



ESTUDIO COMPARATIVO PARA DETERMINAR LA
ETIOLOGIA BACTERIANA Y MICOTICA DE LAS
NEUMONIAS NOSOCOMIALES Vs. LAS NEUMONIAS
ADQUIRIDAS EN LA COMUNIDAD.

P O R

DRA. NORMA IDALIA MOLINA GARCIA

TESIS PRESENTADA A LA

Facultad de Medicina

DE LA

Universidad Autónoma de Nuevo León

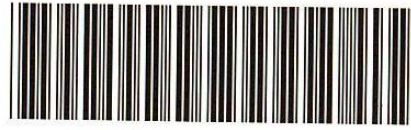
COMO REQUISITO PARA

LA OBTENCION DEL GRADO DE

Maestro en Ciencias

CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGIA MEDICA

TM
26658
FM
1990
M6



1020071183

ESTUDIO COMPARATIVO PARA DETERMINAR LA ETIOLOGIA
BACTERIANA Y MICÓTICA DE LAS NEUMONÍAS NOSOCOMIALES Vs. LAS NEUMONIAS ADQUIRIDAS EN LA -
COMUNIDAD

POR

DRA. NORMA IDALIA MOLINA GARCIA

TESIS PRESENTADA A LA

FACULTAD DE MEDICINA

DE LA

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

COMO REQUISITO PARA

LA OBTENCION DEL GRADO DE

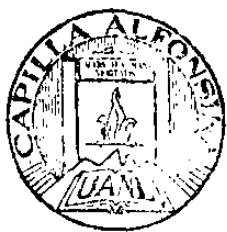
MAESTRO EN CIENCIAS

CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGIA MEDICA

MONTERREY, N.L.

DICIEMBRE 1990

TM
26658
FM
1990
M6

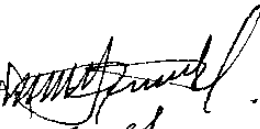


FONDO TESIS

163661

J U R A D O

PRESIDENTE: DR. MANUEL RODRIGUEZ QUINTANILLA




SECRETARIO: Msc. IRMA A. SALINAS GONZALEZ.



1er. VOCAL: DR. MANUEL DIAZ RODRIGUEZ.



2do. VOCAL: Msc. ALICIA SUAREZ SEMOUR



3er. VOCAL: Espec. RITA E. ROSITAS MARTINEZ.



EL PRESENTE TRABAJO SE LLEVO A CABO EN LAS
INSTALACIONES DE LA ESCUELA DE MEDICINA IG
NACIO A. SANTOS DEL ITESM., Y EN LA SECC--
ION DE MICROBIOLOGIA CLINICA DEL LABORATO-
RIO DE ANALISIS CLINICOS DEL HOSPITAL SAN-
JOSE DE MONTERREY.

BAJO LA ASESORIA DE

DR. MANUEL A. RODRIGUEZ QUINTANILLA

A DIOS:

Porqué él da la Sabiduría,
y de su boca viene el co--
nocimiento y la intelligen-
cia.

Prov. 2:6

A MI ESPOSO

Con todo mi amor

Por su apoyo y empuje -
para iniciar, continuar
y terminar mis estudios
de post-grado.

AGRADECIMIENTOS

Hago patente mi gratitud para con las personas que como integrantes del ITESM-HSJ me proporcionaron facilidades de todo tipo, y al Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. en conjunto por sus puertas siempre abiertas.

INDICE

	Pág.
Introducción -----	8
I. Antecedentes -----	11
1. Clasificación de las neumonías -----	11
2. Definición de términos -----	15
3. Factores predisponentes a la adquisición de neumonías -----	16
4. Características generales de los agentes productores de neumonías -----	19
4.a. Neumonía neumocócica -----	19
4.b. Neumonía estafilocócica -----	19
4.c. Neumonía por <u>Haemophilus influenzae</u> -----	20
4.d. Neumonía por gérmenes Gram negativos -----	21
4.e. Neumonía por <u>Klebsiella pneumoniae</u> -----	22
4.f. Neumonía por <u>Legionella pneumophila</u> -----	22
4.g. Neumonía Micótica -----	22
- Histoplasmosis -----	23
- Coccidioidomicosis -----	23
- Aspergilosis -----	23
4.h. Neumonía tuberculosa -----	24
II. Hipótesis -----	25
III. Objetivos -----	25
IV. Material y métodos -----	26
1. Obtención del universo -----	26
2. Obtención de la muestra -----	26
3. Procesamiento de las muestras -----	27
3.a Tinciones -----	27
3.b. Cultivos -----	27
V. Resultados -----	35
VI. Discusión y Conclusiones -----	40
VII. Resumen -----	45

VIII. Bibliografía	47
IX. Apéndice I	50

INTRODUCCION

Hace casi un siglo Sir William Osler aplicó a la neumonía la frase de --- John Punyon "capitán de los hombres de la muerte" indicando con ello la gravedad y elevada mortalidad del padecimiento. Ochenta años después, la neumonía - aunque ya no capitán es aún "teniente de los hombres de la muerte".(1)

Las neumonías son infecciones que afectan el parénquima pulmonar. Pueden ser causadas por virus, bacterias, rickettsias, hongos o parásitos. Las neumonías junto con las infecciones respiratorias agudas, constituyen un padecimiento común en México y pueden ser considerados como la primera causa de mortalidad en la población general.

Las neumonías siguen siendo un importante problema de salud pública en todos los países tanto en aquéllos altamente desarrollados como en los que sufren graves carencias. La mortalidad es significativa, particularmente en los extremos de la vida, a pesar de los avances terapéuticos, sobre todo en el campo de los antimicrobianos y del desarrollo de unidades de terapia intensiva -- respiratoria, con notables avances tecnológicos.(2)

Desde el punto de vista epidemiológico se explica la frecuencia del padecimiento porque el hombre habitualmente aloja gérmenes causantes de neumonía, en las partes altas del aparato respiratorio. En sujetos sanos es comun aislar

de las secreciones nasoorofaríngeas al neumococo, diferentes cepas de estreptococo hemolítico, estafilococos, Haemophilus influenzae, diversos anaerobios y en menor número bacilos gramnegativos. Se ha demostrado que la mayoría de las personas, sobre todo los ancianos, aspiran secreciones orofaríngeas durante el sueño, sin que por ello desarrollen neumonía, (3) a pesar de que la gran mayoría de las neumonías bacterianas ocurren por la aspiración de gérmenes que se encuentran en las vías aéreas superiores. En las neumonías por virus, por Mycoplasma pneumoniae o legionella es la exposición a una fuente de contagio lo que origina la infección.

Sin embargo, a pesar de la frecuente colonización por las bacterias, la neumonía, aun cuando se desarrolla en un reducido número de individuos, no deja de ser importante en una comunidad. Esto se debe a la eficiencia de los mecanismos de protección del aparato respiratorio: configuración de las vías aéreas, cierre de la glotis, secreción de moco traqueobronquial, presencia de un activo epitelio ciliado, la tos como mecanismo expulsivo, presencia de inmunoglobulinas séricas y secretoras, así como células fagocitarias (macrófagos alveolares y polimorfonucleares). Cuando por alguna razón fallan uno o varios de esos mecanismos protectores el parénquima pulmonar es invadido por gérmenes que han sido aspirados.

Así mismo diversas deficiencias inmunológicas favorecen el desarrollo de una neumonía, ejem: producción insuficiente de inmunoglobulina, deficiencia en el número o función de los polimorfonucleares, entre otros. Situaciones co

desnutrición; uremia; cirrosis; tratamiento prolongado con esteroides; anti--
bióticos o inmunosupresores; diabétes; enfermedades mieloproliferativas; tran-
splantes renales, etc., causan defectos en distintos niveles de las defensas-
del huésped. Los defectos marcados en los mecanismos de inmunidad celular, se
asocian con una mayor susceptibilidad a los patógenos bacterianos usuales, --
así como los menos comunes como: Pneumocystis carinii, Mycobacterium avium-in-
tracellulare, Legionella pneumophila y Citomegalovirus.(4)

I. ANTECEDENTES

1. CLASIFICACION DE LAS NEUMONIAS

Las neumonías se pueden clasificar de acuerdo a ciertas características - tales como: radiología, forma de presentación clínica y situación en que se adquirió la enfermedad. (4)

De acuerdo a la forma de presentación clínica, ésta puede orientar hacia la etiología de la neumonía y permite clasificar a las neumonías en típicas o bacterianas y en atípicas, con las siguientes características:

CARACTERISTICAS DE LAS NEUMONIAS BACTERIANAS Y DE LAS ATIPICAS		
Características clínicas	Neumonías bacterianas	Neumonías atípicas
- Pródromo	- Faringitis ocasional	- Malestar de vías resp. altas.
- Inicio	- Súbito	- Gradual
- Expectoración	- Purulenta	- Ausente o escasa mucóide
	- Hemoptoica	- Pocos leucocitos
	- Abundantes leucocitos.	- Sin bacterias
	- Bacterias presentes.	
- Dolor torácico	- Común, pleurítico.	- Raro
- Exploración torácica.	- Condensación	- Estertores
- Cuenta leucocitaria.	- Desv. izquierda	- Normal
- Hemocultivos	- (+) en 10-40%	- Negativos
- Serología	- No útil	- Diagnóstica
- Patrón radiológico.	- Alveolar, bronconeumónico.	- Intersticial, -- bronconeumónico
- Derrame pleural	- ocasionales	- Raros

De acuerdo a la presentación radiológica, las neumonías se pueden clasificar de las siguientes formas: (5)

- a. Neumonía lobulillar o bronconeumonía
- b. Neumonía intersticial o bronquiolitis
- c. Lobar o segmentaria
- d. Formas especiales

Esta clasificación es útil pero no absoluta. La situación en que se adquirió la neumonía también orienta a la etiología; así se puede hablar de neumonías adquiridas en el hospital y en la comunidad. Las neumonías hospitalarias son causadas por gérmenes que colonizan a los enfermos hospitalizados, que varían de hospital en hospital y en diferentes servicios del mismo hospital. Tienden a ser gérmenes gram negativos como: Escherichia coli, Klebsiella, Pseudomonas aeruginosa y Serratia. Estos gérmenes colonizan la orofaringe de los enfermos antes de originar la neumonía.

El conocimiento de los gérmenes productores de neumonías en la comunidad es limitado. En todas las series de pacientes con neumonías, existe un porcentaje sin diagnóstico etiológico (entre el 30 y 50%), (4) no existe un estudio exhaustivo de enfermedades crónicas predisponentes ni de etiologías no bacterianas y por último, en general las series constan de pacientes hospitalizados y no incluyen pacientes ambulatorios. Por estas razones es posible que subestimemos la importancia de los gérmenes no bacterianos en pacientes sanos con neumonías comunitarias, sobre todo en los ambulatorios. Teniendo en mente esta limitación se considera que los gérmenes más comunes causantes de neumo-

nías en la comunidad, en adultos sanos, son: Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus y Haemophilus influenzae, que tienden a dar un cuadro neumónico bacteriano y el Mycoplasma pneumoniae, que tiende a presentarse como una --
neumonía atípica.(6)

Los enfermos alcohólicos, diabéticos y con enfermedad pulmonar obstructiva, tienen mayor frecuencia de gérmenes como: H. influenzae, Klebsiella y o---
tros coliformes, además de los mencionados en neumonía comunitaria.(6)

El enfermo inmunocomprometido puede tener neumonía por un gran número de gérmenes que incluyen bacterias y algunos otros microorganismos como. Citomegalovirus. P. carinii, Aspergillus, Candida o Nocardia, entre otros, cuya presentación puede ser variable, que requiere, en general de estudios invasivos--
para precisar la etiología.(6)

Varias neumonías difusas pueden presentarse como un Síndrome de Insuficiencia Respiratoria Progresiva del Adulto (SIRPA), especialmente las neumonías virales, las atípicas y las producidas por Legionella.(7)

Sin duda alguna la producción de un proceso neumónico es relativamente --
frecuente en el paciente inmunocomprometido, en donde el orden de frecuencia --
de los agentes causales no guarda ninguna relación en especial, no así en el --
paciente no inmunocomprometido en donde el S. pneumoniae, sigue siendo la cau--
sa mas común de la neumonía bacteriana en adultos de todas las edades, H. in--

fluenzae solo o en asociación con S. pneumoniae, es la segunda causa en frecuencia de neumonía, seguida muy de cerca por los bacilos gram negativos.(8)

Con la posible excepción de Legionella, todos los otros microorganismos -- causantes de cuadros neumónicos son poco comunes si se les compara con S. pneumoniae. En estudios realizados se ha visto que Legionella rivalizaba con el neumococo como causa de neumonía, sin embargo otros investigadores no han podido verificar estos resultados a pesar de cuidadosos estudios.(4)

Si al principio de este siglo pocos agentes microbianos se consideraban como posibles agentes productores de neumonía en la actualidad la lista se ha enriquecido considerablemente.

2. DEFINICION DE TERMINOS

Una neumonía nosocomial (adquirida en el hospital) es la que se desarrolla durante la hospitalización y no está presente o incubándose en el momento de ingreso en él. (9)

Por convenio, las neumonías que se producen dentro de las 48 horas del ingreso del paciente al hospital se consideran adquiridas en la comunidad; aquellas que se producen después de las 48 horas se consideran adquiridas en el hospital, a menos que claramente se estén incubando. (9)

Las infecciones relacionadas con los procedimientos invasivos, sin tener en cuenta el momento y hospital donde se realizaron estos procedimientos, también pueden entrar en la categoría de infecciones nosocomiales. Las colonizaciones infecciosas secundarias, los organismos múltiples hallados en el cultivo, y los altos niveles de contajes bacterianos que no producen síntomas clínicos significativos también pueden clasificarse como infecciones adquiridas en el hospital en ciertos momentos. (9)

3. FACTORES PREDISPONENTES A LA ADQUISICION DE NEUMONIAS

Existen factores del huésped que favorecen las infecciones pulmonares.

FACTORES DEL HUESPED QUE FAVORECEN LA INFECCION
- Patología pulmonar crónica previa (enfermedad pulmonar obstructiva crónica, patología intersticial, tuberculosis, neumoconiosis).
- Tratamiento con drogas inmunosupresoras (esteroides)
- Uso de drogas citotóxicas
- Procesos mieloproliferativos y cáncer en general
- Extremos de la vida
- Diabetes mellitus
- Insuficiencia renal crónica
- Alteraciones neurológicas que modifiquen los mecanismos de defensas pulmonares
- Inmovilización prolongada
- Cirugía abdominal alta
- Hábito tabáquico y alcohólico o uso de otras drogas
- Colonización de bucofaringe por gramnegativos
- Intubación, traqueostomía, ventilación asistida

La intubación endotraqueal, traqueostomía y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica pueden favorecer el paso de bacterias a la región subglótica. (10) El aclaramiento mucociliar puede ser deprimido por el uso de alcohol o narcóticos, exposición prolongada al frío, infección viral reciente o padecimientos pulmonares crónicos. (7) La ventilación asistida continua puede llevar gran cantidad de bacterias al parénquima pulmonar. (7) La obstrucción bronquial (por cualquier causa) es capaz de alterar los mecanismos de aclaramiento normales. Además, hipoxia, uremia, acidosis y tratamiento con esteroides y drogas citotóxicas, alteran varios de los mecanismos de defen-

sa pulmonar.(7) Por otro lado, bacteremias con inicio en otro sitio del organismo pueden llegar al parénquima pulmonar, por vía hematógica, o bien, las infecciones de zonas contiguas al tórax pueden diseminarse a la cavidad torácica e infectarla.(7)

Es evidente que las bacterias responsables de las neumonías se han ido modificando en el curso de las últimas décadas, y hoy día existe una notoria diferencia entre los gérmenes causales de las neumonías que se adquieren extra o intrahospitalariamente.

Hasta este momento, las neumonías adquiridas en comunidades específicas generalmente son ocasionadas por agentes como: Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, y en los casos de aspiración bucofaringea, por anero--bios. En las neumonías adquiridas en el medio intrahospitalario, lo más habitual es que sus gérmenes causales sean: Staphylococcus aureus y bacterias --gram negativas aeróbicas o bacilos facultativos como: Pseudomonas aeruginosa Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus spp., etc. (11)

Sin embargo, actualmente se ha observado el surgimiento de otros microorganismos diferentes a los ya conocidos, como capaces de producir cuadros -neumónicos de diferente índole, entre estos se tienen a: Mycobacterium tuberculosis, Legionella pneumophila, Coccidioides immitis, Histoplasma capsula--tum, Aspergillus spp., Pneumocystis carinii, Citomegalovirus, etc., como se--mencionó al inicio de este trabajo. (4)

Para fines de información, se hará un breve resumen de algunas de las -características de los agentes más comunes productores de neumonía extra e -intrahospitalaria, objeto de este trabajo.

4. CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS AGENTES PRODUCTORES DE NEUMONIA

4.a. NEUMONIA NEUMOCOCICA

El germen causal de esta neumonía es el S. pneumoniae, microorganismo -- gram positivo, capsulado, inmóvil, no esporulado, con exigencias nutritivas - complejas. Es aerobio y anaerobio facultativo. Su crecimiento se ve favorecido por la presencia ambiental de CO₂ en una proporción del 5-10%, temperatura de 37°C. y un pH de 7.4 (11). Existe una sola especie, pero se conocen 86 serotipos distintos. (12)

La nasofaringe es el habitat natural y el humano es su único huésped conocido. No existe predisposición racial a la neumonía neumocócica . La enfermedad afecta a los varones con una frecuencia tres veces mayor que las mujeres. La incidencia máxima es desde 30 a 50 años de edad; y su aparición se ve favorecida por la existencia de un proceso pulmonar crónico obstructivo. (12)

Existe historia de una infección viral reciente de las vías respirato---rias cuando menos en un tercio de los casos. (13) Habitualmente las manifestaciones clínicas de la neumonía ocurren 8 ó 10 días después del ataque viral.

4.b. NEUMONIA ESTAFILOCOCICA

El germen causal de esta neumonía es el S. aureus, microorganismo gram-- positivo, agrupado en pares, inmóvil, no esporulado, acapsulado, catalasa y - coagulasa positivas. La mayor parte de las cepas de S. aureus fermentan el ma nitol y pueden tolerar concentraciones relativamente elevadas de sal (7.5 a - 10%). (11) . Produce varias toxinas y enzimas que juegan un papel importante en

las características de la infección. (4,6)

S. aureus puede estar presente en la nariz y faringe de individuos sanos. La colonización del personal de los hospitales es más alta que en la población general. (14). Es una neumonía con elevada morbilidad y mortalidad y no rara -- vez tiene un curso fulminante.

Factores predisponentes para las infecciones estafilocócicas son: enfermedad hepática, infecciones virales de las vías respiratorias particularmente la influenza, diabetes mellitus , insuficiencia renal, adicción a narcóticos, uso de antibióticos de amplio espectro, procesos mieloproliferativos. (15)

La forma primaria de neumonía estafilocócica ocurre más comúnmente en lactantes menores de un año, pero es quizá la forma secundaria la más frecuente, - a partir de focos sépticos a distancia (endocarditis, osteomielitis, celuli---tis) o bien como manifestación de una septicemia. (15)

4.c. NEUMONIA POR HAEMOPHILUS INFLUENZAE

Este microorganismo es un cocobacilo gram negativo, inmóvil, capsulado , - no esporulado, que requiere medios enriquecidos para su crecimiento, el cuál- resulta óptimo a 37°C y con un pH de 7.4 a 7.8. La incubación con 10% de CO₂- incrementa o es necesaria para el crecimiento de algunas cepas. (11)

Las formas más patógenas son las capsuladas que no son parte de la flora-

normal de adultos sanos. Se presenta como un gérmen ocasional productor de --
 neumonía en gente sana, especialmente en ciertos grupos de edad como en la in-
fancia y en ancianos; también es causa de neumonías en neumópatas, alcohóli--
 cos y diabéticos. En los últimos años las infecciones ocasionadas por H. in--
fluenzae han sido reportadas con mayor frecuencia y deben ser ampliamente sos-
 pechadas en niños de 6 meses a 3 años, tanto si presentan manifestaciones pul-
 monares como empíemáticos; en algunos casos hay antecedentes (previos o conco-
 mitantes) de otitis, sinusitis o epiglotitis.(19)

4.d. NEUMONIA POR GERMENES GRAM NEGATIVOS

En este grupo englobamos varias bacterias comunes en los hospitales, pro-
 ductores de neumonías y de otras infecciones adquiridas y en pacientes inmu-
 comprometidos. Las comunes son Pseudomonas aeureginosa, E. coli, Serratia mar-
censcens, Enterobacter, Proteus, Acinetobacter, Providencia, etc.(4)

Los enfermos con neumonía por estos gérmenes son colonizados primeramen-
 te, y en general están inmunosuprimidos, traqueostomizados o ventilados mecá-
 nicamente.(4)

La colonización de la orofaringe por gérmenes gramnegativos, es a menudo
 un prerequisite para tales infecciones. Normalmente la colonización de la o-
 rofaringe por éstos gérmenes es muy baja, sea que se trate de Enterobacterias
 de Pseudomonas o de otros.(21) Sin embargo la colonización aumenta en los an-
 cianos, los alcohólicos, los que sufren un padecimiento crónico debilitante,-

o los que han recibido antimicrobianos. (18)

4.e. NEUMONIA POR KLEBSIELLA PNEUMONIAE

Es un microorganismo gram negativo, capsulado, inmóvil, no esporulado,-- que crece especialmente en el medio de MacConkey. Va íntimamente ligada a la desnutrición y al alcoholismo, aunque también hay otras causas favorecedoras como son: los padecimientos crónicos que debilitan al huésped o son motivo de inmunocompromiso (diabetes mellitus, cirrosis, enfermedad broncopulmonar crónica, insuficiencia cardíaca, etc.).(4, 6)

4.f. NEUMONIA POR LEGIONELLA PNEUMOPHILA

L. pneumophila es un bacilo gram negativo, aeróbico, de crecimiento lento y difícil, acapsulado, inmóvil, no esporulado, débilmente oxidasa y catalasa positiva. (19) Produce una beta lactamasa. (20) Hasta la fecha se reconocen veinte y cinco especies de Legionella y cuarenta y dos serogrupos. (21)

La infección neumónica es llamada enfermedad de los legionarios y puede ocurrir esporádicamente o en epidemias. Afecta principalmente a los ancianos y a los pacientes con enfermedades intercurrentes e inmunosuprimidos.

4.g. NEUMONIA MICOTICA

Existen diversas especies de hongos que pueden originar cuadros neumónicos primarios o bien secundarios, por ejemplo: Coccidioides immitis; Histo --

plasma capsulatum, Candida albicans, Aspergillus spp.

Estas neumonías micóticas, son enfermedades producidas por hongos caracterizadas por reacción granulomatosa de los pulmones. Pueden presentar síntomas o ser un descubrimiento de la radiografía de tórax. Las micosis que revisan mayor interés en nuestro medio son la Histoplasmosis, la coccidioidomicosis y la aspergilosis. (8,16)

HISTOPLASMOSIS. Enf. producida por el hongo Histoplasma capsulatum que presenta dos fases, una micelial (naturaleza) y otra levaduriforme (tejidos). -- Tiene distribución geográfica, predomina en los estados del norte de la República Mexicana y en la parte sur de los Estados Unidos. (21). El hongo vive en el suelo de los lugares sombríos u húmedos donde existe guano de murciélago como en las cavernas. (21) Es una enfermedad general que afecta a cualquier órgano, siendo los más afectados en orden de frecuencia: los ganglios linfáticos, el hígado, los pulmones, el bazo, entre otros. La enfermedad predomina en el sexo masculino y particularmente en la edad adulta.

COCCIDIOIDOMICOSIS = Enfermedad producida por el hongo Coccidioides immitis. La enfermedad se adquiere por inhalación de las artrosporas. Es una enfermedad endémica de los lugares desérticos y secos convientos fuertes; se encuentra en el noroeste de la República Mexicana, en los Estados Unidos de América en los Estados del Suroeste y en California, en el Valle de San Joaquín. Es la micosis pulmonar más importante que existe en la República Mexicana (21).

ASPERGILOSIS = Enfermedad producida por el hongo Aspergillus, del cual existen 3 especies: A.fumigatus, A.flavus, A.niger. Se conocen 3 formas habituales de infección. La puerta de entrada del hongo, es la vía aérea. (21)

4.h. NEUMONIA TUBERCULOSA

Es causada por el Mycobacterium tuberculosis. Germen que es un bacilo-ácido-alcohol resistente que se tiñe por la coloración de Ziehl-Neelsen, es aerobio estricto, muy sensible a la desecación y a la luz solar. Se cultiva en medios apropiados como el de Lowenstein-Jensen. Se transmite al hombre enfermo al sano; la fuente de infección más común es la expectoración, la transmisión se hace por medio de la inhalación de las gotitas de Flugge. Con menor frecuencia la transmisión se lleva a cabo por la ingestión de leche de vaca enferma o de derivados de la leche. El período de incubación de la enfermedad es de 6-8 semanas. Atendiendo al mecanismo de producción de la enfermedad se consideran 3 períodos: primoinfección tuberculosa, diseminación hematológica y tuberculosis de reinfección. (8)

II. HIPOTESIS

Son diferentes los microorganismos productores de neumonía nosocomial de la neumonía producida en la comunidad.

III. OBJETIVOS

1. Demostrar que los microorganismos productores de neumonía nosocomial, son diferentes a los que producen la neumonía adquirida en la comunidad.
2. Implementar técnicas y procedimientos de laboratorio, dirigidos a lograr el adecuado manejo, aislamiento e identificación de L. pneumophila
3. Implementar técnicas y procedimientos diagnósticos que ayuden a identificar a algunos de los microorganismos causantes de las llamadas neumonías atípicas, que sirvan a la rutina de trabajo de un laboratorio de microbiología diagnóstica.

MATERIAL Y METODOS

1. OBTENCION DEL UNIVERSO

Utilizando la técnica de "Prueba secuencial", (22) para la obtención del universo para este estudio, se trabajó con pacientes de ambos sexos que tuvierán el común denominador de presentar un cuadro clínico y/o radiológico de --neumonía de evolución rápida (1-2 semanas) y que tuvierán, alguna situación - que pudiera en determinado momento comprometer el estado inmunológico del pa-ciente. (Ejem: Enf. o padecimiento subyacente).

El total de pacientes estudiados fué de 100, con edades que oscilaron entre los 14 y 66 años de edad, en un lapso de aproximadamente 2 años. Cincuen-ta de estos pacientes reunían las condiciones descritas en el párrafo ante---rior, y a éstos se les denominó "Población esperada". A los cincuenta restan-tes, aunque presentaban un cuadro neumónico por el cuál fueron admitidos en -el hospital, no reunían la otra característica necesaria para entrar al grupo-de población esperada, ya que no manifestaban la presencia de un cuadro clíni-co subyacente inmunocomprometedor, por lo que se le denominó "Población de referencia".

2. OBTENCION DE LA MUESTRA

Las muestras objeto de estudio fueron, los lavados bronquiales obtenidos mediante broncoscopia. (4) Por medio de esta técnica, se obtuvieron 20 ml. de-líquido bronquial, los cuáles fueron depositados en recipientes previamente e

legidos y preparados adecuadamente para el transporte y almacenamiento de la muestra. Diez ml. de la muestra se utilizaron para el desarrollo del protocolo de trabajo y los diez ml. restantes fueron almacenados para su uso posterior de ser necesario.

3. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

3.a. TINCIONES

De los diez ml. destinados para la realización del protocolo de trabajo, se obtuvieron varias asadas para la elaboración inmediata de frotis teñidos - mediante las siguientes técnicas: (23)

- Técnica de Gram = Utilizada para la visualización de bacterias gram positivas y gram negativas.
- Técnica de Ziehl-Neelsen = Utilizada para la visualización de Bacilos Acido Alcohol Resistentes (BAAR).
- Técnica de Schiff = Utilizada para la visualización de especies de Hongos.
- Técnica de Truant's = Técnica de inmunofluorescencia que permite visualizar BAAR, permitiendo además indicar el número aproximado de ellos.
- Técnica de Inmunofluorescencia indirecta (IFA) = Utilizada para la visualización de L. pneumophila

3.b. CULTIVOS

Una vez realizadas las tinciones y los procedimientos de inmunofluorescencia indirecta (IFA), se procedió a centrifugar 5 ml. de los 10 ml. destina-

dos al protocolo de trabajo, a 3,000 rpm. durante 15 min., resuspendiendo el sedimento en 10 ml. de agua destilada estéril, procediéndose posteriormente a su inoculación en los medios de cultivo siguientes: (23)

- Agar sangre tripticasa y soya (ATS II) = Utilizado para el cultivo de microorganismos dificultosos y para la visualización más adecuada de las reacciones hemolíticas producidas por muchas especies bacterianas.
- Agar sangre con azida de sodio (AAS) = Utilizado para el aislamiento y diferenciación de estreptococos de especímenes que contengan flora mixta.
- Agar eosina y azul de metileno (EMB) = Utilizado para el aislamiento, cultivo y diferenciación de bacilos entéricos gram negativos.
- Agar Mycosel (AM) = Medio de cultivo altamente selectivo, utilizado para el aislamiento de hongos patógenos y de muestras contaminadas con otras bacterias y hongos.
- Agar dextrosa saboraud (ADS) = Utilizado para el aislamiento de hongos patógenos y no patógenos.
- Agar selectivo para Legionella (BCYE + Anisomicina, colistin y vancomicina) Utilizado para el aislamiento de las especies de Legionella.
- Medio de Lowenstein-Jensen = Utilizado para el aislamiento de M. tuberculosis y otras especies de Micobacterias.
- Agar Middlebrook 7H-10, enriquecido con OADC (suplemento a base de Ac. oléico, albúmina, cloruro de sodio y dextrosa) = Utilizado para el aislamiento y cultivo de Micobacterias en un período más corto que el de L-J.
- Medio Middlebrook 7H-9 = Utilizado para estimular el crecimiento de Micobacterias.

Las muestras inoculadas en los medios ATS II; AAS, fueron incubadas a --
37°C, bajo condiciones de aerobiosis, durante 24-48 hrs., tiempo al final del

cuál, al crecimiento bacteriano observable, se procedió a realizárle las pruebas de identificación y diferenciación necesarias, tales como: (23)

- Morfología colonial
- Tinción de Gram
- Prueba de la Coagulasa
- Fermentación del Manitol
- Coaglutinación:
 - Para grupos de Streptococcus A,B,C,E,F,G.
 - Para antígenos de S. pneumoniae y H. influenzae

Las muestras inoculadas sobre el agar EMB, fueron incubadas a 37°C, bajo condiciones de aerobiosis, durante 24 hrs., tiempo al final del cuál al crecimiento bacteriano observable, se procedió a realizarle las pruebas de identificación y diferenciación necesarias, tales como: (23)

- Morfología colonial
- Tinción de Gram
- Producción de oxidasa
- Producción de catalasa
- Reducción de nitratos a nitritos
- Reacciones bioquímicas, utilizando el sistema API 20E para la identificación de Enterobacterias.

Las muestras inoculadas sobre los agares Mycosel y ADS, fueron incubadas a diferentes temperaturas, un par de cada una de ellas a 25°C y otras a 37°C, por un lapso de 4 semanas. El crecimiento bacteriano observable durante este lapso de tiempo fué sometido a las siguientes técnicas de identificación: (23)

- Morfología colonial
- Tinción de Schiff
- Tinción de Kinyoun
- Tinción de azul de algodón
- Microcultivo y observación microscópica de éste.

Para el procesamiento de la muestra en busca de Micobacterias, se siguieron las indicaciones del South Texas Hospital Mycobacteriology Laboratory de Harlingen, Texas. (24)

De los 5 ml. restantes para el protocolo de trabajo, se tomaron 2 ml. y se centrifugó a 3,000 rpm. durante 15 min. Se decantó, y se resuspendió el sedimento en 1 ml. de agua destilada estéril, y se procedió a inocular 2 tubos de medio de Lowenstein-Jensen, y una placa de agar Middlebrook 7H-10, y un tubo de medio Middlebrook 7H-9, este último utilizado como estimulante para el crecimiento de Micobacterias en caso de necesitarse, e incubado a 37°C, bajo una atmósfera con el 7-10% del CO₂ durante 21 días.

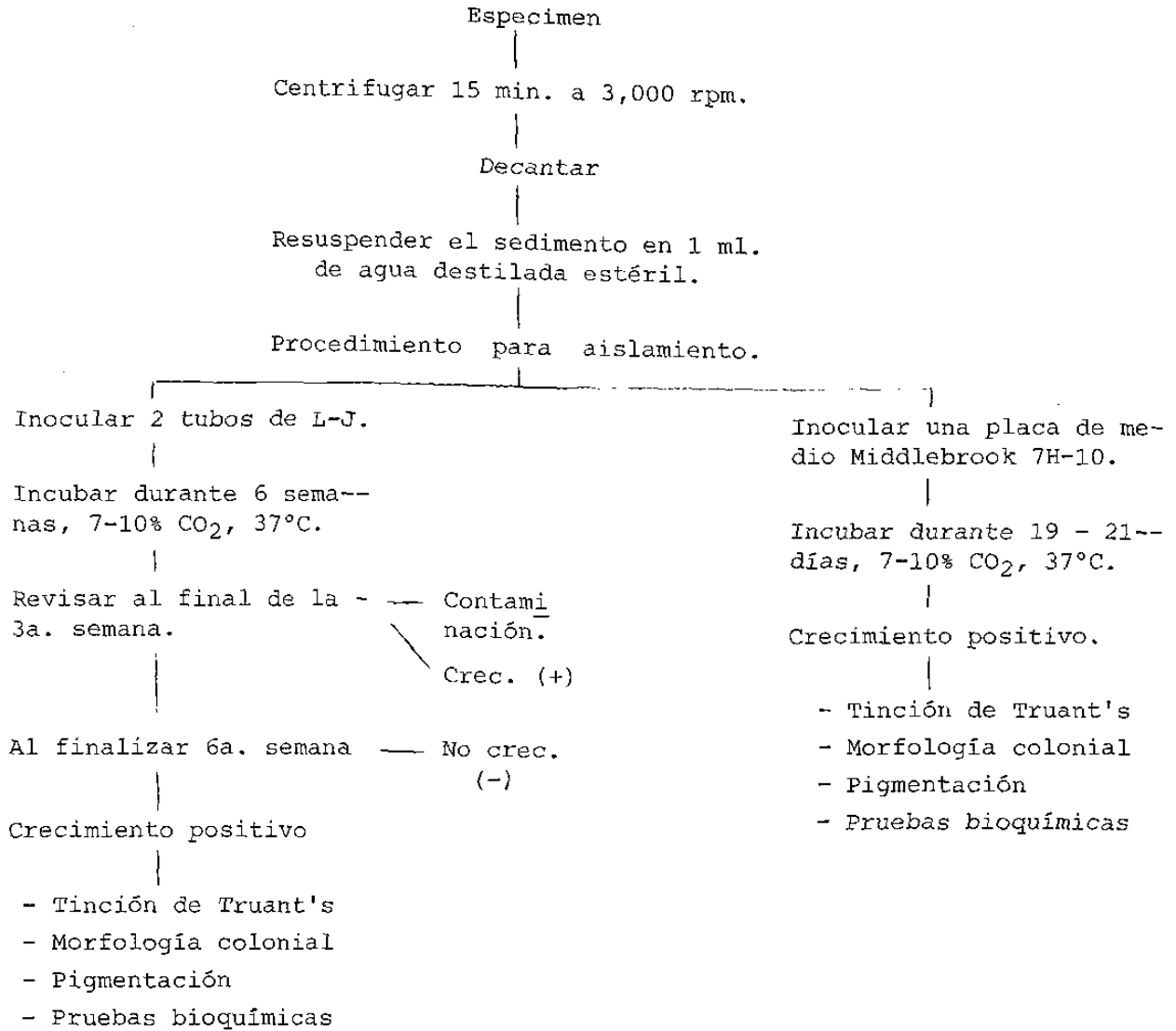
Los 2 tubos de Lowenstein-Jensen fueron incubados a 37°C., bajo una atmósfera con el 7-10% CO₂ por un lapso de 6 semanas. Las placas de petri con el medio Middlebrook 7H-10 fueron incubadas a 37°C, bajo una atmósfera con el 7-10% CO₂ por un lapso de 19-21 días.

Los tubos de Lowenstein-Jensen, fueron revisados al finalizar la 3a. semana de incubación, con la finalidad de descartar contaminación o revisar la presencia de crecimiento bacteriano compatible con Micobacterias. Al finalizar la 6ta. semana de incubación del medio de Lowenstein-Jensen y los 21 días del medio de Middlebrook 7H-10.

Al crecimiento bacteriano observable se procedió a realizarle las siguientes pruebas y técnicas de identificación y diferenciación: (24)

- Tinción de Truant's
- Morfología colonial
- Producción de pigmento
- Prueba de la catalasa
- Prueba de la niacina
- Reducción de nitratos a nitritos
- Hidrólisis del Tween 80
- Reducción del telurito
- Crecimiento en Agar de McConkey
- Prueba de la Arilsulfatasa

DIAGRAMA DE FLUJO PARA EL AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE MICOBACTERIAS

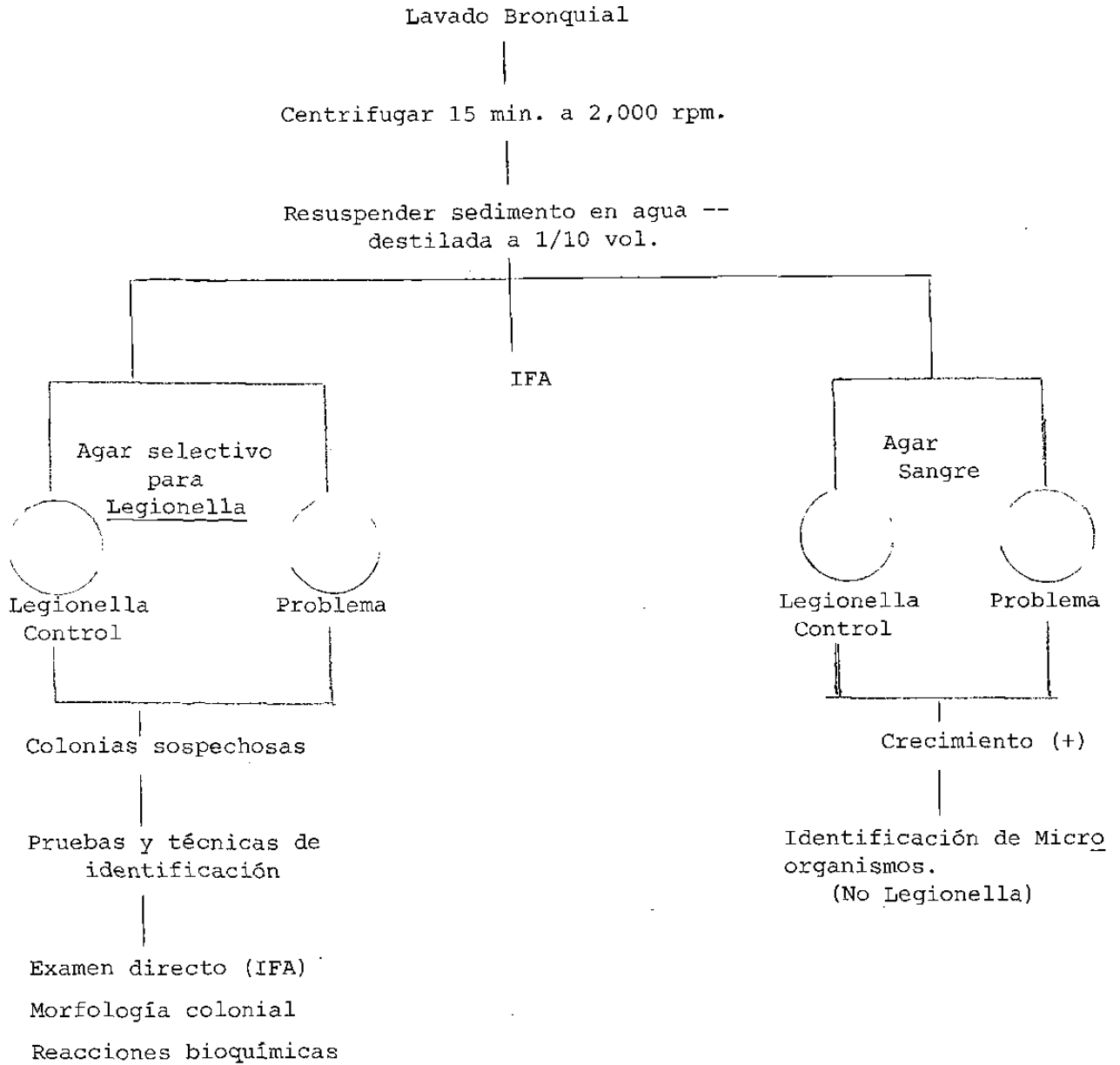


El manejo de las muestras para la búsqueda de Legionella pneumophila, estuvo basado de acuerdo al Manual de Procedimientos del Centro para el Control de Enfermedades Transmisibles de Atlanta, Georgia. (CDC), sobre procesamiento de muestras procedentes de lavado bronquial. (25)

Los 3 ml. de lavado bronquial restantes destinados al protocolo de trabajo, fueron centrifugados a 2,000 rpm., durante 15 min., posteriormente se re-suspendió el sedimento en agua destilada estéril a 1/10 ml. A continuación se procedió a realizar el examen directo de la muestra bajo la técnica de Inmunofluorescencia indirecta (IFA). Al mismo tiempo se efectuó la siembra de la muestra problema por un lado y la siembra de una cepa control de L. pneumophila, proporcionada por el CDC de Atlanta, Georgia, en agar sangre y en un medio de cultivo selectivo para Legionella. (25) (ver apéndice 1) Todas las placas fueron sembradas utilizando la técnica de estría en 3 sectores, e incubadas a 37°C., bajo una atmósfera con el 2.5% del CO₂, revisada diariamente y descartadas al completarse 5 días de incubación. Al observarse crecimiento bacteriano sospechoso de Legionella, se procedió a la realización de las pruebas de identificación correspondientes que fueron: (25)

- Morfología colonial
- Observación microscópica directa mediante IFA
- Ausencia de crecimiento en agar sangre
- Reacciones bioquímicas
 - Producción de catalasa
 - Producción de oxidasa
 - Fermentación de azúcares
 - Hidrólisis del hipurato
 - Producción de Beta-lactamasa
 - Reducción de nitrato a nitritos.

DIAGRAMA DE FLUJO PARA EL PROCESAMIENTO E IDENTIFICACION DE ESPECIES DE
LEGIONELLA PNEUMOPHILA



RESULTADOS

Se trabajaron todas las muestras de lavado bronquial obtenidas mediante broncoscopía y recibidas en el laboratorio para cultivo ordinario, haciendo especial énfasis en el aislamiento e identificación de Legionella pneumophila; Micobacterias spp., y Hongos spp., con la finalidad de identificar los microorganismos patógenos productores de neumonía nosocomial y neumonía adquirida en la comunidad.

Los resultados obtenidos fueron divididos de acuerdo al grupo población de estudio:

Población esperada: Se obtuvieron 50 muestras de lavado bronquial de 50 pacientes que reunían las condiciones que el protocolo de trabajo exigía, es decir, todos ellos padecían un cuadro clínico y/o radiológico de neumonía de evolución rápida (1-2 semanas) y presentaban alguna situación que pudiera en determinado momento comprometer el estado inmunológico del paciente. (Enf. o padecimiento subyacente).

Todos los pacientes de este grupo de estudio, desarrollaron su cuadro neumónico, en el transcurso de su hospitalización, y en un lapso de mayor de 8 días, alrededor del cuál su estado de salud se fué deteriorando rápidamente. Todos presentaron una enfermedad de base por la cuál fueron inicialmente admitidos al hospital, y ésta junto con el manejo terapéutico del que estaban siendo objeto, estaba condicionando en cada uno de ellos el estado de inmunocompromiso. Condición propicia que muchos microorganismos aprovechan

para invadir al huésped, colonizándolo y produciendo así la enfermedad, sin olvidar que varios de estos microorganismos forman parte de la flora normal y son causantes de infecciones endógenas en estos individuos.

Las enfermedades o padecimientos de base encontrados en este grupo de individuos, fueron los que a continuación se enumeran:

ENFERMEDAD O PADECIMIENTO SUBYACENTE.	POBLACION ESPERADA
1. Síndrome de Inmunodeficiencia adquirida (SIDA)	16
2. Diabetes Mellitus	10
3. Neumonía viral	9
4. Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)	5
5. Lupus Eritematoso Sistémico (LES)	5
6. Síndrome nefrótico	2
7. Carcinoma testicular	1
8. Carcinoma broncogénico	1
9. Insuficiencia renal crónica	1
	Total = 50

Los microorganismos aislados, cultivados e identificados en este grupo de pacientes, fueron los que a continuación se muestran:

MICROORGANISMOS IDENTIFICADOS.	POBLACION ESPERADA
1. <u>Legionella pneumophila</u>	2
2. Bacilos gram negativos	18
- <u>Pseudomonas aeureginosa</u> = 9	
- <u>Klebsiella pneumoniae</u> = 6	
- <u>Enterobacter spp.</u> = 3	
3. Cocos gram positivos	5
- <u>Staphylococcus aureus</u> = 4	
- <u>Streptococcus pneumoniae</u> = 1	
4. Micobacterias	12
- <u>Mycobacterium kansasii</u> = 2	
- <u>M. scrofulaceum</u> = 1	
- <u>Mycobacterium szulgai</u> = 1	
- <u>M. tuberculosis</u> = 8	
5. <u>Candida albicans</u>	2
6. <u>Aspergillus flavus</u>	1
7. <u>Aspergillus fumigatus</u>	4
8. <u>Aspergillus niger</u>	1
9. Otros	5
	Total = 50

Es destacable el hecho de que en dos de estos 50 pacientes objeto de estudio; mujer de 24 años y varón de 52 años de edad respectivamente, se encontró a L. pneumophila como causante de su cuadro neumónico agregado a su padecimiento de base (LES y SIDA respectivamente). A ambos pacientes se les instituyó una terapéutica a base de eritromicina, cediendo el cuadro neumónico en un lapso de 3 y 5 días respectivamente.

Población de referencia = En este grupo de pacientes, que reunían únicamente el criterio de presentar un cuadro clínico y/o radiológico compatible con neumonía, por el cuál fueron admitidos en el hospital, se asilaron, cultivaron e identificaron los siguientes microorganismos, causantes de su cuadro neumónico:

MICROORGANISMOS IDENTIFICADOS.	POBLACION DE REFERENCIA
1. <u>Legionella pneumophila</u>	1
2. Bacilos gram negativos	8
- <u>Klebsiella pneumoniae</u>	
3. Cocos gram positivos	13
- <u>Streptococcus pneumoniae</u> = 9	
- <u>Staphylococcus aureus</u> = 4	
4. <u>Mycobacterium tuberculosis</u> =	22
5. <u>Coccidioides immitis</u>	4
6. <u>Histoplasma capsulatum</u>	2
	Total = 50

Resulta destacable nuevamente el hecho de haberse encontrado a L. pneumophila como causante de su cuadro neumónico en una mujer de 50 años de edad, - que al igual que los dos pacientes del grupo de población esperada, a los -- que se les aisló e identificó L. pneumophila, respondió favorablemente a la terapéutica instituída a base de eritromicina en el lapso de 5 días aproximadamente.

En todos los casos en que se logró aislar a L. pneumophila, se obtuvie-

ron al 4to. día de incubación.

CUADRO COMPARATIVO DE MICROORGANISMOS AISLADOS EN AMBAS POBLACIONES DE ESTUDIO		
MICROORGANISMOS IDENTIFICADOS	POBLACION ESPERADA	POBLACION DE REFERENCIA
1. <u>L. pneumophila</u>	2	1
2. Bacilos gram negativos	18	8
3. Cocos gram positivos	5	13
4. Micobacterias	12	22
5. <u>C. albicans</u>	2	0
6. <u>A. fumigatus</u>	4	0
7. <u>A. flavus</u>	1	0
8. <u>A. niger</u>	1	0
9. <u>C. immitis</u>	0	4
10. <u>H. capsulatum</u>	0	2
11. Otros	5	0
	Total = 50	50

DISCUSION Y CONCLUSIONES

La neumonía continúa siendo un problema médico habitual y serio. Gran parte de la mortalidad ocasionada por neumonías está constituida por casos adquiridos en hospitales. (8) Por lo cuál ante un cuadro de neumonía que se presenta, debe distinguirse si esta es adquirida en la comunidad o en el hospital.

Muy variados son los microorganismos productores de estas neumonías, tanto para la adquirida en la comunidad, como la nosocomial. Por lo que de vital importancia resulta la identificación adecuada de estos microorganismos, para una pronta y adecuada instauración terapéutica.

La determinación de los agentes causales productores de neumonía es difícil por 3 situaciones, a saber: (8)

- a. Los agentes causales productores de estos cuadros neumónicos son muy diversos, así como lo son también las técnicas para demostrarlos.
- b. La presencia de múltiples especies de microorganismos colonizadores en el tracto respiratorio superior.
- c. La dificultad para obtener muestras apropiadas para su examen microbiológico por técnicas no invasivas.

En consecuencia, para hacer un diagnóstico inicial presuntivo de neumonía, el clínico debe recoger e interpretar de manera correcta, diversos elementos clínicos, epidemiológicos y de laboratorio. Sin embargo es necesario-

la identificación microbiológica para un diagnóstico etiológico definitivo.

Es bien conocido que los gérmenes patógenos productores de neumonía adquirida en la comunidad son generalmente los habitantes normales de orofaringe, que la mayoría de las veces llegan a pulmón mediante la broncoaspiración (8) y que la gran mayoría de la veces existe el antecedente de una infección viral reciente de las vías respiratorias o bien algún padecimiento pulmonar obstructivo crónico. (8)

En las neumonías adquiridas en el hospital, los gérmenes patógenos no son necesariamente los habitantes normales de la orofaringe, sino que últimamente han surgido otros microorganismos diferentes a estos, como productores de dichos cuadros, como por ejemplo: L. pneumophila; C. immitis; H. capsulatum y Aspergillus spp. (8)

Si bien es cierto que los bacilos gram negativos y el S. aureus siguen siendo los más frecuentemente identificados en éstos pacientes, (6) se debe tener en cuenta también a los anteriormente mencionados.

Estas neumonías nosocomiales guardan estrecha relación con el estado de inmunocompromiso del paciente, que se puede ver afectado por la presencia de situaciones como: padecimientos subyacentes, transplantes, etc., (8) que los microorganismos aprovechan para originar dichas neumonías.

El principal objetivo del presente trabajo, era el demostrar que los microorganismos productores de neumonía nosocomial, son diferentes a los microorganismos que producen la llamada neumonía adquirida en la comunidad. Hipótesis que quedó confirmada, al obtener los resultados de este estudio, en donde se demostró que sin duda alguna, los microorganismos causantes de neumonía adquirida en la comunidad siguen siendo los cocos gram positivos, en donde S. pneumoniae sigue ocupando el lugar principal dentro de los microorganismos -- productores de este tipo de neumonía, seguido por el S. aureus.

Interesante resulta también el hecho de haber encontrado a M. tuberculosis en un buen número de casos como germen productor de cuadro neumónico en la comunidad. Este microorganismo habitualmente causa la llamada neumonía de formas especiales (8) que tiende a producir cavitación. Este tipo de neumonía es frecuente en nuestro medio, sobre todo en las comunidades de escasos recursos socioeconómicos, en donde predomina la desnutrición, el hacinamiento y la falta de una buena educación higiénica, entre otros.

Los bacilos gram negativos aunque no tan frecuentes en este tipo de neumonía de la comunidad, pueden llegarse a presentar como productora de esta, -- sobre todo en aquellos pacientes que son alcohólicos, drogadictos o presentan patología obstructiva crónica predominantemente.

De particular relevancia resulta para este estudio, haber logrado el -- aislamiento, cultivo e identificación de L. pneumophila en ambos grupos de pa

cientes, ya que hasta la fecha no se tiene reportes de aislamientos de este microorganismo en nuestra comunidad.

En el caso de las neumonías nosocomiales, se demuestra que a pesar de -- que los microorganismos causantes de ésta son tan variados, siguen siendo -- los bacilos gram negativos los que ocupan el lugar principal, seguidos por -- la presencia de especies de Micobacterias atípicas y M. tuberculosis, así -- como la presencia de diversas especies de hongos.

Bien conocido es el hecho de que al haber un estado de inmunocompromiso -- por alguna situación determinada, muchos de estos microorganismos que forman -- parte de la flora normal de nuestro organismo, sean capaces de producir infe -- cciones o superinfecciones, en las cuáles el paciente puede morir a causa de -- ellas.

Los resultados aportados por este trabajo demuestran el surgimiento de -- nuevos microorganismos patógenos productores de cuadros neumónicos tanto in -- tra como extrahospitalariamente, y la necesidad de implementar técnicas que -- ayuden al aislamiento correcto e identificación de estos gérmenes.

En el presente trabajo, aunque no incluido dentro del protocolo se imple -- mentaron técnicas de identificación de otros microorganismos productores de -- cuadros neumónicos intra y extrahospitalaria, como es el caso de P. carinii -- y algunas otras especies de Hongos. Ambos utilizando para su diagnóstico la --

técnica de inmunofluorescencia.

Importante resulta el hecho de seguir tratando de implementar técnicas y procedimientos de laboratorio que permitan un diagnóstico rápido y seguro de los diferentes microorganismos patógenos de estos cuadros. Hoy en día en que las situaciones que favorecen el inmunocompromiso del huésped se hacen mas -- frecuentes, esto se hace necesario.

En el presente trabajo se implementaron técnicas de aislamiento, cultivo e identificación para L. pneumophila, Micobacterias atípicas, Hongos spp. y mismas que pasaron a formar parte de la rutina del laboratorio de microbiología diagnóstica del Hospital San José de Monterrey.

RESUMEN

Con el presente trabajo se confirma que los microorganismos causantes - de neumonías nosocomiales y neumonías adquiridas en la comunidad son diferentes.

Hipótesis que quedó confirmada , al estudiarse una población de 100 pacientes, divididos a su vez en dos poblaciones de estudio; Población esperada y Población de referencia. Cada una con 50 pacientes en su haber, que tuvieron el común denominador de presentar un cuadro clínico y/o radiológico - de neumonía y alguna situación o padecimiento subyacente que pudiera comprometer el estado inmunológico del paciente, pero con la diferencia de que cincuenta de estos pacientes adquirieron su neumonía antes de ingresar al hospital, y los cincuenta restantes durante su estancia en él. De estos pacientes se obtuvieron muestras de lavado bronquial mediante broncoscopía, a los cuáles se les realizaron las técnicas de aislamiento e identificación correspondientes.

Los resultados obtenidos demostraron, que siguen siendo los cocos gram-positivos los que predominan en las neumonías adquiridas en la comunidad y - que dependiendo de factores como: desnutrición, hacinamiento, y no propiamente alguna situación de inmunocompromiso, propiciaron la colonización de microorganismos no tan comunes como en el caso de L. pneumophila; Micobacterium tuberculosis y diversas especies de hongos.

Si bien es cierto, que en la neumonía nosocomial, en la cuál la mayoría de las veces existe alguna situación que compromete el estado inmunológico -- del paciente, los bacilos gram negativos, son los microorganismos principal-- mente productores de cuadros neumónicos, en este grupo se pudo observar el -- surgimiento de nuevos patógenos que por carecerse de técnicas diagnósticas adecuadas para su correcta identificación en nuestro medio, pasaban desapercibidos.

Al contar con dichas técnicas implmentadas ya en nuestro medio, se logró la identificación de los diversos microorganismos a los tradicionalmente conocidos. Algunos de los cuáles como en el caso de Legionella pneumophila dejará de formar parte de las llamadas neumonías atípicas, pasando al rubro de las - llamadas neumonías bacterianas o de etiología conocida.

BIBLIOGRAFIA

1. Bass, J.B.: Lieutenant of men of death. Chest. 1985, 88:483-484.
2. Hook, E.W., Horton, C.A., Schaberg, D.R.: Failure of intensive care unit support to influence mortality from pneumococcal bacteremia. JAMA. 1983, 249: 1055-1057.
3. Huxley, E.J., Virolov, J., Gray, W.R., Pierce, A.K.: Pharyngeal aspiration in normal adults and patients with depressed consciousness. Am. J.-Med. 1978, 64: 564-568.
4. Uribe, M., Textbook of Internal Medicine II, 1988. Ed. Panamericana.
5. Kumate, J., Gutiérrez, G., Manual de Infectología, 1986, Ed. Méndez Cervantes.
6. Abreu, L.M. Introducción a la Medicina Interna. 1989. Ed. Méndez Cervantes.
7. Rivero, S., Neumología, 1988, Ed. Trillas.
8. Kelly W.N. Textbook Of Internal Medicine II. 1989. Ed. Panamericana.
9. Palmer, M.B., Manual de Control de Infecciones. 1987. Ed. Interamericana
10. George, W.L., y Finegold, S.M., "Bacterial infections of the lung", Surg. Clin. North Am., 81: 502-507, 1982.
11. Boyd, E.F., General Microbiology. 1984, Ed. Times Mirror/Mosby.
12. Hoepflich, O.D., Tratado de Enfermedades Infecciosas. 1982. Ed. Salvat.

13. Fekety, F.R., Calewell, J., Gump, D., Johnson, J.E., Mayson, W.: Bacteria Viruses and Mycoplasmas in acute pneumonia in adults. *Am. Rev. Resp. Dis.* 1971, 104: 499-507.
14. Musher, D.M., Mc Kenzie, S.D.: Infections due to Staphylococcus aureus. - *Medicine*. 1977. 56: 383-409.
15. Musher, D.M., Franco, M.: Staphylococcal pneumonia. *Chest*. 1981, 79: 171--173.
16. González, N., Torales, A.N., Gómez, D., *Infectología clínica*. 1990. Ed. - Trillas.
17. La Force, F.M., Hopkins, J., Trow, R., Wang, N.L.: Human oral defenses against Gram-negative rods. *Am. Rev. res. Dis.* 1976, 114: 929-935.
18. Johanson, W.G., Pierce, A.L., Senfors, J.P.: Changing Pharyngeal Bacterial Flora of hospitalizaed patients. *Emergence os Gram-negative bacillus*. - *New Eng. J. Med.* 1969, 281: 1137-1140.
19. Weaver, R.E., and Feeley, J.C.: Cultural and biochemical characterization of the Legionnaires' disease bacterium. La Jones, G.L. and Herbert, G.A., eds. "Leginnaires" The disease, the bacterium and methodology. Center for disease control, Atlanta, Georgia. P.P. 19-25. 1979.
20. Thornsberg, C., and Kirven, L.A.: Beta-lactamase of the Legionnaires bacterium. *Curr. Microbiol.*, 1: 51-54, 1978.
21. Pacheco, C.R.: Micosis pulmonares. Ed. Méndez Oteo. *Manual de Neumología*. 3a. Ed., 1983, 188-194.
22. Mausner, J.S., Bahn, A.K., *Epidemiología*, 1977. Ed. Interamericana
23. Bailey, Scott, *Microbiology Diagnostics*. 1983. Ed. Panamericana
24. Manual of Texas Dept. of Health Laboratories. South Texas Hospital Myco--bacteriology Laboratory, Harlingen Texas.

25. Wilkinson, H.W.: Hospital-Laboratory Diagnosis of Legionella Infections.- Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia. U.S.A. 1988.

Apéndice No. 1

Medio Selectivo para <u>Legionella</u>	
- Extracto de levadura	10.0 gr.
- Carbón activado	1.5 gr.
- Pirofosfato férrico	0.25 gr.
- ACES Buffer	10.0
- Acido alfa-cetoglutárico	1.0
- Agar	17.0 gr.
- L-cisteína-Hcl.	0.4 mgr.
- Vancomicina	2.0 mgr.
- Colistin	3.75
- Anisomicina	10.0

