fermentación de glucosa se detecta por la baja de pH en la capa profunda del medio, mientras --- que la lactosa, por una reacción ácida, en la superficie. Un crecimiento sin cambio del indicador del medio, sugiere - que no fueron metabolizados ninguno de estos carbohidratos - por vía fermentativa (12).

2. Producción de Gas

Se usa agar hierro de Kligler sembrado por picadura - y estría incubado a 37°C , durante 24 horas. Esta prueba determina si el microorganismo en cuestión genera gas (CO_2 e H_2), como producto final del metabolismo de los carbohidra--tos. Los gases producidos se manifiestan por un despla--zamiento total o parcial del medio, desde el fondo del tubo o por una ruptura del medio, según la cantidad de gas produci--do (12).

3. Producción de ácido sulfhídrico

La presencia de éste compuesto indica la capacidad del microorganismo para metabolizar aminoácidos que contienen azufre, produciendo en el medio una reacción visible de color negro, por formación de sulfuro ferroso insoluble. Esta prueba es también visualizada en el agar hierro de Kligler usado anteriormente, ya que el medio contiene tiosulfato de sodio y iones férricos, necesarios para hacer manifiesta la reacción, (12).

4. Detección de Ureasa

La enzima ureasa desdobla la urea formando dos moléculas de amoníaco, la presencia de iones amonio en el medio produce alcalinidad, lo que hace que vire el indicador del medio (rojo de fenol), de amarillo (pH ácido) a rosa (pH alcalino). Esta prueba pone de manifiesto la capacidad de un microorganismo de desdoblar la urea. El medio que se utiliza es agar urea de Christensen, sembrado por estría e incubado a 37°C, de 6 a 24 horas, (12).

5. Aprovechamiento de citrato

Se pretende ver si el microorganismo es capaz de utilizar el citrato como única fuente de carbono para su metabolismo; el indicador del medio (azul de bromotimol), vira de verde a azul al ascender el pH. Se usa el agar citrato de Simon's, sembrado por estría e incubado a 37°C, de 24 a 48 --

horas. Vira a pH alcalino, por la presencia de hidróxido de amonio, producto del desdoblamiento de las sales de amonio que contiene el medio, (12).

6. Utilización de Malonato

Se utiliza caldo malonato de Ewing, sembrado a 37°C, - de 24 a 48 horas. Determina la capacidad del microorganismo de utilizar el malonato de sodio como fuente de carbono y sulfato de amonio como fuente de nitrógeno. El compuesto que se produce es hidróxido de sodio, que vira el indicador - del medio, del original verde a azul, en pH alcalino, (12).

7. Descarboxilación de Aminoácidos

Prueba la capacidad enzimática de un microorganismo para descarboxilar un aminoácido y formar aminas y CO₂, los cuáles producen alcalinidad en el medio, provocando un vire en - el color original del indicador. Es necesario adicionar - al medio 1 ml. de vaselina estéril, con el objeto de proporcionar un estado de anaerobiosis que favorece que se efectúe la reacción anterior. Los medios que se utilizan son: base de Mueller adicionada de Lisina, Arginina u Ornitina, incubadas a 37°C, de 1 a 4 días, (12).

8. Producción de Indol

El indol es producto del metabolismo del triptófano en su última forma parte de los constituyentes del medio SIM. -

En consecuencia, ésta prueba sirve para determinar la capacidad del microorganismo para desdoblar el triptófano en indol. El SIM es sembrado por picadura y se incuba a 37°C, durante 24 horas.

El indol producido, se detecta por medio del reactivo de Kovac's (para-dimetil-amino benzaldehído), que forma un complejo rojo con el indol, (12).

9. Movilidad

Se emplea el medio SIM comunmente, sembrado por picadura e incubado a 37°C, durante 24 horas.

El medio especial de movilidad según Gilardi también permite ver la movilidad del microorganismo que se efectúa -- gracias a los flagelos (que pueden ser uno ó más); se incula por picadura e incuba a 30°C, durante 3 a 4 días. Este medio contiene menor cantidad de agar que el SIM, que lo hace -- más suave y eficaz, para detectar movilidad en microorganismos poca capacidad de movilización.

La interpretación es de dos formas: Móvil, cuando el microorganismo difunde de la línea de picadura hacia el medio y se ve turbidez, e Inmóvil, cuando el crecimiento es acen-- tuado a lo largo de la línea de picadura y el resto del medio permanece claro, (12).

10. Producción de Acetofina (M.R. - V.P.)

Determina la capacidad de algunos microorganismos para producir acetofina, como resultado de la fermentación de glucosa (prueba de Voges - Proskauer). El caldo M.R. - V.P. empleado, se incuba a 37°C, durante 24 a 48 horas. Para la detección de acetofina, se utilizan los reactivos de Barritt: alfa-naftol al 5% e hidróxido de potasio al 40%. La reacción ocurre dentro de 5 minutos y la producción de un color rojo indica que la prueba es positiva, (12).

11. Detección de la enzima Citocromo C Oxidasa

Se siguió el procedimiento Indirecto, en el cual se utiliza una cinta de papel filtro impregnada de reactivo de indofenol oxidasa, sobre el cual se deposita parte de una colonia (procurando que el asa no toque el papel, porque daría -- falsa positiva). El cambio de color, de rosa a negro, en la zona del papel que está en la periferia del inóculo, en el intervalo de 10 segundos, hace la prueba positiva. Después de éste tiempo se dan falsas positivas, pues el medio ambiente sobre todo, la luz, oxida el reactivo, (12).

12. Oxidación-Fermentación de Carbohidratos

Indica si un microorganismo utiliza o no un carbohidrato y si la vía por la que lo metaboliza es oxidativa o fermentativa. Se emplea el medio de oxidación-fermentación según Gilardi, C.N., adicionado del carbohidrato deseado al 10%

hasta tener una concentración final del 1%; se inocula por picadura, un par de tubos para cada carbohidrato, por microorganismo. Uno se deja abierto y el otro sellado con vaselina (de 1.0 a 2.0 ml.). Se incuba a 30°C, durante 3 a 4 días.

Un crecimiento con cambio de color del indicador del medio, de verde (inicial) a amarillo (ácido), sugiere que el carbohidrato se utiliza y se produce ácido en el medio.

Interpretación:

- 1) El microorganismo utiliza azúcares para metabolismo oxidativo cuando solamente el tubo abierto presenta reacción ácido, es decir, está amarillo, y, el tubo sellado permanece sin cambio de color (verde).
- 2) La formación de ácido (color amarillo) en ambos, abierto y sellado, indica que se efectúa reacción fermentativa.
- 3) Cuando ambos tubos permanecen sin cambio, significa que el microorganismo no utiliza los carbohidratos por éstos métodos.

Los azúcares utilizados en el presente trabajo fueron: glucosa, lactosa, maltosa, fructosa y manitol, (12).

13. Licuefacción de Gelatina

Muestra si un microorganismo es capaz de producir enzimas proteolíticas (gelatinasas), las cuales licúan la gelatina. Se inocula por picadura la gelatina nutritiva e incu-

ba a 30°C, por 3 a 4 días. Antes de interpretar los resultados, se debe enfriar al medio (20 minutos a 4°C), para evitar falsas positivas. La prueba es positiva, si el medio enfriado queda líquido, y es negativo si se solidifica, (12).

14. Reducción de Nitratos a Nitritos

Basada en la capacidad del microorganismo para reducir el nitrato de sodio a nitrito de sodio o hasta liberar nitrógeno gaseoso. El medio semisólido se inocular por picadura e incuba a 30°C, durante 3 a 4 días. Se adiciona 0.5 ml. de cada uno de los reactivos: A (alfa-naftil amina 0.5%) y B (ácido sulfanílico 0.8%). Un color rojo hace la prueba positiva, si el medio de control no inoculado es negativo. Las pruebas negativas son confirmadas por adición de polvo -- de zinc, para convertir el nitrato no reducido a nitrito. La reacción que se efectúa dentro del microorganismo parece tener relación con los sistemas citocromo, ya que hay evidencias de que el nitrato actúa como último oxidante en ellos, - (12).

15. Fenil alanina Desaminasa

Se fundamenta en la actividad enzimática del microorganismo para desaminar la fenil alanina y producir ácido fenilpirúvico. Sembrar por estría e incubar de 3 a 4 días a -- 30°C. Para detectar el ácido fenilpirúvico producido, se utilizan unas gotas de cloruro férrico al 10%, que actúa como

agente quelante; éste quelato, con el ácido fenil pirúvico, - forma un color verde, indicando prueba positiva, (12).

16. Pseudomonas P (Tech)

Medio para el aislamiento selectivo e identificación de Pseudomonas aeruginosa. Se inocular por estria el medio Pseudomonas P (Tech) e incuba a 37°C, por 24 a 48 horas. En él se promueve la producción del pigmento Píocianfina, el - cual se manifiesta por el crecimiento de colonias en el medio que dan una coloración verde-amarillenta. En caso de no - producirse el pigmento, se observa el crecimiento del microor- ganismo, pero sin desarrollo de color, (16).

17. Pseudomonas F (Flo)

El fundamento es muy semejante al anterior. La di- ferencia que existe, radica en que en éste medio se promueve la producción del pigmento Fluoresceína. El medio ----- Pseudomonas F (Flo), es estriado e incubado a 37°C, durante - 24 a 48 horas. En cuanto a la interpretación es muy simi- lar, si el microorganismo crece y desarrolla color en el me- dio, indica la presencia del pigmento, y en caso de crecer só- lamente sin pigmento, la prueba se considera negativa, (16).

18. MBM Acetato

En él se ve si el microorganismo es capaz de utilizar el acetato como única fuente de carbono. El medio sólido

inclinado se inocula por estría y se incuba a 30°C , de 3 a 4 días; la prueba es positiva, si el microorganismo se desarrolla en el medio, (15).

19. Agar SS

Permite ver si el microorganismo es inhibido por las sales biliares que contiene el medio. La caja de agar es inoculada por estría e incubada a 37°C , durante 24 horas. La prueba es positiva, con el crecimiento de colonias.

20. Crecimiento a 42°C

La temperatura, parametro que normalmente se controla para un óptimo crecimiento del microorganismo. En este caso ayuda a seleccionar ciertos Bacilos Gram Negativos No Fermentadores de Glucosa. Se incuba el agua peptonada a 42°C una vez inoculada, en baño María por 24 horas. Si el medio se encuentra turbio por el desarrollo, la prueba resulta positiva.

21. Cloruro de sodio 6.5%

Se trata de otra prueba selectiva, para ver si el microorganismo puede desarrollarse ante altas concentraciones de sales. La prueba se efectúa inoculando el medio e incubandose a 30°C , durante 3 a 4 días. Si existe turbidez será positiva.

c) **CARACTERIZACION BIOQUIMICA DE LOS BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES DE GLUCOSA.**

Las cepas procedentes de urocultivos, hemocultivos, farríngicos y diversos, que con ayuda de la morfología colonial o tinción de Gram y la bioquímica primaria (Kligler, SIM, urea, citrato de Simon's, malonato, LDC y caldo RM-VP), resultaron Bacilos Gram Negativos No Fermentadores de Glucosa, se reanalisaron para con ellos realizar:

- 1) La prueba de la Oxidasa.
- 2) Crecimiento en Mac Conkey a 35-37°C, por 18-24 horas.
- 3) A las cepas oxidasa positiva, que desarrollan en Mac Conkey, se les hacen las siguientes pruebas metabólicas: glucosa, lactosa, maltosa, fructosa y manitol en medio O-F; medio de movilidad de Gilardi, ureasa, prueba para reducción de nitratos, licuefacción de la gelatina, aprovechamiento de MEM-Acetato, utilización de fenil-alanina, crecimiento en cloruro de sodio 6.5%, crecimiento a 42°C, crecimiento en agar SS y Crecimiento en agar Pseudomonas F y P.
- 4) A las cepas oxidasa positiva, que no desarrollan en Mac Conkey, se les hacen las mismas pruebas metabólicas más la prueba de la catalasa, caldo indol y DNA-sa.
- 5) A las cepas oxidasa negativa, con desarrollo en Mac Conkey

se le hacen además de las establecidas en el punto (3) hidrólisis de esculina.

- 6) Las cepas oxidasa negativa, sin desarrollo en Mac Conkey se procesan igual que en el punto (3).
- 7) Se hacen las lecturas después del tiempo indicado y se identificarán según las tablas 1 y 2, 3, 4 y 5, respectivamente para los puntos 3, 4, 5 y 6.

d) DILUCION SERIADA EN PLACA DE AGAR.

El método in vitro, seleccionado para conocer el comportamiento de los microorganismos ante 14 sustancias antimicrobianas, en 15 diferentes concentraciones, fué el de dilución seriada en placa (Ericson, H.M. and Sherris, J.C.).

- Los antimicrobianos usados fueron: Ampicilina, penicilina, carbenicilina, amikacina, kanamicina, gentamicina, sisomicina, tobramicina, cloranfenicol, colimicina, cefoxitina, cefazolina, cefalexina y cefalotina.
- Se pesan los antimicrobianos en polvo, estandares primarios o secundarios, considerando su potencia o actividad biológica de tal manera que al diluir todos con agua estéril y destilada (a excepción del cloranfenicol, que se diluye con metanol puro), se obtenga una solución madre de penicilina, ampicilina y carbenicilina de 10 000 ug/ml. y

IDENTIFICACION DE <i>STREPTOCOCCUS</i> DE GRUPO	Reactivos en Reactivo																				
	Reactivos en Reactivo	Reactivos	Reactivos	Agar Reactivos P	Agar Reactivos P	Reactivos a 45° C	OP Reactivos	OP Reactivos	OP Reactivos	OP Reactivos	OP Reactivos	Reactivos	Reactivos	Reactivos de nitroto a gas	Reactivos de urea	Reactivos de urea	Reactivos de urea	Reactivos de urea	Reactivos de urea		
<i>Streptococcus grupo W-1</i>	100	100	00			00	100	00	00	100	00	100	2	100	100	100	100	64	00	00	100
<i>Streptococcus plottii</i>	100	100	00			00	100	00	00	100	00	100	1	100	100	100	41	100	00	36	00
<i>Streptococcus conditans</i>	100	100	00			100	100	00	00	100	00	100	1	100	100	30	30	100	100	00	03
<i>Streptococcus pyogenes</i>	100	100	00			04	(100)	00	00	05	00	100	2	99	64	00	01	99	00	00	42
<i>Streptococcus aerogenes</i>	99	100	70	• •		100	97	00	04	90	00	96	1	42	50	73	04	96	09	40	00
<i>Streptococcus putidus</i>	100	100	00	- •		00	100	14	21	99	20	100	31	00	00	47	00	100	10	00	97
<i>Streptococcus fluorescens</i>	100	100	94	- •		00	100	14	20	90	92	99	31	20	09	30	01	100	00	100	97
<i>Streptococcus proteolyticus (L₂ •)</i>	100	100	00	- •		91	00	00	33	00	00	100	1	100	00	00	00	100	00	100	00
<i>Streptococcus vesicularis</i>	20	100	00			00	20	00	00	09	00	97	1	03	00	00	00	00	00	50	00
<i>Streptococcus grupo W-2</i>	100	100	00			17	100	00	100	100	100	100	2	100	100	100	100	03	00	00	100
<i>Streptococcus citreus</i>	100	100	00	• •		90	100	00	100	93	07	100	1	70	100	14	42	100	100	01	79
<i>Flavobacterium breve</i>	33	100	100			00	00	00	100	00	00	00	0	00	00	33	00	00	00	100	00
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	39	100	100			00	100	00	100	100	100	00	0	00	00	09	00	00	00	100	00
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	100	100				20	100	100	100	100	100	100	2	100	00	100	100	100	03	00	27
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100	100	00			100	100	100	100	100	100	100	2	00	100	43	00	100	00	100	00
Grupo W-1	99	100	00			19	100	100	100	100	00	100	1	90	09	100	09	100	00	100	00
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	01	90	00			00	100	100	100	100	00	07	1	00	00	00	20	100	00	00	00
<i>Streptococcus agalae</i>	93	09	31	• •		20	100	90	90	100	100	100	2	31	00	43	01	99	00	75	10
<i>Streptococcus mitis</i>	100	00	00	• •		20	100	00	100	99	00	100	2	40	00	00	00	04	00	100	00
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	13	100	100			00	100	100	100	100	00	00	0	07	00	100	07	00	00	00	00

Los valores indican porcentajes de positividad, excepto para flagelos que se trata de número. Los cuadros en blanco significan que no hay valor reportado

a - Diferentes porcentajes de positividad Encontrados () - Reaccion tardía P - Peritrico W - Débil

Desarrollo en Nos Comany
Quetzales

Tabla # 2

	Desarrollo en Nos Comany	Quetzales	Alajuela	Guatemala e Islas	El Quiché	El Peten	El Salva-	El Progreso	GP Montebal	Escuintla	Flageles	Inducción de ultrason e ultrason	Reacción de ultrason e gas	Aprovechamiento de Citrato	Indicador de urea	Posibilidad de crecimiento	Desarrollo en 100-1000	Crecimiento en NaCl 6.5%	Desarrollo en medio 08	Indicador de Galactosa
<i>Pseudomonas pseudotuberculosis</i>	04	100	00	70	00	00	10	100	00	04	1	00	02		00	14	00	02	71	00
<i>Serratia bronchiseptica</i>	100	100	00	07	00	00	00	00	00	100	7	100	00		100	27	00	00	100	00
Grupo IV-2	00	100	00	04	00	00	00	00	00	100	7	00	00		100	00	100	00	00	00
<i>Aeromonas faecalis</i>	04	100	00	00	00	00	00	00	00	100	7	01	00	00	00	13	70	00	04	00
<i>Aeromonas caviae</i>	100	100	00	70	00	00	00	00	00	100	7	00	00		00	00	100	100	00	07
<i>Aeromonas demeritiformis</i>	100	100	00	20	00	00	00	00	00	100	7	100	100		34	00	71	00	30	00
<i>Pseudomonas acidovorans</i>	00	100	00	11	00	00	00	100	07	100	>1	00	00		00	02	100	00	07	02
Grupo IV	70	100	00	00	00	00	00	00	00	00	>1	100	100		100	100	00	00	00	00
<i>Pseudomonas testosteronei</i>	70	100	00	33	00	00	00	00	00	100	>1	00	00		00	00	36	00	11	00
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	100	100	00	00	00	00	00	00	00	100	1	04	00		23	22	00	13	10	02
<i>Pseudomonas diazotica</i>	07	100	00	22	00	00	00	00	00	100	1	03	00		00	03	00	00	00	30
<i>Flavobacterium odoratum</i>	100	100	00	00	00	00	00	00	00	00	0	00	00		100	70	00	00	00	100
<i>Serratia olsonensis</i>	43	100	00	43	00	00	00	00	00	00	0	17	00		00	00	100	00	00	00
<i>Serratia phenylpyruvica</i>	100	100	00	00	00	00	00	00	00	00	0	03	00		100	100	00	00	00	00
<i>Serratia atlantica</i>	100	100	00	00	00	00	00	00	00	00	0	00	00		00	00	00	00	00	00
<i>Serratia nonliquefaciens</i>	20	100	00	22	00	00	00	00	00	00	0	00	00		07	00	00	00	00	00
<i>Serratia urethralis</i>	100	100	00	100	00	00	00	00	00	00	0	00	00	100	00	100	100	00	00	00
Grupo N-3 (Catalasa 100)	33	100	00	100	00	00	00	00	00	00	0	00	00		00	00	00	00	00	00
Grupo N-6 (Catalasa 00)	00	100	00		00	00	00	00	00	00	0	00	00		00	00	00	00	00	00

Los valores indican porcentajes de positividad, excepto para flagelos que se trata de número. Los Cuadros en blanco significan que no hay valor reportado.

P = Peritrico

SE CLASIFICA Bacterias en las Cintas Evidencias Tabla 0 3	Bacterias en las Cintas																	
	Quilones	Poligono	CF blancos	CF azules	CF verdes	CF amarillos	CF rosas	CF morados	Intactas	Flagelos	Indicador alcalinos e ácidos	Múltiples de tipo	Bacterias en microscopio	Múltiples de gram	Múltiples de DNA	Rebel	Catolico	Condición a 42° C
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	75	100	00	00	00	00	100	00	100	1	75	100	00	00	00			
Grupo IV-a	00	100	00	00	00	00	00	00	100	P	00	100	100	00	00			
<i>Pseudomonas bacteroides</i>	70	100	00	00	00	00	00	00	100	>1	00	00	14	00	00			
Grupo IV-b	70	100	00	00	00	00	00	00	00	>1 01	100	100	00	00	00			
<i>Neisseria lactamica</i>	00	100	00	00	00	00	00	00	00	0	100	00	00	100	00			
<i>Neisseria meningitidis</i>	20	100	00	00	00	00	00	00	00	0	00	07	00	00	00	00	00	
<i>Neisseria meningitidis</i>	43	100	00	00	00	00	00	00	00	0	17	00	100	00	00	00		
Grupo II-d	33	100	00	00	00	00	00	00	00	0	00	00	00	00	00	00	100	100
Grupo II-d	50	100	00	00	00	00	00	00	00	0	00	00	00	00	00	00	00	00
<i>Flavobacterium sp</i>	00	100		00	00	00	00	00	00	0	00	00	00	100	00	100		
Grupo II F	00	100	100	00	00	00	00	00	00	0	00	00	100	100	04	100		
Grupo II J	00	100	04	00	00	00	00	00	00	0	00	100	00	100	00	100		
<i>Staphylococcus aureus</i>	00	100	100	00	00	00	00	00	00	0	90	00		00		00	W 00	
<i>Pseudomonas vesicularis</i>	26	100	00	v 32	00	v 42	00	00	07	1	03	00	00	50	00	00	00	00
<i>Flavobacterium hevea</i>	33	100	100	00	00	100	00	00	00	0	00	33	00	100	100	100		
<i>Flavobacterium sp grupo II B</i>	00	100	100	100	00	100	00	13	00	0	17	14	00	99	04	100		
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	35	100	100	100	00	100	100	100	00	0	00	05	00	100	100	100		
<i>Flavobacterium multivorum</i>	13	100	70	100	100	100	100	00	00	0	07	100	00	00	00	00		
<i>Pseudomonas putillabilis</i>	01	02	00	100	100	100	100	00	07	1	00	00	100	00	00	00		

Los valores indican porcentajes de positividad, excepto para flagelos que se trata de número. Los Cuadros en blanco significan que no hay valor reportado.

W = Amarillo

P = Pétrico

W = Débil

MICROORGANISMOS NO FERMENTADORES DE GLUCOSA Desarrollo en Mac Conkey + Oxidasa - Tabla # 4	Desarrollo en Mac Conkey	Oxidasa	Hemólisis	CF Glucosa	CF Lactosa	CF Maltosa	CF Fructosa	CF Mucitol	Hidrólisis de Esculina	Hidrólisis de Gelatina	Movilidad	Flagelos
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> biotipo Iwoffii	100	00		00	00	00				00	00	NO
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> biotipo alcaligena	100	00		00	00	00				100	00	NO
Grupo VE-2	100	00		100	00	96			00		100	1
Grupo VE-1	100	00		100	00	100			100		100	>1
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> biotipo haemolyticus	99	00	100	100	93	63	00			97	00	NO
<i>Pseudomonas cepacia</i>	93	89		100	98	96	100	100		73	99	>1
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> biotipo anitratus	100	00	00	100	100	87	00			00	00	NO
<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	01	92		100	100	100	100	00		00	87	1
MICROORGANISMOS NO FERMENTADORES DE GLUCOSA Desarrollo en Mac Conkey - Oxidasa - Tabla # 5	Desarrollo en Mac Conkey	Oxidasa	CF Glucosa	CF Lactosa	CF Maltosa	CF Mucitol	Hidrólisis de Gelatina	Hidrólisis de urea	Desarrollo en KIM-Acetato	Indol	Movilidad	Flagelos
<i>Pseudomonas cepacia</i>	95	91	100	97	97	100	75	45	95	00	99	1
<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	04	93	100	100	100	00	00	00	100	00	87	1

Los valores indican porcentajes de positividad, excepto para flagelos que se trata de numero. Los cuadros en blanco significan que no hay valor reportado.

del resto de 1 000 ug/ml.

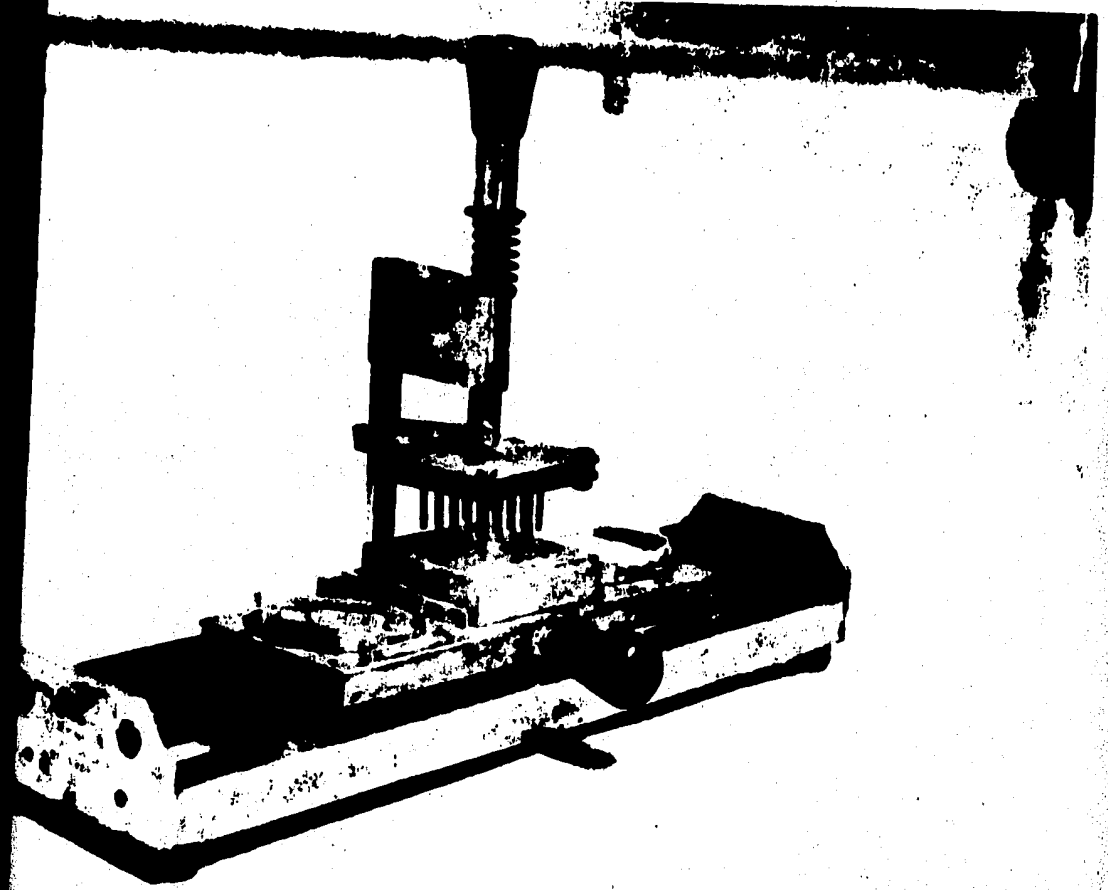
- De éstas soluciones madre, se obtienen otras tres dilu---
ciones 1:10, para finalmente tener solución madre de ---
10 000 ug/ml, S-I de 1 000 ug/ml, S-II de 100 ug/ml y --
S-III de 10 ug/ml; por otro lado solución madre de 1 000
ug/ml, S-I de 100 ug/ml, S-II de 10 ug/ml y S-III de 1.0
ug/ml, de los respectivos antimicrobianos, con éstas se -
prepararon las cajas a determinadas concentraciones.
- Las concentraciones seleccionadas para probar, fueron: de
penicilina, ampicilina y carbenicilina 0.037, 0.075, ---
0.151, 0.312, 0.625, 1.25, 2.5, 5.0, 10, 20, 30, 40, 50,
250 y 500 mg/ml; para cloranfenicol, amikacina, kanamici-
na, gentamicina, sisomicina, tobramicina, colimicina, ce-
falotina, cefasolina, cefoxitina, cefalexina 0.0045, ----
0.0090, 0.0190, 0.0390, 0.0780, 0.156, 0.352, 0.625, 1.25,
2.5, 5.0, 10, 20, 30 y 40 mg/ml.
- Para conseguir tales concentraciones, se prepararon cajas
de Petri con el agar MÜeller-Hinton, con las diluciones -
correspondientes del antimicrobiano, en volúmenes de 20 -
ml. por caja.
- Las cepas por probar se inocularon en agua peptonada al -
1% e incubaron a 37^oC, durante 2 a 4 horas, a fin de te--
ner los microorganismos en fase logarítmica de crecimien-

to (método de Bauer-Kirby).

- La densidad del cultivo se estandarizó con el método de -
Mc Farland, a tener 1×10^8 bacterias, usando solución sa-
lina estéril como diluyente.
- Se inocularon las cepas en las placas de agar con ayuda -
de un replicador tipo Steers, el cual se muestra en la fi-
gura 1 (F-1) y se incubaron a 37°C , por 18 horas.
- Una vez transcurrido el tiempo, se hacen las lecturas.
Se consideró la cepa "Resistente" a esa concentración, --
cuando crece más del 50% y "Susceptible", a la concentra-
ción en la que se encuentra menos del 50% de crecimiento
o ausencia completa de él.
- Las cepas se conservaron en medio de Kligler, con pases -
sucesivos por semana y al mes en agar nutritivo

e) ANALISIS ESTADISTICO.

Los resultados observados fueron utilizados para proce-
sar un análisis desde el punto de vista estadístico. Jun-
to con ellos se decidió tomar otras variables al azar como --
son: tipo de cepa, origen (hospitalizados o no hospitaliza-
dos), sexo, y flora mixta.



F-1 Replicador tipo Steers

Con ésto se complica el análisis estadístico aplicado en vista de la presencia de variables cualitativas, entonces, se optó por un análisis multivariado para datos discretos o sea el modelo log-lineal, puesto que el análisis de varianza (que generalmente se usa), únicamente sirve cuando las variables por considerar son cuantitativas.

El modelo log-lineal, nos dará primero el término o -- términos que influyan estadísticamente en la respuesta. Y posteriormente nos dirá de que forma influye.

CAPITULO IV
RESULTADOS
Y DISCUSION

1. PROPORCION DE AISLAMIENOS.

De las 158 cepas recuperadas como Bacilos Gram Negativos No Fermentadores de Glucosa durante éste período, 149 -- (94.3%) se identificaron como Pseudomonas aeruginosa y las 9 (5.7%) restantes fueron clasificadas como "diferentes a ----- Pseudomonas aeruginosa" entre ellas se encontraron:

2 Pseudomonas paucimobilis, 2 Achromobacter xylooxidans, -
1 Pseudomonas mendocina, 1 Alcaligenes faecalis,
1 Alcaligenes denitrificans, 1 Pseudomonas fluorescens, y
1 Pseudomonas cepacia.

2. SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS.

Los datos sobre la susceptibilidad a 14 diferentes antimicrobianos más usados en la clínica en el "C.H. 20 de Noviembre" I.S.S.S.T.E., para los dos grupos se dispusieron respectivamente en las tablas 6 y 7 en porcentajes de frecuencia.

En la tabla 6 , lo más notable es, la efectividad de -

ANTIBIOTICO CONC. en ug/ml	0.0015	0.0090	0.190	0.0390	0.0780	0.156	0.352	0.625	1.25	2.5	5.0	10	20	30	40	*Free/acum.
TORSEMICINA	0	0	0	0	0	4.0	10.8	10.8	<u>19.6</u>	7.5	8.7	2.1	0	0	3.3	66.8
SISOMICINA	0	0	0	0	0	0.67	6.03	8.0	<u>18.1</u>	12.1	5.4	2.0	5.4	4.0	2.0	63.7
COLIMICINA	0	0	0	0	0	0	0	0	<u>27.3</u>	<u>54.2</u>	14.3	3.5	0	0	0	99.3
KANAMICINA	0	0	0	0	0	0	0	0	0.60	0	0	0	2.02	2.7	2.8	8.2
GENTAMICINA	0	0	0	0	0	0	0	4.0	<u>16.8</u>	4.0	<u>14.7</u>	8.1	1.3	0.7	3.4	53.0
AMIKACINA	0	0	0	0	0	0	0	2.0	6.1	21.6	<u>24.3</u>	12.8	16.2	6.1	2.1	91.2
GLOXIFENICOL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.67	5.33	<u>3.8</u>	4.0	15.4
CEFOXITINA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CEFALEXINA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CEFAZOLINA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CEFALOTINA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.037	0.075	0.151	0.312	0.625	1.25	2.5	5.0	10	20	30	40	50	250	500	
AMPICILINA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6.0	4.7	10.7
PENICILINA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CARBENICILINA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4.6	7.4	2.7	0	7.9	13.6	36.2

% DE FRECUENCIA DE SUCESIBILIDAD

TABLA 6. Susceptibilidad de 149 cepas de Pseudomonas aeruginosa a 14 diferentes antimicrobianos más usados en la clínica en el C. H. 20 de Noviembre, expresada en Porcentajes (%) de frecuencia.

NOTA. Los datos que se encuentran enmarcados indican las frecuencias más altas.

*Free/acum. = Frecuencia Acumulada.

ANTIBIOTICO CONE. EN ug/ml.	"Frec/acum"															
	0.0045	0.0090	0.0190	0.0390	0.0780	0.156	0.312	0.625	1.25	2.5	5.0	10	20	30	40	
TORRANICINA	0	0	0	0	0	0	0	22.2	11.1	22.2	0	0	0	0	11.1	66.6
SISONICINA	0	0	0	0	0	0	0	0	11.1	22.2	0	0	22.2	0	11.1	66.6
COLIMICINA	0	0	0	0	0	0	0	11.1	33.3	44.4	11.1	0	0	0	0	99.9
KANAMICINA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GENTAMICINA	0	0	0	0	0	0	0	11.1	11.1	11.1	0	33.3	0	0	11.1	77.7
AMIKACINA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11.1	22.2	22.2	11.1	0	11.1	77.7
CLOXANFENICOL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11.1	11.1	22.2
CEFOXITINA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CEFANELINA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CEFAZOLINA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CEFALOTINA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.037	0.075	0.151	0.312	0.625	1.25	2.5	5.0	10	20	30	40	50	250	500	
AMPICILINA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PENICILINA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CARBENICILINA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33.3	33.3

% DE FRECUENCIA DE SUCCEPTIBILIDAD

TABLA 7. Suceptibilidad de 9 cepas de Bacilos Gram Negativos No - Fermentados diferentes de Pseudomonas aeruginosa a los mismos antimicrobianos expresada en Porcentajes (%) de frecuencia.

"Frec/acum.- Frecuencia Acumulada.

Amikacina y Colimicina para combatir entre el 91.2 y 99.3% - respectivamente de las Pseudomonas aeruginosa aisladas a las mayores dosis terapéuticas. Por lo que respecta a las concentraciones de mayor efectividad observadas son: para Tobramicina, Sisomicina, y Gentamicina 1.25 ug/ml, Colimicina 2.5 ug/ml., Gentamicina y Amikacina 5.0 ug/ml., para Kanamicina el rango de 20-40 ug/ml y para el Cloranfenicol de 20-30 --- ug/ml. Llama la atención el comportamiento de las bacterias ante la Gentamicina que parece ser efectiva a 2 concentraciones diferentes.

En la tabla 7 en donde están agrupados los Bacilos -- Gram Negativos No Fermentadores "diferentes a Pseudomonas aeruginosa" se puede observar que los antimicrobianos más efectivos a las mayores dosis terapéuticas son: Amikacina, Gentamicina y Colimicina que combaten a éstos microorganismos en 77.7, 77.7 y 99.9 % respectivamente. Con -- respecto a las concentraciones efectivas observadas es difícil establecer una jerarquía porque se presenta la misma frecuencia en diferentes concentraciones; se pudo visualizar mejor en el caso de Colimicina con un rango de 1.25-2.5 ug/ml.

3. DISCUSION

En el análisis estadístico, se ve afectada la respues-

ta de Hospitalizados y de no Hospitalizados, por tener diferente modelo ajustado.

Para Hospitalizados se encontro que las interacciones - Antimicrobiano-Concentracion y Sexo-Flora, estadísticamente - influyen la respuesta.

Para No Hospitalizados las interacciones Antimicrobiano Sexo-Flora y Antimicrobiano-Concentración influyen la respuesta.

Para Hospitalizados y No Hospitalizados probados a Penicilina, Carbenicilina y Ampicilina, el término significativo estadísticamente fue Sexo-Origen-Flora.

De todos estos resultados y para nuestros propósitos - solo se tomaron en cuenta para Hospitalizados y No Hospitalizados la interacción significativa Antimicrobiano-Concentración.

Analizando las tablas 6 y 7 de susceptibilidad se nota una considerable tendencia a la resistencia en estos Bacilos Gram Negativos No Fermentadores de Glucosa diferentes "diferentes de Pseudomonas aeruginosa" que depende sobre todo de - la concentración del Antimicrobiano usada.

Es muy notoria la resistencia que se nota en las Pseudomonas aeruginosa a los Aminoglucósidos, tan usuales en el tratamiento de Pseudomonas en general. Los porcentajes acumulados indican resistencia a Gentamicina en un 47 %, a Kanamicina en un 91.8 % a Tobramicina y Sisomicina en un 43.2 %.

Estos datos son aún más dramáticos tomando en cuenta las concentraciones que se logran a nivel plasmático y tisular.

Analizando la tabla 7 se puede resaltar:

- Que sacando frecuencia acumulada de susceptibilidad hasta el nivel del Antimicrobiano que se logra en plasma a dosis habituales se tiene:

% de Frecuencia de Susceptibilidad a:

Gentamicina 33.3

Tobramicina 55.5

Sisomicina 33.3

Kanamicina 0.0

Amikacina 66.6

Con la cual la tendencia hacia la resistencia a los antimicrobianos es muy elevada.

CAPITULO V

CONCLUSIONES

- 1.- La proporción de Bacilos Gram Negativos No Fermentadores de Glucosa que se aislan de Consulta Externa y Hospitalización en el "C.H. 20 de Noviembre" I.S.S.S.T.E., en relación al resto de microorganismos es del 5 %, predominando considerablemente los aislamientos de Pseudomonas sobre otros microorganismos Bacilos Gram Negativos No Fermentadores de Glucosa en una proporción de 94 % a 6 %.
- 2.- Desde el punto de vista de identificación quizá no sea de demasiado grave el problema de no contar con recursos que permitan el reconocimiento bioquímico preciso de género y especie, dado que la frecuencia de aislamiento es tan baja.
- 3.- Prácticamente el único antimicrobiano que ofrece mejor perspectiva es Colimicina (en los 9 Bacilos Gram Negativos No Fermentadores de Glucosa "diferentes a Pseudomonas aeruginosa" estudiados) y Colimicina y Amikacina en Pseudomonas aeruginosa.
- 4.- Aunque en pocos casos, la confusión en la identificación puede acarrear errores serios en el establecimiento de la

terapéutica, los Bacilos Gram Negativos No Fermentadores de Glucosa en general siguen siendo un grave problema de infecciones intra y extrahospitalarias y es muy importante su adecuada identificación para tener mejor información epidemiológica al respecto.

5.- Parece ser necesario combinar antimicrobianos para conseguir mejores resultados terapéuticos.

6.- No es fácil interpretar los datos arrojados por el análisis estadístico en cuanto a las interacciones diferentes de Antimicrobiano-Concentración pues solo dice que son estadísticamente significativas. Por lo que se sugiere hacer un Análisis de Residuales más detallado para determinar la naturaleza de tales influencias.

B I B L I O G R A F I A

1. BRINSER, J.H. & TORAZYNSKI, E. (1977) "Unusual Pseudomonas corneal ulcers." Am. J. Ophthalmol. 84 (4): 462-466.
2. BURNS, M.W. (1974) "Indirect pathogenicity of gram negative bacilli in the bronchi; the value of -- collistin aerosol". Br. J. Dis. Chest. 68 (2): 95-102.
3. CLARKE, PATRICIA H. (1975) Genetics and biochemistry of Pseudomonas. John Wiley & Sons Lid, Great Britain.
4. EPSTEIN, J.W. and GROSSMAN, A.B. (1933) "Bacillus pyocyaneus in children." Am. J. Dis. Childhood 46 : 132-147.
5. GARDNER, P.; GRIFFIN, W.B.; SWARTZ, M.M. and KUNZ, L.J. - (1970) "Non fermentative Gram-negative Bacilli of Nosocomial Interest." Am. J. Méd. 48 : 735-749.
6. GOODMAN, L.S. and GILMAN, ALFRED. (1979) Bases Farmacológicas de la terapéutica, 5a. Edición, Ed. In teramericana, México D.F.

7. HANSEN, K.D. and MEYER, R.F. (1980) "Amikacin treatment of Pseudomonas-caused corneal ulcer." Arch. Ophthalmol. 98 (11): 1991-1992.
8. HILL, J.J.; GUZMAN, A.L.; LOPEZ, A.L. y ESCARZAGA, E. -- (1972) "Tipificación piocínica y susceptibilidad a los antimicrobianos de Pseudomonas aeruginosa en tres hospitales de la ciudad de México." Rev. Lat--- Amer. Microbiol. 14 ; 127-135.
9. HODGES, G.R. and PERKINS, R.L. (1973) "Carbenicillin indanyl sodium oral therapy of urinary tract infections." Arch. Intern. Med. 131 (5): 679-681.
10. HOPHERR, L.; VOTAVA, H. and BLAZEVIC, D. (1978) "Comparison of three methods for identifying -- nonfermenting gram-negative rods." Can. J. Microbiol. 24 , 1140-1144.
11. JAWETZ, E.; MELNICK, J. and ADELBERG, E. (1975) Manual de Microbiología Médica, 11a Edición, Ed. El Manual Moderno, México D.F.
12. JOAN, F. MAC FADDIN (1980) Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria, 2th Edition, Ed. Williams and Wilkins, Baltimore/London

13. JOHN, J.F.Jr.; RUBENS, C.E. and FARRAR, W.E.Jr. (1980) ---
"Characteristics of gentamicin resistance
in nosocomial infections." Am. J. Med.Sci.
279 (1) : 25-30.
14. KING, J.D.; FARMER, T.; READING, C. and SUTHERLAND, R. ---
(1980) "Sensitivity to carbenicillin and -
ticarcillin, and the beta-lactamases of ---
Pseudomonas aeruginosa in the UK in 1978 -
1979." J. Clin. Pathol. 33 (3):297-301.
15. KONEMAN, ALLEN, DOWELL & SOMMERS. (1979) Color Atlas and
Textbook of Diagnostic Microbiology, Ed. -
Lippincott Company, U.S.A.
16. LENNETTE, E.H.; BALOWS, A.; HAUSLER, W.H. and TRUANT, J.P.
(1980) Manual of Clinical Microbiology,
3th Edition, Ed. American Society for Mi--
crobiology, U.S.A.
17. MALCOLM, M. and STANLEY, M.D. (1947) "Bacillus Pyoceaneus
Infections." A Review, Report of cases and
discussion of newer therapy including ---
Streptomycin. Am. J. Med. 2, 253-347.
18. MC. MILLAN, S.A. (1972) "Bacteremia of elderly woman in hos-
pital: occurrence and drug resistance."
Lancet 2 (775) : 452-455.

19. MOELLERING, R.C.Jr.; WENNERSTEN, C. and KUNZ, L.J. (1976)
"Emergence of gentamicin-resistant bacteria: experience with tobramycin therapy - of infections due to gentamicin-resistant organisms." J. Infect. Dis. 134 Suppl:-- 540-549.
20. MOODY, M.M.; de JONGH, C.A.; SCHIMPF, B.C. and TILLMAN, - G.L. (1982) "Long-term amikacin use. Effects on aminoglycoside susceptibility patterns on gram-negative bacilli." (1982) J.A.M.A. 248 (10) : 1199-1202.
21. NEU, H.C. (1976) "Tobramycin: an overview." J. Infect. Dis. 134 Suppl (0) : S3 - S19.
22. NOONE PAUL and SHAFI, M.S. (1973) "Controlling Infection - in a district general hospital." J. Clin. Path. 26, 140-145.
23. NORDEN, C.W. and KELETI, E. (1980) "Experimental osteomyelitis caused by Pseudomonas aeruginosa." J. Infect. Dis. 141 (1) : 71-75.
24. RICHMOND, A.S.; SIMBERKOFF, M.S.; RAHAL, J.J.Jr. and SCHAEFLER, S. (1975) "R factors in gentamicin--resistant organisms causing hospital infection." Lancet 2 (7946) : 1176-1178.

25. RIFF, L.J. and JACKSON, G.G. (1972) "Laboratory and clinical conditions for gentamicin inactivation by carbenicillin." Arch. Intern. Méd. 130 (6) : 887-891.
26. SAOJI, A.M. and KELKAR, S.S. (1981) "Preliminary report on beta-lactamase isoenzymes of clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa and carbenicillin-resistance." Indian. J. Med. Res. 73 : 503-509.
27. SINCLAIR, M.I.; ASCHE, V.; MORGAN, A.F. and HOLLAWAY, B.W. (1981) "Plasmid-determined tobramycin and gentamicin resistance in strains of ----- Pseudomonas aeruginosa from two Sydney hospitals." Med. J. Aust. 2 (6) ; 283-286.
28. SLOTNICK, I.J.; HALL, J. and SACKS. H. (1979) "Septicemia caused by Pseudomonas paucimobilis." Am. J. Clin. Pathol. 72 (5) : 882-884.
29. SULIMAN, S.F. (1975) "letter: Colistin sensitivity testing" Lancet 1 (7901) : 277-278.
30. TALLY, F.P.; LOUIE, T.J.; O'KEEFE, P.; GORBACH, S.L. and BARTLETT, J.G. (1976) "Amikacin therapy -- for severe gram-negative sepsis: efficacy in infections involving gentamicin-resistant organisms." J. Infect. Dis. 134 Suppl 5428-5432.

31. UWAYDAM, M. and TAGI-EDDIN, A.R. (1976) "Susceptibility of nonfermentative Gram-negative bacilli to tobramycin." J. Infect. Dis. 134 Suppl : 528-532.
32. WEINSTEIN, M.J. (1973) "The microbiology of gentamicin resistance." Acta Pathol. Microbiol. Scand. (B) ; Suppl 241 : 99-101.
33. YU, V.L.; RHAME, F.S.; PESANTI, E.L. and AXLINE, S.G. --- (1977) "Amikacin therapy. Use against infections caused by gentamicin and tobramycin-resistant organisms." J.A.M.A. 238 (9) : 943-947.