

870127

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA 3

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



Sensibilidad Antimicrobiana de Salmonella y Shigella a la Fosfomicina y su Espectro de Comparación contra Sulfametoxazol y Cloranfenicol.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A

GABRIELA GUERRERO MADUEÑO

Asesor: DR. JAIME MENDIOLA GOMEZ  
GUADALAJARA, JAL.,

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

2002



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.



Q.F.B. Rosa Ma. Muñoz Saucedo  
Presidente  
Comisión Revisora de Tesis.



I.Q. Juan José Trujillo del Río  
Director  
Escuela de Ciencias Químicas.

**I N D I C E**

# I N D I C E

	PAG.
1.- INTRODUCCION.....	1
1.1 Aspectos Generales de <u>Salmonella</u> y <u>Shigella</u>	3
1.2 Aspectos microbiológicos de <u>Salmonella</u> y <u>Shigella</u> .....	5
1.2.1 Taxonomía de <u>Salmonella</u> y <u>Shigella</u> .	5
1.2.2 Características morfológicas.....	6
1.2.3 Características fisiológicas y bioquímicas.....	9
1.3 Susceptibilidad de <u>Salmonella</u> y <u>Shigella</u> a los antimicrobianos.....	13
1.4 Factores que influyen sobre la concentración inhibitoria mínima.....	16
1.5 Revisión sobre la fosfomicina, (sulfametoxazol) y cloranfenicol.....	18
1.6 Importancia clínica de las infecciones causadas por <u>Salmonella</u> y <u>Shigella</u> .	24
2.- MATERIAL Y METODO.....	28
2.1 Obtención de las cepas.....	28
2.2 Preparación del inóculo .....	28
2.3 Preparación del antibiótico.....	29
2.4 Método de dilución en tubo .....	29
3.- RESULTADOS .....	33

	PAG.
4.- CONCLUSIONES.....	52
5.- BIBLIOGRAFIA .....	54

DEDICATORIA

*Con amor, gratitud y respeto  
a mis Padres por lo que me -  
han dado y enseñado.*



1.-INTRODUCCION

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

La reciente utilización de nuevos fármacos antibacterianos en la práctica médica implica el conocimiento previo<sup>311</sup> de resultados tanto laboratoriales como clínicos.

En el transcurso de las últimas 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 conocimiento de los problemas que presentan ciertas infecciones gastrointestinales, tales como la resistencia bacteriana a los antibióticos, el uso indiscriminado, el mal empleo, etc., han obligado a los laboratorios farmacéuticos a realizar investigaciones tendiendo a comprobar sensibilidad bacteriana a antibióticos introducidos recientemente.

La orientación principal de esta investigación se encamina a comparar la sensibilidad bacteriana de Salmonella y Shigella entre un antibiótico de reciente introducción como lo es la Fosfomicina y otros como el Sulfametoxazol y el Clo<sup>ranfenicol</sup> considerados de uso común.

Los trabajos de investigación nacionales e internacionales realizados "in vitro" a la vez que demuestran en al tos porcentajes la resistencia y sensibilidad bacteriana, ---

marcan la pauta para que comparativamente se puedan estudiar otros antibióticos que pudieran ser de elección en las infecciones referidas anteriormente.

De ordinario las cepas de Salmonella y Shigella muestran una múltiple resistencia a tres o más antibióticos comúnmente usados como son las penicilinas, tetraciclinas, estreptomycinas. De los antibióticos, el cloranfenicol y la ampicilina son los más frecuentemente eficaces.

Debido a la aparición de esta multiresistencia a los antibióticos de Salmonella y Shigella, este trabajo "in vitro" tiene la finalidad de probar mediante la técnica de dilución en tubo (CMT), la susceptibilidad de estas bacterias a la fosfomicina y compararla a la de cloranfenicol y sulfametoxazol, para que en un momento dado, deba de incluirse en el esquema antibiotico terapia de las infecciones intestinales.

1.1 Aspectos generales de Salmonella y Shigella.

En 1880, Eberth publico el hallazgo de un bacilo (gramnegativo) en tejidos de enfermos fallecidos por fiebre tifoidea. Con este reporte se abre un capitulo que ha tenido y sigue teniendo gran importancia dentro de la historia de la infectologia. A partir de entonces aparecen mas y mas reportes de nuevos tipos de Salmonella, creando confusión desde el punto de vista taxonomico. (2).

Los miembros del genero Salmonella se encuentran en vegetales y animales siendo resistentes a los agentes externos. Penetran casi siempre por via digestiva mediante la ingesta de alimentos o bebidas contaminadas, multiplicandose activamente en el tejido linfoide del intestino delgado, donde pueden pasar a vasos linfaticos y torrente sanguineo para localizarse en cualquier organo. Las manifestaciones clinicas varlan desde una enteritis leve hasta los de una septicemia rapidamente mortal.

El genero Salmonella, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae comprende varias especies y centenares de serotipos diferentes, todos los cuales pueden ser patogenos.

En 1896 Shiga aisló un bacilo inmóvil, gramnegativo, en la materia fecal de pacientes estudiados durante una epi-

demia de disenteria en Japón; y comprobó que este microorganismo, que más tarde recibió su nombre, era el agente causal. (2)

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

El género Shigella sólo incluye cuatro especies, subdivididas en aproximadamente 35 tipos serológicos. (2).

## 1.2 Aspectos microbiológicos de Salmonella y Shigella.

### 1.2.1 Taxonomía de Salmonella y Shigella.

Bacilos gram negativos, no esporulados, no capsulados, anaerobios facultativos.

Orden IV .....	<u>Eubacteriales</u>
Familia IV .....	<u>Enterobacteriaceae</u>
Tribo I .....	<u>Eschericheae</u>
Género I .....	<u>Escherichia</u>
Género II.....	<u>Shigella</u>
Género III.....	<u>Salmonella</u>
Género IV .....	<u>Citrobacter</u>

Especies del Género Salmonella de importancia médica.

Salmonella typhi  
Salmonella cholerae-suis  
Salmonella enteritidis

Especies del Género Shigella de importancia médica.

Shigella dysenteriae  
Shigella flexneri  
Shigella boydii  
Shigella sonnei

### 1.2.2 Características morfológicas.

Los organismos del grupo Salmonella son bacilos cortos y gruesos, de 0.5 a 0.8 micrómetros de grosor y 1 a 3.5 micrómetros de longitud. Son activamente móviles, no esporulados, no capsulados, anaerobios facultativos. Se tiñe fácilmente con los colorantes usuales de anilina y es gram negativo.

Como todas las bacterias, las Salmonellas están constituidas por una serie de sustancias químicas diversas, que van a formar la estructura celular de la bacteria. Además, algunas de esas sustancias tienen la propiedad de ser antigénicas. Estos antígenos se utilizan para preparar sueros que contienen anticuerpos específicos, lo que permite hacer el diagnóstico serológico.

Esquemáticamente, una Salmonella está compuesta de tres grupos de antígenos: Somático u "O", de superficie o "K" y flagelar o "H".

**Antígenos somáticos:** Se encuentran localizados en el cuerpo o soma de la bacteria. Son carbohidratos, resisten el calentamiento a 100°C y a la acción del alcohol y de los ácidos diluidos.

**Antígeno de superficie:** Comprenden los antígenos que se encuentran en la cápsula, entre ellos el antígeno Vi que se encuentra en Salmonella typhi y Salmonella paratyphi C.

**Antígenos flagelares:** Están compuestos por proteínas y son los constituyentes químicos de los flagelos.

Los lipopolisacáridos de la pared celular (antígeno "O"), se comportan como endotoxinas típicas y se liberan al destruirse la bacteria. Mediante la hidrólisis con ácidos débiles se obtiene una fracción lipóidea, llamada lípido A, a la que se le ha atribuido la acción tóxica.

Las Shigellas son bacilos cortos, gramnegativos, no móviles, no capsulados, no forman esporas, son anaerobios facultativos, poseen antígenos "O" característicos; en frotis teñidos por el método de Gram, se parecen a los bacilos coli formes, esto es, bastoncillos de 1 a 3  $\mu$ m de longitud de 0.5  $\mu$ m de diámetro. Aunque carecen de flagelos, estos microorganismos poseen pilis.

La mayoría de estas bacterias tienden a ser antigénicamente heterogéneas.

El antígeno somático de las Shigellas consiste de un



complejo proteina - polisacárido - fosfolípido, que es muy - antigénico.

Todo parece indicar que la patogenia depende de la liberación de la endotoxina, el cúmulo de productos metabólicos que se producen en el momento que estas bacterias atraviezan la barrera epitelial e invaden la lámina propia dando lugar con esto a la destrucción de las células epiteliales.

### 1.2.3 Características fisiológicas y bioquímicas.

Las Salmonellas crecen muy bien a 37°C en los medios de cultivo ordinarios. Tienen la propiedad de desarrollarse en presencia de sustancias como el verde brillante, el tetratiónato y el desoxicolato de sodio que son capaces de inhibir las bacterias coliformes. Se destruyen a temperaturas de 60°C por 20 minutos.

Producen gas a partir de glucosa y otros azúcares, - no suelen atacar lactosa, sacarosa ni salicina, ni producen acetilmetilcarbinol. Tampoco licúan la gelatina, ni hidrolizan la urea, ni peptonizan la leche.

Para el cultivo se utilizan varios medios como el - agar Shigella Salmonella (SS), agar Mac Conckey, agar verde brillante, desoxicolato - citrato (C-D) y medios líquidos como el que contiene tetratiónato, verde brillante y lugol (de kauffmann) o bien a base de salenito.

La morfología de las colonias son de 1 - 2 mm de diámetro, transparentes, brillantes, incoloras, convexas de bordes enteros.

Las Shigellas son bacilos que forman colonias redondas, convexas transparentes, que alcanzan un diámetro aproximado.

mado de 2 mm en 24 horas.

Sus requerimientos nutritivos son simples y pueden crecer en los medios ordinarios de cultivos a una temperatura óptima de 37°C.

Son muy útiles los medios de gelosa con desoxicolato y citrato, el S-S y el medio de eosina azul de metileno.

Su resistencia a los agentes físicos y químicos es muy moderada y pueden destruirse a temperaturas de más de 55 grados durante una hora de exposición. Debido a la acción de los bacteriófagos y la acidez producida por el crecimiento de otras bacterias su sobrevivencia en la materia fecal es corta.

Tabla No. 1

Reacciones bioquímicas de Salmonella.

Pruebas	<i>S. typhi</i>	<i>S. enteritidis</i>
Glucosa	+	+
lactosa	-	-
motilidad	+	+
manitol	+	+
urea	-	-
sacarosa	-	-
ornitina descarboxilasa	+	+
indol	-	-
citrato	-	+
H <sub>2</sub> S	+	+

TABLA No. 2  
 Reacciones bioquímicas de Shigella

Prueba	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. boydii</i>	<i>S. sonnei</i>
glucosa	+	+	+	+
LACTOSA	-	-	-	-
motilidad	-	-	-	-
manitol	-	+	+	+
urea	-	-	-	-
sacarosa	-	-	-	-
ornitina	-	-	-	+
indol	<u>+</u>	<u>+</u>	<u>+</u>	<u>+</u>

### 1.3 Susceptibilidad de Salmonella y Shigella a los antimicrobianos.

El empleo de sustancias elaboradas por un microorganismo para matar o inhibir el crecimiento de otro es (antiquísimo.)

Aunque se hicieron muchos intentos de obtener agentes que pudieran ejercer un efecto benéfico en las infecciones por bacteria, hongos y rickettsias, la era de la quimioterapia efectiva de tales padecimientos comenzó con el descubrimiento y primera aplicación de las sulfonamidas en 1936. La "edad de oro" de la terapéutica antimicrobiana se inició con la elaboración comercial de la penicilina, sustancia descubierta por primera vez en 1929. Desde entonces, la cantidad de medicamentos útiles en el tratamiento de una gran variedad de infecciones se ha multiplicado rápidamente. Los agentes que se pueden obtener son de tres tipos: 1) Compuestos biosintéticos de los cuales la penicilina G es un ejemplo; 2) Sustancias semisintéticas como algunos de los derivados de la penicilina; G es un ejemplo; 3) Agentes sintéticos puros como las sulfonamidas y algunos de los fármacos tuberculostáticos. Estos se derivan en parte o en su totalidad de la actividad fermentadora de microorganismos clasificados como antibióticos. (11).

El antibiótico difiere de los desinfectantes corrientes, porque muestran toxicidad selectiva para los microorganismos patógenos, sin causar graves daños a la mayoría de -- las células de los tejidos. Algunos antibióticos son efectivos contra un número más o menos limitado de organismos patógenos; mientras que otros, conocidos como antibióticos de amplio espectro, actúan sobre una gama extensa de diferentes - patógenos. (1).

Tanto Salmonella como Shigella son relativamente resistentes a la penicilina "in vitro", pero aunque son susceptibles en estas condiciones a otros antibióticos corrientes, cloranfenicol parece ser el único bastante eficaz "in vivo". Así, pues, este es el agente quimioterápico de elección, que ha dado resultados muy prometedores. Se describen recurrencias del padecimiento a menos que el fármaco se administre por dos a cuatro semanas. Se han hecho algunos intentos para curar a portadores sanos con quimioterapia, con buenos resultados en algunos casos y malos en otros.

Por ejemplo las cepas de Shigella dysenteriae de tipo I causantes de las recientes epidemias de América Central y de algunos casos transmitidos a Estados Unidos resultaron ser resistentes a las sulfamidas, a la estreptomycinina, a las tetraciclinas y al cloranfenicol. Para la curación de los pa

cientes en esta epidemia fue necesario administrar elevadas dosis de ampicilina (y, en ciertos casos, incluso de penicilina) por vía parenteral. Una serie de estudios controlados realizados en Vietnam indican que la administración oral de ampicilina disminuye considerablemente el curso clínico de la enfermedad y elimina las Shigellas del conducto intestinal en 24 a 48 horas en alrededor de un 75% de los pacientes. (6).

de-



#### 1.4 Factores que influyen sobre la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

Con alguna frecuencia, la susceptibilidad de las cepas bacterianas aisladas se juzga en función de la correlación de sus valores de CMI con los de la concentración de antibiótico en los fluidos orgánicos. Sin embargo, debido a -- que los valores de la CMI pueden variar de manera considerable en función del procedimiento que se emplee para medirlos, la selección de un valor de CMI que separe las cepas bacterianas resistentes de la susceptibles, es más precisa cuando se basa en la experiencia clínica con el antibiótico.

Entre los factores que suscitan variación en los métodos de dilución se encuentran:

- 1.- La presencia en el medio de cultivo de sustancias antagonistas de los antimicrobianos que tienen influencia sobre la CMI con las sulfonamidas, las tetraciclinas, la tobramicina y la gentamicina.
- 2.- La estabilidad de los antibióticos que influye sobre el valor que se obtenga de CMI.
- 3.- La magnitud de enzimas bacterianas capaces de alterar la

actividad del antibiótico.

4.- La cantidad de material que se siembre.

El problema general de resistencia bacteriana a un fármaco es importante. Las soluciones, proporcionadas por el desarrollo de nuevos y efectivos agentes antimicrobianos, a menudo es sólo temporal.

Como regla general, los microorganismos insensibles a un antibiótico en particular tienden a ser resistentes a todos los antimicrobianos químicamente afines.

Por tales razones, en este trabajo se pretende la introducción de un nuevo antibiótico como lo es la fosfomicina.

La fosfomicina es un antibiótico totalmente novedoso que no pertenece a ninguna familia de antibióticos. Posee características físicoquímicas, farmacológicas, antibacterianas y toxicológicas que lo diferencian de los demás antibióticos.

### 1.5 Revisión sobre la fosfomicina, sulfametoxazol y cloranfenicol.

La fosfomicina es un antibiótico que se obtiene del Streptomyces fradiae, no perteneciente a ninguna familia de antibióticos. Posee características fisicoquímicas, farmacológica, antibacterianas y toxicológicas que lo diferencian de los demás antibióticos.

La fosfomicina o ácido L-cis-1-2-epoxipropilfosfónico es un antibiótico de amplio espectro que actúa selectivamente en la primera etapa de la biosíntesis de la pared celular bacteriana impidiendo su formación. Por actuar específicamente en una fase enzimática inexistente en el organismo humano la fosfomicina es atóxica para el hombre. El resultado final de la interferencia de la fosfomicina en el sistema enzimático para la formación de la pared celular, es la muerte de la bacteria. Su mecanismo específico de acción se centra en la transferasa que incorpora el fosfoenol piruvato a la uridin-difosfo-N-acetil glucosamina, reacción que normalmente produce uridin-difosfo-N-acetil murámico.

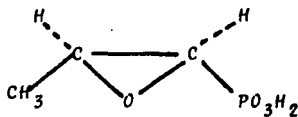
Entre las características antimicrobianas de fosfomicil tenemos:

1.- Actividad bactericida de amplio espectro.

- 2.- Ausencia de resistencia transferible.
- 3.- No es destruido, ni activado por enzimas bacterianas como sucede con otros antibióticos.
- 4.- Ausencia de resistencia cruzada con otros antimicrobianos.
- 5.- Posee sinergismo con otros antibióticos ya sea bactericida o bacteriostáticos.
- 6.- Posee mayor actividad "in vivo" que "in vitro".
- 7.- Posee gran actividad sobre gérmenes tan importantes como el estafilococo dorado, estreptococo B-hemolítico, Escherichia coli, Pseudomonas auroginosa, Salmonella, Shigella, Proteus, H. influenzae.

La vida media plasmática de la fosfomicina es de cerca de 2 horas y su excreción es principalmente por filtrado-glomerular.

La fórmula estructura de la fosfomicina es la siguiente:



Fórmula condensada:



Nombre químico:

ácido L - cis - 1,2 - epoxipropilfosfónico.

Las sulfonamidas fueron los primeros agentes quimio-terapéuticos efectivos que se emplearon sistemáticamente para la prevención y cura de las infecciones bacterianas en el hombre.

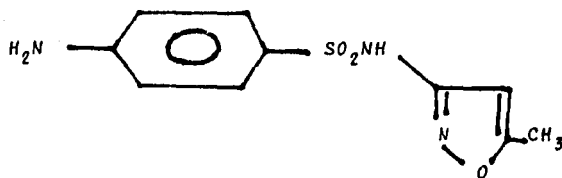
El término sulfonamida se emplea aquí como nombre genérico para los derivados de la paraaminobenzenosulfonamida. En su mayoría son relativamente insolubles en agua, pero sus sales de sodio son hidrosolubles.

Las sulfonamidas tienen gran variedad de actividad antimicrobiana contra microorganismos grampositivos y gramnegativos. En general las sulfonamidas ejercen solamente un efecto bacteriostático restringiendo el desarrollo de las bacterias y permiten a las células fagocitarias normales del organismo englobar y destruir el germen invasor.

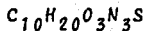
Las sulfonamidas son inhibidores competitivos de la enzima bacteriana responsable de la incorporación del ácido paraaminobenzoico al ácido dihidropterico, el precursor inmediato del ácido fólico. Los microorganismos sensibles son aquellos que deben sintetizar su propio ácido paraaminobenzoico.

Las sulfonamidas se clasifican en cuatro grupos según la rapidez de su absorción y excreción. El sulfametoxazol entra en el primer grupo que es de compuestos de absorción rápida y excreción rápida.

Fórmula estructural del sulfametoxazol:



Fórmula condensada:



Nombre químico:

N - ( 5 - metil - 3 - isoxazolyl ) sulfanilamida

La importancia de las sulfonamidas en la terapéutica ha ido disminuyendo constantemente conforme se han ido introduciendo otros agentes antibacterianos y por el inevitable aumento en la resistencia de las especies bacterianas a esta clase de medicamentos.

El cloranfenicol fue obtenido por primera vez de - - Streptomyces venezuelae en 1947. Actualmente se le produce - en una forma sintética sobre una base práctica comercial. (8)

El cloranfenicol es principalmente un agente bacte--  
riostático cuyo mecanismo de acción inhibe la síntesis de --  
proteínas en las bacterias y en menor grado, en las células-  
eucarióticas. El cloranfenicol actúa principalmente ligándo-  
se reversiblemente a la subunidad ribosomal 50 S (cerca del-  
sitio de acción de los antibióticos macrólidos y de la clin-  
damicina).

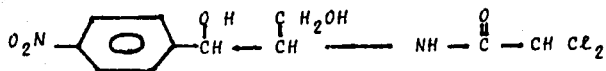
El cloranfenicol es un compuesto natural muy pecu--  
liar que contiene una fracción de nitrobenzono y es un deri-  
vado del ácido dicloroacético. El anillo aromático resulta --  
esencial para su actividad biológica.

Es una sustancia blanca cristalina, neutra, de sabor  
amargo, que puede ser esterificada con ácido palmítico para-  
formar palmitato de cloranfenicol, 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°C se dete-  
rioran lentamente con una vida media de aproximadamente 6 me-  
ses. La forma cristalina seca es estable durante por lo me--

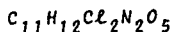
nos 5 años bajo luz difusa.

El cloranfenicol es inactivado por las enzimas de --  
cientos 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 - dicloroaceta-  
mido - 1,3 - propanodiol.



## 1.6 Importancia clínica de las infecciones causadas por Salmonella y Shigella.

### Patogenia.

Las infecciones por Salmonella casi siempre se adquieren por ingestión de los microorganismos generalmente -- con agua, leche o alimentos contaminados.

En el hombre se dan tres formas de salmonelosis clínicamente diferentes: fiebre entérica, septicemias y gastroenteritis aguda.

El prototipo de la fiebre entérica es la producida por Salmonella typhi, donde estos bacilos penetran en el -- cuerpo humano, por la boca y a través del estómago penetran en el intestino, pasan al tejido linfático de este y transportados a los ganglios linfáticos mesentéricos. Multiplicándose en éstos, los bacilos típicos llegarían por el conducto torácico a la circulación general, donde se pueden aislar -- por hemocultivo durante los primeros siete a diez días de la enfermedad. Los bacilos se localizan en los ganglios linfáticos, bazo; pulmones, médula ósea o hígado.

Las siembras con material recogido de sujetos muertos de fiebre tifoidea durante la segunda o tercera semana --

han demostrado que la mayor cantidad de bacilos se halla en las vías biliares y en el duodeno; la concentración disminuye progresivamente en el resto del intestino delgado y en el colon.

La fiebre tifoidea, contralda, suele empezar de modo insidioso tras un periodo de incubación de 7 a 14 días, con malestar, anorexia y cefalea, seguidas de fiebre. Esta última aumenta a menudo gradualmente y se acompaña de bradicardia relativa. No hay diarrea, son frecuentes la distensión y el dolor abdominal sordo. Puede haber tos y signos de bronquitis, y también son frecuentes la leucopenia y la esplenomegalia. Durante los últimos periodos de la enfermedad puede producirse hemorragias intestinales graves o perforación del intestino y causar peritonitis.

Las septicemias por Salmonellas se caracterizan por la existencia de fiebre remitente y bacteremia, sin que en general haya afección aparente del tubo digestivo. Puede aparecer lesiones supuradas en cualquier lugar del organismo como por ejemplo: vías biliares, riñones, corazón, meninges, articulaciones y pulmones.

En la gastroenteritis aguda la enfermedad queda confinada fundamentalmente al tubo digestivo, caracterizada por vómito y diarrea. Los hemocultivos rara vez son positivos, -

los organismos causales pueden cultivarse a partir de las heces.

La epidemiología de la tifoidea, se estudia según la conexión entre vías digestivas de la persona infectada y boca del susceptible; los factores que causan la diseminación del padecimiento dependen esencialmente de interrelaciones de individuos o grupos de ellos, que comprenden la población de huéspedes.

Los factores predisponentes en las infecciones por Salmonellas son las intervenciones quirúrgicas en el tubo digestivo, los tratamientos con antibióticos de amplio espectro (que alteran la flora bacteriana normal del intestino), la anemia drepanocítica y la anemia hemolítica aguda de la bartonelosis.

La totalidad de las especies incluídas en el género Shigella resultan patógenas para el hombre. Las lesiones producidas en el conducto gastrointestinal se limitan generalmente a la porción terminal del ileon y el colon; estas lesiones son principalmente ulceraciones de la mucosa que se producen en el momento en que los microorganismos atraviesan la barrera epitelial e invaden la lámina propia.

La disentería bacilar es una enfermedad relativamente frecuente en el hombre, sobre todo en climas cálidos y -- tiende a asociarse con las condiciones que favorecen la diseminación de los reservorios humanos. Se caracteriza por dolor abdominal, diarrea y fiebre, de aparición repentina tra- un período de incubación de 1 a 4 días. Cuando la diarrea es grave puede causar deshidratación y desequilibrio electrolítico, particularmente en los niños y jóvenes.

En general la Shigelosis se autolimita y dura sólo -- unos días.

El aparato gastrointestinal es la puerta de entrada para el bacilo de la disentería; su vehículo ordinario es el agua o alimentos contaminados. Durante la fase aguda de la -- enfermedad se eliminan grandes cantidades de microorganismos con las heces líquidas, fenómeno que puede persistir en la -- convalecencia y aún después, cuando el paciente ya no presenta trastorno ninguno. La forma epidémica de disentería -- suele observarse en las aglomeraciones numerosas de personas en malas condiciones higiénicas, por ejemplo ejércitos en -- campaña, campos de refugiados, y hospitales psiquiátricos. Probablemente el medio más importante de difusión en tales -- circunstancias es la transferencia directa de persona a <sup>1077</sup> persona de material fecal.

## 2.- MATERIAL Y METODO.

## MATERIAL Y METODO.

## 2.1 Obtención de las Cepas.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En la realización de esta investigación se utilizaron un total de 100 cepas de Salmonella y 100 cepas de Shigella y las cuales fueron proporcionadas por la Sección de Microbiología del Laboratorio de Patología clínica del Hospital Universitario Angel Leaño, que provienen del aislamiento de coprocultivos y Hemocultivo.

## 2.2 Preparación del inóculo.

## 2.2.1

La muestra se sembró por medio de estrías en un medio diferencial selectivo, agar Mac Conckey, se incubó a 37 grados centígrados por 24 horas; cuando se obtuvo crecimiento se continuó con los siguientes pasos.

## 2.2.2

Con una asa de nicromo se tomó una colonia, se sembró por medio de agitación en un tubo que contenía 5 ml de caldo tripticasa soya y se incubó por 18 horas a 37 grados centígrados.

El crecimiento se observó por medio de la turbidez del caldo por inspección visual hasta tener un crecimiento -

de  $1 \times 10^5$  comparándolo con el tubo número 3 del nefelómetro de Mac Farland.

### 2.3 Preparación del antibiótico (solución stock de trabajo).

Para poder utilizar pruebas de dilución deberán usar se soluciones recién preparadas.

Se pesaron 0.02 gramos de la sal sódica de fosfomicina y 0.02 gramos de cloranfenicol, ambos con una pureza del 100%, los cuales se pasaron a un matraz que contenía 100 ml de agua bidestilada esteril, resultando de esta manera un -- stock de trabajo que contenía 100 mcgr/ml.

Se pesaron 0.4 gramos de hidróxido de sodio y se pusieron en un matraz de 100 ml para obtener una solución unomolar. Posteriormente se pesó 0.02 gramos de la sal sódica de sulfametoxazol y se diluyó con 2 ml de hidróxido de sodio y después se completó a 100 ml con agua bidestilada esteril.

### 2.4 Método de dilución en tubo.

Se prepararon dos diferentes concentraciones del cal do Mueller Hinton, de la siguiente manera:

a).- Se pesaron 2.2 gramos de caldo y se llevaron a un matraz

que contenía 50 ml de agua destilada, quedando esta preparación a doble concentración.

- b).- Pesados 1.1 gramos de caldo, se vertieron a un matraz - que contenía 50 ml de agua destilada, quedando esta preparación a simple concentración.

El tubo No. 1 contenía 1 ml. de caldo de doble concentración; del tubo No. 2 al No. 10 contenían 1 ml. de caldo de simple concentración.

Las diluciones se prepararon de la siguiente manera:

- 1.- Al tubo No. 1 se le agregó 1 ml. de antibiótico previamente preparado y se agitó en un vortex para obtener una solución homogénea de 2 ml.
- 2.- Del tubo No. 1 se pasó 1 ml. al tubo No. 2, se agitó para obtener una solución homogénea de 2 ml. y quedando 1-ml. de solución en el tubo No. 1.
- 3.- Del tubo No. 2 se pasó 1 ml. al tubo No. 3 se agitó para obtener una solución homogénea, así sucesivamente hasta el tubo No. 10 del cual se desechó 1 ml.
- 4.- Hubo un último tubo testigo del crecimiento bacteriano (el cual no contenía antibiótico).

Los tubos previamente enumerados del 1 al 10 se pusieron en una gradilla y las diluciones que se hicieron fueron-



las siguientes:

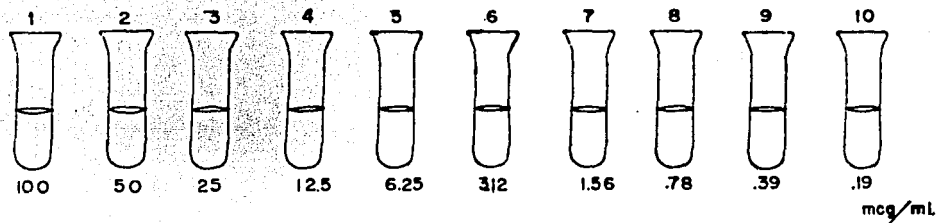
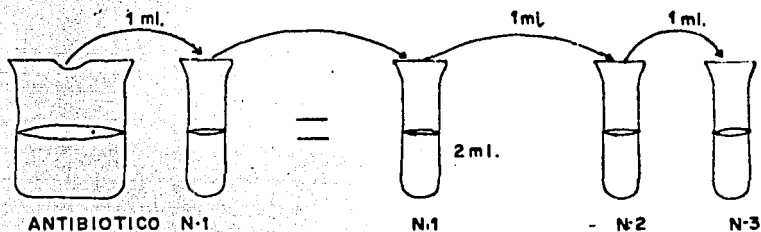
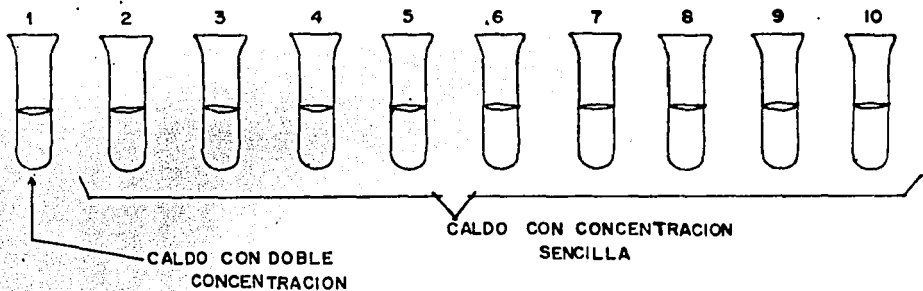
Tubo No.	Conc. (mcgr/ml).
1	100
2	50
3	25
4	12.5
5	6.25
6	3.12
7	1.56
8	0.78
9	0.39
10	0.19

Después de haber hecho las diluciones, a cada tubo se le agregó 0.1 ml. del inóculo de bacterias ( $1 \times 10^5$ ).

Los tubos se incubaron a 37 grados centígrados por 18 horas.

Las lecturas se hicieron por inspección visual del crecimiento bacteriano o la ausencia del mismo. Se reportó hasta donde se observó desarrollo bacteriano.

La concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se midió por la concentración menor de antibiótico que evitó el desarrollo de la bacteria.



**TESIS CON FALLA DE ORIGEN**

### 3.- RESULTADOS

## R E S U L T A D O S

Con la finalidad de poder agrupar en forma clara el número y la especie de Salmonella, se procedió a enumerar<sup>1</sup> de acuerdo a la secuencia seguida en este estudio. (ver tabla No. 1).

Posteriormente se presentan los resultados obtenidos de la Concentración Mínima Inhibitoria para las cepas de Salmonella typhi de los tres antibióticos utilizados en éste estudio, como se puede observar en la tabla No. 2.

En la tabla No. 3 se presentan los resultados obtenidos para Salmonella enteritidis, de acuerdo a la Concentración Mínima Inhibitoria.

Después de agrupar los resultados obtenidos, se hizo una representación gráfica de la Concentración Mínima Inhibitoria de la fosfomicina para Salmonella typhi (ver fig. No. 1), como también de cloranfenicol (ver fig. No. 2).

Al mismo tiempo se realizó una representación gráfica de la acción inhibitoria de la fosfomicina y cloranfenicol a las cepas de Salmonella enteritidis (Ver figs. No. 3 y No. 4).

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

34

TABLA No. 1

NUMERACION Y ESPECIACION DE LAS CEPAS DE SALMONELLA DE  
ACUERDO A LA SECUENCIA SEGUIDA EN EL ESTUDIO.

No. de cepa	Especie y/o serotipo de <u>Salmonella</u>
1 - 39	<u>S. typhi</u>
40 - 43	<u>S. enteritidis</u> (ser. anatum)
44 - 50	<u>S. enteritidis</u>
51 - 53	<u>S. enteritidis</u> (ser. newport)
54 - 57	<u>S. enteritidis</u> (ser. typhimurium)
58 - 60	<u>S. enteritidis</u> (ser. saint paul)
61 - 70	<u>S. enteritidis</u> (ser. derby)
71 - 72	<u>S. enteritidis</u> (ser. adelaide)
73 - 74	<u>S. enteritidis</u> (ser. agona)
75 - 76	<u>S. enteritidis</u> (ser. cerro)
77 - 78	<u>S. enteritidis</u> (ser. montevideo)
79 - 80	<u>S. enteritidis</u> (ser. heidelberg)
81 - 82	<u>S. enteritidis</u> (ser. orainburg)
83 - 85	<u>S. enteritidis</u> (ser. worthington)
86 - 87	<u>S. enteritidis</u> (ser. newington)
88 - 89	<u>S. enteritidis</u> (ser. ohio)
90 - 91	<u>S. enteritidis</u> (ser. give)
92	<u>S. enteritidis</u> (ser. kentucky)
93 - 96	<u>S. enteritidis</u> (ser. infantis)
97	<u>S. enteritidis</u> (ser. duesseldorf)
98	<u>S. enteritidis</u> (ser. tennessee)
99	<u>S. enteritidis</u> (ser. manhattan)
100	<u>S. enteritidis</u> (ser. brandenbeerg)

TABLA No. 2

CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA DE 39 CEPAS DE  
SALMONELLA TYPHI A FOSFOMICINA, CLORANFENICOL Y  
 FAMETOXAZOL.

No. de cepa.	CMI mcgr/ml Sulfametoxazol	CMI mcgr/ml Cloranfenicol	CMI mcgr/ml Fosfomicina
1	> 100	> 100	100
2	> 100	> 100	> 100
3	> 100	> 100	100
4	> 100	50	100
5	> 100	> 100	100
6	> 100	12.5	100
7	> 100	> 100	> 100
8	> 100	> 100	> 100
9	> 100	> 100	> 100
10	> 100	100	> 100
11	> 100	100	> 100
12	> 100	> 100	> 100
13	> 100	> 100	> 100
14	> 100	> 100	100
15	> 100	> 100	> 100
16	> 100	> 100	> 100
17	> 100	> 100	> 100
18	> 100	> 100	> 100
19	> 100	100	> 100
20	> 100	> 100	> 100

(CONTINUA PAG. SIGUIENTE).

No. de cepa	CMI mcgr/ml Sulfametoxazol	CMI mcgr/ml Cloranfenicol	CMI mcgr/ml Fosfomicina
21	> 100	> 100	> 100
22	> 100	> 100	> 100
23	> 100	25	> 100
24	> 100	50	> 100
25	> 100	> 100	> 100
26	> 100	> 100	> 100
27	> 100	> 100	> 100
28	> 100	> 100	100
29	> 100	> 100	> 100
30	> 100	> 100	> 100
31	> 100	> 100	> 100
32	> 100	> 100	> 100
33	> 100	> 100	100
34	> 100	> 100	> 100
35	> 100	> 100	> 100
36	> 100	> 100	100
37	> 100	25	> 100
38	> 100	12.5	100
39	> 100	50	100

TABLA No. 3

CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA DE 61 CEPAS DE SALMONELLA  
ENTERITIDIS A FOSFOMICINA, CLORANFENICOL Y SUFAMETOXAZOL.

No. de cepa.	CMI mcgr/ml Sulfametoxazol	CMI mcgr/ml Cloranfenicol	CMI mcgr/ml Fosfomicina
40	> 100	50	100
41	> 100	50	25
42	> 100	50	50
43	> 100	25	50
44	> 100	25	12.5
45	> 100	25	3.125
46	> 100	100	25
47	> 100	25	> 100
48	> 100	50	> 100
49	> 100	25	> 100
50	> 100	> 100	100
51	> 100	> 100	6.25
52	> 100	> 100	6.25
53	> 100	> 100	6.25
54	> 100	> 100	6.25
55	> 100	> 100	6.25
56	> 100	25	3.125
57	> 100	6.25	> 100
58	> 100	50	12.5
59	> 100	25	25
60	> 100	50	25

(CONTINUA PAG. SIGUIENTE)



No. de cepa	CMI mcgr/ml Sulfametoxazol	CMI MCGR/ml Cloranfenicol	CMI mcgr/ml Fosfomicina
61	> 100	100	25
62	> 100	100	100
63	> 100	25	100
64	> 100	100	> 100
65	> 100	100	> 100
66	> 100	12.5	> 100
67	> 100	25	100
68	> 100	25	> 100
69	> 100	25	> 100
70	> 100	50	> 100
71	> 100	> 100	100
72	> 100	> 100	50
73	> 100	> 100	25
74	> 100	> 100	> 100
75	> 100	> 100	25
76	> 100	> 100	25
77	> 100	> 100	> 100
78	> 100	50	50
79	> 100	> 100	> 100
80	> 100	> 100	> 100
81	> 100	25	12.5
82	> 100	25	100
83	> 100	100	25
84	> 100	> 100	50
85	> 100	50	100

(CONTINUA PAG. SIGUIENTE)

No. de cepa.	CMI mcgr/ml Sulfametoxazol	CMI mcgr/ml Cloranfenicol	CMI mcgr/ml Fosfomicina
86	>100	50	50
87	>100	50	100
88	>100	25	6.25
89	>100	50	50
90	>100	50	50
91	>100	>100	100
92	>100	>100	100
93	>100	100	>100
94	>100	25	>100
95	>100	>100	100
96	>100	12.5	100
97	>100	>100	100
98	>100	50	100
99	>100	100	100
100	>100	>100	100

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

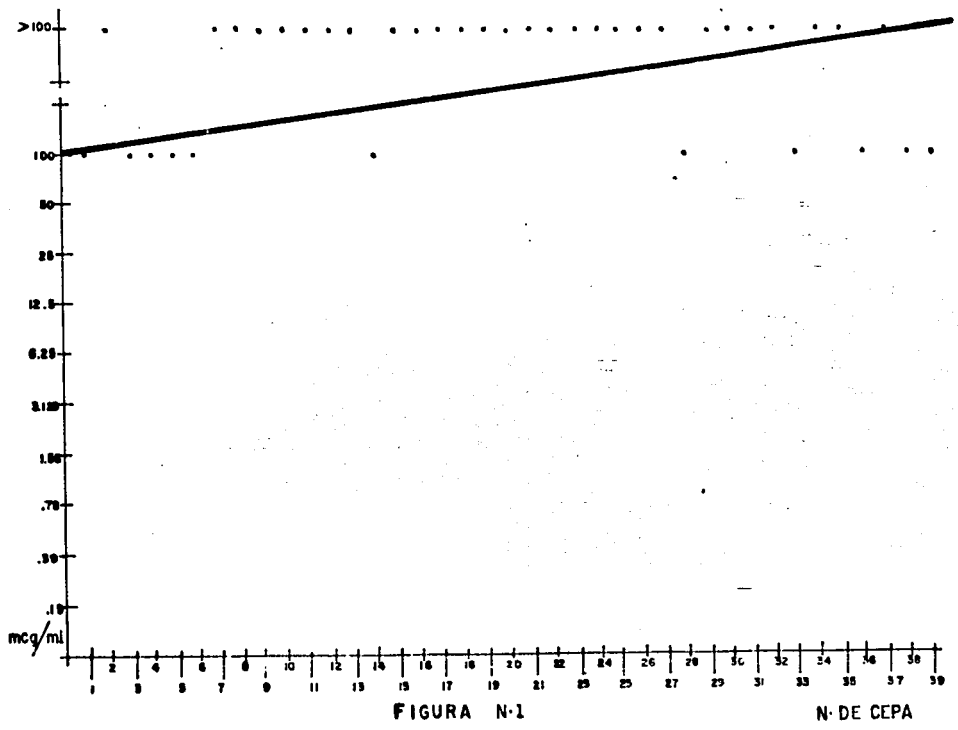
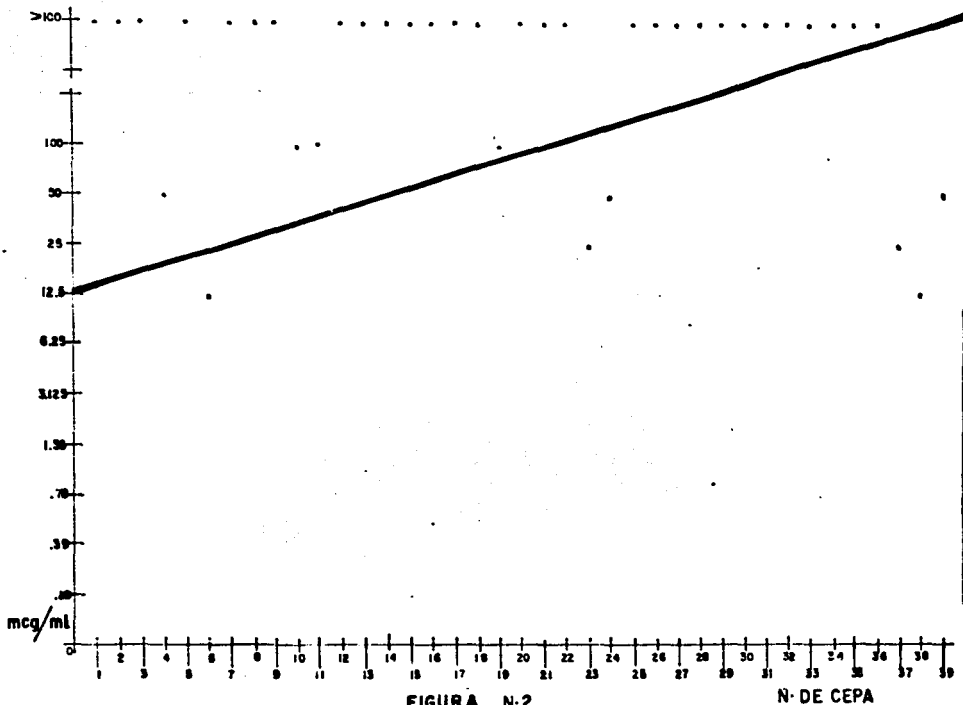


FIGURA N-1  
REPRESENTACION GRAFICA DE LAS CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS  
DE FOSFOMICINA A 39 CEPAS DE SALMONELLA TYPHI.



TESIS CON  
 FALTA DE ORIGEN

FIGURA N-2

FIG REPRESENTACION GRAFICA DE LAS CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE CLORANFENICOL A 39 CEPAS DE SALMONELLA TYPHI

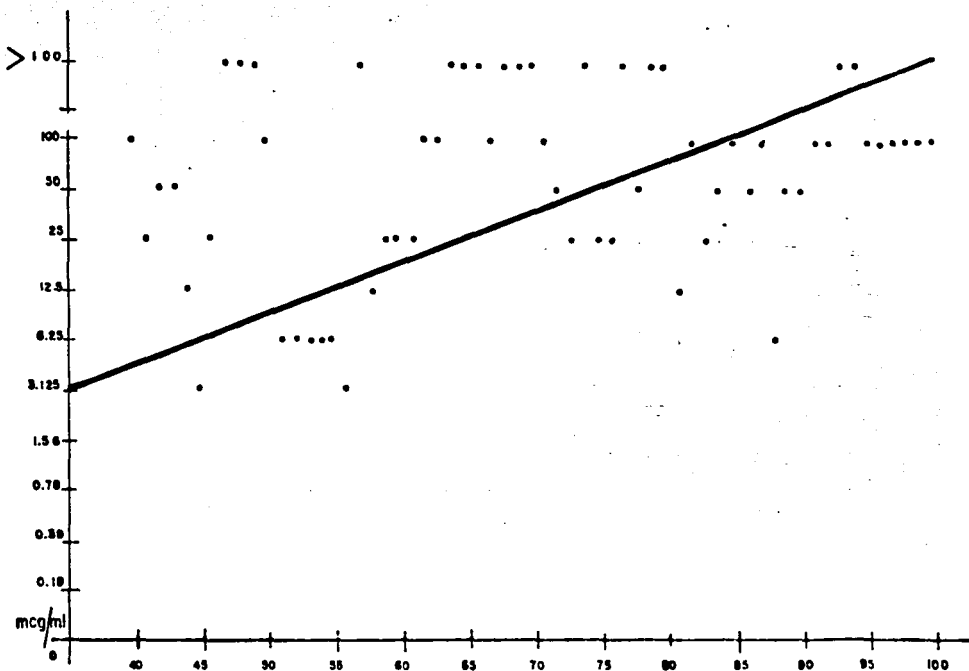


FIGURA N 3

N-DE CEPA

REPRESENTACION GRAFICA DE LAS CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE

FOSFOMICINA A 61 CEPAS DE SALMONELLA ENTERITIDIS

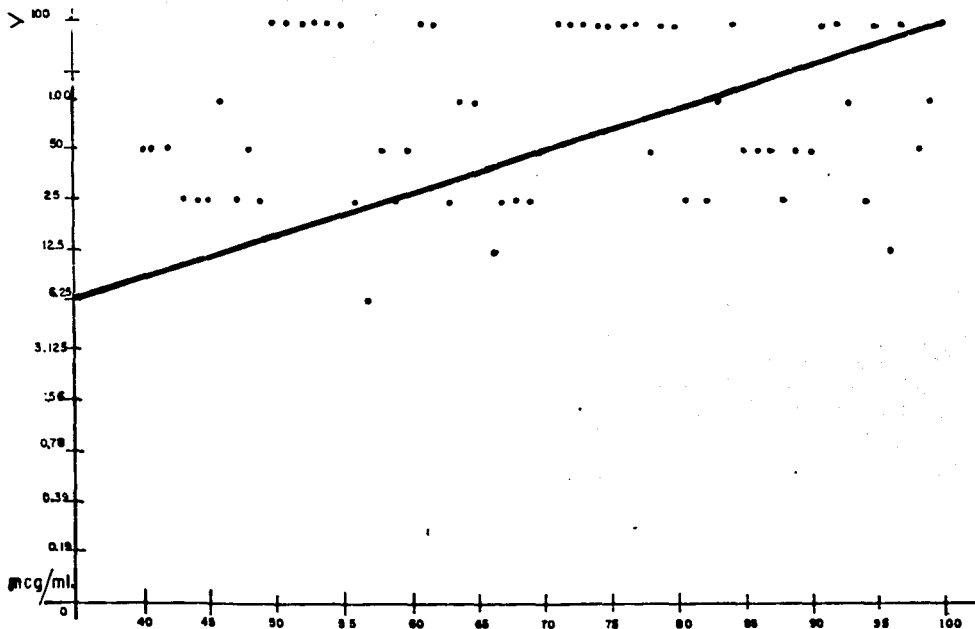


FIGURA N 4

Nº DE CEPA

REPRESENTACION GRAFICA DE LAS CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE CLORANFENICOL A 61 CEPAS DE SALMONELLA ENTERITIDIS

En lo que se refiere a las cepas de Shigella, se - - agruparán de acuerdo al número y espacio al igual como se hizo para Salmonella, y después se procederá a dar los resultados de la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria en mcgr/ml. (ver tabla No. 4).

No. de Cepa	Especie de <u>Shigella</u>
1 - 55	<u>Shigella flexneri</u>
56 - 92	<u>Shigella boydii</u>
93 - 100	<u>Shigella sonnei</u>

TABLA No. 4  
 CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA DE 100 CEPAS DE SHIGELLA  
LLA A FOSFOMICINA, CLORANFENICOL Y SULFAMETOXAZOL.

No. de Cepa	CHI mcgr/ml Sulfametoxazol	CHI mcgr/ml Cloranfenicol	CHI mcgr/ml Fosfomicina
1	> 100	> 100	25
2	> 100	> 100	50
3	> 100	> 100	50
4	> 100	> 100	100
5	> 100	25	> 100
6	> 100	25	100
7	> 100	25	50
8	> 100	50	100
9	> 100	25	100
10	> 100	100	100
11	> 100	100	25
12	> 100	25	25
13	> 100	50	50
14	> 100	25	50
15	> 100	12.5	25
16	> 100	50	> 100
17	> 100	25	50
18	> 100	12.5	50
19	> 100	25	100
20	> 100	3.125	50

(CONTINUA PAG. SIGUIENTE)



No. de cepa	CMI mcgr/ml Sulfametoxazol	CMI mcgr/ml Cloranfenicol	CMI mcgr/ml fosfomicina
21	> 100	25	50
22	> 100	> 100	100
23	> 100	> 100	100
24	> 100	100	> 100
25	> 100	> 100	> 100
26	> 100	> 100	100
27	> 100	25	> 100
28	> 100	100	100
29	> 100	12.5	> 100
30	> 100	100	100
31	> 100	6.25	100
32	> 100	6.25	100
33	> 100	12.5	100
34	> 100	6.25	100
35	> 100	6.25	100
36	> 100	25	100
37	> 100	100	100
38	> 100	12.5	> 100
39	> 100	25	25
40	> 100	100	100
41	> 100	> 100	100
42	> 100	> 100	100
43	> 100	> 100	> 100

(PASA PAG. SIGUIENTE)

No. de cepa	CMI mcgr/ml sulfametoxazol	CMI mcgr/ml cloranfenicol	CMI mcgr/ml fosfomicina
44	> 100	50	> 100
45	> 100	25	50
46	> 100	25	25
47	> 100	100	50
48	> 100	> 100	50
49	> 100	> 100	25
50	> 100	> 100	100
51	> 100	25	50
52	> 100	25	> 100
53	> 100	100	50
54	> 100	> 100	> 100
55	> 100	> 100	25
56	> 100	> 100	> 100
57	> 100	> 100	> 100
58	> 100	> 100	> 100
59	> 100	25	> 100
60	> 100	25	> 100
61	> 100	25	> 100
62	> 100	50	> 100
63	> 100	12.5	100
64	> 100	12.5	100
65	> 100	25	> 100
66	> 100	25	> 100
67	> 100	25	> 100

(PASA PAG. SIGUIENTE).

No. de cepa.	CMI/mcgr/ml sulfametoxazol	CMI mcgr/ml cloranfenicol	CMI mcgr/ml fosfomicina
68	> 100	50	> 100
69	> 100	25	> 100
70	> 100	> 100	> 100
71	> 100	50	> 100
72	> 100	50	> 100
73	> 100	25	> 100
74	> 100	12.5	> 100
75	> 100	12.5	> 100
76	> 100	25	> 100
77	> 100	12.5	> 100
78	> 100	12.5	> 100
79	> 100	25	> 100
80	> 100	25	> 100
81	> 100	12.5	> 100
82	> 100	25	> 100
83	> 100	25	> 100
84	> 100	25	> 100
85	> 100	25	> 100
86	> 100	50	> 100
87	> 100	25	100
88	> 100	50	> 100
89	> 100	12.5	100
90	> 100	25	100

(PASA PAG. SIGUIENTE).

No. de cepa	CMI mcgr/ml sulfametoxazol	CMI mcgr/ml cloranfenicol	CMI mcgr/ml fosfomicina
91	>100	25	100
92	>100	>100	100
93	>100	25	100
94	>100	50	100
95	>100	25	100
96	>100	50	100
97	>100	>100	>100
98	>100	>100	>100
99	>100	>100	100
100	>100	>100	>100

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

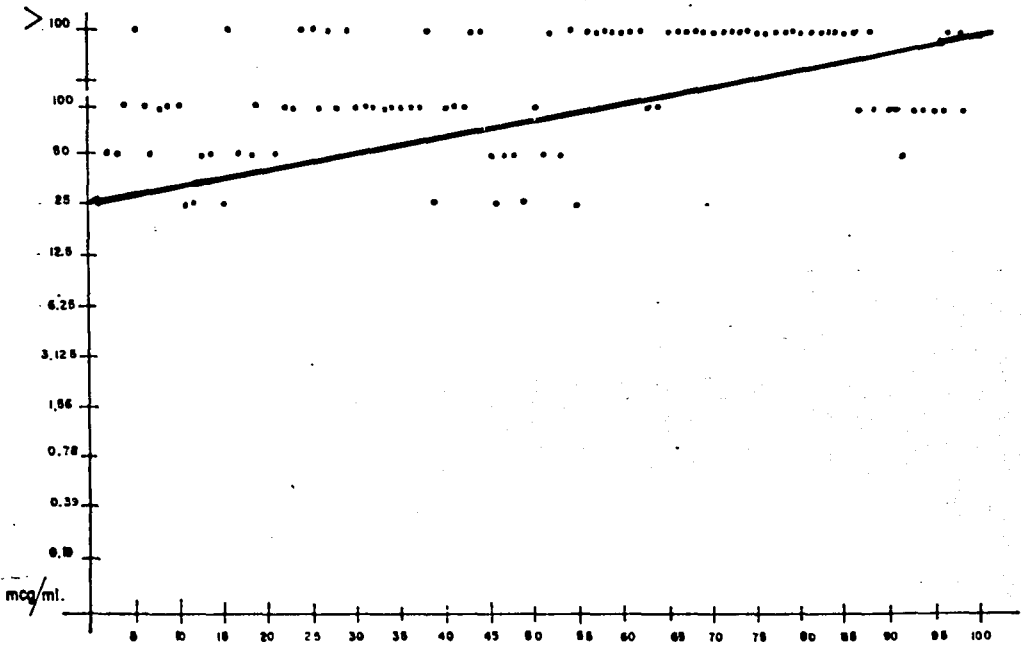


FIGURA N- 5

REPRESENTACION GRAFICA DE LAS CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE

FOSFOMICINA A 100 CÉPAS DE SHIGELLA

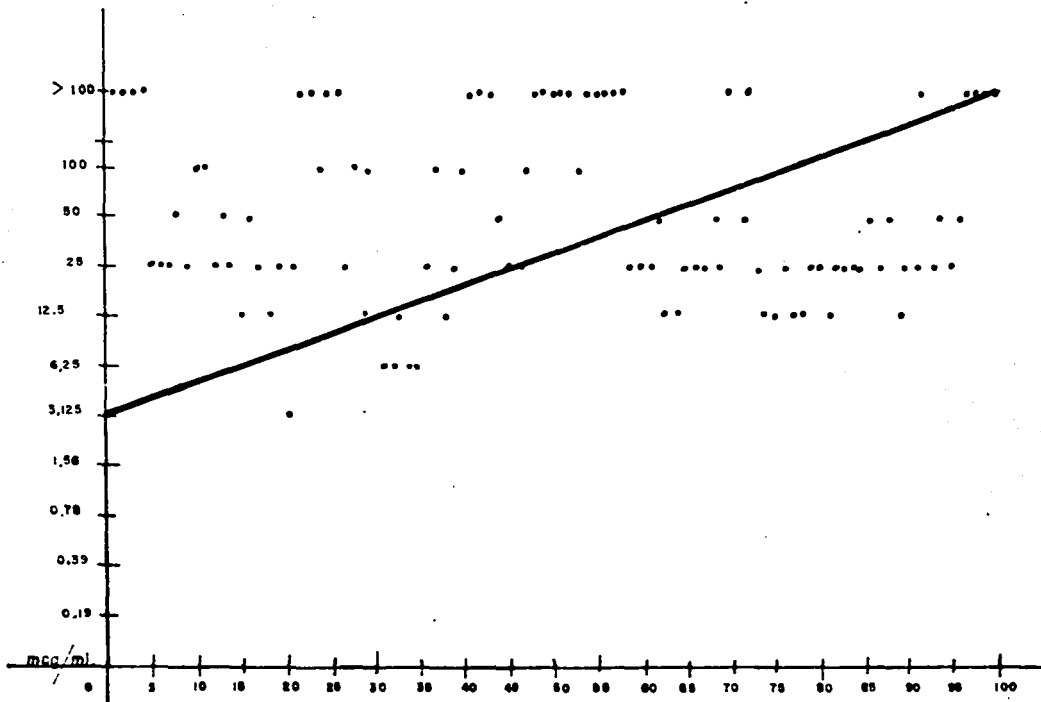


FIGURA N.º 6

N. DE CEPA

REPRESENTACION GRAFICA DE LAS CONCENTRACIONES MINIMAS INHIBITORIAS DE

CLORANFENICOL A 100 CEPAS DE SHIGELLA

#### 4.- CONCLUSIONES

## CONCLUSIONES

El presente estudio comprueba la aceptable acción antimicrobiana de la fosfomicina contra Salmonella y Shigella. Comparado al Sulfametoxazol con la fosfomicina se observa - que el primero no tiene ninguna acción contra mencionadas - bacterias por requerir una concentración Mínima Inhibitoria mayor de 100 mcgr/ml.

La comparación de fosfomicina y cloranfenicol nos de muestra que ambos tienen una capacidad antimicrobiana ciertamente parecida, en virtud a que de un 100% del total de - las cepas de Salmonella typhi, un 33.4% fue sensible a fosfomicina y un 28.2% lo fue para cloranfenicol; lo cual es - indicativo de que contra esta bacteria ambos antibióticos - tuvieron su menor capacidad antimicrobiana. En cambio se observó una sensibilidad de Salmonella enteritidis en un 70.5% para fosfomicina y un 62.3% para cloranfenicol, siendo ambos más efectivos para estas bacterias que para Salmonella typhi y obteniendo un ligero mayor porcentaje de efectividad la fosfomicina que cloranfenicol.

Los resultados de la comparación entre fosfomicina y cloranfenicol contra Shigella, indican que el primero tiene menor capacidad de efectividad que el segundo, lo cual se -



demuestra por el hecho de que un 75% de las cepas fueron -- sensibles a cloranfenicol y un 58% a fosfomicina.

La fosfomicina como antibiótico de reciente introducción ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de algunas enfermedades gastrointestinales, y tienen la ventaja que no es tan tóxica para el organismo como el cloranfenicol y las sulfas, antibióticos con más tiempo de uso en el mercado.

En base a los resultados obtenidos en el presente estudio y a los ya conocidos resultados clínicos, podemos concluir que se debe procurar investigar medicamentos que sean altamente eficaces en el tratamiento de estas enfermedades. Gran importancia requiere el estudio y tratamiento de infecciones gastrointestinales sobre todo por la población a la que atacan más severamente que es la infantil, y el promedio de mortalidad que ocurre entre ellos por sus efectos.

## 5.- BIBLIOGRAFIA

16.  
F. 103

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

- 1.- Bayardo P. B. E.,  
*Análisis Bacteriológicos y Bacteriología Determinativa*  
4 edición, 1982.  
Guadalajara, Jalisco, México.
- 2.- Bojalil, L.F., et al.  
*Microbiología Médica*  
Editorial Comité Editorial.  
México, D.F., 1981.
- 3.- Bowman W.C., et al.  
*Bases bioquímicas y patológicas: aplicaciones clínicas.*  
Editorial Interamericana.  
2 edición.  
México D.F., 1984.
- 4.- Burrows William.  
*Tratado de Microbiología.*  
20 edición.  
Editorial Interamericana.
- 5.- Carpenter, P.L.  
*Microbiología*

*Editorial Interamericana*

4 edición, 1976

México, D.F.

6.- Cecil-Loeb.

*Tratado de Medicina Interna.*

11 Edición.

*Editoria Interamericana, S.A.*

7.- Davis,, et al.

*Tratado de Microbiología.*

2 Edición, 1978.

*Salvat Editores, S.A.*

*Barcelona, España.*

8.- Drill Victor.

*Farmacología Médica.*

2a edición.

*Editorial Fournier, S.A.*

*México, D.F. 1971.*

9.- Fuerst Robert.

*Microbiología.*

14 edición.

*Editorial Interamericana S.A.*

*México, D.F., 1981.*

- 10.- Goodman Alfred, et al.  
Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica.  
6 Edición.  
Editorial Panamericana.  
México 5, D.F., 1982.
- 11.- Harrison., et al.  
Medicina Interna.  
La Prensa Médica Mexicana, Tomo I  
4 edición, 1973.  
México, D.F.
- 12.- Myrvik., et al.  
Bacteriología y Micología Médica.  
Editorial Interamericana.  
México, 1980.
- 13.- Salle, A.J.  
Bacteriología  
4 Edición.  
Editorial Gustavo Gili, S.A.  
Barcelona, España.
- 14.- PLM: Diccionario de Especialidades Farmacéuticas.  
27 Edición.  
Editorial Mexicana.  
México, 1981.