

ACTUALIZACIONES

EL ANTIBIOGRAMA DE DISCOS. NORMALIZACION DE LA TECNICA DE KIRBY-BAUER

MAYE BERNAL R.* MIGUEL GUZMAN U.**

INTRODUCCION

En el manejo clínico de la enfermedad infecciosa es indispensable la identificación del agente causal con el objeto de hacer un control terapéutico, en lo posible, específico. Tratándose de entidades de origen bacteriano, este concepto es aún más estricto, toda vez que el médico cuenta con gran cantidad de agentes antimicrobianos de los cuales debe seleccionar aquéllos que además de su fácil administración, buena penetración y baja toxicidad sean realmente activos contra el microorganismo causal (1). Estas consideraciones implican que el médico, además del buen conocimiento y comando de los aspectos clínicos, conozca en profundidad los antimicrobianos y su farmacología, ordene el aislamiento e identificación del agente etiológico y su sensibilidad frente a dichos antimicrobianos cuando éllo sea necesario; esto permitirá establecer un manejo más confiable evitando su uso indiscriminado y la posibilidad de seleccionar cepas bacterianas resistentes, peligro cada vez más creciente como lo destacan investigadores de la genética bacteriana en reciente declaración mundial, (2).

Para que los estudios de sensibilidad de los microorganismos a los antibióticos tengan aplicación y validez clínica, es necesario que los procedimientos de laboratorio que la investigan sean confiables. La experiencia mundial en el campo

demuestra que es necesario una normalización de su metodología (3). El presente trabajo, tiene por objeto dar las directrices para la correcta realización e interpretación del antibiograma de disco que constituye el sistema más comunmente utilizado para microorganismos de crecimiento rápido, (4).

El seguimiento estricto de estas directrices asegura al laboratorio la realización correcta del antibiograma y al médico un resultado confiable para el manejo de su paciente.

La prueba de sensibilidad utilizando el procedimiento del disco es una modificación de la técnica descrita por Bauer, Kirby, Sherris y Turk (5); es la técnica que se recomienda para los laboratorios clínicos. La prueba es rápida, práctica y reproducible (6, 7, 8). Los procedimientos de diluciones en agar o diluciones en caldo para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los antimicrobianos son también procedimientos satisfactorios (8).

DISCO PARA ANTIBIOGRAMA

Los discos para antibiograma son producidos por casas comerciales bajo un riguroso protocolo de control internacional. Cada disco contiene una concentración predeterminada que permite una correlación más o menos precisa con la concentración mínima inhibitoria que dicho antibiótico

* Unidad de Bacteriología Clínica. Grupo de Microbiología e Inmunología. Actualmente en el Grupo de Micobacterias. Instituto Nacional de Salud - Bogotá.

** Jefe Grupo de Microbiología e Inmunología. Instituto Nacional de Salud - Bogotá. Profesor Asociado Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia.

alcanza "in vivo" según los resultados de resistencia o susceptibilidad. Solo deben utilizarse discos con nombre genérico (3).

La conservación de los discos es crítica ya que de ella depende la confiabilidad de los resultados. Se debe, por lo tanto, tener particular cuidado al respecto siguiendo las indicaciones siguientes: Los recipientes individuales que contienen los discos deben mantenerse refrigerados de 4-5°C. o almacenados a -20°C. hasta que sean utilizados; los discos que contienen drogas de la familia de la penicilina o de las cefalosporinas deben mantenerse siempre congelados, excepción de una pequeña cantidad de discos para el trabajo diario, los cuales pueden mantenerse refrigerados hasta por una semana. Los nuevos recipientes con discos de sensibilidad deben colocarse a temperatura ambiente antes de abrirlos para ponerlos en uso. Los dispensadores que contienen discos para pruebas de susceptibilidad deben almacenarse con un desecante en el refrigerador pero debe permitirse que alcancen la temperatura ambiente antes de ser utilizados. Se debe desechar todo disco cuya fecha de expiración, expresamente puesta por la casa manufacturadora, esté vencida. Los discos deben mantenerse secos hasta que se utilicen.

Las técnicas de antibiogramas por difusión han sido normalizadas para microorganismos de crecimiento rápido, tales como *Staphylococcus* y *Enterobacteriaceae* pero no son confiables cuando se aplican a microorganismos de crecimiento lento, los cuales pueden mostrar zonas de inhibición mucho más grandes que aquéllos de crecimiento rápido. Sin embargo, la total resistencia puede ser significativa; por lo tanto, la prueba de susceptibilidad de microorganismos exigentes en sus requerimientos nutricionales o que necesiten una atmósfera anaeróbica o concentraciones altas de CO₂ o que presentan una rata de crecimiento particularmente lenta, deben estudiarse con métodos de antibiograma por dilución o específicos como los ya desarrollados y estandarizados de difusión para este tipo de microorganismos (3, 7).

CEPAS CONTROL

Para que los resultados del antibiograma de discos sean realmente confiables es de primordial importancia, además de los aspectos técnicos, introducir un control de calidad interno mediante el uso de las cepas control. Estas son de uso universal, se trata de cepas de *S. aureus*, *E. coli* y *Ps aeruginosa* las cuales tienen un patrón de sensibilidad ya conocido frente a los antimicrobianos (Cuadro No. 1), sensibilidad que debe ser reproducida en cada laboratorio asegurando con ello que el procedimiento empleado está operando en óptimas condiciones (9). Por las anteriores consideraciones, una cepa control de *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) multisensible, debe probarse con el conjunto de discos para gérmenes Gram positivos y una cepa multisensible de *Escherichia coli* (ATCC25922) con el conjunto de discos para microorganismos Gram negativos. Una cepa control de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) debe ser probada

Cuadro No. 1

SENSIBILIDAD DE LAS CEPAS CONTROL
ZONA DE INHIBICION EN mm.

ANTIMICROBIANO	POTENCIA DEL DISCO	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Acido Nalidixico	30 mcg	████████	21 - 25	████████
Acido Oxolinico	2 mcg	13 - 10	20 - 24	████████
Amikacina	30 mcg	18 - 24	18 - 24	15 - 22
Ampicilina	10 mcg	24 - 35	15 - 20	████████
Carbenicilina	100 mcg	████████	24 - 29	20 - 24
Cefalotina	30 mcg	25 - 37	18 - 23	████████
Cefamandole	30 mcg	28 - 34	24 - 31	████████
Cefotaxima	30 mcg	████████	████████	████████
Cefoxitina	30 mcg	23 - 28	23 - 28	████████
Cilindamicina	2 mcg	23 - 29	████████	████████
Cloranfenicol	30 mcg	19 - 26	21 - 27	6 - 12
Colistina	10 mcg	████████	11 - 15	12 - 16
Eritromicina	15 mcg	23 - 30	8 - 14	████████
Gentamicina	10 mcg	19 - 27	19 - 26	16 - 21
Kanamicina	30 mcg	19 - 26	17 - 25	6
Neomicina	30 mcg	18 - 26	17 - 23	████████
Nitrofurantoina	300 mcg	20 - 24	20 - 24	████████
Oxacilina	5 mcg	17 - 22	████████	████████
Penicilina G	10 U	26 - 37	████████	████████
Polimixina B	300 U	7 - 13	12 - 16	11 - 16
Sulfisoxazole	300 mcg	23 - 27	22 - 26	6
Tetraciclina	30 mcg	19 - 28	18 - 25	9 - 14
Trimetoprim-Sulfa	1.25/23.75 mcg	24 - 32	24 - 32	████████
Tobramicina	10 mcg	19 - 29	18 - 26	19 - 25
Vancomicina	30 mcg	15 - 19	████████	████████

con Amikacina, Carbenicilina, Cloranfenicol, Clindamicina, Gentamicina, Kanamicina, Tetraciclina y Tobramicina. Esta cepa de *Pseudomonas aeruginosa*, tiende frecuentemente a desarrollar mutantes resistentes a la Carbenicilina durante los pases sobre los medios de cultivo en el laboratorio; si esto sucede se debe usar una nueva cepa. Las cepas control deben probarse cada vez que se realicen las pruebas y, el tamaño de los halos de inhibición debe anotarse en una hoja de control de calidad para cada antibiótico (Fig. 1). El diámetro de la zona de inhibición para los microorganismos control debe caer dentro del rango indicado en el cuadro No. 1. Las variaciones en cada uno de los límites deben investigarse y corregirse para asegurar resultados válidos (4).

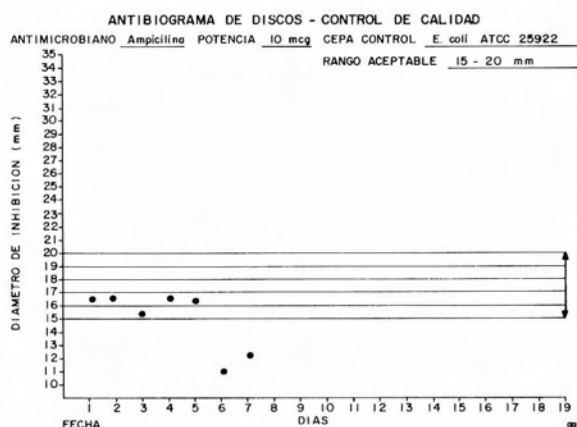


Figura 1

ANTIBIOTICOS RECOMENDADOS EN UN ANTIBIOGRAMA

Con el objeto de tener una guía general al realizar un antibiograma se debe seleccionar un número de antimicrobianos para el microorganismo en estudio, ya que no es recomendable, ni lógico, ni económico utilizar todos los antimicrobianos. Como regla general se pueden seleccionar antimicrobianos para microorganismos Gram positivos, y Gram negativos y dentro de estos últimos para microorganismos aislados de tracto urinario y para *Ps. aeruginosa*.

Los antibióticos recomendados para pruebas de susceptibilidad de microorganismos Gram positivos y Gram negativos aparecen en el cuadro 2; la lista debe entenderse como una simple sugerencia (4). En la selección de los antimicrobianos debe tenerse en cuenta los siguientes hechos:

El disco de Penicilina G es representativo de todas las penicilinas G.

El disco de Ampicilina es representativo de todas las aminopenicilinas tales como: Talampicilina, Pivampicilina, Bacampicilina, Hetacilina, Amoxicilina y Epicilina.

El disco de Oxacilina de 5 mcg es representativo de todas las penicilinas resistentes a las Beta-lactamasas tales como: Meticilina, Nafcilina, Cloxacilina, Flucloxacilina y Dicloxacilina, igualmente es representativo de todas las cefalosporinas de primera generación frente a *S. aureus*.

El disco de Cefalotina es representativo de todas las cefalosporinas de primera generación que incluye: Cefaloridina, Cefalexina, Cefradina, Cefazolina, Cefalomicina, Cefadroxil, Cefacetril, Cefapirina. Las cefalosporinas de segunda y tercera generación deben probarse por separado ya que no hay sensibilidad cruzada entre ellas.

El disco de Tetraciclina es representativo de todas las Tetraciclinas. Los aminoglicósidos aunque íntimamente relacionados tienen variaciones individuales que obligan a probarlos individualmente. Este grupo incluye: Gentamicina, Tobramicina, Amikacina, Kanamicina, Sisomicina y Netilmicina.

Los Macrólidos sólo tienen un representante que es la Eritromicina.

Las Lincomicinas incluyen Lincomicina y Clindamicina. El disco de Clindamicina es representativo y debe incluirse de rutina.

El Cloranfenicol, la Vancomicina y la Nitrofurantoina deben probarse individualmente.

El grupo de las Polimixinas, incluye la Polimixina B y E. Solo una debe probarse usualmente para *Ps. aeruginosa*.

Cuadro No. 2

ANTIBIOGRAMA DE DISCOS
 GUIA PARA LA SELECCION DE ANTIMICROBIANOS

OPCION	GRAM NEGATIVOS				GRAM POSITIVOS		
	INTESTINAL	URINARIA	SANGRE TEJIDOS	<u>Ps.</u> <i>aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Streptococcus</i> <i>faecalis</i> (D)	OTROS
PRIMERA	Ampicilina	Acido oxolínico	Amikacina	Carbenicilina	Penicilina G.	Ampicilina	Ampicilina
	Gentamicina	Acido nalidixico	Ampicilina	Amikacina	Oxacilina	Cloranfenicol	Penicilina G
	Cloranfenicol	Norfloxacina	Gentamicina	Gentamicina	Eritromicina	Tetraciclina	Oxacilina
	Trimetoprim-Sulfa	Nitrofurantoina	Cloranfenicol	Tobramicina	Cloranfenicol	Eritromicina	Clindamicina
	Tetraciclina	Sulfisoxazole Trimetoprim-Sulfa	Cefamandole Trimetoprim-Sulfa Tobramicina	Polimixina B	Clindamicina'	Penicilina G	Eritromicina Tetraciclina
SEGUNDA		Ampicilina Cloranfenicol Gentamicina	Cefoxitina Cefotaxima Kanamicina	Colistina	Gentamicina Netilmicina Vancomicina		Gentamicina Trimetoprim-Sulfa Cloranfenicol

La Carbenicilina y antibióticos relacionados deben probarse para *Ps. aeruginosa* y otros Gram negativos.

El Acido Oxolínico, Acido Nalidixico y la Norfloxacina deben probarse sólo para microorganismos aislados de tracto urinario.

La combinación trimetoprim-Sulfa debe probarse individualmente.

Un disco de Sulfonamida de 300 mcg es representativo de todas las sulfas. El disco de Sulfisoxazole es el más utilizado.

MEDIO DE CULTIVO

Se utiliza el medio de Muller-Hinton, el cual debe prepararse así:

1. Preparar el medio de acuerdo con las instrucciones de la casa manufacturadora.

2. Ajustar su pH a 7.2-7.4 con solución de NaOH 0.1N.
3. Esterilizar en autoclave a una temperatura de 121°C por 15 minutos.
4. Mantenerlo en baño maría hasta que la temperatura sea de 48-50°C.
5. Distribuir el medio en cantidad aproximada de 25 c.c. en cajas de Petri de 15 x 150 ml, estériles.

Cuando se van a estudiar microorganismos exigentes tales como *Streptococcus* se debe agregar al medio, antes de distribuirlo en las cajas de Petri, 5% de sangre desfibridada de cordero o conejo. Se debe dejar solidificar y mantenerlo luego a temperatura ambiente por un tiempo prudencial hasta que el exceso de humedad se evapore. Las cajas con el medio, pueden incubarse por 30 minutos a 35°C. No debe haber gotas de

agua de condensación sobre la superficie de medio o sobre la tapa de las cajas de Petrí. El pH final de cada uno de los lotes del medio de Mueller-Hinton solidificado debe ser 7.2-7.4.

El medio así preparado puede ser utilizado inmediatamente o puede conservarse en refrigeración hasta por dos semanas, siempre y cuando las cajas de Petrí se guarden en recipientes herméticamente sellados para prevenir la evaporación. No se deben utilizar medios secos o envejecidos (3-7).

PREPARACION DEL INOCULO

Seleccionar 4 ó 5 colonias del microorganismo en estudio, preferencialmente de un cultivo puro o de un cultivo en que se haya obtenido el aislamiento primario del microorganismo. No utilizar cultivos de más de 24 horas. Transferir estas colonias, simplemente tocando la parte superior de cada una con asa bacteriológica a un tubo que contenga de 3-5 c.c. de caldo estéril de Mueller-Hinton o de Trypticase-soya.

Incubar este cultivo a 35°C. por un tiempo prudencial de 2 a 8 horas hasta que se produzca un crecimiento moderado. Diluir el cultivo con solución salina estéril o caldo estéril hasta obtener una turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de McFarland lo cual corresponde aproximadamente a 10^8 microorganismos viables por ml (6).

ESTANDAR DE TURBIDEZ

Para preparar este estandar añadir 0.5 ml de $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ (1.175%) a 99.5 ml de H_2SO_4 0.36N (1%). Mezclar perfectamente y distribuir en tubos tapa rosaca 13 x 100 en cantidad de 6-8 ml.; sellar herméticamente y almacenarlos en un lugar oscuro a temperatura ambiente. Preparar nuevo estandar cada 6 meses. Para hacer la comparación con el cultivo, se debe agitar el estandar preferiblemente con un agitador tipo vortex (3).

SIEMBRA DE LA MUESTRA

1. Sumergir un aplicador de algodón estéril, dentro de la suspensión del

microorganismo en estudio. No usar cultivos sin diluir.

2. Colocar el aplicador por encima del nivel del contenido del tubo y rotarlo contra las paredes del mismo para remover el exceso del inóculo.
3. Sembrar el inóculo uniformemente sobre la superficie del medio con el aplicador. Hacer esta siembra en tres direcciones. Evitar inóculos muy concentrados o muy diluïdos.
4. Permitir que la superficie del medio sembrado se seque durante 5-20 minutos, manteniendo la caja con la tapa cerrada.
5. Colocar los discos sobre la superficie del agar con un dispensador o con pinzas estériles; con éstas, presionar los discos ligeramente sobre el agar para asegurar un contacto uniforme.
6. Colocar 6 discos en la periferia y 1 en el centro (Fig. 2) dejando entre disco y disco un espacio uniforme (aproximadamente de 2 cm.); para evitar que las zonas de inhibición queden imbricadas. Colocar los antibióticos que difunden bien en la parte externa y aquellos que producen halos de inhibición pequeña (tales como la Vancomicina, Colistina y Polimixina B) en la parte central.

ANTIBIOGRAMA DE DISCOS

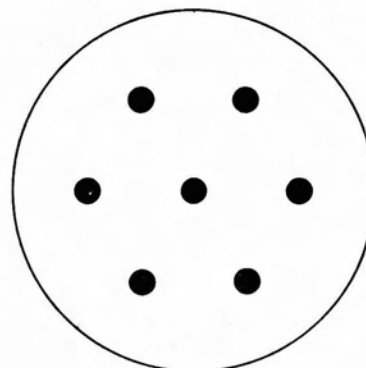


Figura 2

Patrón de distribución de los discos de antibióticos en el medio de cultivo

7. Incubar las cajas inmediatamente o en los próximos 30 minutos a 35°C. No usar temperaturas más altas porque algunas cepas de *Staphylococcus* resistentes a Meticilina pueden no detectarse. No incubar en cámara de CO₂.
8. Leer las cajas después de 16-24 horas de incubación.

MICROORGANISMOS EXIGENTES

Para este tipo de microorganismos se recomiendan técnicas específicas para cada uno de ellos, así:

Haemophilus influenzae: Se utiliza el medio de Mueller-Hinton enriquecido con 1% de hemoglobina o 5% de sangre de caballo y 1% de isovitalax (BBL) o suplemento VX (Difco). El inóculo se obtiene a partir del crecimiento de un cultivo de 18 horas. Se emulsiona el cultivo con caldo de Mueller-Hinton a la turbidez necesaria y se siembra como en el caso convencional. No se requiere incubación en CO₂. Las cepas que producen un halo \leq de 19 mm frente al disco de Ampicilina o Penicilina G son productoras de Beta-Lactamasa y por tanto no son susceptibles a la Ampicilina (3).

Neisseria gonorrhoeae: el antibiograma de discos se ha adaptado para investigar especialmente las cepas de *N. gonorrhoeae* productoras de Beta-lactamasa. Se utiliza medio base GC enriquecido con 1% de isovitalax o suplemento VX, pero no se le agrega hemoglobina. El inóculo se obtiene a partir de un cultivo de 18 horas, se emulsiona en caldo de Mueller-Hinton y se le da la turbidez necesaria. Se inocula en la forma convencional. Se incuba a 35°C. en CO₂. Zonas \leq 19 mm frente al disco de Penicilina de 10 U son productoras de Beta-lactamasa. Las cepas susceptibles darán zona \leq 20 mm (3).

Streptococcus pneumoniae: Hay en la actualidad preocupación por la ocurrencia de cepas de *S. pneumoniae* resistentes a Penicilina con CIM \geq 2 mcg/ml. Se ha observado que hay cepas con relativa resistencia CIM 0.12 a 1.0 mcg/ml que no respon-

den al tratamiento con Penicilina. Este hecho hace necesario recomendar que cepas aisladas de LCR, sangre u otro líquido orgánico se prueben frente a un disco de Oxacilina de 1 mcg. Se utiliza el medio de Mueller-Hinton enriquecido con 5% de sangre de carnero. El inóculo se obtiene a partir de un cultivo de 18 horas, el cual se emulsiona en caldo de Mueller-Hinton, se ajusta la turbidez al patrón convencional y se siembra en la forma ya mencionada, se coloca un disco de Oxacilina de 1 mcg y se incuba a 35°C por 18 horas. Un halo \geq 20 mm indica susceptibilidad, zonas \leq 19 mm indican resistencia (3).

MEDICION DE LOS HALOS DE INHIBICION

Medir la zona de inhibición de cada disco contra una superficie oscura bajo luz reflejada. Medir el diámetro de la zona incluyendo los 6 mm del disco, con una regla sobre el respaldo de la caja de Petri sin remover la tapa. Una lectura de 6 mm indica que no hay zona de inhibición. Si se ha usado agar sangre para la prueba, la medición de la zona de inhibición debe hacerse sobre la superficie removiendo la tapa de la caja.

El punto final de inhibición completa del crecimiento se estima a simple vista, excepto para las sulfonamidas y para algunas especies de *Proteus*.

Con las sulfonamidas puede ocurrir un discreto crecimiento en la zona de inhibición, debido a que algunos microorganismos crecen por algunas generaciones antes de que la acción de la sulfonamida tenga lugar y debido también, al hecho de que el medio de Mueller-Hinton contiene Timidina la cual inhibe la actividad de la sulfonamida.

Las cepas de *Proteus mirabilis* y *Proteus vulgaris* pueden crecer dentro de los halos de inhibición alrededor de ciertos agentes antimicrobianos. Sin embargo, la zona de inhibición está usualmente bien delimitada y este tipo de crecimiento invasivo, debe ser ignorado.

Si se necesita un resultado muy rápido, el diámetro de la zona de inhibición puede leerse después de 6-8 horas de incubación pero estas lecturas deben confirmarse posteriormente, al término del período de incubación de 18 horas.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Los resultados obtenidos deben interpretarse de acuerdo con el cuadro N°. 3. En la interpretación de tales resultados es necesario tener en cuenta lo siguiente:

El diámetro de las zonas obtenido con aminoglucósidos depende del medio utilizado, debido a la variación del contenido de cationes y depende de la calidad del medio de Mueller-Hinton que ofrecen las casas productoras. Los rangos de interpretación son los siguientes:

	Resistente	Indeterminado	Sensible
Amikacin	11 mm	12-15 mm	16 mm
Gentamicina	12 mm	13-16 mm	17 mm
Tobramicina	12 mm	13-16 mm	17 mm

Las variaciones debidas a la influencia del medio son mucho más marcadas con la *Pseudomonas aeruginosa*; por lo tanto, la zona indeterminada se basa sobre la medida del diámetro de la zona que se tenga con la cepa control de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) y es de 3 a 6 mm menos que cada medida. Por ejemplo, si el diámetro medio de la cepa control es de 19 mm la interpretación debe ser \leq a 12 mm para cepas resistententes, 13-16 mm para cepas indeterminadas y \geq 17mm para cepas susceptibles, estas interpretaciones estandar son tentativas, 7.

El disco para ampicilina, es representativo de Hetacilina y Amoxicilina. De las penicilinas resistentes a las penicilinasas el disco clásico es la Meticilina y sus resultados son aplicables a: Cloxacilina, Dicloxacina, Oxacilina, Nafxilina. La Oxacilina y la Nafxilina son sin embargo, más resistentes a degradarse durante el período de almacenamiento. Los discos de Cloxacilina no deben usarse debido a que ellos no captan las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a penicilina.

Cuadro No. 3

ANTIBIOGRAMA DE DISCOS
INTERPRETACION DE RESULTADOS

ANTIMICROBIANO	Disco (mcg)	Zona Inhibición (mm)			OBSERVACIONES
		R(\leq)	I	S(\geq)	
Acido Nalidixico	30	13	18 - 14	19	Infección urinaria
Acido Oxolínico	2				Infección urinaria
Amikacina	10	11	12 - 13	14	
Ampicilina	10	11	12 - 13	14	Entéricos y Enterococo
Ampicilina	10	20	21 - 28	29	<i>Staphylococcus</i> y otros sensibles a Penicilina G
Ampicilina	10	19		20	<i>Haemophilus</i>
Carbenicilina	100	17	18 - 22	23	<i>Proteus</i> y <i>E. coli</i>
Carbenicilina	100	13	14 - 16	17	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Cefalotina	30	14	15 - 17	18	
Cefamandole	30	14	15 - 17	18	
Cefotaxima	30				
Cefoxitina	30	14	15 - 17	18	
Cilindamicina	2	14	15 - 16	17	
Cloranfenicol	30	12	13 - 17	18	
Colistina	10	8	9 - 10	11	Infección urinaria
Eritromicina	15	13	14 - 17	18	
Gentamicina	10	12	13 - 14	15	
Kanamicina	30	13	14 - 17	18	
Neomicina	30	12	13 - 16	17	
Nitrofurantoína	300	14	15 - 16	17	Infección urinaria
Oxacilina	5	10	11 - 12	13	
Penicilina G	10 U	20	21 - 28	9	<i>Staphylococcus</i>
Penicilina G	10 U	11	12 - 21	22	Otros microorganismos
Polimixina B	300 U	8	9 - 11	12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Sulfisoxazole	300	12	13 - 16	17	
Tetraciclina	30	14	15 - 18	19	
Trimetoprim - Sulfa	125/2375	10	11 - 15	19	
Tobramicina	10	11	12 - 13	14	
Vancomicina	30	9	10 - 11	12	

R = Resistente I = Intermedio S = Sensible

Los datos de susceptibilidad para el Acido Nalidíco, Acido Oxolínico, Colistina, Nitrofurantoína y Sulfas diferentes a Trimetorm-Sulfa son válidos solamente para microorganismos aislados del tracto urinario.

Algunos microorganismos tales como enterococos y bacilos Gram negativos que pueden causar infecciones sistémicas responden a dosis altas de penicilina G, la sensibilidad debe interpretarse según la tabla incluida.

El disco de Cefalotina debe usarse para probar la susceptibilidad de todos los tipos de Cefalosporinas de primera generación, están incluidas en este grupo Cefalotina, Cefaloridina, Cefalexina, Cefazolina, Cafacetril, Cefradina y Cefapirina entre otras. Las cepas

de *Staphylococcus aureus* que muestran resistencia a los discos de oxacilina deben reportarse como resistentes a los antibióticos tipo cefalosporina, sin tener en cuenta el halo de inhibición ya que en la mayoría de las infecciones causadas por estos organismos hay una resistencia clínica a las cefalosporinas, por tal motivo el disco de oxacilina de 5mcg, es válido para las penicilinas-resistentes a penicilinas y las cefalosporinas de primera generación; las de segunda y tercera deben probarse por separado ya que no hay sensibilidad cruzada entre ellas, 3.

El disco de Clindamicina debe usarse para probar la susceptibilidad tanto para la Clindamicina como para la Lincomicina.

La Colistina y Polimixina B, difunden muy pobremente en el agar por lo tanto la precisión de los procedimientos de susceptibilidad por el método de difusión es menor que con otros antibióticos. La resistencia es siempre significativa pero cuando se postula la posibilidad de usar tratamiento en infecciones producidas por cepas susceptibles, los resultados de las pruebas hechas por el método de difusión deberán confirmarse con procedimientos mediante el método de dilución. La concentración mínima inhibitoria (CIM) no puede calcularse confiablemente para estos antibióticos por medio de los análisis de curva de regresión.

Para antibiograma de discos se puede utilizar cualquier disco comercial de sulfas de 250-300 mcg, interpretándose los resultados según la tabla incluida, los medios que contienen sangre no son, en general satisfactorios para antibiogramas de discos de sulfas, excepto si se usa sangre lisada de caballo, debe tenerse en cuenta que el Mueller-Hinton para este antibiograma debe ser en lo posible libre de Timidina.

El disco de Tetraciclina es representativo de todas las tetraciclinas y su resultado aplicable, por tanto, a todos los microorganismos, sin embargo, muestran una mayor sensibilidad a la doxiciclina y minociclina.

INFORME DE LOS RESULTADOS.

El informe del resultado debe ser enviado al médico lo más pronto posible.

Dicho informe debe ser sencillo, claro y preciso. Debe incluir, nombre del paciente, muestra estudiada, microorganismo aislado y el listado de antibióticos a los cuales ha sido sensible. Para algunos médicos también es importante el listado de antibióticos a los cuales el microorganismo es resistente, por tanto dicha lista debe también incluirse. En algunas ocasiones los médicos tratantes solicitan un antibiótico específico; este resultado debe incluirse. Un modelo de informe aparece en la figura N°. 3.

FUENTES DE ERROR EN EL ANTIBIOGRAMA POR DISCO

Frecuentemente algunos errores de tipo técnico pueden comprometer la seguridad y confiabilidad del antibiograma por discos

ANTIBIOGRAMA DE DISCOS
INFORME DEL RESULTADO

Nº _____ Fecha _____

Nombre del paciente _____

Médico consultante _____

Muestra estudiada _____

Microorganismo aislado _____

1. Acido Nalidixico <input type="checkbox"/>	14. Gentamicina <input type="checkbox"/>
2. Acido Oxolínico <input type="checkbox"/>	15. Kanamicina <input type="checkbox"/>
3. Amikacina <input type="checkbox"/>	16. Neomicina <input type="checkbox"/>
4. Ampicilina <input type="checkbox"/>	17. Nitrofurantoina <input type="checkbox"/>
5. Carbenicilina <input type="checkbox"/>	18. Oxacilina <input type="checkbox"/>
6. Cefalotina <input type="checkbox"/>	19. Penicilina G <input type="checkbox"/>
7. Cefamandole <input type="checkbox"/>	20. Polimixina B <input type="checkbox"/>
8. Cefotaxima <input type="checkbox"/>	21. Sulfisoxazole <input type="checkbox"/>
9. Cefoxitina <input type="checkbox"/>	22. Tetraciclina <input type="checkbox"/>
10. Clindamicina <input type="checkbox"/>	23. Trimetoprim-Sulfa <input type="checkbox"/>
11. Cloranfenicol <input type="checkbox"/>	24. Tobramicina <input type="checkbox"/>
12. Colistina <input type="checkbox"/>	25. Vancomicina <input type="checkbox"/>
13. Eritromicina <input type="checkbox"/>	26. <input type="checkbox"/>

SÍMBOLOS E INTERPRETACION

<p><input type="checkbox"/> S = SENSIBLE</p> <p><input type="checkbox"/> R = RESISTENTE</p> <p><input type="checkbox"/> I = INTERMEDIO</p>	<p><input type="checkbox"/> = No se probó este antimicrobiano por no ser útil en el control del microorganismo aislado. ajf</p>
--	--

Figura 3

invalidando el procedimiento(7). La siguiente lista incluye algunos de los errores más frecuentes que el laboratorio de Bacteriología Clínica debe evitar:

1. Utilización de un medio diferente al de Mueller-Hinton.
2. Preparación incorrecta del medio de Mueller-Hinton, particularmente en lo que se refiere a la determinación del pH.
3. Uso de medios con fecha de expiración vencida o uso de medio incorrectamente almacenado.
4. Preparación incorrecta y almacenamiento incorrecto del estandar de turbidez.
5. Almacenamiento incorrecto de los discos.
6. Inadecuada estandarización de la concentración del inóculo.
7. Omisión de eliminar el exceso de cultivo contenido en el aplicador antes de inocular el medio sólido.
8. Demora excesiva en la estandarización del cultivo o demora en la inoculación del medio sólido.
9. Demora excesiva en la aplicación de los discos después de haber hecho la inoculación en el medio sólido.
10. Demora excesiva en la incubación del medio después de haber sido puestos los discos.
11. Incubación a temperatura diferente de 35°C o incubación en atmósfera de CO₂.
12. Lectura prematura de los resultados antes de un período de incubación de 16-18 horas.
13. Lectura incorrecta en la medición de los bordes de la zona de inhibición por incorrecta iluminación.
14. Lecturas hechas sin reglilla de medición.
15. Pruebas hechas con cultivos mixtos.
16. Realización de antibiogramas con microorganismos de crecimiento lento o anaeróbico.
17. Omisión de los controles de calidad con las cepas control y omisión de anotar los resultados de estas cepas control.
18. Error en la transcripción de los resultados de las pruebas individuales.

PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD DIRECTA EN MATERIAL CLINICO

La inoculación directa sobre medios para pruebas de susceptibilidad puede en ocasiones suministrar información preliminar invaluable en aquellos problemas de infección clínica que constituyen emergencia, por ejemplo se pueden realizar pruebas directas de muestras de urgencia sembradas sobre el medio en casos como LCR y otros líquidos corporales o material purulento, si la coloración de Gram indica la presencia de un número suficiente de bacterias o si se supone que un sólo tipo de microorganismo va a crecer. Sin embargo, debe evitarse realizar pruebas de sensibilidad de rutina sobre muestras clínicas directas.

La mezcla de microorganismos, muy común en nuestras clínicas, ofrece resultados incorrectos. Por otra parte, es muy difícil estandarizar la concentración de un inóculo en una muestra clínica directa. Los resultados de estos estudios de sensibilidad deben tomarse como resultados preliminares o tentativos y deben repetirse y confirmarse por uno de los procedimientos estandar recomendados.

Cuando las pruebas de inoculación directa no son satisfactorias se puede obtener una valiosa información preliminar haciendo una lectura de las pruebas de sensibilidad hechas en forma regular después de 5 a 6 horas de incubación a 35°C. Cuando esto se hace la prueba debe volverse a reincubar y leerse nuevamente después de un período de incubación de 16 a 18 horas (3, 6).

UTILIDAD EPIDEMIOLOGICA

Además de la utilidad que el antibiograma tiene en el manejo clínico individual, tiene la adicional de permitir la vigilancia de resistencia que puede captarse para así establecer algunas medidas tendientes a controlarla (10). También conduce a definir sensibilidad de géneros y especies y la estabilidad de tal sensibilidad, lo cual permite al médico definir criterios de antibioterapia para tales microorganismos sin tener que recurrir sistemáticamente a la realización de antibiogramas (11).

Aspectos Especiales

En la interpretación de los resultados de inhibición, cuando estos caen en el rango intermedio (I), se debe tener en cuenta que no puede afirmarse que la cepa sea resistente (R), o sensible (S); si el antibiótico en cuestión es una alternativa importante en el manejo terapéutico del paciente, deberá hacerse antibiograma por dilución para dilucidar si el microorganismo es o no sensible.

NOTA: En algunas tablas que aparecen en este trabajo no están incluidos los datos de diámetros de sensibilidad para los antimicrobianos recientemente introducidos, ello se debe a que oficialmente no han sido incorporados en los manuales de referencia.

BIBLIOGRAFIA

1. Patiño JF. Guía para el uso de antibióticos en cirugía. Fundación OFA para el avance de las ciencias biomédicas. Bogotá, 1983.
2. Statement Regarding Worldwide Antibiotic Misuse. In: Molecular Biology, Pathogenicity and Ecology of Bacterial Plasmids. Edited by Levy, Clowes and Koenig. Plenum Press. 1981, 145-155, New York.
3. National Committee on Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disc susceptibility tests. Approved Standard ASM-2 Villanova, Pa. 1975.
4. Guidelines for Antimicrobial Susceptibility Testing. World Health Organization. Lab./79. 3.1: 979.
5. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am. J. Clin. Pathol. 1966, 45: 493.
6. Acar JF. The disc susceptibility test. Chapter 2 in: Antibiotics in Laboratory Medicine pp. 24-25 Williams and Wilkins. Baltimore-London. 1980.
7. Thornsberry C, Gavan TL, Gerlach EH. New developments in antimicrobial agent susceptibility testing, Cumitech 6. American Society for Microbiology. 1977, Washington, D.C.
8. Thornsberry C. Hawkins. T.M. Agar disc diffusion susceptibility testing procedure. US Department of Health, Education and Welfare Public Health Service. Center for Disease Control Atlanta, Georgia 30333, 1977.
9. Coyle MB, Lampe MF, Aitkin CL, Feigl P, Sherris JC. Reproducibility of control Strains for Antibiotic susceptibility Testing. Antimicrob. Agents Chemother. 1976; 10: 436-440.
10. O'Brien TF, Acar JF, Medeiros A, Norton Ra, Goldstein F, Kent RL. International Comparison of Prevalence of Resistance to Antibiotics.
11. Bozón E, Guzmán MA, Guevera M, Aguilera A. Estudio comparativo entre la acción de un nuevo aminoglucósido (Netilmicina) y la de nueve antibióticos de uso común sobre cepas bacterianas colombianas. Biomédica 1982; 2: 163-171 (Bogotá).