

87012720
24

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



FALLA DE ORIGEN

**ENTEROBACTERIAS ANTIBIOTICO RESISTENTES EN
EL AGUA POTABLE DE DIFERENTES ZONAS DE
GUADALAJARA Y ZAPOPAN**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

GABRIEL RAYMUNDO REYES ZENTENO

Asesor: Q. F. B. Ma. del Socorro Pulido G.

Guadalajara, Jalisco. Octubre 1990



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

	Página
1.- INTRODUCCION -----	1
2.- POTABILIZACION DEL AGUA -----	4
2.1.- Captación, conducción y potabilización del agua para la zona metropolitana de Guadala jara y Zapopan -----	5
2.2.- Esquema de la potabilizadora de Guadalajara -	9
3.- BACILOS GRAMNEGATIVOS FERMENTADORES (ENTEROBACTERIAS)-	11
3.1.- Generalidades de las Enterobacterias -----	13
3.2.- Aspectos generales de Coliformes -----	22
3.3.- Echerichia coli -----	23
3.4.- Klebsiella -----	24
3.5.- Shigella -----	25
3.6.- Enterobacter -----	26
3.7.- Serratia -----	27
3.8.- Citrobacter -----	28
3.9.- Proteus -----	29
3.10.- Providencia -----	30
3.11.- Salmonella -----	31
3.12.- Otras bacterias no fermentadoras (Pseudomonas)-	33
3.13.- Alcaligenes -----	36
4.- MEDIOS DE CULTIVO SELECTIVOS Y DIFERENCIALES -----	37
4.1.- Agar bilis verde brillante -----	38
4.2.- Agar Desoxicolato citrato -----	38
4.3.- Agar de Endo -----	39

4.4.- Agar de MacConkey -----	40
5.- MEDIOS BIOQUIMICOS PARA LA IDENTIFICACION (ENTE- ROBACTERIAS) -----	41
5.1.- Agar Hierro de Kligler -----	42
5.2.- Prueba de agar Citrato de Simmons -----	44
5.3.- Agar Lisina Hierro -----	46
5.4.- Reacción del agar o caldo de Urea -----	47
5.5.- Medio semisólido de S I M -----	48
5.6.- Caldo rojo de Metilo -----	51
5.7.- Reacción Voges - Proskauer -----	53
6.- ANTIBIOTICOS UTILIZADOS -----	57
6.1.- Cloránfenicol -----	58
6.2.- Kanamicina -----	59
6.3.- Ampicilina -----	61
7.- GENERALIDADES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA -----	64
7.1.- Resistencia a los medicamentos antimicro- bianos -----	65
7.2.- Origen de la resistencia a los medicamentos -	67
8.- MATERIAL Y METODOS -----	73
8.1.- Material utilizado -----	74
8.2.- Obtención de las cepas a utilizar -----	74
8.3.- Preparación del neutralizador de cloro y utilización de éste -----	75
8.4.- Preparación de los medios de cultivo sensi- bilizados con antibióticos -----	76
8.5.- Diagrama de flujo -----	79

9.- RESULTADOS -----	80
10.- CONCLUSIONES -----	84
11.- BIBLIOGRAFIA -----	86

1.- INTRODUCCION

En el transcurso de las décadas, la ciencia ha procurado buscar medicamentos, que sean afines al organismo y a su vez tiendan a ser más eficaces en el tratamiento de diversas patologías.

El uso extensivo de los antibióticos, así como su mal empleo han provocado cierta resistencia microbiana a los antibióticos, lo cual ha obligado a los laboratorios a realizar investigaciones teniendo que demostrar que hay bacterias que al multiplicarse siendo estas resistentes a algunos antibióticos, transfieren su resistencia a bacterias no resistentes por medio del factor R de transferencia cuando se multiplican (MAR).

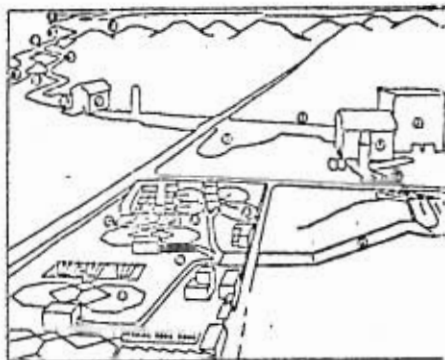
Esto representa un serio problema para el control de las enfermedades entéricas y diarréicas en nuestro país, ya que ocupa uno de los más altos índices de enfermedad dentro de la salud pública.

En trabajos de investigación tanto nacionales como internacionales realizados "in vitro" demuestran el incremento del número de bacterias antibiótico resistentes, así como el aumento hacia el número de antibióticos a los que son resistentes.

La orientación principal de esta investigación tiene como finalidad principal encontrar que bacterias antibiótico resistentes a tres de los antibióticos utilizados comunemente para que sea tomado en cuenta en los tratamientos de las enfermedades hídricas y entéricas que se presentan actualmente y que son importantes para la salud pública e higiene.

2.- POTABILIZACION DEL AGUA

2.1.- Captación, conducción y potabilización del agua para la zona metropolitana de Gaudalajara y Zapopan



En el esquema, se trata de representar en forma simplificada, los pasos que se tiene que dar para abastecer de agua potable la zona Metropolitana de Guadalajara.

El 80% del agua que actualmente se utiliza proviene del río Lerma (1), que nace en los manantiales de Amoloya en el estado de México, atravesando los Estados de Guanajuato, Michoacán y Jalisco, donde se utiliza sus caudales y los van reduciendo paulatinamente hasta su llegada al Lago de Chapala.

El Lago de Chapala (2) constituye un depósito natural de almacenamiento de agua. Está situado a 50 Kilómetros al sur de la ciudad de Guadalajara y es abastecido principal--

mente de las descargas finales del río Lerma, así como del río Zula y la cuenca propia del lago. A unos cuantos kilómetros de la desembocadura de este río y dentro del lago de Chapala, nace el río Santiago (7), que en su curso llega a la población de Poncitlán, donde existen las compuertas que regulan su cauce (3). 20 kilómetros más adelante se encuentra la presa derivadora la Corona (4), donde se desvía parte del caudal por el canal de Atequiza (5). Este canal llega hasta la presa de la Calera después de recorrer 24 kilómetros.

En el canal de Atequiza hay un punto en donde se acerca el río Santiago lo suficiente para permitir instalar una planta de Emergencia (6), que incrementa el caudal de Atequiza cuando las necesidades así lo requieren.

La presa de la Calera (8), tiene una capacidad de 500 millones de litros y su función principal es almacenar regular las aguas que conducen el canal de Atequiza.

La planta de bombeo No. 1 (9), tiene una capacidad de bombeo de 10 mil litros por segundo, utilizando 5 bombas -- verticales de 2 mil litros por segundo cada una y su función es elevar el agua a 24 metros de altura, descargándola en el canal de las Pintas; en el trayecto se encuentra la presa el Zapote (10). El canal de las Pintas (11), tiene -

una longitud de 25 kilómetros y una capacidad de conducción de agua de 13 mil litros por segundo que llega hasta la presa de las Pintas donde se almacena, con una capacidad esta presa de 450 millones de litros de agua. Su función es regular los excedentes de agua y sedimentar en parte las materias sólidas en suspensión.

La planta de bombeo No. 2 consta de dos galerías de -- equipo de bombeo, la primera (12) tiene cinco bombas de mil litros por segundo cada una de capacidad y la segunda (13) - tiene una capacidad de 6 mil litros por segundo, con tres - bombas verticales de 2 mil litros por segundo cada una. La función de la planta de bombeo No. 2 es elevar los caudales de agua a través de cuatro líneas de Impulsión (14) hasta - la parte alta del cerro del 4, de donde bajan las aguas por gravedad conducidas por un canal cerrado denominado Cerro - del Cuatro (15).

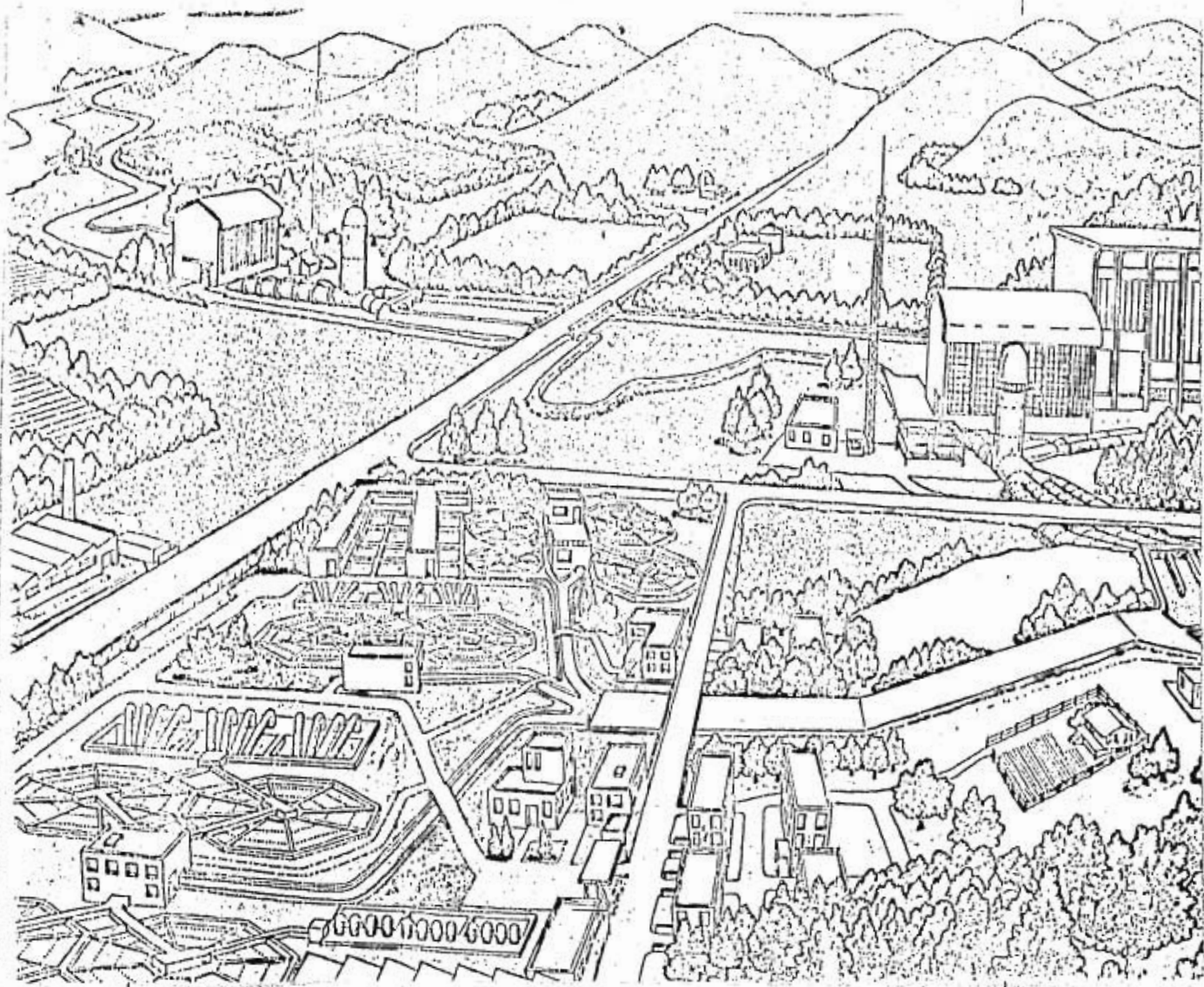
La planta potabilizadora (16) recibe las descargas del canal del cerro del 4, donde se potabiliza el agua a través de 10 clarificadores (A), 20 filtros convencionales (B) y - 96 filtros automáticos (C), su capacidad de tratamiento es de 9 litros por segundo. La potabilización consiste en decantar y preclorinar el agua, provocando floculación con polielectrolitos, sulfato de aluminio, hidrato de calcio y - sílice activada. Para este objeto se instalaron equipos --

dosificadores para las sustancias químicas e inyectores de cloro; este tratamiento se le da al agua antes de distribuirse a través de los acueductos a toda la zona metropolitana, durante las 24 horas del día.

La explicación anterior corresponde a que distribuye la mayor parte de la zona metropolitana de Guadalajara, - - otras partes son complementadas por agua provenientes de pozos en los diferentes rumbos de la ciudad y los municipios, como (pozo Colomos, Tesistán, Rubén Darío, Manuel Acuña, -- Ciudad Granja, etc.) los cuales reciben un tratamiento de - cloración y el agua después de ser tratada se introduce en la red de distribución de agua potable.

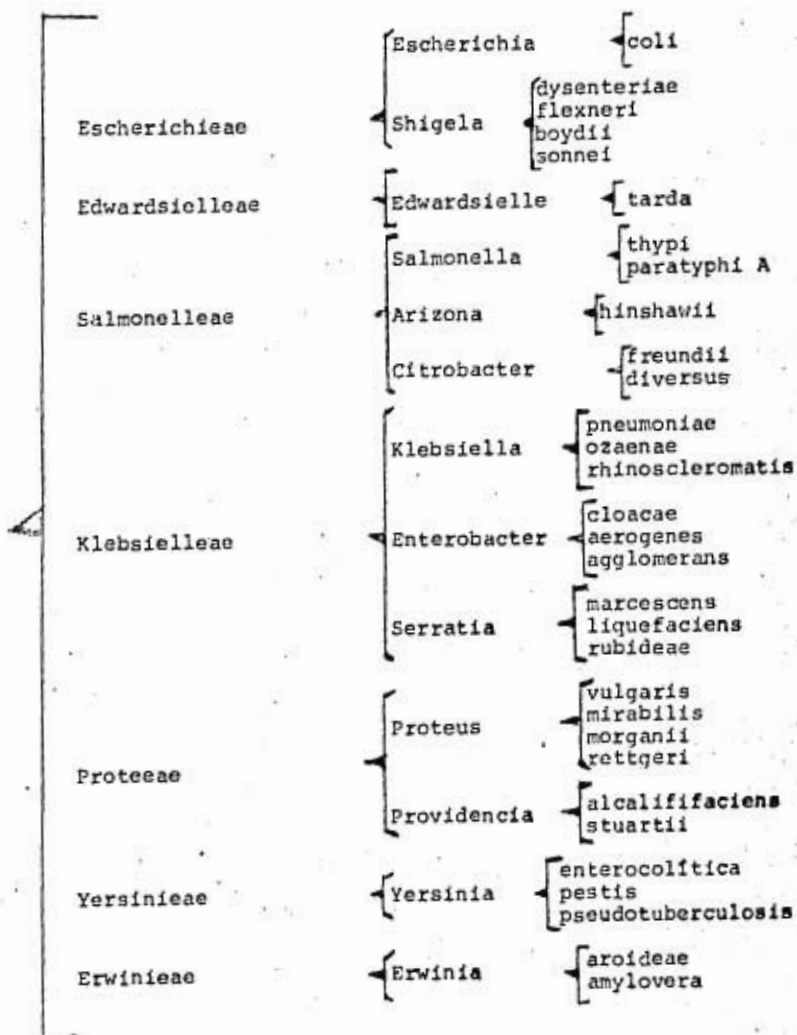
Nota: La cantidad de cloro que normalmente se encuentra en agua potable, es de 0.1 a 0.3 PPM.

2.2.- Esquema de la Potabilizadora de Guadalajara



3.- BACILOS GRAMNEGATIVOS FERMENTADORES
(ENTEROBACTERIAS)

CLASIFICACION DE ENTEROBACTERIAS



3.1.- Generalidades de las enterobacterias

Las enterobacterias constituyen una familia de bastones gramnegativos capaces de crecer en condiciones aerobias o anaerobias en medio simple; estos microorganismos se encuentran normalmente formando parte de la flora intestinal de los vertebrados. Otras denominaciones aplicadas a estas bacterias son las de "bacilos entéricos" o "bacterias entéricas".

Una de las diferencias más importantes dentro del grupo de estos microorganismos se basa en la capacidad de fermentar azúcares y en la capacidad de utilizar azúcares a través de la vía oxidativa, o en la incapacidad absoluta para utilizar estas sustancias. Entre los organismos fermentativos se incluyen tanto los géneros que resultan inocuos cuando se hallan presentes en el conducto intestinal como los géneros patógenos de las enterobacterias.

La mayoría de los organismos no fermentativos producen una oxidación de la glucosa; existen algunos microorganismos incapaces de utilizar la glucosa u otros hidratos de carbono. Los organismos no fermentativos se hallan generalmente libres en la naturaleza. Sin embargo, la aparición de los antibióticos y la mayor supervivencia de pacientes que presentan una disminución de sus respuestas inmunitarias

los microorganismos descritos en este grupo es absolutamente necesaria, ya que difieren con respecto a su sensibilidad -- frente a diversos antimicrobianos, lo que es importantísimo para el pronóstico y para el establecimiento del peligro potencial para los contactos establecidos.

En el mundo a través de una serie de medidas adoptadas por los ministerios de salud pública, se ha logrado controlar la fiebre tifoidea, la disentería bacilar; sin embargo, estos procesos constituyen aun una plaga periódicamente recurrente en el resto del mundo. Por otra parte, existen microorganismos de los que se pensaba que poseían escasa virulencia o que eran totalmente no patógenos para el hombre, -- cuya presencia ha sido asociada con una frecuencia cada vez mayor, con procesos patológicos aparecidos en los países desarrollados. Las infecciones endógenas y las nosocomiales -- constituyen en la actualidad un amplio porcentaje de las infecciones bacterianas que se producen en Estados Unidos y en otros países del mundo occidental. Así desde los años 50 la frecuencia de infecciones estafilocócicas, nemocócicas y es teptocócicas ha disminuído considerablemente, aumentando al mismo tiempo las infecciones producidas por bacterias entéricas y por otros bacilos gramnegativos de escasa virulencia. Los microorganismos entéricos han sido tradicionalmente los agentes de una mayoría de las infecciones del tracto urinario, pero en la actualidad producen también una mayoría de -

infecciones endógenas y nosocomiales. El tratamiento de -- estas infecciones se ha dificultado por la frecuente resistencia de estos microorganismos frente a la mayoría de los agentes antimicrobianos, así como por la presencia de otras enfermedades graves en el paciente.

El término bacilo entérico es erróneo: Los aerobios facultativos pueden ser cultivados a partir de la flora fecal humana normal. Los diversos anaerobios superan numéricamente a todos los demás microorganismos.

Los bacilos gramnegativos que no forman esporas in--- luidos en la familia enterobacteriaceas son de pequeño tamaño (de 2 a 3 micras por 0,4 a 0,6 micras). Los que reciben el nombre de Shigela y Klebsiella son microorganismos inmóviles que carecen de flagelos; todos los demás poseen flagelos peritricóuticos, aunque aparecen con cierta frecuencia - variantes inmóviles. La producción de cápsulas por Klebsiella pneumoniae y Enterobacter aerogenes, da lugar a la producción de colonias mucoides de gran tamaño que pueden ser fácilmente diferenciadas de las colonias corrientes de tipo liso.

La clasificación en grupos se basa en una serie de -- características bioquímicas que permiten su clasificación - en subgrupos gracias a otras características bioquímicas y a la determinación de su estructura antigénica.

Las características metabólicas de las enterobacterias son varias una de ellas es que crecen con facilidad en medios ordinarios, tanto en condiciones aerobias como en condiciones anaerobias. La mayoría de estos microorganismos crecen en medios sintéticos simples y pueden utilizar una única fuente de carbono. La glucosa es utilizada por ellos de manera fermentativa, con formación de ácidos o ácidos y gases, reduciendo los nitratos a nitritos y dando una reacción negativa frente a la oxidasa. Los distintos géneros y especies de este grupo pueden ser identificados a partir de su capacidad para fermentar hidratos de carbono específicos, para utilizar ciertos substratos (citrato) como única fuente de carbono, y por dar lugar a productos finales característicos (indol a partir del triptófano, amoníaco a partir de urea y sulfuro de hidrógeno).

La fermentación de la lactosa constituye una característica diferencial clásica para el estudio preliminar de los cultivos sospechosos. Antiguamente, esta prueba constituyó uno de los criterios más importantes para la identificación, debido a que los patógenos entéricos más importantes (salmonella y shigella) son negativos para la lactosa, sin embargo existen otras enterobacterias (proteus, Providencia, Edwardsiella, ciertos tipos de Echerichia, Enterobacter y Serratia) que son también negativas para la lactosa (o presentan una reacción tardada). Por otra parte, la - -

inmediata fermentación de la lactosa, que se pone en manifiesto por la formación de colonias coloreadas en medio sólido que contenga lactosa y un indicador apropiado (rojo neutro), resulta útil para la caracterización de organismos "coliformes" (la mayoría de las Echerichia, Citrobacter, Klebsiella, y Enerobacter); sin embargo, la mayoría de las cepas Arizona que son parecidas a las salmonelas con respecto a su patogenicidad, son también positivas para la lactosa. De ahí que para su identificación deba recurrirse a una combinación de pruebas.

La estructura antigénica entre las enterobacterias y los parámetros bioquímicos da la designación del género y de las especies.

La diferenciación más precisa, en categorías específicas en algunos casos y en serogrupos, serotipos y variedades, depende de reacciones serológicas que detectan antígenos de superficie. Estos antígenos pertenecen a tres clases principales: antígenos O somáticos; antígenos H flagelares; y antígenos K de la envuelta o capsulares.

Los antígenos O somáticos son lipopolisacáridos termolabiles comunes en todas las bacterias lisas gramnegativas. Están presentes en la membrana externa y son responsables de la actividad endotóxica relacionada con las bacte-

rias gramnegativas. La especificidad antigénica de estos - antígenos O reside en las cadenas laterales O- específicas del lipopolisacárido y depende de las clases de residuos -- azucarados y de su orden en la cadena lateral. Se observan reacciones cruzadas ocasionales entre antígenos O pertenecientes a diferentes bacterias entéricas, y se deben a similitudes en la composición de polisacáridos de las cadenas laterales O- específicas. Las reacciones de los antígenos O de superficie con anticuerpos homólogos tienen como resultado la aglutinación de las células bacterianas, produciendo agregados celulares muy adherentes, que parecen macroscópicamente como gránulos finos, los cuales se depositan -- rápidamente en la suspensión.

La variación de la forma colonial desde lisa a rugosa (variación S-R) está acompañada por una pérdida progresiva de antígeno O liso y por último, se produce una cepa bacteriana rugosa (R) cuyo lipopolisacárido carece de las cadenas laterales O - específicas y sólo retiene la estructura basal del núcleo. Por lo tanto, las cepas rugosas no reaccionan con anticuerpos O - específicos.

Los antígenos H se encuentran en los flagelos de las bacterias móviles, son proteínas específicas serológicamente (flagelinas) las cuales, a diferencia de los antígenos O, son termolábiles y se destruyen con etanol. Cuando estas -

bacterias móviles se hacen reaccionar con anticuerpos anti-flagelares específicos, la observación microscópica revela la existencia de una asociación débil de muchas células con enmarañamiento y entrelazamiento de sus flagelos. Macroscópicamente, este tipo de aglutinación se observa en forma de masas esponjosas o floculentas que se depositan en la suspensión. Una agitación vigorosa dispersa los flóculos, pero éstos se vuelven a formar después de una incubación posterior. La terminología de los antígenos H y O surge del hecho de que las bacterias móviles crecen con frecuencia -- como una película delgada en medios húmedos. Los investigadores alemanes llamaron Hauch a esta película (puff o film); las cepas móviles y sus antígenos flagelares, se denominaron entonces H. Las cepas que crecen como colonias discretas en medios húmedos (O-hne Hauch, sin nube o película) no son móviles y se les denomina O.

Una tercera clase de antígenos, los antígenos K aparecen en las enterobacteriaceae como cápsulas, o como antígenos de la envuelta, que cubren los antígenos O de superficie. Debido a esto, los antígenos K bloquean la aglutinación producida por los anticuerpos O - específicos. Generalmente los antígenos de esta clase son polisacáridos y su capacidad de reacción suele ser alterada por el calor.

En 1962, Kunin y sus colaboradores describieron una -

sustancia hapténica ampliamente distribuida entre las enterobacterias que se denomina antígeno enterobacteriano común (ECA) o antígeno de Junin. El hapteno aparece en la membrana externa en dos formas aglutinantes. En algunas bacterias, el hapteno está unido al lipopolisacárido (LPS) y es inmunogénico; sin embargo en la mayoría de las bacterias -- entéricas está en una forma libre y no es capaz de provocar una respuesta de anticuerpos. El análisis química del ECA ha revelado que es un polímero lineal de bajo peso molecular (2700 daltons) compuesto predominantemente por unidades alternantes de N-acetil-D-glucosamina y ácido N-acetil-D-mannosaminourónico, esterificadas parcialmente por ácido palmítico; también se cree que contiene un componente lipídico -- desconocido.

La mayor parte de los miembros de las enterobacteriaceae producen fimbrias o pili. Normalmente, en la superficie bacteriana son numerosos los pili "comunes", mientras que los pili F o sexuales, aparecen en un número limitado -- que va de uno a cuatro por célula y difieren en cuanto a su forma con los pili comunes. Los pili comunes poseen fuertes propiedades adhesivas; así, a menudo se pone en manifiesto la formación de pili en las bacterias por su capacidad para efectuar la aglutinación de eritrocitos. Las bacterias que tienen estos apéndices superficiales también -- aglutinan con facilidad en presencia de anticuerpos especí-

ficos de pilis, una reacción semejante a la aglutinación -
flagelar.

3.2.- Aspectos generales de Coliformes

Los bacilos coliformes se han agrupado informalmente desde 1886, cuando Echerich describió los primeros bacilos coliformes (Bacterium coli y Bacterium lactis aerogenes).

Los bacilos coliformes se refieren a los géneros - -
Echerichia, Citrobacter, Klebsiella y Enterobacter) e inclu-
yen a otra base bioquímica a los géneros Edwardsiella y - -
Serratia que no fermentan la lactosa.

Estos microorganismos están distribuidos ampliamente en todas partes, algunas variedades son patógenas en vías -
respiratorias altas y residen en ellas, mientras que otras tienen indudablemente una vida libre.

Los bacilos coliformes gramnegativos corresponden en -
términos generales a la descripción para las enterobacteri-
ciae, aunque muestra variaciones considerables, frecuente-
mente se encuentran en formas similares a cocos, cortas, -
ovales. Algunos son encapsulados sobre todo las que se en-
cuentran en los procesos patológicos. La motilidad es va--

riable, aunque las cepas más típicas son móviles por flagelos peritricos.

Los bacilos coliformes son anaerobios facultativos, - crecen igualmente en condiciones aerobias o de anaerobiosis completa. Fermentan una gran variedad de azúcares con producción de gas y ácido, algunas de estas fermentaciones se usan para diferenciar las diversas clases de bacilos coliformes.

3.3.- Echerichia Coli:

Solo una especie de Echerichia, la coli en la clasificación de Bergey, esta bacteria es susceptible a una gran variedad de antibióticos de amplio espectro, sin embargo -- presenta resistencia con frecuencia las cepas que presentan los plasmidos R que rigen la resistencia a uno o más medicamentos.

Echerichia coli, son parte de la flora intestinal normal con la excepción de las pocas cepas enterotóxicas, se consideran comensales en ese lugar pero son potencialmente patógenas en cualquier otra parte del cuerpo, donde pueden producir infecciones piógenas. Así se pueden distinguir -- dos tipos de padecimientos con etiología de Echerichia coli, aquellos en los que pueden infectar tejidos del cuerpo y -- los padecimientos diarreicos.

Echerichia coli es una bacteria que produce dos tipos de toxinas una termoestable y otra termolabil, relacionándose se que la gran mayoría de estas cepas enteropáticas se encuentran en padecimientos diarréicos, además varias de estas cepas de Echerichia coli son hemolíticas ya sea alfa o beta hemolíticas.

Con todo lo anterior se demuestra que hay una gran variedad de serotipos de la bacteria Echerichia coli y su gran diferencia está basada en la distribución de los antígenos O, K, y H.

3.4.- Klebsiella

Conocido como bacilo de Friedlander, fue descrito primero por este investigador, su nombre formal es Klebsiella pneumoniae, no es móvil, posee cápsulas fuertes, como se aprecia en vías respiratorias. Se relaciona con el género enterobacter.

Un examen detallado de las cepas nos permite diferenciar Klebsiella pneumoniae, Klebsiella ozuenae y Klebsiella rhinoscleromatis.

El género Klebsiella contiene tanto antígenos O como K, este último bajo forma de cápsulas morfológicas.

En la mayor parte de los casos probablemente sean invasores secundarios, como en la nasofaringe de personas con sinusitis o infecciones pulmonares crónicas del tipo de las bronquiectasias.

La neumonía causada por K. pneumoniae constituye el 0.5 al 4% de todas las neumonías pero de mortalidad muy alta.

Las sulfamidas y antibióticos de amplio espectro son útiles, pero la penicilina no.

3.5.- Shigela

En 1896 Shiga aisló un bacilo inmóvil, gram-negativo, en la materia fecal de pacientes estudiados durante una epidemia de disentería en Japón; y comprobó que este microorganismo, era el agente causal y más tarde recibió su nombre.

Los miembros del género Shigela también pertenecen a la familia Enterobacteriaceae, son parásitos en el intestino de sus huéspedes naturales sin excepción alguna. Estos bacilos producen la disentería bacilar en el hombre, los cuales son eliminados en las heces y cuya enfermedad es - - transmitida por vía bucofecal y por vectores mecánicos como las moscas.

El género Shigela solo incluye cuatro especies, Grupo A (S. dysenteriae), Grupo B (S. flexneri), Grupo C (S. boydii) y Grupo D (S. Sonnei). Los cuales presentan:

1.- Un antígeno O, lipopolisacárido termoestable, -- constituido por uno o varios factores antigénicos responsables de la especificidad.

2.- Un antígeno capsular K, termolabil, que solo lo -- presentan algunos serotipos y es responsable de la O-inaglutinabilidad.

La clasificación se hace de acuerdo a sus propiedades bioquímicas y antigénicas, pero sobre todo sobre la base -- del antígeno somático O.

Shigela presenta una gran tendencia a adquirir resistencia a los antibióticos, generalmente del tipo plasmídico. Es frecuente la aparición de resistencia a las sulfamidas, y a la esteptomícina. La ampicilina, tetraciclina, y clo--ránfenicol son los antibióticos de elección aunque hay veces que también adquieren resistencia a la ampicilina, conviene hacer un antibiograma para mejores resultados.

3.6.- Enterobacter

En la clasificación de Bergey, se reconocieron dos es--pecies de Enterobacter: Enterobacter cloacae y Enterobac--

ter aerogenes. Pero recientes estudios se reconoció otra especie, la Enterobacter agglomerans (antes considerada como la Erwinia herbicola), pero sobre la base de los estudios de ADN se han incluido nuevas especies, E. sakazakii, especie pigmentada semejante a E. cloacae, E. gergoviae, semejante a E. aerogenes, y otras menos importantes E. intermedium y E. amnigenus.

Las especies de Enterobacter se encuentran como comensales en el intestino y se aíslan frecuentemente del suelo, productos lácteos, en las cloacas, en el agua y esputos como también en las infecciones del tracto urinario. Solo -- rara vez causa infecciones naturales pero su patogenicidad potencial se ilustró en una epidemia de septicemia causada por el uso de soluciones contaminadas para administración intravenosa. Todas las cepas de Enterobacter son resistentes a la acción de la cefalotina y la ampicilina.

3.7.- Serratia

Los bacilos agrupados del género serratia se conforman con la definición general de los bacilos coliformes, pero su gran mayoría son organismos saprofitos de vida libre. Bajo ciertas circunstancias son capaces de causar infecciones serias y deben de considerarse como patógenos oportunistas.

S. marcescens puede causar infecciones urinarias y - respiratorias, septicemia, endocarditis, meningitis, osteomielitis y heridas infectadas. Se han producido brotes - de infecciones en unidades de cuidado intensivo, diálisis - renal, y maternidad. El microorganismo se ha cultivado de líquido de irrigación, respiradores, jabón líquido y reservorios humectantes. Serratia puede transmitirse pasivamente por las manos del personal de hospitalés.

Las cepas de Serratia resultan resistentes a la polimixina B y a la colistina. En cambio la gentamicina, kanamicina y el cloranfenicol resultan útiles para el tratamiento de estas cepas.

3.8.- Citrobacter

El género Citrobacter se compone de miembros de la familia enterobacteriaceae antes llamados Echerichia freundi.

Los cultivos se aíslan del agua, heces y se han recuperado de diversos procesos patológicos. Algunas cepas del género han sido sospechosas de producir enfermedades entericas, pero no hay evidencia definida en su papel como patógeno entérico.

Citrobacter es una enterobacterias comensal que se encuentra en tubo digestivo de lactantes y en vías respiratorias y en tracto urinario de pacientes hospitalizados.

En general es sensible a gran número de antibióticos, en especial al cloránfenicol, pero presenta variables de resistencia a las B-lactamínas entre ellas ampicilina, carbenicilina y cefalotina.

3.9.- Proteus

Proteus fue descrito inicialmente por Hauser, como género independiente que incluye cuatro especies que son: - - P. vulgaris, P. mirabilis, P. morganii, P. rettgeri.

Se encuentran frecuentemente en heces normales y a menudo aumenta durante ataques de diarrea causados por otros microbios o inmediatamente después. Es una de las bacterias más comunes en los suelos y aguas que contienen desechos orgánicos o de materia orgánica de origen animal y suelen abundar en agua de albañal; quizás deba de identificarse con la bacteria de putrefacción. Como los patógenos intestinales, no fermentan la lactosa y se parece a ellos en su desarrollo en medios de cultivo diferenciales y selectivos, puede confundirse con salmonellas por su movilidad y formación de gas durante la fermentación de carbohidratos, pero se distingue por su capacidad de hidrolizar la urea.

En general, estas bacterias parecen bacilos rectos o ligeramente curvos, son comunes las formas ovoides y predominan las células curvas, filamentosas. Proteus debe su movilidad activa a flagelos peritricos, y no forma cápsulas - ni esporas.

Proteus se asocia con varias enfermedades como infecciones en el oído y los ojos, pleuritis y peritonitis. Se considera que proteus es con frecuencia el agente causal de diarreas en los lactantes.

Tanto las cepas de proteus son inhibidas por la actividad de la carbencilina como la gentamicina, pero solo - - P. mirabilis es sensible a la acción de la ampílicina de la cefalotina y, frecuentemente, de la penicilina G. También se emplean la kanamicina y el cloranfenicol pero se han encontrado cepas resistentes a la ampílicina.

3.10.- Providencia

Anteriormente, estos microorganismos recibían el nombre de P. inconstans. Su diferenciación con los proteus se pone en manifiesto por su carencia de la ureasa. Los miembros de este grupo pueden observarse en las heces durante - fases diarreicas y en individuos normales. Generalmente -- tienen relación con infecciones del tracto urinario. Tie--

nen resistencia a los antibióticos con la excepción de la - Kanamicina, la gentamicina y la carbencilina.

3.11.- Salmonella

En 1880, Eberth publicó el hallazgo de un bacilo - gram-negativo en tejidos de enfermos fallecidos por fiebre tifoidea. Con este reporte se abre un capítulo que ha tenido y sigue teniendo gran importancia dentro de la historia de la infectología. A partir de entonces aparecen más y -- más reportes de nuevos tipos de Salmonella se pueden aislar de alimentos y bebidas contaminadas (agua contaminada). La salmonella penetra por vía digestiva multiplicándose activa -- mente en el tejido linfoide del intestino delgado, donde -- pueden pasar a vasos linfáticos y torrente sanguíneo para - localizarse en cualquier órgano.

En su mayoría las Salmonellas son patógenos para el - hombre, animales o ambos, en el hombre pueden producir dos modelos de infección: A) Infecciones generalizadas del SRE con fiebre continua, cuyo cuadro más característico son las fiebres entéricas, tipo fiebre tifoidea, producidas por Salmonella typhi y un reducido número de serotipos y B) Infecciones localizadas en el tubo digestivo o enteritis febriles tipo gastroenteritis o enterocolitis por toxoinfección alimentaria que pueden ser producidas por la mayoría de serotipos.

Las salmonellas se clasifican sobre sus bases y propiedades bioquímicas y antigenicas. El género salmonella presenta una serie de propiedades metabólicas que permiten diferenciarlo de las restantes enterobacterias. En general está constituido por enterobacterias móviles que en el medio de Kligler no fermentan la lactosa, fermentan la glucosa con gas, producen SH₂ y por otra parte no forman desaminasas, ni ureasas. Existen excepciones, *S. gallinarum pollorum*, es inmóvil, *S. thyphi* no produce gas, *S. paratyphy A* no produce SH₂.

Salmonella posee antígenos somáticos "O" que es un polisacárido localizado en la pared celular. La fracción interna se encuentra asociada con la endotoxina (lípidos A) y la fracción externa O terminal es responsable de la especificidad serológica. También hay flagelares "H" que es un antígeno termolabil, de naturaleza proteica contenida en los flagelos. Pero además, un reducido grupo de serotipos pueden presentar un antígeno capsular denominado Vi, que es un antígeno capsular termolabil que presentan algunas especies recién aisladas, responsables de la O-inaglutinabilidad, el antígeno Vi junto con el O es el responsable de la virulencia, y los anticuerpos Vi presentan poder protector.

Existen dos clasificaciones que dividen el género Salmonella por sus propiedades bioquímicas en subgéneros (Kau-

ffmann) o en especies (Edwards y Ewing), y se ha propuesto una nueva clasificación en subespecies basadas en la consideración conjunta de propiedades bioquímicas y genotípicas (Le Minor). En todos los casos, los subgéneros, especies o subespecies se pueden dividir, a su vez, en serotipos según el esquema serológico de Kauffmann-White.

Para el tratamiento en las infecciones causadas por las Salmonellas, el cloranfenicol es el fármaco de elección, a pesar de su elevada toxicidad; sin embargo se han detectado ya cepas resistentes al cloranfenicol. También puede emplearse ampicilina, sustancia mucho menos tóxica pero de menor efectividad.

3.12.- Otras bacterias gramnegativas no fermentadoras

Las bacterias del género Pseudomonas se definen como bacilos gramnegativos, móviles por uno o varios flagelos polares, aerobios estrictos y cuyo metabolismo utiliza solo la vía oxidativa.

Las Pseudomonas son bacterias muy repartidas en la naturaleza, su habitat fundamental es el suelo y el agua, y de ahí pasan a todos los seres vivos, vegetales, animales y el hombre.

Algunas especies son patógenas para los vegetales y animales, y en el hombre constituyen un microbio típico - oportunista, que causa infecciones hospitalarias, con una marcada gravedad y alta mortalidad, a la vez que es patente su resistencia a los antibióticos y antisépticos.

Desde el punto de vista clínico, clasificaremos las especies de *Pseudomonas* en cuatro grupos:

- 1.- *P. aeruginosa*, la especie tipo y más frecuentemente patógena para el hombre, causa del clásico pus azul de las heridas.
- 2.- *P. mallei* y *P. pseudomallei*, productores, respectivamente, del muermo y la melioidosis.
- 3.- Otras especies aisladas en procesos humanos, como *P. cepacia*, *P. diminuta*, *P. maltophilia*, *P. pickettii*.
- 4.- El resto de las especies, que, si bien no se han demostrado patógenas humanas, pueden en un momento determinado pasar a los grupos anteriores.

En su estructura se distinguen tres tipos de antígenos en *P. aeruginosa*: somático "O", flagelar "H", y mucóide "M". El antígeno "O" lipopolisacárido y termoestable es el responsable de la especificidad de grupo y está constituido por varios componentes antígenicos. El antígeno "H", termolábil, se considera que no está solo restringido al -

flagelo y sería también antígeno de superficie. El antígeno mucoide "M", sería responsable de la inaglutinabilidad de algunas cepas a los antígenos O y H, hecho similar al -- que ocurre en algunas enterobacterias.

Las Pseudomonas, son bacterias capaces de sobrevivir libres en la naturaleza. Como tienen necesidades mínimas - nutricionales, persisten en el ambiente durante largos períodos de tiempo y es un claro patógeno oportunista. Así, vive perfectamente en el suelo de los pasillos y salas de - hospital, humidificadores, sueros, líquido de diálisis, - - agua del grifo, material de cura y diagnóstico, prótesis, - marcapasos. Incluso puede reproducirse en algunos desinfectantes.

El diagnóstico del género se realiza por dos pruebas fundamentales: en el medio de Hugh y Leifson, P. aeruginosa solo oxida la glucosa, a diferencia que las enterobacterias la fermentan. El diagnóstico de especie es mucho más complejo, con un gran número de pruebas que comprenden desde el número de actuación sobre los azúcares y aminoácidos, temperatura y otras pruebas.

La marcada resistencia a los antibióticos de esta bacteria hace indispensable la necesidad de un antibiograma. - Los antibióticos usualmente de mayor acción son gentamicina,

trobamicina, dibekacina y amikacina entre los aminoglucósidos y carbenicilina, ticarcilina, azlocilina, y cefsulodina entre los B-lactámicos.

3.13.- Alcaligenes

El género *Alcaligenes*, son bacilos gramnegativos - - aerobios estrictos, oxidasa-positivos, móviles por flagelos peritricos y que no producen ácido de la glucosa por vía -- oxidativa ni fermentativa.

Este género incluye a tres especies no admitidas por todos: *A. faecalis*, *A. odorans*, y *A. denitrificans*. Las tres especies crecen en medios usuales como agar- McConkey, y utilizan el citrato como única fuente de carbono.

El medio de vida *A. faecalis* es semejante a las especies de *Pseudomonas*.

El comportamiento ante aminoglucósidos, ampicilina, - cloráfenicol, cefalosporinas, y carbenicilina es muy variable.

4.- MEDIOS DE CULTIVO SELECTIVOS Y DIFERENCIALES

4.1.- Agar de bilis verde brillante:

El agar de bilis verde brillante fue descrito por Noble y Tonney, para la cuenta de bacterias coliformes en agua y en el drenaje.

El agar de bilis verde brillante puede usarse para calcular el grado de contaminación de muestras de aguas, alimentos y otros materiales. Las placas se examinan después de 17 a 19 horas de incubación a 37 grados centígrados. Las colonias coliformes aparecen de color rojo profundo y rodeadas de un halo de color rosa.

4.2.- Agar de desoxicolato-Citrato:

El agar desoxicolato-citrato es un medio para la diferenciación en placa ideado por Leifson para aislar patógenos intestinales. Las bacterias Gram positivas y muchos proteus y bacilos coliformes son inhibidos por las sales puras de desoxicolato de sodio y citrato de sodio.

El agar desoxicolato-citrato puede inocularse intensamente con heces u orina u otros materiales que se sospeche que contienen patógenos entéricos Gram-negativos.

Debido a que es un medio relativamente inhibitorio, - es de especial utilidad cuando los especímenes son viejos o están intensamente contaminados. Los microorganismos Gram-positivos son inhibidos totalmente y los proteus y coliformes considerablemente. Los miembros de los grupos tifoideo paratifoideo, disentérico y de otros microorganismos no fermentadores de la lactosa o de fermentación lenta, forman -- colonias incoloras.

Los microorganismos tales como E. coli, que atacan activamente a la lactosa forman colonias rojas o de color rosa.

4.3.- Agar de endo:

El agar de Endo es un medio sólido para la investigación de colibacilos y otros microorganismos entéricos. El sulfito de sodio y la fucsina básica inhiben el crecimiento de las bacterias Gram-positivas.

El agar de Endo se puede emplear como un medio en placas para determinar la presencia de microorganismos coliformes en el agua, leche, u otros materiales de importancia sanitaria. Las colonias de bacilos coliformes que fermentan la lactosa aparecen color rosa, con o sin brillo metálico, pudiendo ocurrir un enrojecimiento marcado en el medio, en

tanto que las de otros bacilos entéricos incluyendo a salmonella son del mismo color del medio, casi incoloras o de color rosa pálido. La Shigella, dependiendo de sus características de fermentación pueden producir colonias color rosa.

4.4.- Agar de MacConkey:

El agar de MacConkey es una modificación del medio -- descrito por el mismo autor en 1905. Se emplea en la investigación de organismos coliformes y también se puede usar para el aislamiento de Vibrio comma de las especies patógenas de bacilos entericos. La inhibición de organismos Gram-positivos se obtiene por la mezcla de sales biliares.

El agar de MacConkey puede emplearse para el estudio de aguas, productos lácteos, patógenos entéricos en heces y otros materiales.

5.- MEDIOS BIOQUIMICOS PARA LA IDENTIFICACION

5.1.- Agar hierro de Kligler:

El agar hierro de Kligler (AHK) y el agar hierro triplemente azucarado (AHTA) son medios diferenciales en tubo que sirven a un doble fin; 1) determinación de las fermentaciones de los hidratos de carbono y 2) determinación de la producción de ácido sulfhídrico. Un organismo puede utilizar diversos sustratos incorporados en el medio; los diferentes sustratos metabolizados son utilizados para la diferenciación entre varios grupos, géneros o especies, sobre todo entre las Enterobacteriaceae.

El medio AHK contiene dos hidratos de carbono; lactosa, con concentración del 1% y la glucosa, en concentración del 0.1%. Este medio puede sustituirse por AHTA; la diferencia fundamental es el agregado de un tercer hidrato de carbono, sacarosa, en concentración del 1%. Sin embargo, los fundamentos bioquímicos son los mismos y por eso solo trataremos con detalle el AHK, y por aparte la utilización de un medio de sacarosa en tubo para complementar nuestros azúcares.

En el medio AHK, algunos organismos tienen la facultad de fermentar ambos hidratos, solo uno o ninguno. La fermentación del hidrato de carbono puede producirse con producción o no de gases ($\text{CO}_2 + \text{H}_2$).

La fermentación se produce aeróbicamente (en el pico de flauta) y anaeróbicamente (en la capa interior del cultivo). En el pico de flauta, el monosacárido glucosa es catalizado inicialmente por medio del ciclo anaeróbico de - - Embden-Meyerhof, utilizado tanto por los aerobios como por los anaerobios para dar el intermediario clave, ácido pirúvico. A su vez este ácido es degradado por medio del ciclo de Krebs, por los aerobios o anaerobios facultativos, para dar CO_2 , H_2O y energía. La lactosa es un disacárido formado por dos unidades de monosacáridos: glucosa y galactosa

Lactosa $\xrightarrow{\text{B galactosidasa}}$ glucosa y galactosa

Glucosa o galactosa $\xrightarrow[\text{aeróbico}]{\text{Ciclo de Krebs}}$ $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{energía}$

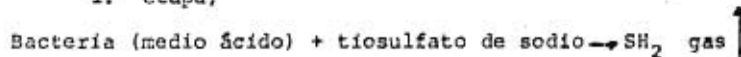
En la capa profunda del cultivo en AHK, existen condiciones anaeróbicas por las cuales es metabolizada la glucosa a través del ciclo de Embden, el ATP y el intermediario clave, ácido pirúvico, que después es convertido en diversos productos finales estables; ácido láctico y/u otros ácidos orgánicos, aldehidos, alcoholes, CO_2 , H_2 , y energía.

Glucosa $\xrightarrow[\text{anaeróbico}]{\text{Ciclo de Embden Meyerhof}}$

Acidos orgánicos
Aldehidos
Alcoholes
 $\text{CO}_2 - \text{H}_2$
Energía

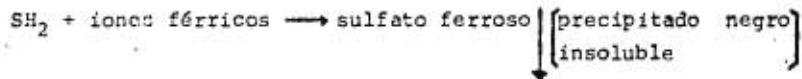
Otros sistemas de diferenciación son la presencia de indicadores del ácido sulfhídrico en el medio: una sal, el citrato férrico de amonio, y una sustancia química el tiosulfato de sodio. Ambos indicadores deben de estar presentes, puesto que el resultado final es un método en dos etapas.

1.- etapa;



El ácido sulfhídrico es un gas incoloro; por lo tanto, es necesario un segundo indicador para detectar la forma visible de su producción.

2.- etapa;

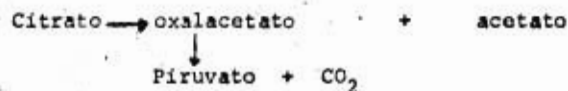


5.2.- Prueba del agar citrato de Simmons:

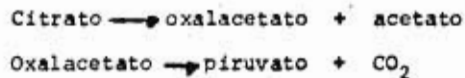
Algunas bacterias pueden suministrar energía en ausencia de fermentación o producción de ácido láctico empleando el citrato como única fuente de carbono. Normalmente, el metabolismo del citrato comprende una condensación de acetiló con la coenzima A y oxalacetato para entrar en el ciclo de Krebs. El metabolismo del citrato por la mayoría de bacterias es rápido a través del ciclo del ácido tricarbóxico o el ciclo de fermentación del citrato. En las bacte-

rias, el desdoblamiento del citrato comprende un sistema - enzimático sin la intervención de la coenzima A. Esta enzima se denomina citrasa (citrato oxalacetato-liasa) o citrato desmolasa. La enzima requiere un catión bivalente para su actividad, que es suministrado por el magnesio o el manganeso.

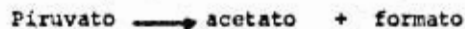
Originariamente se pensó que la descomposición inicial del citrato daba oxalacetato (la sal del ácido oxalacético) y acetato (la sal del ácido acético). Sin embargo, se considera actualmente que el oxalacetato y el acetato -- son intermediarios en el metabolismo del citrato.



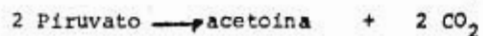
Los productos obtenidos del metabolismo del citrato - dependen del pH del medio. Si el pH aumenta (alcalino), se producen más acetato y formato, con una disminución de la - producción de lactato y CO_2 . Por encima de pH 7 no hay producción de lactato y los productos son:



pH alcalino



pH ácido



El medio utilizado para la fermentación del citrato - contiene también sales de amonio inorgánicas. Un organismo que es capaz de utilizar citrato como su única fuente de -- carbono utiliza también las sales de amonio como su única - fuente de nitrógeno. Las sales de amonio se desdoblan en - amoniaco (NH3) con la consiguiente alcalinidad.

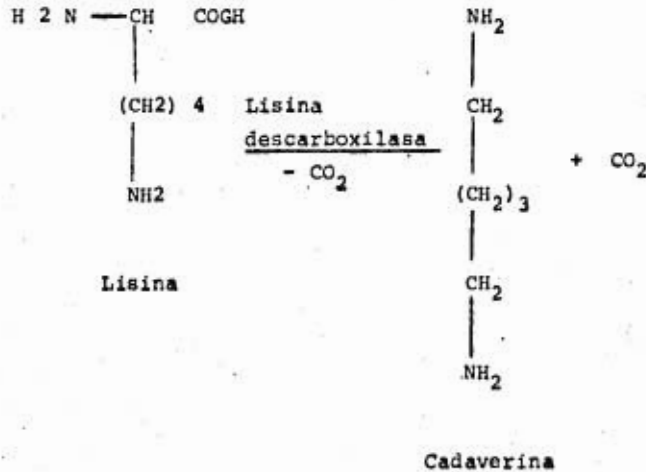
Algunas cepas de los coliformes son capaces de utili- zar el citrato de sodio como única fuente de carbono, mien- tras que otras no. El crecimiento se considera positivo.

5.3.- Agar lisina hierro:

Es un medio sólido para la detección de la lisina des- carboxilasa, basado en la fórmula de Falkow que incluye cí- trato amónico férrico y tiosulfato para revelar la presen- cia de H₂S. El medio de agar lisina Hierro (LIA), es em- pleado para la identificación de especies de Salmonella, la mayoría de las cuales son H₂S y lisina descarboxilasa posi- tiva. Un fondo negro y un pico púrpura son virtualmente -- diagnóstico de especies de Salmonella. El LIA tiene tam- bién ventaja de que la especie de Proteus y la de Providen-

cia que desaminan más bien que descarboxilan los aminoácidos, se pueden destacar por el color rojo en el pico del tubo.

La prueba de la ornitina descarboxilasa es tal vez la más útil para separar las especies negativas de las positivas.

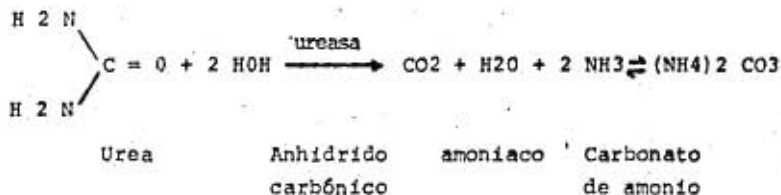


5.4.- Reacción del agar o caldo de urea:

El sustrato urea es una diamida del ácido carbónico a la que frecuentemente se menciona como carbamida. Todas las amidas (RCO-NH₂) son rápidamente hidrolizadas. La hidrólisis de la urea es catalizada por una enzima específica,

la ureasa, para dar dos moléculas de amoníaco. En solución, la urea se hidroliza, dando carbonato de amonio como producto final.

La ureasa es una importante enzima que contienen las bacterias y está vinculada con la descomposición de compuestos orgánicos.



5.5.- Medio semisólido de SIM:

La movilidad bacteriana es otra característica importante en la identificación final de una especie. Las bacterias se mueven por medio de flagelos, cuyo número y ubicación varía en las diferentes especies.

Los medios combinados, tales como el sulfuro-indolmovilidad (SIM) o el movilidad-indol-ornitina (MIO), han hallado amplio uso en los laboratorios de microbiología clínica, pues se puede medir más de una característica en un mismo tubo. Se debe interpretar primero la prueba de la movi-

lidad, ya que el agregado del creativo del indol puede oscurecer los resultados. Dado que el SIM y el MIO poseen una ligera turbidez basal, las interpretaciones pueden ser algo difíciles con especies bacterianas que desarrollan lentamente estos medios.

Prueba de la motilidad:

- A) Determinar si un organismo es móvil o inmóvil.
- B) Las bacterias tienen motilidad por medio de sus -- flagelos, que se encuentran principalmente entre los bacilos (bacterias en forma de bastoncillos); sin embargo, algunas formas de cocos son móviles.

Las bacterias móviles pueden contener un solo flagelo o muchos; además su localización varía con la especie bacteriana. A veces, las bacterias con motilidad producen variantes no móviles que parecen ser estables y raramente se revierten en formas móviles. Los organismos no móviles carecen de flagelos.

Prueba del ácido sulfhídrico:

Las proteólisis de las proteínas de aminoácidos individuales, algunas especies bacterianas heterotróficas son capaces de liberar azufre enzimáticamente de los diferentes amoniacos que las contienen, procediendo el gas ácido sulfhídrico (SH_2).

La peptona, la cisteína, la cistina y el tiosulfato, todos son fuentes de azufre para producir SH_2 . La enzima responsable de esta actividad es la cisteinasa.

La capacidad de un organismo de producir SH_2 es una característica constante y el que lo hace, por lo general, produce gas (CO_2 - H_2) en medios con hidratos de carbono.

Para determinar la producción de ácido sulfhídrico de ben tenerse en cuenta cuatro factores: 1) el tipo de la disponibilidad de la fuente azufre; 2) la sensibilidad de la prueba para la detección del SH_2 ; 3) el crecimiento de un organismo en un medio básico; 4) la presencia de la enzima productora de SH_2 en el organismo que se estudia.

Prueba del indol:

El triptófano es un aminoácido que puede ser oxidado por ciertas bacterias para formar tres metabolitos indólicos principales: indol, escatol (metilindol) e indolacético (LAA indolacetato).

Diversas enzimas intracelulares que intervienen en este proceso reciben el nombre colectivo de "triptofanasa", - lo que indica un sistema completo de enzimas vinculado con la producción del indol.

El principal intermediario en la degradación del triptófano es el ácido indolpirúvico, del cual puede formarse indol por desaminación, y escatol por decarboxilación del ácido indolacético.

La prueba de indol está basada en la formación de un complejo de color rojo cuando el indol reacciona con el grupo aldehído del p-dimetilamino benzaldehído. Este es el principal activo de los reactivos de Kovac y Ehrlich. Se debe utilizar en medio rico en triptófano.

Bacteria

Enzima triptofanasa \longrightarrow triptofano \longrightarrow piruvato + NH₃ + Indol

Indol reactivo de Kovac o Ehrlich \longrightarrow Coloración roja

5.6.- Caldo rojo de metilo:

La prueba del rojo de metilo (RM) se basa en el empleo de un indicador del pH, rojo de metilo, para determinar la concentración de iones hidrógeno (pH) presente cuando un organismo fermenta la glucosa. Las diferentes formas de fermentación se deben a variaciones en las enzimas vinculadas con el metabolismo del ácido pirúvico que se encuentran en el organismo.

Todos los miembros de las Enterobacteriaceas son, por definición, fermentadores de la glucosa. En el caldo RM/ - Voges-Proskauer (VP), después de 18 a 24 h de incubación, - la fermentación resultante da productos secundarios metabólicos ácidos; por lo tanto inicialmente todos los entéricos darán una reacción positiva con el rojo de metilo.

Sin embargo, después de más tiempo o de incubación -- como lo exige la realización de la prueba (de 2 a 5 días), aquellos organismos que son rojos de metilo positivos cont nían produciendo más ácidos, y dan como resultado un bajo pH terminal, venciendo al sistema amortiguador de fosfato, y manteniendo un medio ácido (pH: 4,2 o menos).

Los organismos rojo de metilo negativos cont nían me-
tabolizando los productos iniciales de la fermentación por descarboxilación, produciendo acetilmetilcarbino (acetoina) neutro, lo que da un elevado pH terminal que disminuye la -
acidez del medio, elevando el pH hacia la neutralidad (pH: 6 ó más).

Los organismos rojo de metilo positivos producen ácidos estables, manteniendo una alta concentración de iones - hidrogeno hasta alcanzar cierta concentración.

Los organismos rojo de metilo negativos: también pro

ducen ácidos (acético, láctico y fórmico) pero tienen una menor concentración de iones hidrógeno porque hay una reversión hacia la neutralidad debida a la nueva degradación de los ácidos orgánicos en carbonatos y al anhídrico carbónico, y posiblemente a la formación de compuestos de amonio por las proteínas que se encuentran en el medio.

La validez de la prueba del rojo de metilo depende de un tiempo de incubación suficiente como para permitir que se produzca la diferencia en el metabolismo de la glucosa.

Algunas cepas de coliformes son capaces de fermentar la glucosa dando metabolitos ácidos que bajan el pH medio a 4.2 a 4.6; otras producen pH finales iguales o mayores que 6.3. El pH final de medio se pone de manifiesto al indicador de rojo de metilo (intervalo pH de 4.3 a 6.2) que es rojo en la zona ácida y vira a amarillo en la zona alcalina.

Glucosa	<u>fermentación</u> →	pH 4.2 - 4.6	rojo de	coloración
		en el medio	metilo →	roja

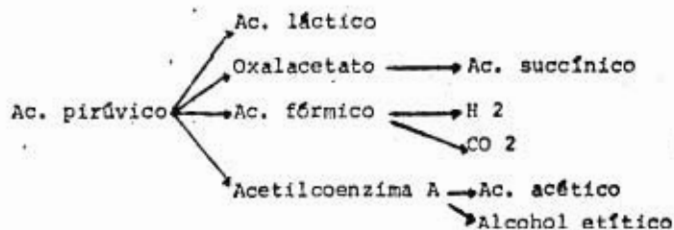
5.7.- Reacción de Voges-Proskauer:

La reacción de Voges-Proskauer (VP) se basa en la detección del acetilmetilcarbinol (acetoina), un producto final neutro derivado del metabolismo de la glucosa. Esta es

metabolizada en ácido pirúvico, una bacteria puede seguir - muchas vías. La producción de acetofina es uno de los ciclos para la degradación de la glucosa en las bacterias.

La reacción de Voges-Proskauer para la acetofina se -- usa sobre todo para separar a la E. coli de los grupos Klebsiella-Enterobacter, aun cuando otros miembros de la Enterobacteriaceae son capaces de producir una reacción de VP positiva.

Las Enterobacteriaceae se clasifican característicamente como fermentadoras de ácidos mixtos o del ácido fórmico, lo cual indica que sus productos terminales por la fermentación de la glucosa son ácidos: ácido fórmico, ácido acético, ácido succínico, alcohol etílico, hidrógeno anhídrico carbónico.

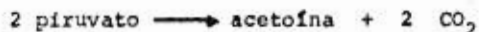
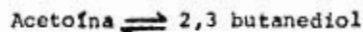
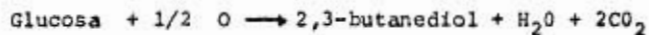


Estos fermentadores de ácidos mixtos pueden ser divididos a su vez en dos grupos: 1) los que producen ácidos, pero no 2,3-butanediol (o 2,3-butenediol), como la E. coli (VP-), o 2) los que producen 2,3-butanediol como prin-

cipales productos terminales, como los grupos Klebsiella-Enterobacter (VP+).

El principal productor terminal de la utilización del piruvato por los grupos Klebsiella-Enterobacter, Serratia, Bacillus, y muchos otros organismos, es el 2,3-butanediol. Sin embargo, la reacción Voqueskroskauer se basa en la detección de la acetofina (acetilmetilcarbinol o AMC), un precursor de la producción del 2,3-butanediol.

Una molécula de acetofina se forma por la decarboxilación de dos moléculas de ácido pirúvico. Harden y Walpole afirman que la acetofina es una etapa intermedia en la conversión en 2,3-butanediol son productos neutros de la fermentación de la glucosa.



La acetofina puede ser metabolizada por uno de estos medios: 1) reducción a 2,3-butanediol, que se acumula a menos que se produzca la reoxidación, o 2) lo que es más raro, por oxidación en diacetilo, que a su vez puede ser catalizado.

La prueba consiste en la determinación del acetyl-methyl-carbinol, derivado del ácido acetoaláctico, resulta de la fermentación de la glucosa en presencia de peptona. El acetyl-methyl-carbinol se pone amarillento con la adición de KOH al 40% de o -naftol al 5% que dará una coloración rosa.

Es muy importante el PH en el medio de V.-P.; se evitará un PH ácido. Por encima de un PH de 6.3 hay acumulación de ácidos acético y fórmico, con supresión de la producción de CO_2 , H_2 , acetoina y 2,3 butanediol. Por debajo del PH 6.3, el ácido acético es convertido en acetoina y 2,3 butanediol, y se suprime la producción de H_2 mientras que aumenta la de CO_2 .

6.- ANTIBIOTICOS UTILIZADOS

6.1.- Cloránfenicol

El Cloránfenicol fue obtenido por primera vez de Streptomyces venezuelae en 1947. Actualmente se le produce en forma sintética sobre una base práctica comercial.

El cloránfenicol es principalmente un agente bacteriostático cuyo mecanismo de acción inhibe la síntesis de proteínas en las bacterias y en menor grado, en las células eucarióticas. El cloránfenicol actúa principalmente ligándose reversiblemente a la subunidad ribosomal 50 s (cerca del sitio de acción de los antibióticos macrólidos y de la clindamicina).

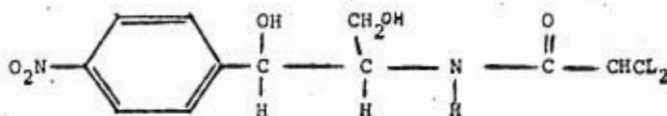
El cloránfenicol es un compuesto natural muy peculiar que contiene una fracción de nitrobenzeno y es un derivado del ácido dicloroacético. El anillo aromático resulta esencial para su actividad biológica.

Es una sustancia blanca cristalina, neutra, de sabor amargo, que puede ser esterificada con ácido palmítico para formar palmitato de cloránfenicol, compuesto insípido pero que continúa siendo terapéutico. Es estable en soluciones ácidas y neutras pero a pH 10 se degrada en un compuesto inactivo. Es ligeramente soluble en agua y muy soluble en etanol y solventes orgánicos. Las soluciones a 37 grados centígrados se deterioran lentamente con una vida media de

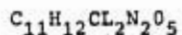
aproximadamente 6 meses. La forma cristalina seca es estable durante por lo menos 5 años bajo luz difusa.

El cloranfenicol es inactivado por las enzimas de - - ciertos filtrados bacterianos, enzimas que reducen el grupo nitro, lo convierten en un grupo amino primario e hidrolizan el enlace amídico.

El cloranfenicol tiene la fórmula estructural siguiente:



Fórmula condensada:



Nombre químico

D (-)- treo - 1- p - nitrofenil- 2 - dicloroacetamido
- 1,3 - propanodiol.

6.2.- Kanamicina

La Kanamicina pertenece al grupo de los aminoglucósi-

dos, este grupo está constituido por medicamentos muy relacionados química y biológicamente que combinan un amplio -- espectro de actividad antibacteriana con nefro y ototoxicidad importantes.

La Kanamicina la aisló Umezawa en 1957 de *Streptomyces Kanamyceticus*.

Cada miembro de este grupo consiste de varios componentes en los cuales los aminoazúcares se acoplan por medio de glucosidos.

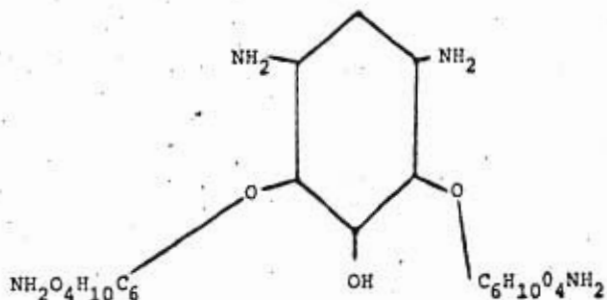
La Kanamicina, el miembro más ampliamente usado de este grupo, y se compone de 3-D-glucosamina y 6-D-glucosamina unidas a la desoxistreptamina.

El mecanismo de acción antibacteriano de la Kanamicina es típico de los aminoglucósidos. A menudo son organismos susceptibles del género proteus, pero las pseudomonas y los streptococos son generalmente resistentes.

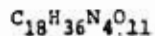
Los mecanismos de resistencia son los mismos que con otros aminoglucósidos. El uso extendido de la combinación neomicina-kanamicina en la preparación del intestino para la cirugía de colon ha conducido a la aparición de microorganismos resistentes.

Entre la neomicina y la kanamicina la resistencia cruzada es completa.

La kanamicina tiene la fórmula estructural siguiente:



Fórmula condensada:



6.3.- Ampicilina

Las penicilinas comprenden un gran grupo de sustancias, siendo algunas de ellas productos naturales de hongos y otros compuestos semisintéticos, al cual pertenece la ampicilina. Estas comparten un núcleo químico común, el ácido 6-aminopenicilánico, y un modo común de acción antibacteriana.

En 1949 Chain, Florey y sus colaboradores lograron --

producir las primeras penicilinas a partir del hongo *Penicillium notatum*. Para 1949 se disponía de cantidades ilimitadas de penicilina para uso clínico. Se obtuvieron varios productos de fermentaciones diferentes los cuales llamaron penicilina G era la mejor y se discontinuó la manufactura de las otras.

Las dos principales limitaciones de la penicilina G eran su sensibilidad a la destrucción por la Beta-Lactamasa (penicilinasas) y su relativa inactividad contra la mayor parte de bacterias gramnegativas. Estos problemas llevaron a una investigación, organizada por Chain, Rolinson y Batchelor llevó, en 1957, al aislamiento del ácido 6-aminopenicilánico, y así comenzó la elaboración de una larga cadena de penicilinas semisintéticas.

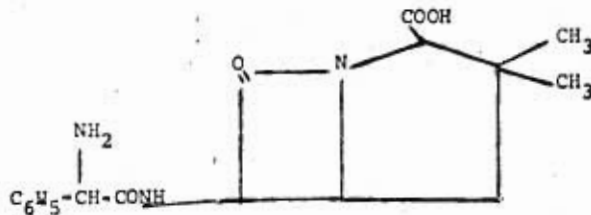
Esto dio por resultado el proyecto selectivo de medicamentos resistentes a la Beta-Lactamasa, estables a PH ácido, y activos tanto contra bacterias gramnegativas como a bacterias grampositivas.

La ampicilina tiene una actividad relativamente alta contra microorganismos tanto grampositivos como gramnegativos, pero es destruida por la Beta-Lactamasa.

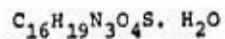
Las penicilinas tienen el mismo mecanismo de acción -

antibacteriana, inhiben la síntesis de las paredes de las células bacterianas que contienen un "mucopéptido" complejo que consiste de polisacárido y un polipéptido con muchos enlaces cruzados conocidos como peptidoglucano.

La ampicilina tiene la fórmula estructural muy semejante a la de la penicilina G y es la siguiente:



Fórmula condensada:



Nombre químico

(Alfa - Aminobencilpenicilina)

7.- GENERALIDADES SOBRE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

7.1.- Resistencia a los medicamentos antimicrobianos

Existen muchos mecanismos diferentes por los cuales - los microorganismos podrían exhibir resistencia a los medicamentos. Los siguientes están bastante bien respaldados - por la evidencia:

1.- Los microorganismos producen enzimas que destruyen el medicamento activo. Por ejemplo, los estafilococos resistentes a la penicilina G producen una beta-lactamasa que destruye al medicamento. Otras beta-lactamasa son producidas por bacilos gram negativos. Las bacterias gram negativas resistentes a los aminoglucósidos (por virtud de un plasmidio) producen enzimas adenililantes, fosforilantes o acetilantes que destruyen al medicamento.

Las bacterias gram negativas pueden ser resistentes - al cloranfenicol si producen una cloranfenicol-acetiltransferasa.

2.- Los microorganismos cambian su permeabilidad al medicamento. Por ejemplo, las tetraciclinas se acumulan en las bacterias sensibles a ellas, pero no en las resistentes. La resistencia a las polimixinas está probablemente asociada a un cambio de permeabilidad a los medicamentos. Los esteptococos tienen una barrera natural contra la permeabilidad a los aminoglucósidos. Esto puede ser superado en parte por la presencia simultánea de un medicamento con activi

dad sobre la pared celular; por ejemplo una penicilina. La resistencia a la amikacina y a algunos aminoglucósidos puede depender de la falta de permeabilidad a los medicamentos, debida aparentemente a la alteración del transporte activo a través de las membranas celulares.

3.- Los microorganismos desarrollan un blanco estructural alterado para el medicamento. Por ejemplo, la resistencia cromosómica a aminoglucósidos está asociada con la pérdida o alteración de una proteína específica en la subunidad del 30S del ribosoma bacteriano que sirve como sitio de unión en los organismos sensibles. Los microorganismos resistentes a la eritromicina tienen una proteína alterada en la subunidad de 50S del ribosoma bacteriano, resultando en la metilación de un RNA ribosómico 23S.

4.- Los microorganismos elaboran una vía metabólica alterada que elude la reacción inhibida por el medicamento. Por ejemplo, algunas bacterias no resistentes a las sulfonamidas no requieren de PABA extracelular pero, como las células de mamíferos, pueden utilizar el ácido fólico preformado.

5.- Los microorganismos elaboran una enzima alterada que aún puede llevar a cabo su función metabólica, pero es mucho menos afectada por el medicamento que la enzima del organismo sensible. Por ejemplo, en algunas bacterias sensibles a las sulfonamidas la sintetasa del ácido tetrahidro

pteróico tiene una afinidad mucho mayor para la sulfonamida que para el PABA.

En las mutantes resistentes a las sulfonamidas se presenta el caso opuesto.

Nota: El PABA (ácido p-aminobenzoico), constituye un metabolito esencial, lo emplean como precursor en la síntesis del ácido fólico el cual sirve como una etapa importante en la síntesis de -- los ácidos nucleicos.

7.2.- Origen de la resistencia a los medicamentos

El origen de la resistencia a los medicamentos puede ser de dos tipos, genético o no genético.

A.- Origen no genético:

La autoduplicación de las bacterias se requiere usualmente para la mayor parte de las acciones de los medicamentos antibacterianos. En consecuencia, los microorganismos que son metabólicamente inactivos y no se multiplican pueden ser resistentes a los medicamentos. Sin embargo, sus descendientes son completamente sensibles. Por ejemplo, -- las microbacterias a menudo sobreviven en los tejidos durante muchos años después de la infección, sin embargo, están

restringidos por las defensas del huésped y no se multiplican. Tales organismos "persistentes" resisten el tratamiento y no pueden ser erradicados por los medicamentos. No obstante, si ellos comienzan a multiplicarse son completamente sensibles a los mismos medicamentos.

Los organismos pueden perder la estructura específica que sirve de blanco para un medicamento por varias generaciones y así volverse resistentes. Por ejemplo, los organismos sensibles a la penicilina pueden cambiar a las formas L (protoplastos) durante la administración de penicilina. Careciendo de la mayor parte de la pared celular, - ellas son resistentes a los medicamentos inhibitorios de la pared celular y pueden permanecer así por varias generaciones como "persistentes". Cuando estos organismos regresan a sus formas bacterianas progenitoras reanudando la producción de pared celular, ellos son de nuevo completamente sensibles a la penicilina.

B.- Origen genético:

La vasta mayoría de microorganismos resistentes a los medicamentos ha surgido como resultado de cambios genéticos y subsiguientes procesos de selección. Los cambios genéticos pueden ser cromosómicos o extracromosómicos.

Las bacterias contienen cromosomas hechos de una molé

cula de DNA circular de doble tira. Estos cromosomas están muy enrollados y plegados dentro de la célula para permitir la segregación ordenada en el interior de las células hijas. Los cromosomas bacterianos se autoduplican en forma semiconservadora y secuencialmente. En algunas bacterias, se sabe que la autoduplicación procede en ambas direcciones.

1.- Resistencia cromosómica:

Esta se desarrolla como resultante de una mutación espontánea en un locus que controla la susceptibilidad a un antimicrobiano determinado. La presencia del medicamento sirve como mecanismo selector que suprime a los susceptibles y promueve el crecimiento de los mutantes resistentes a los medicamentos. La mutación espontánea ocurre con una frecuencia de 10^{-7} - 10^{-12} y, por lo tanto, es una causa rara de la aparición de resistencia clínica al medicamento dentro de un enfermo determinado. Los mutantes cromosómicos son muy comúnmente resistentes, en virtud de un cambio en un receptor estructural para un medicamento. Por lo tanto, la proteína P 10 sobre la subunidad 30S del ribosoma bacteriano sirve como un receptor para la inserción de la estreptomycinina. La mutación en el gen que controla dicha proteína estructural resulta en la resistencia a la estreptomycinina. Una región estrecha del cromosoma bacteriano contiene genes estructurales que cifran numerosos receptores de medicamentos, incluyendo aquellos para la eritromicina, tetraciclina, lincomicina, aminoglucósidos, etc. La muta--

ción también puede producir la pérdida de receptores para la penicilina en algunas especies microbianas, lo que las convierte en mutantes resistentes a la penicilina.

2.- Resistencia extracromosómica:

Las bacterias contienen también elementos genéticos extracromosómicos llamados plasmidios o episomas. Los plasmidios son moléculas de DNA circular que tiene del 1 al 3% del peso del cromosoma bacteriano. Algunos portan sus propios genes para la autoduplicación y la transferencia. - - Otros dependen de los genes de otros plasmidios.

Los factores R son una clase de plasmidios que portan genes para la resistencia contra uno y a menudo diversos antimicrobianos y metales pesados. Los genes de los plasmidios para la resistencia antimicrobiana controlan a menudo la formación de enzimas capaces de destruir los antimicrobianos. Por lo tanto, los plasmidios determinan la resistencia a las penicilinas y cefalosporinas portando genes para la formación de beta-lactamasas. Los plasmidios forman enzimas que destruyen el cloránfenicol (acetil-transferasas); enzimas que acetilan, adenilan o fosforilan diversos amino-glucósidos; enzimas que determinan la permeabilidad de la cubierta celular a las tetraciclinas y otras.

El material genético y los plasmidios pueden ser transferidos de un microorganismo a otro por los mecanismos siguientes:

a.- Transducción:

El DNA del plasmidio está guardado en un virus -- bacteriano y es transferido por el virus a otra bacteria de la misma especie. Por ejemplo, el plasmidio que porta el gen para la producción de la beta-lactamasa puede ser transferido de un estafilococo resistente a la penicilina a un estafilococo susceptible si es transportado por un bacteriófago adecuado. Una transducción semejante ocurre en las salmonellas.

b.- Transformación:

El DNA desnudo pasa de una célula de una especie a otra célula alterando el genotipo de esta última. Esto -- puede ocurrir espontáneamente o a través de su manipulación en el laboratorio.

c.- Conjugación bacteriana:

Una transferencia unilateral de material genético entre las bacterias de los mismos géneros o de diferentes -- ocurre en la conjugación. Esta transferencia es mediada -- por un factor de fertilidad (F) que resulta en la extensión de los pelos sexuales del donador (F^+) a la célula receptora. El plasmidio o algún otro DNA es transferido a través de estos túbulos de proteína de la célula donadora a la receptora. Una serie de genes íntimamente eslabonados determinando cada uno la resistencia a un medicamento pueden ser transferidos de una bacteria resistente a una susceptible. Dicho a factor de transferencia de resistencia (FTR) es el

método más común de diseminación de resistencia multimedicamentosa entre los diversos géneros de bacterias gramnegativas.

d.- Translocación o transposición:

Un intercambio de secuencias cortas (transposición) de DNA ocurre entre un plasmidio y otro, o entre un plasmidio y una porción del cromosoma bacteriano dentro de alguna célula bacteriana.

e.- Resistencia cruzada:

Los microorganismos resistentes a cierto medicamento pueden también ser resistentes a otros medicamentos que comparten un mecanismo de acción o de adherencia. Tales relaciones existen principalmente entre agentes que están íntimamente emparentados desde el punto de vista químico, pero también pueden existir entre sustancias químicas no relacionadas.

En ciertas clases de medicamentos, el núcleo activo del agente químico es tan semejante entre tantos congéneres que se puede esperar la resistencia cruzada.

8.- MATERIAL Y METODOS

8.1.- Material:

- a).- Agua después de salir de la potabilizadora, de las llaves para consumo doméstico, así como en las presentaciones comerciales.
- b).- Mecheros
- c).- Asa de aluminio
- d).- Cajas de Petri
- e).- Porta objetos
- f).- Tubos de ensayo
- g).- Microscopio
- h).- Botellas de 2 litros para recolectar agua
- i).- Medios de cultivo
- j).- Tiosulfato de sodio
- k).- Kanamicina, ampicilina, cloránfenicol (como antibióticos)

Métodos:

8.2.- Obtención de las cepas a utilizar

En la realización de esta investigación se utilizaron 80 cepas diferentes de un total de 80 muestras de aguas, para la utilización de cada cepa se tuvieron que llevar varios pasos.

a).- Después de recolectar las muestras se procedió a sembrarlas en un caldo Gram-Negativo como enriquecimiento, agregando 1 ml de agua recolectada a 5 ml de caldo.

b).- Del caldo Gram-Negativo, con un asa de aluminio se procedió a sembrar en nuestros medios de cultivo selectivos y diferenciales esterilizando el asa en cada una de las siembras.

c).- Ya obtenidas las colonias puras de los medios selectivos y diferenciales se procedió a identificarlas sembrando con el asa en las bioquímicas ya preparadas.

d).- Ya identificada la colonia pura fue la utilizada para la investigación de resistencia a nuestros antibióticos.

e).- Observaciones; en cada paso tanto como en el caldo y los medios de cultivo se pusieron a incubación por un lapso de 24 horas a 37 grados centígrados, y los medios utilizados fueron MacConkey, Desoxicolato citrato, verde brillante, Enterococcus medium, Endo.

8.3.- Preparación del neutralizador de cloro y utilización de éste.

Se pesan 10 gramos de tiosulfato de sodio y se afora en un matraz balón de 100 ml con agua destilada para obte--

ner una concentración del 10% en solución de tiosulfato de sodio.

Se utilizó de la manera siguiente, en cada una de las tomas se agregaba 2 ml de tiosulfato de sodio al 10% en la botella de 2 litros para neutralizar los residuos de cloro que se encontraran en el agua.

8.4.- Preparación de los medios de cultivo con antibióticos

Se prepara un litro de medio de cultivo de Muller Hinton pesando 36.5 gramos del medio y agregar un litro de - - agua bidestilada y se pone a esterilizar en el autoclave de 116 a 121 grados centígrados (12 a 15 libras de presión) durante no más de 15 minutos.

1.- Agar Muller Hinton con Cloránfenicol

Se pesan .05 gramos de cloránfenicol con una pureza - del 100% y se deja listo para agregarlo al medio.

Se toman 250 ml del medio de cultivo de agar Muller - Hinton previamente preparado y esterilizado en autoclave, - el cual se deja enfriar a una temperatura de 45 a 50 grados centígrados y se agregan los .05 gramos de cloránfenicol -- previamente pesados y se homogeniza hasta que se disuelva - completamente el cloránfenicol en el medio de agar, ya homogeneo se dispone para agregarlo en las cajas petri.

Ya agregado en las cajas petri se deja a enfriar y ya solidificado se almacena a 4 grados centígrados y se utilizan en un lapso de 8 días para que el antibiótico no pierda su actividad.

2.- Agar Muller Hinton con sulfato de Kanamicina

Se pesan 0.05 gramos de sulfato de kanamicina con una pureza del 100% y se deja listo para agregar al medio.

Se agregan los 0.05 gramos de sulfato de kanamicina a 250 ml de agar Muller Hinton previamente preparado y esterilizado en autoclave, el agar se enfría entre 40 y 50 grados y se revuelve hasta que se disuelva completamente y ya homogéneo se agrega el agar a las cajas petri.

Ya agregado en las cajas petri se deja enfriar y ya solidificado se almacena al igual que el de cloranfenicol.

3.- Agar Muller Hinton con ampicilina

Se pesan 0.4 gramos de hidróxido de sodio y se pone en un matraz de 100 ml y se afora con agua bidestilada.

Se pesan 0.05 gramos de la sal de ampicilina y se diluye en 5 ml de la solución de hidróxido de sodio 1 molar.

Se toman 250 ml de agar Muller Hinton y se le agregan los 5 ml de la solución de hidróxido de sodio con penicili-

na. El agar se trata en la misma forma que para los otros antibióticos.

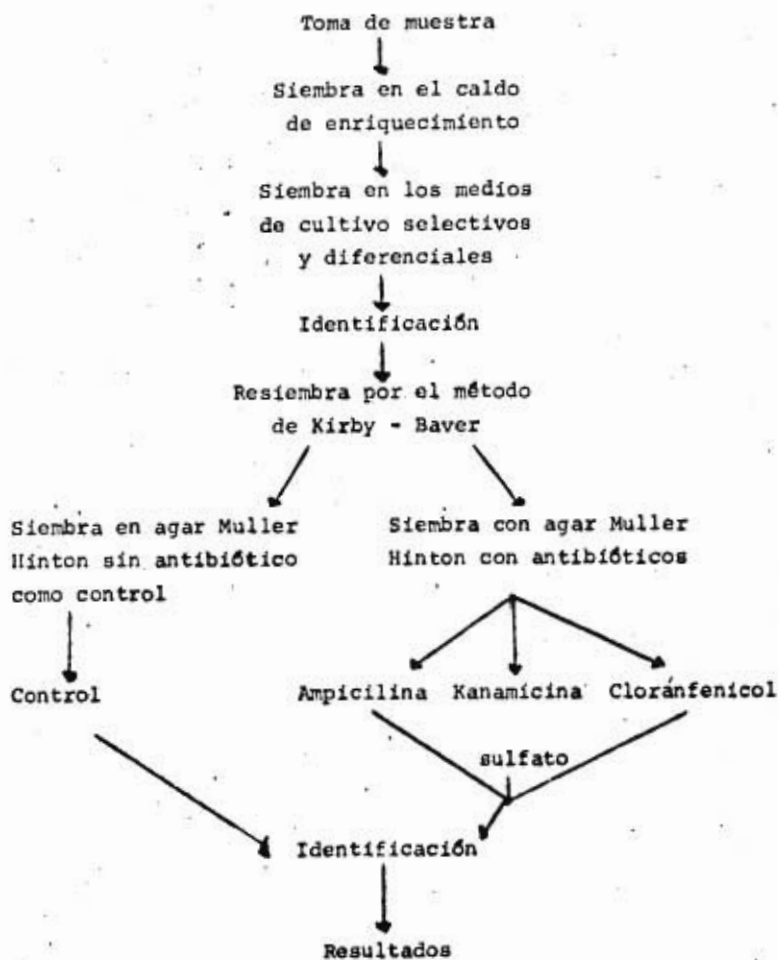
Ya agregado en las cajas petri se deja enfriar y ya -- soldificado el agar se almacena al igual que las otras ca-- jas y se utiliza de la misma manera (en un lapso de 8 días).

4.- Agar Muller Hinton para control

El Agar Muller Hinton después de salir del autoclave se deja enfriar entre 40 y 50 grados centígrados, y se agre-- ga en las cajas petri, ya soldificado el agar se almacenan -- las cajas a 4 grados centígrados y se utiliza en un lapso -- de 8 días de tiempo.

8.5.- Diagrama de Flujo

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA



9.- RESULTADOS

RESULTADOS ZAPOPAN

No.	TOMA	LUGAR	IDENTIFICACION
1.-	Cisterna	Jardines Universidad	Citrobacter freundii
2.-	Llave	Jardines Universidad	Negativa
3.-	Planta R.	Jardines Universidad	Negativa
4.-	Cisterna	Jardines Vallarta	Salmonella paratyphi A
5.-	Llave	Jardines Vallarta	Proteus mirabilis Enterobacter agglomerans
6.-	Llave	Jardines Vallarta	Negativa
7.-	Tinaco	Jardines Vallarta.	Proteus vulgaris Salmonella paratyphi A
8.-	Llave	Jardines Vallarta	Negativa
9.-	Cisterna	Jardines Vallarta	Citobacter freundii Proteus vulgaris
10.-	Cisterna	Jardines Vallarta	Escherichia coli Pseudomonas aeruginosa Alcaligenes faecelia
11.-	Cisterna	La Estancia	Proteus vulgaris Enterobacter agglomerans Proteus mirabilis
12.-	Llave	La Estancia	Negativa
13.-	Tinaco	La Estancia	Enterobacter agglomerans Citobacter freundii
14.-	Llave	La Estancia	Negativa

15.-	Cisterna	La Estancia	<i>Klepsiella ozaenae</i> <i>Enterobacter agglomerans</i> <i>Proteus mirabilis</i>
16.-	Llave	La Estancia	<i>Pseudomona aeruginosa</i>
17.-	Llave	Residencial Moctezuma	Negativa
18.-	Tinaco	Residencial Moctezuma	<i>Enterobacter agglomerans</i> <i>Salmonella paratyphi</i> <i>Pseudomona aeruginosa</i>
19.-	Tinaco	Residencial Moctezuma	<i>Enterobacter hafniae</i>
20.-	Cisterna	Prados Moctezuma	<i>Enterobacter agglomerans</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Serratia liquefaciens</i>
21.-	Llave	Prados Moctezuma	Negativa
22.-	Llave	Colonia México	Negativa
23.-	Tinaco	Colonia México	<i>Pseudomona aeruginosa</i> <i>Enterobacter agglomerans</i> <i>Proteus vulgaris</i>
24.-	Llave	Jardines San Ignacio	Negativa
25.-	Tinaco	Jardines San Ignacio	<i>Citrobacter freundii</i> <i>Proteus vulgaris</i>
26.-	Llave	Arboledas	Negativa
27.-	Cisterna	Arboledas	<i>Salmonella paratyphi</i>
28.-	Llave	Colinas de San Javier	Negativa
29.-	Cisterna	Colinas de San Javier	<i>Enterobacter hafniae</i> <i>Citrobacter freundii</i>
30.-	Llave	Colinas de San Javier	Negativa

31.-	Cisterna	Colinas de San Javier	Enterobacter agglomerans Proteus vulgaris, E.coli
32.-	Llave	Chapalita	Proteus mirabilis
33.-	Cisterna	Chapalita	Proteus mirabilis
34.-	Tinaco	Chapalita	Pseudomona aeruginosa Alcaligenes faecalis Proteus vulgaris
35.-	Cisterna	Lomas de Guevara	Enterobacter agglomerans Proteus vulgaris
36.-	Llave	Lomas de Guevara	Pseudomonas aeruginosa
37.-	Filtro 1	U. A. G.	Negativa
38.-	Filtro 2	U. A. G.	Negativa
39.-	Filtro 3	U. A. G.	Negativa
40.-	Planta Colomos		Negativa

RESULTADOS GUADALAJARA

No.	TOMA	LUGAR	IDENTIFICACION
1.-	Cisterna	La Calma	Enterobacter agglomerans Proteus vulgaris
2.-	Llave	La Calma	Citrobacter freundii
3.-	Cisterna	Providencia	E. coli Pseudomona aureginosa
4.-	Llave	Providencia	Negativa
5.-	Tinaco	Providencia	Proteus mirabilis
6.-	Tinaco	Providencia	Citrobacter freundii
7.-	Llave	Providencia	Negativa
8.-	Llave	Providencia	Negativa
9.-	Cisterna	Providencia	E. coli Enterobacter agglomerans
10.-	Llave	Providencia	Negativa
11.-	Tinaco	Providencia	Pseudomona aureginosa
12.-	Cisterna	Providencia	Salmonella paratyphi Proteus vulgaris
13.-	Cisterna	Providencia	Citrobacter freundii
14.-	Llave	Jardines del Country	Negativa
15.-	Cisterna	Jardines del Country	Proteus mirabilis
16.-	Cisterna	Jardines del Country	Enterobacter agglomerans
17.-	Tinaco	Jardines del Country	Citrobacter diversus
18.-	Cisterna	Country club	Alcaligenes faecalis Pseudomona aureginosa

19.-	Cisterna	Country club	Salmonella paratyphi Citrobacter freundii E. coli
20.-	Llave	Jardines de los Arcos	Enterobacter agglomerans
21.-	Cisterna	Jardines de los Arcos	E. coli Enterobacter hafniae
22.-	Llave	Lomas del Valle	Negativa
23.-	Tinaco	Lomas del Valle	Citrobacter freundii Enterobacter agglomerans
24.-	Cisterna	Lomas del Valle	E. coli
25.-	Llave	Sector Hidalgo	Negativa
26.-	Tinaco	Sector Hidalgo	Pseudomona aureginosa
27.-	Llave	Sector Hidalgo	Negativa
28.-	Cisterna	Sector Hidalgo	Enterobacter hafniae Enterobacter agglomerans
29.-	Tinaco	Sector Hidalgo	Citrobacter freundii
30.-	Llave	Sector Libertad	Negativa
31.-	Tinaco	Sector Libertad	Proteus vulgaris
32.-	Llave	Sector Libertad	Enterobacter agglomerans
33.-	Cisterna	Sector Libertad	Salmonella paratyphi
34.-	Llave	Sector Reforma	Negativa
35.-	Tinaco	Sector Reforma	Enterobacter agglomerans Proteus vulgaris
36.-	Pozo Chino	Providencia	Negativa
37.-	Garrafón	Comercial	Negativa
38.-	Garrafón	Comercial	Negativa

39.- Garrafón Comercial
40.- Garrafón Comercial

Negativa

Proteus vulgaris

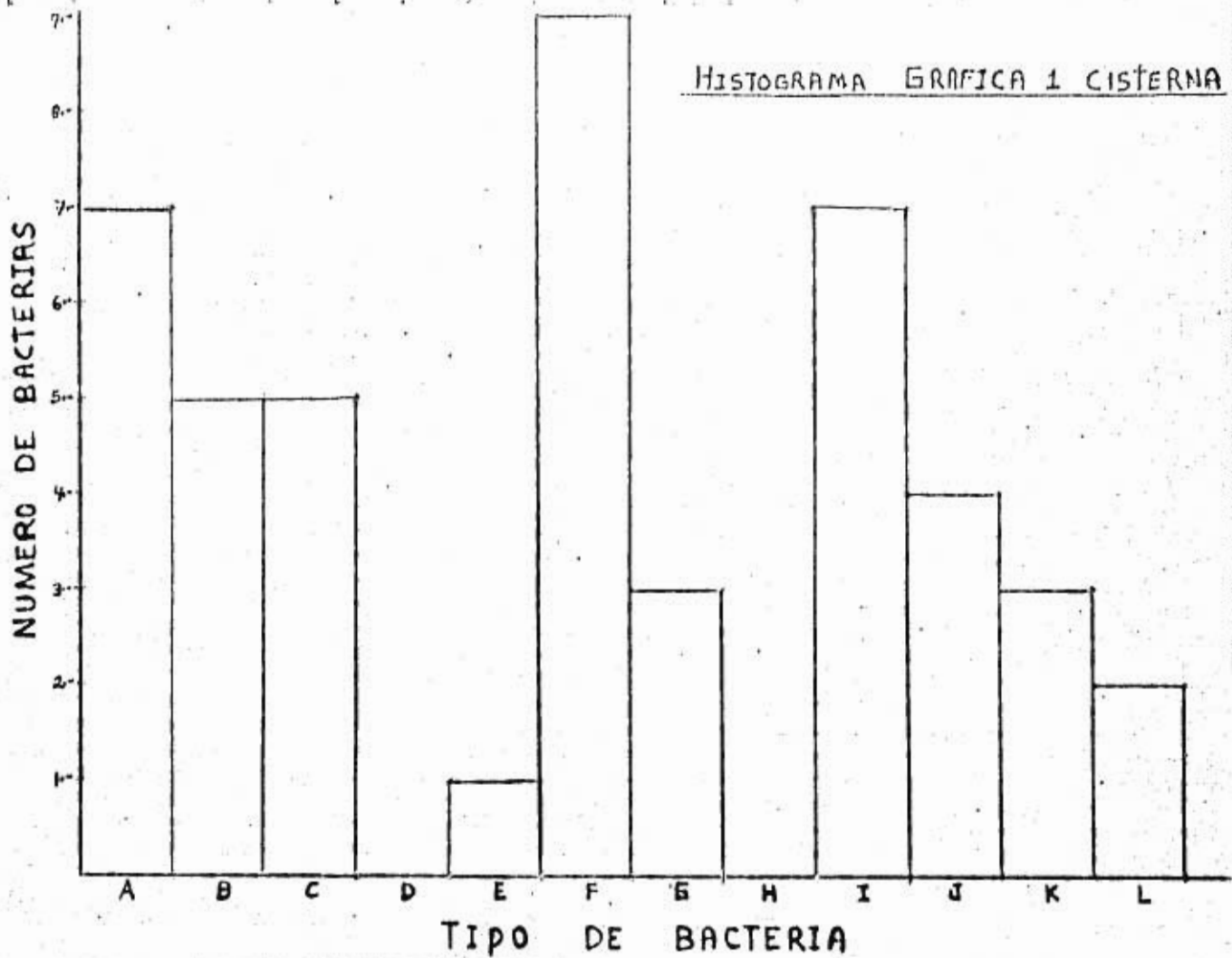
Citrobacter freundii

GRAFICA DE FRECUENCIA DE APARICION

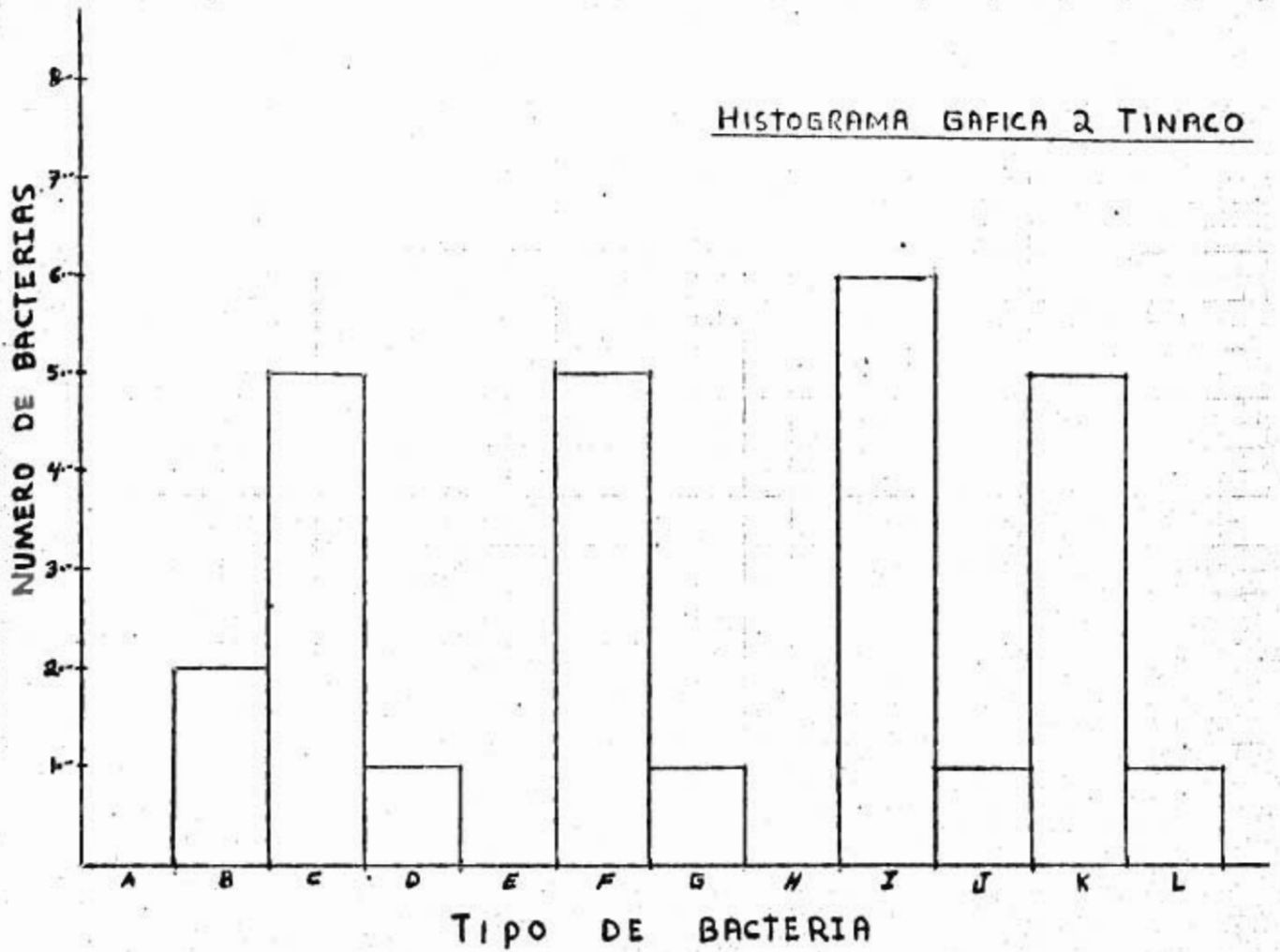
- A : Echerichia coli
- B : Salmonella paratyphi A
- C : Citrobacter freundii
- D : Citrobacter diversus
- E : Kebsiella ozaenae
- F : Enterobacter agglomerans
- G : Enterobacter hafniae
- H : Serratia liquefaciens
- I : Proteus vulgaris
- J : Proteus mirabilis
- K : Pseudomona aureginosa
- L : Alcaligenea faecalis

DISTRIBUCION DE LAS GRAFICAS

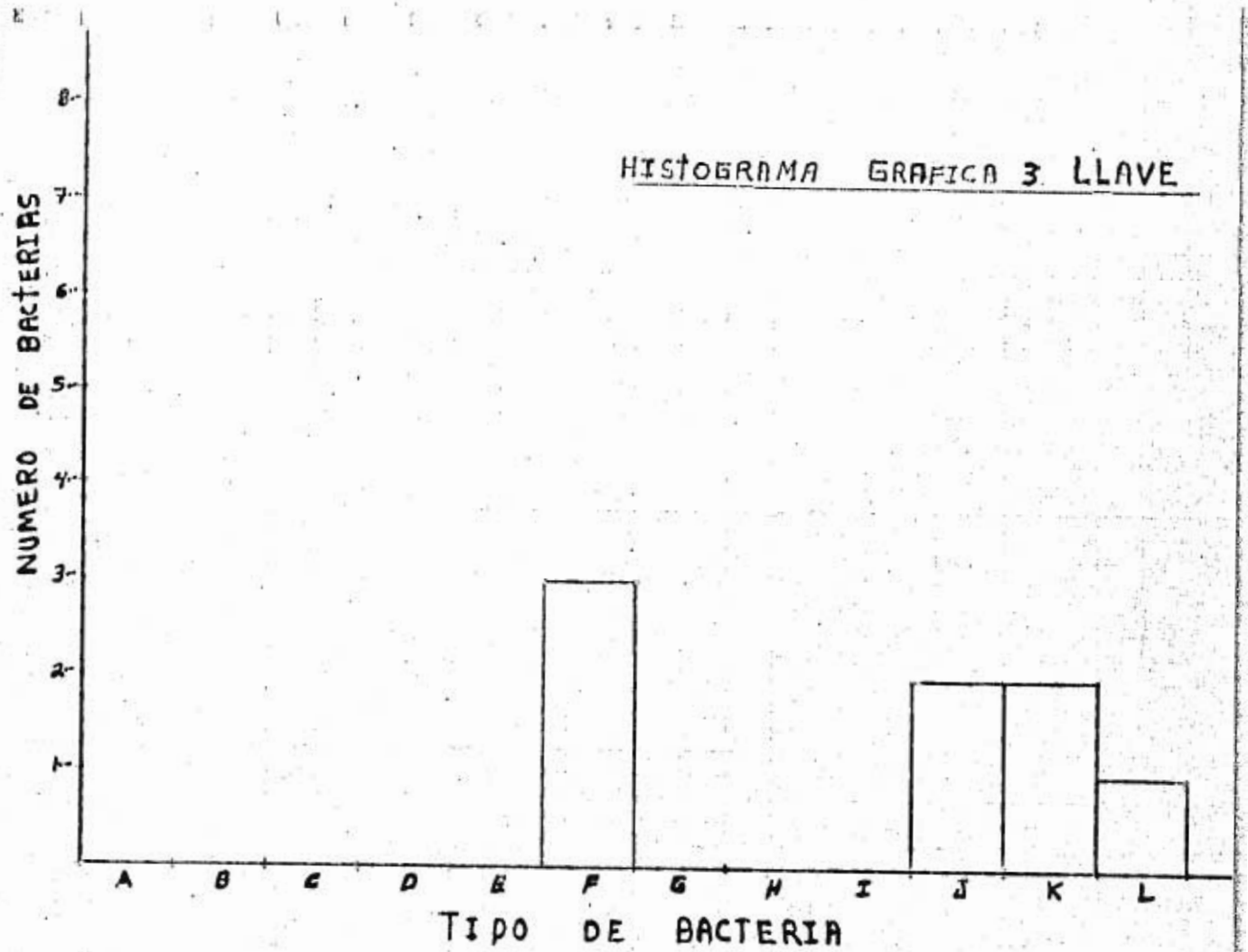
- | | |
|--|-------|
| Cisterna | (1) |
| Tinaco | (2) |
| Llave | (3) |
| Comercial, filtros, Planta de rebomdeo | (4) |



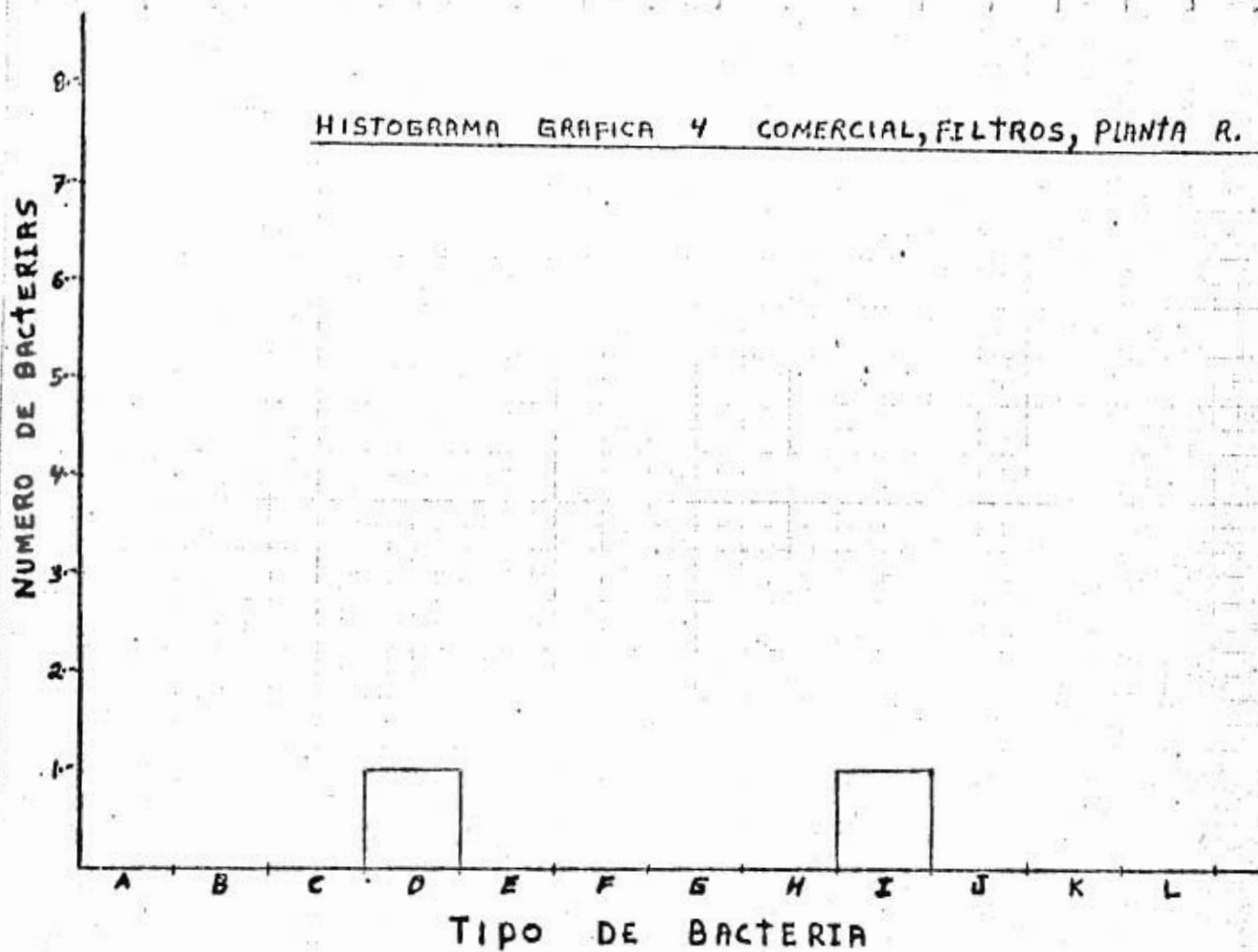
HISTOGRAMA GAFICA 2 TINACO



HISTOGRAMA GRAFICA 3 LLAVE



HISTOGRAMA GRAFICA 4 COMERCIAL, FILTROS, PLANTA R.



RESULTADOS DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS

BACTERIA	CLORANFENICOL	KANAMICINA	AMPICILINA
1.- E. coli	S	S	R
2.- E. coli	S	S	S
3.- E. coli	S	S	R
4.- E. coli	S	R	R
5.- E. coli	S	S	S
6.- E. coli	S	S	S
7.- E. coli	S	S	R
1.- Klebsiella ozaenae	S	R	R
1.- Serratia liquefaciens	S	S	R
1.- Enterobacter hafniae	S	R	R
2.- Enterobacter h.	S	R	R
3.- Enterobacter h.	S	S	S
4.- Enterobacter h.	S	S	R
1.- Enterobacter agglomerans	S	S	R
2.- Enterobacter a.	S	S	R

3.- Enterobacter a.	S	R	R
4.- Enterobacter a.	S	S	R
5.- Enterobacter a.	S	S	S
6.- Enterobacter a.	S	S	S
7.- Enterobacter a.	S	S	R
8.- Enterobacter a.	R	R	R
9.- Enterobacter a.	S	S	R
10.- Enterobacter a.	S	S	S
11.- Enterobacter a.	S	R	R
12.- Enterobacter a.	S	S	S
13.- Enterobacter a.	S	S	S
14.- Enterobacter a.	R	R	R
15.- Enterobacter a.	S	S	R
16.- Enterobacter a.	S	S	R
17.- Enterobacter a.	S	S	S
1.- Proteus mirabilis	S	S	R
2.- Proteus m.	S	S	R
3.- Proteus m.	S	S	R
4.- Proteus m.	S	S	R
5.- Proteus m.	R	S	R
6.- Proteus m.	S	S	S
7.- Proteus m.	S	S	S
1.- Proteus vulgaris	S	S	R
2.- Proteus v.	S	S	R

3.-	Proteus v.	S	S	S
4.-	Proteus v.	S	S	R
5.-	Proteus v.	S	S	R
6.-	Proteus v.	R	S	R
7.-	Proteus v.	S	S	R
8.-	Proteus v.	R	R	R
9.-	Proteus v.	S	S	S
10.-	Proteus v.	S	S	R
11.-	Proteus v.	R	S	R
12.-	Proteus v.	S	S	S
13.-	Proteus v.	S	S	R
14.-	Proteus v.	S	S	S
1.-	Citrobacter diversus	S	S	R
1.-	Citrobacter freundii	S	S	R
2.-	Citrobacter f.	S	S	S
3.-	Citrobacter f.	S	S	R
4.-	Citrobacter f.	R	R	R
5.-	Citrobacter f.	S	S	R
6.-	Citrobacter f.	S	S	R
7.-	Citrobacter f.	S	S	S
8.-	Citrobacter f.	S	S	R
9.-	Citrobacter f.	S	S	R
10.-	Citrobacter f.	S	S	R
11.-	Citrobacter f.	S	S	S

1.-	Salmonella	S	S	R
	paratyphi <u>A</u>			
2.-	Salmonella p. <u>A</u>	S	S	R
3.-	Salmonella p. <u>A</u>	S	S	R
4.-	Salmonella p. <u>A</u>	S	S	R
5.-	Salmonella p. <u>A</u>	S	S	S
6.-	Salmonella p. <u>A</u>	S	S	R
7.-	Salmonella p. <u>A</u>	S	S	S
1.-	Pseudomona aeruginosa	S	R	R
2.-	Pseudomona a.	R	R	R
3.-	Pseudomona a.	S	S	R
4.-	Pseudomona a.	S	R	R
5.-	Pseudomona a.	S	S	R
6.-	Pseudomona a.	S	S	R
7.-	Pseudomona a.	R	R	R
8.-	Pseudomona a.	S	R	R
9.-	Pseudomona a.	S	R	R
10.-	Pseudomona a.	S	S	R
1.-	Alcaligenes faecalis	S	S	R
2.-	Alcaligenes f.	S	R	R
3.-	Alcaligenes f.	S	S	R

TABLA DE SENSIBILIDAD O RESISTENCIA A CADA ANTIBIOTICO

BACTERIA	ANTIBIOTICO	% SENSIBILIDAD	% RESISTENCIA
<u>Echerichia coli</u> (7)	Cloranfenicol	100 %	0 %
	Kanamicina	86 %	14 %
	Ampicilina	43 %	47 %
<u>Salmonella paratyphi A</u> (7) *	Cloranfenicol	100 %	0 %
	Kanamicina	100 %	0 %
	Ampicilina	29 %	71 %
<u>Citrobacter freundii</u> (11)	Cloranfenicol	91 %	9 %
	Kanamicina	91 %	9 %
	Ampicilina	27 %	73 %
<u>Citrobacter diversus</u> (1)	Cloranfenicol	100 %	0 %
	Kanamicina	100 %	0 %
	Ampicilina	0 %	100 %
<u>Klebsiella ozaenae</u> (1)	Cloranfenicol	100 %	0 %
	Kanamicina	0 %	100 %
	Ampicilina	0 %	100 %
<u>Enterobacter agglomerans</u> (17)	Cloranfenicol	88 %	12 %
	Kanamicina	76 %	24 %
	Ampicilina	41 %	59 %

<u>Enterobacter</u> <u>hafniae</u> (4)	Cloranfenicol	100 %	0 %
	Kanamicina	50 %	50 %
	Ampicilina	25 %	75 %
<u>Serratia</u> <u>liquefaciens</u> (1)	Cloranfenicol	100 %	0 %
	Kanamicina	100 %	0 %
	Ampicilina	0 %	100 %
<u>Proteus</u> <u>vulgaris</u> (14)	Cloranfenicol	79 %	21 %
	Kanamicina	93 %	7 %
	Ampicilina	29 %	71 %
<u>Protous</u> <u>mirabilis</u> (4)	Cloranfenicol	86 %	14 %
	Kanamicina	100 %	0 %
	Ampicilina	29 %	71 %
<u>Pseudomona</u> <u>aureginosa</u> (10)	Cloranfenicol	80 %	20 %
	Kanamicina	40 %	60 %
	Ampicilina	0 %	100 %
<u>Alcaligenes</u> <u>faecalis</u> (3)	Cloranfenicol	100 %	0 %
	Kanamicina	67 %	33 %
	Ampicilina	0 %	100 %

10.- CONCLUSIONES

Se llegó a la conclusión sobre esta investigación que la mayoría de las bacterias encontradas fueron en cisternas y en tinacos, no tanto así como en el agua que viene directamente de la tubería a las llaves de las casas. Esta podría ser por varios factores de contaminación, ya sea por la presencia de animales cerca de las cisternas, las lluvias que lavan los patios y donde el agua se introduce en ellas, así como no lavarlas de vez en cuando y su almacenamiento del agua prolongado puede llevar al crecimiento de bacterias.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos de esta investigación, nos pudimos dar cuenta que la mayoría de resistencia por parte de las bacterias se presentó a la ampicilina, que aunque no tiene una actividad relativamente alta -- contra los microorganismos es destruida por la Beta lactama sa y no así presentaron tanta resistencia a la Kanamicina o al Cloránfenicol que son antibióticos muy agresivos contra las bacterias.

11.- BIBLIOGRAFIA

- 11.1.- Burrows William
TRATADO DE MICROBIOLOGIA
20a Edición
Editorial Interamericana, S.A., México 1974
- 11.2.- Carpenter Philip L.
MICROBIOLOGIA
2da Edición
Editorial Interamericana, México, D.F. 1969
- 11.3.- Davis - R. Bulbecco - H.N. Eisen - H.S.
TRATADO DE MICROBIOLOGIA
2a Edición
Editorial Salvat. Barcelona, España, 1978
- 11.4.- Pelzar M.J., Reid R.D.
MICROBIOLOGIA
4a Edición
Mc Gram Hill, Hill Book Co., USA - México 1980
- 11.5.- A. Pumarola
MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA MEDICA
1a Edición
Salvat Editores, Barcelona, España, 1984

- 11.6.- Jawetz
MICROBIOLOGIA MEDICA
10a Edición
Editorial Manual Moderno, México D.F., 1983
- 11.7.- Lennette E.H., Soulding E.H., Truant J.P.
MANUAL DE MICROBIOLOGIA CLINICA
2a Edición
Salvat Editores, Barcelona, España, 1981
- 11.8.- Finegol - Martín
DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO
7a Edición
Editorial Panamericana, Buenos Aires, 1989
- 11.9.- Mac Fadin Jean F.
BIOCHEMICAL TEST FOR IDENTIFICATION OF MEDICAL
BACTERIAE
2a Edición
The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1977
- 11.10.- Koneman E. W., Allan S.D., Boweal V.R., Somers H.M.
DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO
1a Edición
Editorial Médica Panamericana, 1983

- 11.11.- Rohde A.P., Carski T.R., Smith A.G.
MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO Y DE
PRODUCTOS
B B L
Becton, Dickinson de México, S.A. de C.V.
México, D.F. 1974
- 11.12.- Pérez Hernández M.D., Millan Perez M.C. y Aguilar J.J.
ESTUDIO COMPARATIVO DEL COMPORTAMIENTO BIOQUIMICO EN
ESPECIES DE LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE
Laboratorio, año 34, volumen 68, # 405 249 - 256,
septiembre 1979
- 11.13.- García R., Taylor M.L. (M. C.)
ESTUDIO BACTERIOLOGICO DE AGUA DE CONSUMO DE UNA
COMUNIDAD
Salud Pública de México, Epoca V.
Volumen XIX, número 5, (715 - 724)
Septiembre - Octubre de 1977
- 11.14.- Armstrong J. L., Shigeno D.
ANTIBIOTIC RESISTANT BACTERIA IN DRINKING WATER
Applied and Environmental Microbiology
Volumen 42, # 2, (277 - 283) Aug. 1981

11.15.- MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO PARA
AGUA POTABLE
Secretaría de Salud, 1986