BIBLIOTECA MARCEL·LÍ DOMINGO

SESION FINAL DEL SIMPOSIO

En la última sesión del Simposio se dio lectura a las conclusiones provisionales sobre la técnica de realización e interpretación de antibiogramas, redactadas por la Sociedad de Microbiólogos Españoles, la cual desde hace tiempo viene sintiendo la necesidad de una normalización y estandarización de las técnicas del antibiograma.

En la discusión de las conclusiones intervinieron numerosos especialistas, quienes propusieron diversas rectificaciones y adiciones.

Conclusiones provisionales redactadas por la Sociedad de Microbiólogos Españoles

El doctor don Gonzalo Urgoiti da lectura a las conclusiones

- Para la preparación del medio de cultivo se recomienda utilizar agua destilada
- Es aconsejable que los discos se conserven a la temperatura ambiente cuando el volumen de trabajo sea grande, y en caso contrario, en refrigerador

Se recomiendan en general técnicas con disco de una sola concentración para cada antibiótico considerado, manteniendo constantes cantidad y calidad del medio de cultivo, tiempo de predifusión, temperatura de incubación, concentración del inóculo y técnica de siembra, y utilizando precisamente aquellas condiciones que se hayan adoptado al momento de la calibración del fenómeno con los discos standar. Todas estas circunstancias tienen indudable influencia en el diámetro del halo de inhibición y, por tanto, no pueden ser ignoradas.

La interpretación del fenómeno debe hacerse conociendo previamente la correlación existente entre diámetros de los halos de inhibición y valores de la concentración mínima inhibidora con la técnica y discos empleados.

MEDIOS DE CULTIVO

Se recomienda utilizar como medio de cultivo el Müller Hinton a pH 7,2-7,4, con un espesor de capa de cuatro milímetros. Para bacterias exigentes puede añadirse un 5 por 100 de sangre de caballo desfibrinada. No se recomienda el empleo de sangre humana por ser fuente importante de variabilidad para algunos antibióticos.

Se espera que próximamente los organismos internacionales dispongan de un medio patrón internacional, y en ese caso la Sociedad de Microbiólogos Españoles intentaría disponer de patrones secundarios a disposición de los analistas que los solicitaran.

Para la preparación del medio de cultivo se recomienda utilizar agua destilada y no agua filtrada o desionizada, para evitar la influencia que cantidades residuales de cloro podrían tener en las determinaciones.

TECNICA DE SIEMBRA

Las técnicas de siembra más adecuadas parecen ser las de inundación con un cultivo sembrado y retirado posteriormente del exceso de líquido, y la de siembra en placa de un cultivo sembrado por la superficie de la placa, con ayuda de un hisopo de algodón estéril.

ESTIRPES PATRONES

La Sociedad de Microbiólogos Españoles intentará en lo sucesivo ayuda crucial a la estabilización de estirpes particulares que lo deseen, una colección de estirpes patrones que estará a disposición de los analistas interesados.

DISCOS

Se recomienda utilizar discos debidamente controlados mediante cepas patrones de sensibilidad conocida.

La Sociedad de Microbiólogos Españoles elevará a la superioridad un ruego solicitando que los discos que se distribuyan para la realización de antibiogramas sean debidamente controlados por un laboratorio oficial especializado que aquella señale y que en su envases figuren, como dato útil al analista, el lote y fecha de fabricación de los mismos.

Es aconsejable que los discos se conserven a la temperatura ambiente cuando el volumen de trabajo sea grande, y en caso contrario, en refrigerador, con la precaución de que antes de abrir el vial para su uso hasta alcanzar éste la temperatura del laboratorio, para evitar así la condensación de agua en el interior, que perjudicaría la conservación de los discos.

Es recomendable que en el interior de los viales se encuentre una sustancia absorbente de la humedad.

En cuanto a la concentración del antibiótico en el disco, debe utilizarse aquella que con la técnica patrón produzca halos de inhibición para los gérmenes sensibles de 15 o más milímetros de diámetro y que con los gérmenes considerados habitualmente como resistentes de halos en todos los casos inferiores a los diez milímetros de diámetro.

Deberá considerarse como excepción el caso de los antibióticos de gran tamaño molecular y pequeño coeficiente de difusión, en los que pequeños diámetros podrían ser poco representativos de una sensibilidad. En el caso de las penicilinas y otros antibióticos que permiten ser administrados en una amplia gama de dosis terapéuticas, la determinación de la sensibilidad o resistencia debe hacerse en función de la dosis a utilizar, pudiendo recomendarse en estos casos la utilización de discos especiales de cargas superiores a las habituales.

Se desaconseja en la técnica del antibiograma el empleo de discos impregnados con dos o más antibióticos, ya que la técnica no es adecuada en este tipo de determinaciones.

TIEMPO DE PREDIFUSION

Las temperaturas y tiempos de predifusión varían considerablemente de unas técnicas a otras, pero baste decir que deben ser constantemente mantenidas en las condiciones utilizadas inicialmente en la calibración.

TEMPERATURA DE INCUBACION

Generalmente se utilizan la de 37 grados centígrados.

CALIDAD Y CONCENTRACION DE LA SIEMBRA

La técnica del antibiograma no es aplicable, en principio, más que a especies bacterianas en cultivo puro. Por ello se recomienda un aislamiento previo, con excepción de aquellos casos en que se sospeche fundadamente que el agente patógeno es único (confirmado incluso, si es posible, con una tinción rápida y observación microscópica) y que la urgencia del resultado justifique este proceder.

En cuanto a la concentración de la siembra deberá intentarse que el crecimiento que aparezca en la placa de ensayo presente el mayor número posible de colonias muy cercanas, sin que sean confluentes.

TIEMPO DE LECTURA

Los antibiogramas deben ser leídos tras un período de incubación de aproximadamente dieciocho horas. Tiempos inferiores, incluso de seis o ocho horas, cuando, en el caso de un rápido crecimiento rápido, empiece a ponerse de manifiesto el halo de que será el anuncio, pueden conducir a graves errores por no apreciarse adecuadamente la presencia de colonias en el interior del halo que puede aparecer en determinados tipos de resistencia.

REDACCION DE INFORMES

Si el antibiograma se ha realizado de acuerdo con la técnica anteriormente recomendada, con discos de la concentración adecuada de antibiótico y teniendo presentes a este respecto las excepciones enunciadas sobre los antibióticos de gran tamaño molecular de difusión, sería recomendable que el analista emitiera su informe sobre el grado de sensibilidad, deducido de los halos obtenidos en el antibiograma, utilizando los términos sensible, moderadamente sensible y resistente, y haciendo constar que tales calificaciones corresponden a las dosis terapéuticas habituales.

A título de orientación se pueden establecer las calificaciones de:

a) Germen sensible (cuando los halos de inhibición tengan un diámetro superior a los 15 milímetros).

b) Germen resistente (halos de inhibición inferiores a diez milímetros de diámetro).

c) Germen moderadamente sensible (caso intermedio entre los extremos anteriores, con halos de inhibición entre los diez y los quince milímetros de diámetro).

Con este simple criterio en la emisión del informe, el clínico podrá establecer no sólo el antibiótico de elección en cada caso, sino también la dosis y la forma de administración más adecuada a utilizar siempre que las características farmacológicas del producto lo permitan.

Para conseguir una adecuada difusión de la técnica del antibiograma, la Sociedad de Microbiólogos Españoles pide a los grandes centros hospitalarios e industriales cedan sus instalaciones para el adiestramiento de los interesados.

El doctor Zugaza durante su intervención

PROPUESTAS DE ENMIENDAS Y ADICIONES

CON anterioridad a la casi totalidad de los insertos, clara matización del interés que el Simposio ha despertado, se celebró una reunión de trabajo con los miembros de la Sociedad de Microbiólogos Españoles, doctor G. Urgoiti, presidió a la lectura de unas normas provisionales sobre técnica de realización e interpretación de antibiogramas, que servirán de base de discusión en la redacción de unas normas definitivas.

Intervinieron los doctores Fas, Nasmann, Garrod, Bouanchaud, Sanchis-Bayarri, Zugaza, Gómez Lus, Mulgueta, Dapena, Zamora Terol, Rodríguez López, Alvarez Botes, López Tello, Waterworth, Martínez Marín y Kanazawa.

Un gran número de intervenciones se plantearon sobre el medio de cultivo a emplear; frente al medio Müller-Hinton, preconizado en las normas provisionales, se propusieron otros medios de cultivo diversos, que no son el anterior y que permiten el crecimiento de la mayoría de los gérmenes patógenos, eliminando la necesidad de adicionar, para determinados microorganismos, sangre de caballo desfibrinada. No obstante, esta aparente ventaja inicial quedaba reducida por el hecho de que el cultivo en medios sobre haemoglobina era precisa también el empleo de sangre.

SANGRE DE OTROS ANIMALES EN LUGAR DE LA DE CABALLO

Continuando el cambio de impresiones sobre la composición del medio, se sugirió el empleo de sangre de otros animales como cerdo o vacuno en sustitución de la de caballo, cuya obtención es difícil, por razones principalmente de extracción aséptica, si no para los laboratorios especializados, el para aquellos laboratorios más modestos.

También a este respecto se insistió la influencia que la sangre tiene sobre diversos antibióticos y, por lo tanto, en los resultados del antibiograma.

Finalmente se estimó que sería recomendable, sobre todo teniendo en cuenta las necesidades del analista práctico, que el medio de cultivo a emplear en el antibiograma fuera el que, en el momento de realizar el mismo, conservando su indiferencia frente a los antibióticos y, a ser posible fuera, antiséptico.

En lo que atañe al tiempo de incubación, los puntos de vista conservadores de la imposibilidad de adoptar un criterio que diera resultados definitivos antes de las veinticuatro horas, se propusieron desde los métodos de determinación rápida de unos cuatro horas, a los que se consideran simplemente cuando se alcanza una experiencia basada en el empleo de determinados discos en determinados medios de cultivo perfectamente definida. Las posibles ventajas y desventajas de tales criterios fueron muy discutidas.

Igualmente fueron temas de debate el espesor de la capa de medio y las características a tomarse de las placas.

CANTIDAD DE ANTIBIOTICO

Con respecto al tiempo de predifusión se solicitó el establecer una norma que permitiera uniformar la técnica y obtener resultados reproducibles respecto al tamaño del halo de inhibición.

Al tratar de los discos se propuso la posibilidad de cambiar el término equivoco de «concentración» por el de cantidad de antibiótico, que es el que figura en el envase de los mismos, así como, dada la falta de uniformidad de los mismos en el mercado, comentarlos a un diagnosis control, y no utilizar número excesivo de los mismos por placa.

Se habló también de la posibilidad de utilizar discos de papel que diera en history carga de la conservación en forma liofilizada de las estirpes patrón de sensibilidad conocida, con el fin de que pudieran ser solicitadas y utilizadas por cualquier analista.

Se hizo destacar que, a pesar de las posibles variaciones que la técnica podría puede sufrir en manos de los distintos analistas, los resultados del antibiograma serán siempre válidos si dicha técnica está perfectamente calibrada con los métodos standard.

EVITAR EL NOMBRE COMERCIAL

En cuanto a la denominación de los antibióticos, en la hora de emitir el informe se solicitó que se utilizara siempre el nombre genérico de los mismos y no el nombre comercial.

Finalmente, aceptando de forma abierta todas las enmiendas realizadas y por realizar para conseguir una adecuada estandarización del antibiograma por el método de difusión en agar, se propuso el empleo de discos los días factores que intervienen en el mismo: el fomo de la cepa, el inóculo, el medio de cultivo, el pH, la antibiosis, declarando que algunas de las dificultades que se presentan quedarían eliminadas si se encontrara una técnica que eliminara este fenómeno. Por ello se pidió que, además de la normalización de la técnica, se realizaran estudios para la mejor realización del antibiograma por difusión, se mantuviese abierta a la búsqueda de otras técnicas que dentro de su sencillez solucionen los problemas que presenta la técnica actual.

Por último, el profesor Domingo, presidente del comité organizador, agradeció a todos los asistentes su colaboración en los trabajos, así como a las autoridades por conferencias y compromisos, condiciendo con el deseo de que este I Simposio sirva un parámetro de trabajo, cuyo fruto se podrá apreciar en lo que ya se presenta como una necesidad: el II Simposio Internacional de Antibiogramas.

PRIMERA PIEDRA

EL I SIMPOSIO INTERNACIONAL DE ANTIBIOGRAMAS fue cerrado por el presidente del mismo, profesor don Pedro Domingo Sanjuán, quien, de modo elocuente, señaló que el fin que se propuso el Simposio había sido conseguido plenamente: ser un primer núcleo de trabajos y aportaciones sobre el cual sea posible un mayor desarrollo que permita alcanzar posteriormente técnicas comunes y normalizadas para este auxiliar tan valioso de la antibioterapia como es el antibiograma.

Señaló la necesidad de dedicación y entrega a esta labor de todos los especialistas, cada uno con sus medios, sus posibilidades y sus personales tendencias, en la seguridad de que en este esfuerzo "por tratar de llegar hasta donde sabemos que es nuestro deber llegar encontraremos el éxito".

Dio las gracias a los conferenciantes extranjeros, los profesores Garrod, Naumann y Kanazawa, miss Waterworth y M. Bouanchaud, a los comunicantes españoles, que han mostrado que en nuestro país se realiza una gran labor en este campo, y a todos los asistentes por el serio trabajo realizado en este I Simposio.

El doctor Domingo fue calurosamente aplaudido.

Realmente, el doctor Domingo expresó muy bien la esencia de este I SIMPOSIO INTERNACIONAL DE ANTIBIOGRAMAS, primera piedra colocada de un modo serio y científico de algo cuya construcción debe ser todavía terminada. Por eso, el doctor Domingo anunció también la posibilidad de que dentro de dos años se celebre el II Simposio sobre este mismo tema.

Font: biblioteca.tortosa.cat