

IBLCNE  
\$500

14 ENE. 1981

## FECHA DE DEVOLUCION

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

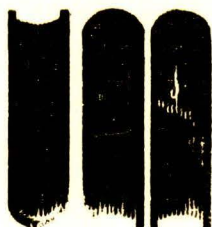
Vencido el plazo, el lector pagará 1.00 peso por cada día que pase.

(11-013)



# UNIVERSIDAD DE MONTERREY

DIVISION DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS



UNIVERSIDAD  
DE MONTERREY

*clasif.*  
*040.54*  
*6984f*  
*1980*  
*C.1*

*Título:*

TITULO:

FACTORES DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS  
TRANSFERIBLES DE Salmonella sp. a Escherichia coli.

REPORTE DEL PROGRAMA DE EVALUACION FINAL  
QUE PRESENTA

*Autora:* MARIA MICAELA GUTIERREZ GARZA

EN OPCION AL TITULO DE  
LICENCIADO EN QUIMICA CON  
ESPECIALIDAD EN ANALISIS CLINICOS

*No Bo*  
*ma. Lourdes Mtz. M.*

*folio* 801232

MONTERREY, N. L.

DICIEMBRE 1980

BIBLIOTECA  
UNIVERSIDAD DE MONTERREY



*Con admiración y respeto a mis padres, que han sido para mí motivación y digno ejemplo.*

*A mis hermanos, por otorgarme siempre su apoyo.*

*A todos mis compañeros y amigos, porque me han demostrado su amistad.*

*A mis maestros, por sus enseñanzas durante toda mi carrera profesional.*

*A mi asesor, la Srta. Q.F.B. Ma. de Lourdes Martínez M. por haberme proporcionado su ayuda para la realización de este trabajo.*

*A Oscar por brindarme su amor y comprensión, en aquellos momentos que más necesito.*

## INDICE

	<u>Página.</u>
<i>Introducción.....</i>	<i>1</i>
<i>Material y Métodos.....</i>	<i>9</i>
<i>Resultados.....</i>	<i>16</i>
<i>Discusión y Conclusiones.....</i>	<i>22</i>
<i>Resumen.....</i>	<i>27</i>
<i>Bibliografía.....</i>	<i>28</i>



## INTRODUCCION

*El descubrimiento de los antibióticos ha sido uno de los mayores avances de la ciencia. Sin embargo, estas drogas no son la panacea que prometían ser en un tiempo, pues además de que pueden producir efectos nocivos en el huésped, a medida que han sido descubiertos nuevos antibióticos han surgido organismos resistentes a ellos, limitando así, la utilidad de estos agentes.*

*A través de la historia de los antibióticos se han reportado casos en los que se involucra un material extracromosómico (plásmidos), como uno de los mayores responsables de este fenómeno de resistencia a ellos.*

*Un plásmido se define como un fragmento de DNA de doble tira, dispuesto en forma circular, el cual existe dentro de una célula bacteriana pero fuera del genoma, que es capaz de replicarse en forma independiente en relación a la replicación del cromosoma de la bacteria y que en algunas ocasiones puede integrarse al genoma bacteriano y replicarse como una parte de él.(8).*

*Existen una gran variedad de plásmidos, una gran mayoría de ellos han mostrado conferir la resistencia a muchos antibióticos así como también a mercurio, cadmio, níquel, cobalto, zinc y arsénico. Otros poseen genes que codifican la producción de antibióticos, formación de toxinas, producción de bacteriocinas y otros más.(2,4,9).*

*Los plásmidos de resistencia a los antibióticos contienen un factor designado como R, formado por un segmento que es el factor de transferencia de la resistencia (RTF), el cual controla su propia replicación y la capacidad de ser transferido mediante la síntesis de pilis específicos y por uno o varios determinantes de resistencia (genes), que codifican la síntesis de enzimas, que inactivan a los antibióticos y hacen a la célula resistente a ellos.(6,7, 18,20).*

*El RTF y los determinantes de resistencia pueden encontrar*



se en forma independiente en el citoplasma bacteriano o unidos formando una unidad como dijimos anteriormente, que se conoce como factor R. Una bacteria que posee únicamente el RTF lo puede transferir a otra bacteria, pero no le conferirá resistencia debido a que no posee genes de resistencia; cuando la bacteria posee solamente determinantes de resistencia a antibióticos sin presentar el RTF, tampoco podrá transferir resistencia a otras bacterias.(6,7).

Los factores R pueden desaparecer de las células bacterianas si se les trata con colorantes de acridina, metales pesados, radiaciones ultravioleta o ionizantes. El crecimiento a temperaturas superiores a la óptima, también puede contribuir a la eliminación del plásmido. Este proceso resulta de una inhibición de la replicación del plásmido y no produce daño a la célula huésped.(3,4,8,13,20).

El modo en que opera la resistencia mediada por factores R es a través de la producción de enzimas, que ya sea inactivan a un antibiótico o hacen a la célula impermeable a sus efectos. Los diferentes genes contenidos en el factor R pueden actuar de manera distinta. Por ejemplo; existen antibióticos que poseen estructuras químicas similares como los aminoglicósidos, entre los cuales se encuentra la estreptomina. Las cepas que contienen factores R que



confieren la resistencia a estos antibióticos contienen enzimas que los modifican ya sea por fosforilación, acetilación o adenilación produciendo un bloqueo en la actividad del antibiótico. En el caso de las penicilinas, la resistencia del factor R es debida a la formación de penicilinasas las cuales rompen el anillo B-lactámico destruyendo así la molécula. La resistencia a cloranfenicol mediada por factores R es debida a la presencia de una enzima que acetila el antibiótico.(4,6,18).

La resistencia a los agentes antimicrobianos mediada por plásmidos es el mecanismo más diseminado de resistencia a antibióticos. Los agentes antimicrobianos de los cuales se ha reportado que su resistencia está mediada por plásmidos son: Penicilina, Cefalosporina, Trimetoprim, Tetraciclina y otros antibióticos. Una bacteria puede presentar plásmidos de resistencia que poseen la información para la resistencia a uno o varios antibióticos, (resistencia múltiple).(5,10).

Se pueden encontrar como integrantes de un plásmido a los transposones, que son segmentos de DNA que generalmente codifican la resistencia a un solo antibiótico, además poseen la capacidad de pasar de un plásmido a otro dentro de una misma célula, logrando que la diseminación de los genes de resistencia sea mayor.(14,18).



Además del mecanismo de resistencia mencionado con anterioridad, existe otro en el cual la resistencia está mediada por genes que se encuentran en el cromosoma bacteriano. La resistencia mediada por cromosomas determina cambios estructurales en componentes de la bacteria, tales como: ribosomas y pared celular; permitiendo de esta forma que dejen de ser susceptibles a los antibióticos.(18).

Anteriormente se pensaba que la resistencia a un antibiótico determinado, se podía deber a una mutación cromosómica.(18,20). Pero en realidad la probabilidad de que esta ocurra es relativamente baja. Además la probabilidad de que una bacteria presente resistencia a varios agentes antimicrobianos a la vez, es todavía más baja que la anterior.(7).

La resistencia a las drogas puede transferirse de una bacteria a otra ya sea por transducción o conjugación. La transducción es la transferencia de genes, en la cual el DNA de una célula bacteriana es introducido a otra célula bacteriana por infección viral.(6).

La conjugación es la transferencia de material genético en la cual se requiere un contacto célula con célula, necesiándose para ello la formación de un puente citoplasmático entre bacterias.(7). Las bacterias que poseen plásm

midos de resistencia no siempre los transfieren pues además de los conjugables existen los no conjugables que son transferidos mediante el mecanismo de transducción.(10, 17). En un tiempo se pensó que sólo las bacterias Gram negativas (bacilos entéricos) eran las únicas capaces de conjugarse, hoy se conoce que existen también otras bacterias capaces de hacerlo.(10, 18).

La conjugación se puede presentar in vivo, puesto que la mayoría de los casos la han presentado dentro de un organismo huésped. En 1950 se reportaron en Japón muchos casos en los que se indicaba el aislamiento en un mismo paciente de cepas de Escherichia coli y de Shigella ambas con resistencia múltiple como resultado de la transferencia de factores R entre ellas. Además se puede realizar en el medio ambiente e in vitro.(3,6,7,12,15).

Con el descubrimiento de las Sulfonamidas en 1930, que fueron las primeras drogas antibacterianas que se introdujeron al mercado, se empezaron a utilizar en Japón indelicadamente contra la shigelosis. El triunfo sobre la Shigella no duró mucho tiempo ya que para 1950, del 80 al 90% de las Shigellas aisladas eran resistentes a las Sulfonamidas.(10).

El uso masivo de antibióticos desde 1940 ha favorecido la



selección y diseminación de los factores R y puede haber promovido su evolución, aunque es casi seguro que esto no los ha creado. Tal es el caso reportado en el que una cepa de E. coli liofilizada en 1946, poseía factores de resistencia para tetraciclina y estreptomina antes del descubrimiento de estos antibióticos.(7,10). Además se ha observado que el empleo de antibióticos favorece el aumento de la prevalencia de los determinantes de resistencia, así como de los mismos plásmidos y de sus factores de transferencia.(11).

Se han ido descubriendo nuevos antibióticos, y a medida que su uso se ha vuelto frecuente, han empezado a surgir más células bacterianas resistentes a esos antibióticos. (10,20).

Debido al constante incremento de cepas bacterianas resistentes a uno o varios antibióticos, se ha pensado que es de considerable importancia realizar estudios de plásmidos de resistencia, con el fin de conocer más a fondo la distribución de estos factores R en las bacterias y el modo en que éstos operan, ya que representan una amenaza para la comunidad, sobre todo en el caso de encontrarnos con bacterias multirresistentes, debido a que no se podrían combatir con una terapia de antibióticos adecuada pues



*resultaría totalmente ineficaz.*

*El objetivo del presente estudio es determinar la transfe  
rencia de factores R de una bacteria resistente a otra sen  
sible por medio de un método de conjugación in vitro.*



## MATERIAL Y METODOS

En este estudio se utilizaron como cepas donadoras 25 cultivos de Salmonella, de los cuales 3 correspondían a Salmonella typhi y 22 a Salmonella enteritidis. Las cepas fueron aisladas de muestras clínicas y de alimentos cárnicos. Su patrón de resistencia a los agentes antimicrobianos ya era conocido.

Como cepa receptora se utilizó la cepa WB97E de Escherichia coli. Su patrón de sensibilidad a los agentes antimicrobianos utilizados, había sido determinado con anterioridad.

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Análisis Clí



*nicos de la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Monterrey, en el transcurso de Agosto a Noviembre de 1980.*

*Los antibióticos que se utilizaron para la determinación de la transferencia de la resistencia fueron: Cloranfenicol (C), Ampicilina Trihidratada (A), Clorhidrato de Tetraciclina (T), Sulfato de Estreptomicina (E). Además se utilizaron discos de estas mismas drogas con las concentraciones siguientes: Ampicilina 10 µg, Cloranfenicol 30 µg, Tetraciclina 10 µg, Estreptomicina 20 µg; éstos se utilizaron con el fin de comprobar la resistencia transferida al cultivo receptor.*

*Se prepararon soluciones stock de cada uno de los antibióticos en una concentración de 2500 µg/ml. (Tabla 1). Los antibióticos se incorporaron al agar de MacConkey cuando su temperatura era de 45°C. La concentración final de cada antibiótico utilizado fue de 25 µg/ml.*

#### **METODO UTILIZADO**

##### **Preparación del inóculo**

*Las cepas donadoras y las cepas receptoras se cultivaron por separado de la forma siguiente:*



a) Se tomaron 2 asadas de los cultivos y se inocularon en tubos de ensayo conteniendo 20 ml de caldo de tripticaseína y soya, se incubaron a 37°C por un período de 16-18 horas.

b) Se ajustó la densidad de los cultivos con nefelómetro de MacFarland para dar una concentración aproximada de  $10^8$  bacterias/ml.

c) Se transfirió 1 ml del cultivo donador a 9 ml de caldo de tripticaseína y soya y se incubó a 37°C durante 6 hrs.

### Conjugación

Se prepararon mezclas con 9 ml de cada uno de los donadores y 1 ml del receptor y se incubaron a 37°C por 16-18 horas. Posteriormente se llevó a cabo una dilución de las mezclas 1:10 y se incubó a 37°C por 90 minutos.

### Inoculación de las placas

a) Se efectuaron diluciones de los cultivos anteriores de  $10^{-1}$  a  $10^{-7}$  en agua estéril.

b) Se extendieron 0.1 ml de cada dilución, en la superfi



cie de las placas de MacConkey que contenían los distintos antibióticos.

c) Las placas se incubaron 18 horas a 37<sup>o</sup> C.

#### Identificación de la cepa receptora

En el caso de que se hubiera presentado conjugación, aparecieron colonias rojas de E. coli en las placas de agar de MacConkey. La identificación de este microorganismo se llevó a cabo de la siguiente manera:

a) Se picaron 6 colonias, se inocularon en tubos de ensayo que contenían 5 ml de caldo de tripticaseína y soya, y se incubaron durante 6 horas a 37<sup>o</sup> C.

b) Se tomó una alícuota del caldo y se sembró por estrias en placas de agar de MacConkey, se incubó a 37<sup>o</sup> C durante 24 horas.

c) Del cultivo anterior se tomaron 3 colonias con características de E. coli y se sembraron en tubos de ensayo que contenían 5 ml de caldo de tripticaseína y soya. Se incubaron durante 6 horas a 37<sup>o</sup> C.

d) Para su identificación bioquímica se utilizaron los me



dios de TSI, Hajna, SIM y Simmons Citrato.

### Confirmación de la adquisición de resistencia

Una vez que se hubo identificado a E. coli por las pruebas bioquímicas anteriormente mencionadas, se prosiguió a confirmar su espectro de resistencia de la siguiente forma:

a) Se tomaron del TSI 2 asadas del cultivo y se transfirieron a tubos de ensayo conteniendo 5 ml de caldo de tripti-caseína y soya. Se incubaron a 37<sup>o</sup> C durante 6 horas.

b) Se tomó una muestra del caldo con hisopo estéril y se sembró masivamente en placas de agar con medio de cultivo Müller-Hinton. Las placas se dejaron reposar 2 minutos para que se absorbiera satisfactoriamente el inóculo.

c) Se colocaron en las placas los discos de antibióticos (A, T, E, C) utilizando pinzas estériles. Se dejaron reposar las placas 3 minutos y se incubaron a 37<sup>o</sup> C durante 24 horas.

d) Se midió el diámetro de la zona de inhibición obtenida y de acuerdo a esta se confirmó la resistencia de la cepa receptora.

*Tabla 1*

*Preparación de las Soluciones Stock*

<i>Drogas</i>	<i>Stock</i>		<i>Estabilidad (días)</i>
	<i>Solvente</i>	<i>Diluyente</i>	
<i>Cloranfenicol</i>	<i>Alcohol</i>	<i>Solución buffer de fosfatos pH 6</i>	<i>30</i>
<i>Ampicilina</i>	<i>Agua</i>	<i>Agua</i>	<i>7</i>
<i>Tetraciclina</i>	<i>HCl 0.1N</i>	<i>HCl 0.1N</i>	<i>1</i>
<i>Estreptomina</i>	<i>Solución buffer de fosfatos pH 8</i>	<i>Solución buffer de fosfatos pH 8</i>	<i>30</i>



## REACTIVOS

### Solución buffer de fosfatos pH 6

Fosfato de potasio dibásico ..... 2.0 g  
Fosfato de potasio monobásico ..... 8.0 g  
Agua destilada ..... 1000.0 ml

Disolver el fosfato de potasio dibásico y el fosfato de potasio monobásico en el agua. Ajustar el pH con ácido fosfórico 18N o con hidróxido de potasio 10N a  $6.0 \pm 0.05$ . Conservar en frasco ámbar con tapón esmerilado.

### Solución buffer de fosfatos pH 8

Fosfato de potasio dibásico ..... 16.730 g  
Fosfato de potasio monobásico ..... 0.523 g  
Agua destilada ..... 1000.000 ml

Disolver el fosfato de potasio dibásico y el fosfato de potasio monobásico en el agua. Ajustar el pH con ácido fosfórico 18N o con hidróxido de potasio 10N a  $pH 8.0 \pm 0.1$ . Conservar en frasco ámbar con tapón esmerilado.

## RESULTADOS

Se estudió la transferencia de factores de resistencia a los antibióticos de 25 cepas de Salmonella sp. a una cepa de Escherichia coli. Las 25 cepas de Salmonella presentaban resistencia a uno o más de los antibióticos a los cuales fueron expuestas. En la Tabla 2 se aprecian 22 casos de resistencia simple y 3 de multiresistencia, distribuidos en las especies de S. typhi y de S. enteritidis.

El patrón de resistencia simple incluye con mayor frecuencia a la ampicilina, como se muestra en la Tabla 3. Los patrones de resistencia múltiple incluyen con mayor frecuencia a cloranfenicol, tetraciclina y ampicilina. Dos de las cepas multiresistentes, fueron aisladas en 1980 y una en 1978. (Tabla 4).



**Tabla 2**

**Distribución según la especie  
de las cepas resistentes.**

<b>Especie</b>	<b>Resistencia</b>		
	<b>Triple</b>	<b>Doble</b>	<b>Simple</b>
<b><u>S. typhi</u></b>	<b>1</b>	<b>-</b>	<b>2</b>
<b><u>S. enteritidis</u></b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>20</b>
<b>Totales</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>22</b>

Tabla 3

Patrón de resistencia simple de Salmonella sp.

<i>Antibióticos</i>	<i>Número de cepas resistentes</i>
<i>Ampicilina</i>	18
<i>Tetraciclina</i>	1
<i>Cloranfenicol</i>	1
<i>Estreptomicina</i>	2



*Tabla 4*

*Fecha de aislamiento y patrón de resistencia múltiple.*

<i>Patrón de resistencia</i>	<i>Número de cepas</i>	<i>Fecha de aislamiento</i>
<i>C,A,T-S</i>	<i>1</i>	<i>1980</i>
<i>A,T,E</i>	<i>1</i>	<i>1978</i>
<i>C,T</i>	<i>1</i>	<i>1980</i>



De las 25 cepas del género Salmonella estudiadas, 17 (68%) mostraron la capacidad de transferir genes de resistencia a los antibióticos, a la cepa de E. coli. En todos los casos el único gen de resistencia transferido fue el de la ampicilina. En ningún caso se mostró transferencia de genes de resistencia a cualquiera de los otros antibióticos utilizados; tampoco se presentó transferencia múltiple de genes de resistencia.

En la Tabla 5 se muestra el número de cepas de Salmonella, que presentaron transferencia de genes de resistencia a los antibióticos en relación a su procedencia. De las 6 cepas de Salmonella procedentes de tacos, 5 presentaron la capacidad de transferir genes de resistencia a la ampicilina; esto significa una frecuencia de 83.33%, mientras que para las cepas aisladas de muestras clínicas, de un total de 19 cepas, 12 mostraron capacidad de transferir el gen de resistencia a la ampicilina, correspondiendo a una frecuencia de 63.16%.



Tabla 5

Número de cepas con resistencia a antibióticos transferible según procedencia.

Tipo de muestra	Número de cepas estudiadas	Transferencia de genes de resistencia.				Total
		A	T	C	E	
Taco	6	5	-	-	-	5(83.3%)
Muestra clínica	19	12	-	-	-	12(63.2%)

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

*De acuerdo a los resultados obtenidos en relación a la transferencia de la resistencia a los antibióticos de 25 cepas de Salmonella sp. a una cepa de Escherichia coli, se demostró que 17(68%) de las cepas donadoras mostraron una alta capacidad de transferir algunos de sus genes de resistencia. En todos los casos el único gen de resistencia transferido fue el de la ampicilina, independientemente de la procedencia de la cepa. Como se pudo observar la transferencia de genes de resistencia en estas cepas es de una frecuencia considerable.*

*No se pudo observar transferencia de genes de resistencia múltiple de las 3 cepas multirresistentes a la cepa recep*



tora, esto no concuerda con otros estudios realizados en los cuales se reporta que la transferencia múltiple es muy alta.(16,18). Probablemente se debe a que nuestras cepas poseían sus determinantes de resistencia muy separados dentro del plásmido permitiendo de esta manera que su transferencia haya resultado incompleta. Además existen ciertas variables que pueden afectar la transferencia de algunos plásmidos, tales variables no incluyen solamente los tipos de plásmidos sino también características del donador y receptor y las condiciones del apareamiento. También es factible que sus plásmidos sean no conjugables.(9, 10,17).

En este estudio se observó que un alto porcentaje de cepas de Salmonella fueron capaces de conjugarse, sin embargo no se demostró la localización de estos factores R ya sea en los cromosomas o en los plásmidos de las bacterias. Para esto se requiere de otros estudios tales como curación de factores R con rifampicina, anaranjado de acridina y otras sustancias, el aislamiento del episoma en gradiente de cloruro de cesio, detección de plásmidos por electroforesis y otros procedimientos más.(9,13,16).

Con los resultados obtenidos in vitro se ha observado que las bacterias enteropatógenas transfieren con gran facilidad sus genes de resistencia a bacterias normales del intestino como E. coli, siendo esto de una gran importancia



*clínica en bacterias multirresistentes ya que el fenómeno de transferencia de genes de resistencia puede realizarse también in vivo.*

*En la Gran Bretaña y otros países han sido descritas varias epidemias de gastroenteritis causadas por Salmonella sp. y Escherichia coli enteropatógena con resistencia múltiple debida a factores R.(12).*

*Haciendo hincapié en el problema clínico que presentan las cepas con resistencia múltiple y de acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo, podemos decir que favorablemente no se encontró transferencia múltiple, presentándose únicamente transferencia simple (ampicilina); aunque esto último no representa un problema tan grave como el anterior, se requiere tomar precauciones ya que favorece la diseminación de plásmidos de resistencia pudiendo estos adquirir cada vez más genes de resistencia, por ejemplo por medio de transposones, provocando de esta manera una inutilidad de los antibióticos en el tratamiento de las enfermedades infecciosas.*

*Estamos conscientes del problema que representan los factores R para la comunidad ya que se pueden transferir en una gran variedad de bacterias no patógenas y patógenas, por lo que se debe tomar ciertas medidas para un mejor control de la situación con el fin de limitar su fenómeno*



*de difusión, por ejemplo:*

*a) Utilizar 2 antibióticos a la vez con el objeto de prevenir que las cepas se vuelvan resistentes.*

*b) No ingerir antibióticos sin prescripción médica.*

*c) Practicar pruebas de susceptibilidad a los antibióticos, cuando el caso no requiera de un tratamiento inmediato, para que el tratamiento administrado sea el de mayor efectividad, evitando así el riesgo de que la cepa en cuesción se convierta en resistente.*

*d) Limitar en lo posible el empleo de antibióticos en los alimentos para animales, ya que estos constituyen una fuente de alimentos para el hombre y al ingerir dichos agentes y exponerlos a la flora intestinal normal, se favorece el crecimiento de organismos que albergan el factor R.*

*e) Controlar el uso indiscriminado de antibióticos en convalescientes hospitalizados, principalmente en pacientes inmunodeficientes como en niños y ancianos ya que las infecciones adquiridas en esos lugares son causadas por bacterias altamente resistentes debido a su contacto constante con diversos agentes antimicrobianos.*

*f) Extremar las precauciones en cuanto se refiere a perso*

*nal hospitalario, puesto que puede actuar como un importante reservorio de cepas multirresistentes y como vehículo en la transmisión de dichas cepas.*

*En base a lo anteriormente expuesto se concluye que en cierta medida está en nuestras manos el evitar que este problema adquiera proporciones drásticas e irremediables. Evitando el uso inadecuado de antibióticos se contribuiría en forma esencial a mantener el bienestar social.*



#### RESUMEN

*En este estudio se determinó la transferencia de factores de resistencia a los antibióticos de Salmonella sp. a Escherichia coli por medio de un método de conjugación.*

*Los antibióticos que se utilizaron fueron: ampicilina, tetraciclina, cloranfenicol y estreptomina, todos a una concentración final de 25 µg/ml.*

*De las 25 cepas de Salmonella estudiadas 17 mostraron la capacidad de transferir genes de resistencia a los antibióticos, por conjugación. En todos los casos el único gen de resistencia que se transfirió fue el de la ampicilina.*

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Alfaro, G., Martuscelli, J., Mendoza-Hernández, P. 1978. Antibiotic resistance and phage-types of Salmonella typhi strains isolated in Mexico city. Rev. lat-amer. Microbiol. 5-11.
- 2.- Benveniste, R. and Davis, J. 1973. Mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. Annu. Rev. Biochem. 42: 471-506.
- 3.- Brock, T.D. 1976. Biología de los microorganismos. Ediciones Omega, S.A., España.



- 4.- Brock, Thomas D. 1979. *Biology of microorganisms*.  
3rd. Ed, Prentice-Hall, Inc. New Jersey, U.S.A.
- 5.- Bryan, L.E. 1980. *Mechanisms of plasmid mediated drug resistance*. In *Plasmids and Transposons*. Academic Press, Inc., U.S.A.
- 6.- Joklik, W.K., Smith, D.T. 1972. *Zinsser's microbiology*.  
15th Ed. Appleton-Century-Crofts, U.S.A.
- 7.- Kiser, J.S., Gale, G.O. and Kemp, G.A. 1969. *Resistance to antimicrobial agents*. *Adv. Microbiol. Applied.* 11: 77-93.
- 8.- Levy, J., Cambell, J.J.R. and Blackburn, T.H. 1973. *Introductory microbiology*. John Wiley & Sons, Inc., U.S.A.
- 9.- Markowitz, S.M., Macrina, F.L. and Phibbs, P.V. 1978. *R-Factor inheritance and plasmid content in mucoid Pseudomonas aeruginosa*. *Infect. Immun.* 22:530-539.
- 10.- Murray, B.E., Moellering, R.C. 1978. *Patterns and mechanisms of antibiotic resistance*. *Medical Clinics of North America.* 62:899-923.



- 11.- O'Brien, T. et al. 1978. Comparación Internacional de la prevalencia de resistencia a los antibióticos. *Jama de México*. 3:459-465.
- 12.- Olarte, J. y Galindo, E. 1970. Factores de resistencia a los antibióticos encontrados en bacterias enteropatógenas aisladas en la ciudad de México. *Rev. Iat-amer. Microbiol.* 12:173-179.
- 13.- Rodríguez, M., Rebollo, M.C., Pichuantes, S., Fernández, M.E. y Palomino, C. 1977. Factor de resistencia transferible a antibióticos en enterobacteriaceae con especial referencia a Salmonella typhi. *Rev. Iat-amer. Microbiol.* 19:127-139.
- 14.- Richards, H., Sajka, W.J., Datta, N. and Wray, C. 1978. Trimethoprim resistance plasmids and transposons in Salmonella. *Lancet*. 2:1194-1195.
- 15.- Smith, H.W., Parsell, Z., and Green P. 1978. Thermosensitive antibiotic resistance plasmids in enterobacteria. *J. Gen. Microbiol.* 109:37-47.
- 16.- Smith, M.D., Guild, W.R. 1979. A plasmid in Streptococcus pneumoniae. *J. Bacteriol.* 137:735-739.



- 17.- Tanaka, T., et al. 1976. Drug resistance and distribution of R factors in Salmonella strains. *Antimicrob. Agents Chemother.* 9:61-64.
- 18.- Tompkins, L.S. and Falkow, S. 1979. The growing problem of bacterial resistance. *Drug Therapy.* 9:39-46.
- 19.- Virgilio, R., Cordano, A.M. 1977. Susceptibilidad de Salmonella typhi a cloranfenicol y otros antibióticos. Primeras cepas chilenas multirresistentes. *Rev. lat-amer. Microbiol.* 19:67-72.
- 20.- Wantanabe, T. 1967. Infectious drug resistance. *Scientific Am.* 217:19-27.

801232