

DICONE  
\$500-



U N I V E R S I D A D     D E     M O N T E R R E Y

INSTITUTO DE CIENCIAS

NATURALES Y EXACTAS

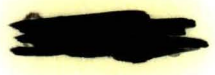
ESTUDIO ESTADÍSTICO DE LA TÉCNICA DE DILUCIÓN A  
PRIMERA TRANSPARENCIA DE UN INÓCULO BACTERIANO

TESINA QUE PRESENTA

CELINA MENA ARROYO

EN OPCIÓN AL TÍTULO DE  
QUIMICO FARMACEÚTICO BIÓLOGO

RECEIVED  
FEDERAL BUREAU OF INVESTIGATION  
U. S. DEPARTMENT OF JUSTICE



040.6151  
M534e  
1972  
C.1



800200



800008

800008

800008

Con mucho cariño entrego a mi  
familia mi trabajo y esfuerzo.

Al Colegio Labastida  
con inmensa gratitud.

Este trabajo se efectuó en el  
Departamento de "Microbiología"  
de la Facultad de Medicina de  
la Universidad Autónoma de --  
Nuevo León.

Bajo la dirección del  
Sr. MANUEL A. RODRIGUEZ  
Q.F.B., MSc., DSc.  
Jefe del Departamento.

I N D I C E

CAPITULO	I	INTRODUCCION.....	1
CAPITULO	II	MATERIAL Y METODO.....	6
CAPITULO	III	RESULTADOS.....	9
CAPITULO	IV	DISCUSION Y CONCLUSIONES.	26
CAPITULO	V	BIBLIOGRAFIA.....	29

## I.- INTRODUCCION

Uno de los procedimientos más utilizados para demostrar la suceptibilidad de las bacterias a los antibióticos, es demostrar que estas substancias son capaces de detener la multiplicación de las células bacterianas. Puesto que existen numerosos agentes antibióticos que son utilizados en terapéutica médica, se han diseñado métodos que determinan la capacidad de estos agentes para inhibir el crecimiento de una cepa bacteriana en forma sencilla y realizable prácticamente en cualquier laboratorio clínico. Cuando este proceso se realiza en forma tal que una cepa es expuesta a la acción de varios antibióticos, el proceso se llama antibiograma.

Se han descrito fundamentalmente dos técnicas para determinar la suceptibilidad de las bacterias a los antibióticos: la primera consiste en hacer diluciones del antibiótico en caldo nutritivo, a las cuales se agrega un inóculo adecuado de la bacteria en estudio, para determinar, la concentración más baja de



antibiótico capaz de inhibir el crecimiento de dicha bacteria. Esta técnica se llama de dilución en tubo, aunque también puede ser realizada en medios sólidos.

El segundo método llamado de difusión en agar -- consiste en impregnar discos de papel absorbente con concentraciones adecuadas de antibiótico; éstos se colocan sobre la superficie de un medio de cultivo sólido, contenido en una caja de petri que previamente ha sido inoculado con la bacteria en estudio; durante la incubación el antibiótico difunde alrededor de los discos al mismo tiempo que las bacterias se multiplican. Cuando la cepa bacteriana es susceptible a un antibiótico determinado, ésta no crece alrededor del disco que lo contiene, observándose un halo de inhibición del crecimiento. Este sistema sencillo, permite ensayar simultáneamente, varios tipos de antibióticos frente a una sola especie bacteriana y tener de esta manera una idea del espectro de susceptibilidad. Desafortunadamente, el tamaño de las zonas de inhibición está sujeto a ciertas variables, tales como el tamaño de los discos, la concentración del agar, el grado de hidratación de éste, la composición del medio de cultivo, la presencia de sustancias que inactivan al antibiótico o lo inmovilizan en su difusión sin inactivarlo la magnitud del inóculo bacteriano, siendo éste, uno de los factores más importantes en la realización de un antibiograma.

Los antibióticos, para realizar su acción antibacteriana, tienen que permanecer en contacto con la célula y pene--

trar a los sitios susceptibles a su acción. Existe por lo tanto, una relación entre el número de moléculas de antibiótico y el número de células que van a ser afectadas, ya que cada célula tendrá que absorber un mínimo de moléculas de antibiótico para que la acción antibacteriana pueda manifestarse. Se deduce pues, que la capacidad antibacteriana de un número determinado de moléculas de antibiótico, variará de acuerdo al número de células que estén expuestas a dicho antibiótico, es decir, a la magnitud del inóculo. Si éste es muy pequeño, la zona de inhibición será apreciada fácilmente, por el contrario, si el número de células es incrementado, podría llegar un momento en que todas las moléculas de antibiótico fuesen absorbidas por una parte de la población celular, no quedando entonces antibiótico disponible para inhibir el resto de las células cuyo crecimiento enmascarará la acción inhibitoria.

Este problema ha sido estudiado por diversos autores (2, 6, 7), cuyas conclusiones desafortunadamente no siempre son satisfactorias. Es razonable suponer que el tamaño del inóculo bacteriano, que se expone a los antibióticos en un sistema in vitro, deba ser semejante a las concentraciones de bacterias que se encuentran en los tejidos o fluidos orgánicos, con el propósito de que haya alguna correlación entre lo que se demuestra in vitro y lo que pueda ocurrir in vivo. La mayor parte de los autores sostienen que debe utilizarse un inóculo de  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^6$  bacterias por ml (6, 12, 15, 16) ya que se ha demostrado que las concentraciones máxi

mas, que se encuentran en infecciones experimentales son de esa magnitud (4, 5, 8, 9, 10), excepto en casos excepcionales (11, 12, --- 13).

Se han propuesto diversos procedimientos para ajustar el inóculo a esa magnitud; desde luego el más exacto consiste en hacer una cuenta viable del cultivo por ensayar y lograr por dilución, la concentración bacteriana deseada para el inóculo. Desafortunadamente esta técnica es muy laboriosa y por ello muy poco práctica para estudios de rutina.

Otra manera de ajustar el inóculo, es igualando su turbidez con la de suspensiones bacterianas de concentración celular conocida. Este método presenta los siguientes inconvenientes: - a) considera tanto células vivas como muertas; b) posee poca sensibilidad en las lecturas, ya que aunque se lea en un nefelómetro, o más comunmente en un fotocolorímetro, pequeñas diferencias en las lecturas, corresponden a grandes diferencias en el número de células y c) introduce grandes errores, debido a la forma y tamaño de las células.

Todo lo anterior ha conducido a tratar de simplificar al máximo las técnicas de medición del inóculo, a pesar de los riesgos de introducir variaciones demasiado grandes en éste. Diversos autores (12, 17), recomiendan diluciones arbitrarias de un cultivo de 24 horas de la bacteria en estudio. Más recientemente, el gru

po de Bauer (1), ha recomendado un procedimiento en el cual una sus pensión bacteriana obtenida de varias colonias, o el cultivo en medio líquido, es igualado con una suspensión patrón de sulfato de ba rio, que corresponde aproximadamente a una suspensión conteniendo  $1 \times 10^7$  bacterias por mililitro. Esta técnica de ajuste de inóculo ha empezado a tener gran aceptación por la sencillez de su ejecu--- ción.

En estudios previos (3), se observó que cuando - se diluían cultivos o suspensiones bacterianas, hasta que se lograba transparencia, los recuentos viables eran aproximadamente de  $1 \times 10^6$  bacterias por ml de manera que 0.1 ml contenían  $1 \times 10^5$  bacterias -- por ml, que es un inóculo muy apropiado para una prueba de suceptibi lidad a los antibióticos.

Basándose en estos estudios, se propuso encon--- trar una técnica para ajustar el inóculo a dicha magnitud, que fuese reproducible, sencilla, y de costo mínimo. La técnica que aquí se - usará, se basa en comprar una suspensión bacteriana llevada a prime- ra transparencia con un tubo conteniendo solución salina (cloruro de sodio 0.85%).



## II.- MATERIAL Y METODO

Para este trabajo se seleccionaron las siguientes cepas: dos de Escherichia coli, denominadas (a) y (b), dos de Staphylococcus aureus (a) y (b), dos de Streptococcus faecalis (a) y (b) y una de cada una de las siguientes especies: Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, Salmonella typhi, Salmonella paratyphi. B, Pseudomona aeruginosa, Streptococcus pyogenes, Bacillus cereus y Bacillus anthracis.

### Purificación de las cepas.-

Con el objeto de reiniciar el crecimiento de la población celular a partir del cultivo de colección, se sembró en tubos de ensayo, conteniendo 5 ml de caldo tripticasa y soya \*(TSB) y se incubó por 8 hrs. a 37°C. Hecho esto se tomó un inóculo y se sembró en una caja de petri conteniendo un medio de cultivo selectivo, con el fin de lograr la identificación de la cepa; se incubó por 24 hrs. a 37°C y se seleccionó de ella una colonia adecuada. Esta colonia fué inoculada en un tubo conteniendo una pequeña cantidad de

\* *Trypticase soy broth (fisher).*

TSB y se incubó por 18 hrs. a 37<sup>o</sup>C; se centrifugó el tubo y se tomó una asada del sedimento, la cual fué sembrada en un frasco de colección en agar de infusión cerebro y corazón y adicionado de cistina y se incubó por 18 hrs. a 37<sup>o</sup>C y se mantuvo en refrigeración.

#### Preparación del inóculo.-

A partir del cultivo de mantenimiento, se inoculó un tubo con TSB y se incubó por un tiempo aproximado de 15 hrs. De este cultivo se sembró una asada en una caja de petri conteniendo agar tripticasa y soya \*(TSA) y se incubó por 24 hrs. a 37<sup>o</sup>C. En el caso de S. pyogenes y S. faecalis se utilizó agar sangre como medio de cultivo.

Obtenido el crecimiento, se seleccionó una colonia de 3 mm. de diámetro; en el caso de no encontrarse, se tomaron dos a cinco morfológicamente similares. Este inóculo se suspendió en 1 ml de solución salina estéril (cloruro de sodio 0.85%) contenida en un tubo de 13 x 100 mm agitando para lograr una buena homogeneización. Con una pipeta estéril, se agregó solución salina hasta que la turbidez desapareció, teniendo como referencia un tubo con solución salina únicamente. Se procuró no llevar cuenta del volumen agregado con el propósito de no viciar los valores de los recuentos.

\*Trypticase soy agar (fisher).

**BIBLIOTECA**  
**UNIVERSIDAD DE MONTERREY**

Procedimiento para la cuenta viable.

Para determinar el número de células contenido en la suspensión bacteriana a "primera transparencia", se tomó 1 ml de ella, se pasó a un tubo conteniendo 9 ml de solución salina estéril de éste tubo se tomó 1 ml que se pasó a un segundo tubo -- conteniendo 9 ml de solución salina y así sucesivamente con el fin de hacer diluciones en base 10. Se inoculó por triplicado en el caso de E. coli (a) y (b) y S. aureus (a) y por duplicado en las restantes, 1 ml de cada una de las diluciones, en cajas de petri -- vacías y estériles; en cada caja se vertieron 15 ml de ATS fundido a 50°C; se movieron circularmente para lograr la homogenización del inóculo; se dejaron solidificar y se incubaron a 37°C por 24 hrs. Este procedimiento se repitió siete veces con cada una de las cepas mencionadas.

Se contaron las colonias de cada placa y se -- calculó el número de bacterias por ml de la suspensión bacteriana diluida a primera transparencia.

### III.- R E S U L T A D O S

Las cuentas viables que se obtuvieron de las suspensiones por dilución a primera transparencia, se presentan en las tablas No. 1 al No. 14.

Las tablas 1, 2 y 3 presentan las cuentas obtenidas en tres réplicas procedentes de la misma dilución y en la columna final, el promedio de cada uno de estos recuentos.

Las tablas del No. 4 al No. 14 inclusive, presentan únicamente dos réplicas y su promedio, así como la media aritmética de los siete recuentos.

La tabla No. 15 presenta los valores estadísticos obtenidos con cada una de las cepas. En la primera columna se reúnen los promedios de los siete recuentos de cada una de las cepas. La segunda columna contiene los valores de la desviación estandar "s", calculada para cada una de ellas. En las dos últi-



timas columnas de esta tabla, se han reunido los valores que en este trabajo se han llamado porcentaje de error debido a la manipulación y porcentaje de error debido a la técnica de dilución a primera transparencia.

Tabla No. 1.- Cuentas Viables de la Dilución a

Primera Transparencia con E. coli (a)

$\times 10^6$  Bacterias/ml

Recuento No.	Caja No. 1	Caja No. 2	Caja No. 3	Promedio
1.-	11.0	10.0	9.2	10.0
2.-	9.8	9.4	8.6	9.2
3.-	9.3	8.7	6.9	8.3
4.-	7.6	7.2	6.2	7.0
5.-	5.4	4.7	4.6	4.9
6.-	3.85	3.8	3.77	3.82
7.-	3.15	3.02	2.89	3.02
MEDIA ARITMETICA				6.6

Tabla No. 2.- Cuentas viables de la Dilución a  
 Primera Transparencia con E. coli (b)  
 $\times 10^6$  Bacterias/ml

Recuento No.	Caja No. 1	Caja No. 2	Caja No. 3	Promedio
1.-	0.99	0.98	1.0	0.99
2.-	1.73	1.66	1.60	1.66
3.-	1.72	1.69	1.57	1.69
4.-	2.47	2.36	2.26	2.36
5.-	2.98	2.73	2.60	2.77
6.-	3.5	3.0	2.5	3.0
7.-	8.0	7.5	7.3	7.6
MEDIA ARITMETICA				2.86

Tabla No. 3.- Cuentas Viables de la Dilución a

Primera Transparencia con Staphylococcus aureus (a)

$\times 10^5$  Bacterias/ml

Recuento No.	Caja No. 1	Caja No. 2	Caja No. 3	Promedio
1.-	1.53	1.06	1.0	1.53
2.-	2.61	2.61	2.58	2.60
3.-	4.0	5.2	3.8	3.90
4.-	5.4	5.4	4.8	5.20
5.-	12.4	12.3	11.6	12.10
6.-	16.1	15.6	15.3	15.60
7.-	21.6	21.6	20.1	21.10
MEDIA ARITMETICA				8.86

Tabla No. 4.- Cuentas Viables de la Dilución a Primera

Transparencia con Staphylococcus aureus (b)

$\times 10^5$  Bacterias/ml

Recuento No.	Placa No. 1	Placa No. 2	Promedio
1.-	7.7	6.7	7.2
2.-	9.6	6.4	8.0
3.-	8.4	7.6	8.0
4.-	10.0	8.8	9.4
5.-	12.2	11.5	11.8
6.-	12.6	12.3	12.0
7.-	16.1	15.0	15.0
MEDIA ARITMETICA			10.2

Tabla No. 5.- Cuentas Viables de la Dilución a Primera

Transparencia con Proteus mirabilis

$\times 10^6$  Bacterias/ml

Recuento No.	Placa No. 1	Placa No. 2	Promedio
1.-	4.0	3.1	3.5
2.-	3.07	2.9	2.98
3.-	1.76	1.73	1.74
4.-	10.6	9.0	9.8
5.-	9.3	8.0	8.6
6.-	5.4	4.9	5.1
7.-	4.0	3.5	3.7
MEDIA ARITMETICA			5.06

Tabla No. 6.- Cuentas Viables de la Dilución a Primera

Transparencia con Proteus vulgaris

$\times 10^6$  Bacterias/ml

RECUESTO No.	Placa No. 1	Placa No. 2	Promedio
1.-	4.4	4.0	4.2
2.-	5.0	3.4	4.2
3.-	4.7	4.2	4.4
4.-	5.0	4.6	4.8
5.-	5.5	4.5	5.0
6.-	6.2	5.3	5.7
7.-	6.6	6.0	6.3
MEDIA ARITMETICA			4.9

Tabla No. 7.- Cuentas Viables de la Dilución a Primera

Transparencia con Salmonella typhi

$1 \times 10^5$  Bacterias/ml

Recuento No.	Placa No. 1	Placa No. 2	Promedio
1.-	4.0	3.6	3.8
2.-	5.7	5.5	5.6
3.-	6.0	5.7	7.8
4.-	10.3	10.0	10.1
5.-	19.7	17.3	18.5
6.-	22.3	21.0	21.6
7.-	26.1	22.3	24.4
MEDIA ARITMETICA			13.1



Tabla No. 8.- Cuentas Viables de la Dilución a Primera

Transparencia con Salmonella paratyphi

$1 \times 10^6$  Bacterias/ml

Recuento No.	Placa No. 1	Placa No. 2	Promedio
1.-	0.54	0.49	0.51
2.-	0.84	0.73	0.78
3.-	1.01	0.94	0.97
4.-	1.08	0.96	1.02
5.-	1.65	1.60	1.62
6.-	1.88	1.77	1.82
7.-	2.60	2.54	2.57
MEDIA ARITMETICA			1.32

Tabla No. 9.- Cuentas Viables de la Dilución a Primera

Transparencia con Pseudomona aeruginosa

$1 \times 10^6$  Bacterias/ml

Recuento No.	Placa No. 1	Placa No. 2	Promedio
1.-	0.72	0.62	0.67
2.-	1.05	0.95	1.0
3.-	1.20	1.10	1.15
4.-	1.36	1.26	1.31
5.-	1.92	1.88	1.90
6.-	2.31	2.18	2.24
7.-	2.90	2.90	2.90
MEDIA ARITMETICA			1.59

Tabla No. 10.- Cuentas Viables de la Dilución a Primera  
 Transparencia con Streptococcus pyogenes  
 $1 \times 10^5$  Bacterias/ml

Recuento No.	Placa No. 1	Placa No. 2	Promedio
1.-	3.2	3.0	3.1
2.-	3.9	3.7	3.8
3.-	4.0	4.0	4.0
4.-	4.2	4.0	4.1
5.-	5.0	4.5	4.7
6.-	10.0	8.0	9.0
7.-	13.8	13.2	13.5
MEDIA ARITMETICA			6.02

Tabla No. 11.- Cuentas Viables de la Dilución a Primera

Transparencia con Bacillus anthracis

$1 \times 10^5$  Bacterias/ml

Recuento No.	Placa No. 1	Placa No. 2	Promedio
1.-	0.95	0.91	0.93
2.-	1.12	0.79	0.95
3.-	1.35	1.25	1.30
4.-	2.17	2.17	2.17
5.-	2.2	2.2	2.20
6.-	2.22	2.2	2.21
7.-	3.8	3.4	3.60
MEDIA ARITMETICA			1.90

Tabla No. 12.- Cuentas Viables de la Dilución a Primera

Transparencia con Bacillus cereus

$\times 10^5$  Bacterias/ml

Recuento No.	Placa No. 1	Placa No. 2	Promedio
1.-	4.1	3.4	3.7
2.-	4.5	3.3	3.9
3.-	5.7	4.5	5.1
4.-	5.4	5.3	5.3
5.-	8.0	6.6	7.3
6.-	10.1	7.7	8.9
7.-	13.4	11.0	12.2
MEDIA ARITMETICA			6.67

Tabla No. 13.- Cuentas Viables de la Dilución a Primera  
 Transparencia con Streptococcus faecalis  
 $\times 10^6$  Bacterias/ml

Recuento No.	Placa No. 1	Placa No. 2	Promedio
1.-	1.32	1.2	1.26
2.-	1.39	1.37	1.38
3.-	1.76	1.56	1.66
4.-	2.14	1.19	1.66
5.-	3.5	2.9	3.2
6.-	4.0	3.4	3.8
7.-	9.5	9.1	9.3
MEDIA ARITMETICA			4.47

Tabla No. 14.- Cuentas Viables de la Dilución a Primera

Transparencia con Streptococcus faecalis (b)

$\times 10^5$  Bacterias/ml

Recuento No.	Placa No. 1	Placa No. 2	Promedio
1.-	4.7	3.5	4.1
2.-	4.2	4.2	4.2
3.-	5.5	3.2	4.3
4.-	8.0	6.8	7.4
5.-	9.5	7.5	8.5
6.-	16.7	12.4	14.5
7.-	21.3	16.7	19.0
MEDIA ARITMETICA			8.85

Tabla No. 15.- Valores Estadísticos obtenidos para las distintas cepas bacterianas

Cepa Bacteriana	Media Aritmética $\times 10^6$ B/ml	"s" $\times 10^6$	% E <sub>m</sub>	% E <sub>t</sub>
Escherichia coli (a)	6.6	2.73	33	67
Escherichia coli (b)	2.86	2.19	14	86
Staphylococcus aureus(a)	0.88	0.74	7	93
Staphylococcus aureus(b)	1.02	0.28	37	63
Proteus mirabilis	5.06	3.01	19	81
Proteus vulgaris	4.9	0.8	57	43
Salmonella typhi	1.36	0.82	17	83
Salmonella paratyphi B	1.32	0.71	2	98
Pseudomona aeruginosa	1.59	0.78	4	96
Streptococcus pyogenes	0.60	0.38	18	82
Bacillus anthracis	0.19	0.94	12	88
Bacillus cereus	0.66	0.30	27	73
Streptococcus faecalis(a)	4.47	3.91	11	88
Streptococcus faecalis(b)	0.88	0.57	22	78



#### IV.- D I S C U S I O N   Y   C O N C L U S I O N E S

Examinando la tabla No. 15, puede apreciarse que las medias aritméticas de las cuentas bacterianas hechas por dilución a primera transparencia, se mantienen dentro de un intervalo de  $6.6 \times 10^6$  a  $0.19 \times 10^6$  bacterias por ml. Esta variación se presenta aún en el caso de cepas de la misma especie, lo cual nos inclina a pensar que es debido a la poca reproducibilidad del método y no al comportamiento de las distintas especies.

Como un medio de determinar la influencia de la manipulación y de la técnica de dilución a primera transparencia en la dispersión de los valores, se calculó la desviación estandard cuyos valores se encuentran en la columna marcada "s", observándose que éstas oscilan de  $0.28 \times 10^6$  a  $2.73 \times 10^6$  bacterias por ml, lo que implica dispersiones muy variables entre cepa y cepa; sin embargo al analizar los datos de cada cepa en cuanto a su distribución normal, se encontró que ésta se presentaba en todos los casos, lo que nos permite suponer que las dispersiones son motivadas por defi-

ciencias propias de la técnica de dilución a primera transparencia y no por manipulaciones incorrectas.

Los dos últimos valores estadísticos obtenidos o sea el porcentaje de error debido a la manipulación y el % de error propia de la técnica (% Et), nos muestran en términos generales que éste último es mucho mayor que el adjudicable a la manipulación del experimentado. Por ejemplo, E. coli (a) y (b), una muestra un error experimental de 33%, mientras que la otra sólo 14% de la variación total. Así mismo, en el caso de S. aureus se tiene un porcentaje de error de manipulación de 7% en la cepa (a) y un 37% en la cepa (b).

De acuerdo con lo que se vió en los análisis anteriores, podemos considerar, que las distintas cepas no tienen influencia en los valores del recuento, por lo cual, para tratar de establecer los límites que se podrían obtener en los recuentos de un inóculo llevado a primera transparencia, obtuvimos el promedio de las medias de las 14 cepas, el cual fué de  $2.22 \times 10^6$  bacterias por ml; De lo anterior podemos considerar que en promedio los recuentos se encontraría entre  $3.1 \times 10^6$  a  $1.34 \times 10^6$  bacterias por ml.

Considerando lo burdo de esta técnica, pero al mismo tiempo aceptando su sencillez, el error en cuentas promedio como las descritas no es realmente desalentador.

Comparando esta técnica con la de Bauer-Kirby (1), en la que requiere un patrón pre-calibrado de sulfato de bario, sujeto a envejecimiento, sedimentación y a un sinúmero de in convenientes, que se eliminan en esta técnica, parece adecuado -- llevar a cabo un estudio de manera más profunda para determinar - en forma definitiva si las variaciones que parecen ser propias de la técnica de dilución a primera transparencia realmente lo son, en cuyo caso sería necesario realizar un estudio estadístico con un número reducido de cepas pero aumentado el número de recuentos y estudiar la posibilidad de que dichas variaciones no afecten el resultado de un antibiograma.



V.- B I B L I O G R A F I A

- 1.- BAUER, A.W., KIRBY, W.M.M. SHERRIS, J.C. and TURCK, M. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single - Disc Method. Amer. J. Clin. Path. 45 : 493-496, 1966.
- 2.- BRANCH, A. et al. Categorization of the Newer Penicillins by Clinical Laboratory Test. Med. Serv. J. 23: 347-353, 1962.
- 3.- CUEVA, J. Ensayo de una Microtécnica para determinar la Susceptibilidad de las Bacterias a Niveles Terapéuticos de Antibióticos. Tesis Facultad de Ciencias Químicas, Universidad - Labastida, Monterrey, N.L.; 1971.
- 4.- DUBOS, J.R. Biochemical Determinants of Microbial Diseases, Harvard Univ. Press. 1954; 275 pp.

- 5.- ELEK, S.D. Experiments Staphylococcal Infections in the Skin of Man. An. N. Y. Acad. Scien. 65 : 85-89, 1956.
- 6.- ERICSSON, H. "Standardization of Methods for conductymicrobic Sensitivity tests" Preliminary report of a working group of the WorldHealth Organization. Karolinska Sjukhuset, Stockholm, 1964.
- 7.- JACKSON, G. G. The Value and Clinical of Determining Bacterial Sensitivity to Antibiotics. Ped. Clin. N. Amer. 2 : 305 1955.
- 8.- JAMES, R.C. and MAC LEOD C. J. Induction of Staphylococcal Infections In Mice With Small Inocula Introduced On Sutures. Brith. J. Exp. Path. 42: 266-267, 1961.
- 9.- MAC L.C. et al. Relationship of Abscess formation in Mice, Guinea-Pigs a Rabbits to Antistaphylococcal Activity of their tissues and Blood Serum. Brith. J. Exp. Path. 44 : 612-620, 1963.
- 10.- MC. CUNE, R.M. The Effect of Antimicrobial Drugs on an Experimental Staphylococcal Infection In Mice. Amer. N.Y. Acad. Scie. 65 : 91-101, 1956.
- 11.- MEYNELL, G.G. Use of Superinfecting Phage for Estimating the Division Rate of Lysogenic Bacteria in Infected Animals. J. --

Gen Microbiol. 21 : 421-437, 1969.

- 12.- RYAN, K.J. et al. Disc Sensitivity Testing. Hosp. Pract. 5 : 91-100, 1970.
- 13.- SMITH, H. et al. The Chemical Basis of the Virulence of ----  
Brucella abortus. Brith. J. Path. 42 : 631-637, 1961.
- 14.- TEMPEST, D.W. and Smith H. The Efect of Metabolite Analogues on Growth of Bacillus anthracis in the Guinea Pig and on the Formation of Virulencia-determining Factors. J. Gen. Microbiol. 17 : 739-749, 1957.
- 15.- WHO. The International Study on the Standardization of Antibiotic Sensitivity Testing. (Present status and plans for future work of the WHO sponsored collaborative study). Memorandum 14, Feb. 1967.
- 16.- WHO. The International Study on the Standardization of Antibiotic Sensitivity Testing. Memorandum 15, Oct. 1967.
- 17.- WICK, W. E. Delineation of the Difference of Various Bacterial Susceptibility Tests with Cephalexin. Amer. Sosc. for Microb. - Washington D.C. 1968, 447 pp.

800479

BIBLIOTECA  
UNIVERSIDAD DE MONTERREY



[REDACTED]

800200

[REDACTED]

[REDACTED]

LIBRARY  
UNIVERSITY OF CALIFORNIA

[REDACTED]

386008

386008

386008

386008



## FECHA DE DEVOLUCION

---

El último sello marca la fecha tope para ser devuelto este libro.

Vencido el plazo, el lector pagará 1.00 peso por cada día que pase.

Plata 153,672

~~17 AGO. 1977~~

--	--	--