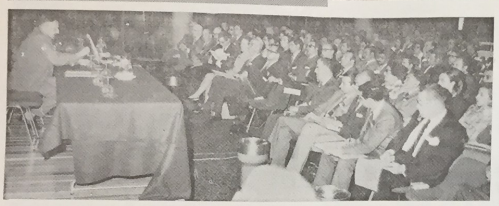
Simposio de ANTIBIOGRAMAS: TRABAJOS CIENTIFICOS

COMUNICACIONES



"EL ANTIBIOGRAMA EN LA PRACTICA DIARIA DEL LABORATORIO CLINICO. BASES PARA LA TECNICA"

Por el Prof. Emilio ZAPATERO

Catedrático de Microbiología e Higiene de la Facultad de Medicina. Valladolid

- **Necesidad de utilizar discos con concentraciones conocidas suministrados por una entidad oficial**

La comunicación del doctor Zapatero va dirigida a los pequeños laboratorios clínicos privados, propiedad de especialistas en análisis clínicos, a los que con frecuencia se les plantea el problema difícil de la práctica de un antibiograma. La técnica que se propone reúne las dos condiciones necesarias para este tipo de laboratorios: exactitud suficiente y sencillez de realización.

Se señala:

1.º **La necesidad de utilización de discos con concentraciones conocidas suministrados por una entidad oficial.**

2.º **Utilización del medio de corazón de buey como medio de cultivo, fácil de preparar y donde se desarrollan casi todas las bacterias y que no requiere ajuste de pH.**

3.º **Uso de placas de Petri de tamaño corriente y de fondo plano.**

4.º **Siembra con varilla de vidrio de manera homogénea.**

5.º **Colocación de los discos mediante un sencillo aparato para ello. Los discos deberán ser conservados al abrigo de la humedad en cartuchos especiales.**

6.º **El tiempo mínimo de difusión de un antibiótico es de dos horas a 20º (o temperatura ambiente).**

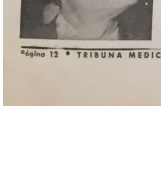
7.º **La incubación a 37º mínima es de dieciocho horas cuando puede hacerse una lectura provisional y de veinticuatro horas definitivamente.**

8.º **Necesidad de utilización de un disco único de antibiótico a concentración adecuada.**

El doctor Zapatero terminó haciendo unas consideraciones sobre la interpretación del antibiograma en estas condiciones.

Aplausos para una de las comunicaciones

"LAS CONCENTRACIONES CRITICAS. BASES PARA LA ESTANDARIZACION DEL ANTIBIOGRAMA"



Dr. BOUANCHAUD

Del Instituto Pasteur, de París

El trabajo del profesor Baudens es leído por su colaborador, ya que no pudo desplazarse desde París por motivos personales.

Entre los conceptos primordiales para la realización técnica de los antibiogramas, destaca el de las concentraciones críticas. Las bacterias son inhibidas en condiciones precisas por una concentración de antibióticos bien definida, llamada concentración mínima inhibitoria (C. M. I.). Por encima de un cierto valor de la C. M. I., las bacterias no son sensibles al tratamiento.

RESISTENCIA.—Se señalan dos conceptos de resistencia. Uno relativo, en el que un mutant: de una bacteria es más resistente que la cepa original si su C. M. I. difiere de modo significativo Este se llama mutante resistente. La segunda definición utilizable en el antibiograma es una definición absoluta, ya que ésta tiene por fin ayudar al clínico a escoger un antibiótico activo y no utilizar los productos inactivos. Se llama "cepa resistente" a la que no es sensible con ninguno de los tratamientos establecidos

Las cepas resistentes relativas no lo son desde el punto de vista del antibiograma. La resistencia absoluta se expresa por un valor establecido de la concentración mínima inhibitoria, y la concentración crítica es determinada después de consideraciones de orden farmacológico, teniendo en cuenta los valores hemotisulares y las consideraciones clínicas.

Toda bacteria que tenga una C. M. I. superior a la concentración crítica será considerada resistente. Estas concentraciones críticas son independientes de la técnica empleada.

Se estudia a continuación el método de difusión de discos, estudiando fundamentalmente los factores dependientes del medio de cultivo y de los discos. Se señala la gran heterogeneidad de las concentraciones en los discos según las diversas casas comerciales. Se señala el error de cargar los discos según una cantidad igual a la concentración sanguínea o humoral. Esta carga del disco sólo se puede hacer comparándola con un método de dilución, estudiando el comportamiento de diferentes discos sobre cantidades variables de cepas de C. M. I. conocido. Los resultados obtenidos—tamaño del halo de inhibición—deben ser elevados a curvas de concordancia o a curvas "standard", en las que luegan la C. M. I., el tamaño del halo y la carga del disco. La lectura más frecuente se hace del diámetro crítico, eligiendo el disco que dé un halo de unos diez milímetros para las cepas cuya C. M. I. se sitúe en el lugar del umbral de resistencia. Con las curvas de concordancia se determina exactamente el diámetro crítico por encima del cual la cepa es resistente.

Este sistema de lectura es el aceptado por el grupo internacional sobre el estudio de las pruebas de sensibilidad. El número de las categorías y de las concentraciones críticas a definir depende del antibiótico.

Aquellos que se usan en infecciones generales y de posología lita y de espectro pequeño, como los macrólidos pueden establecerse en dos categorías: sensibles y resistentes.

En aquellos otros que se usan en infecciones generales y urinarias, cuya posología se puede elevar, pero presenta cierto límite por su toxicidad, hay que introducir una categoría intermedia y hay que definir dos concentraciones críticas.

Aquellos antibióticos cuya débil toxicidad permite emplear dosis elevadas requieren cuatro categorías: sensible, resistente, dosis muy elevadas y tratamiento local.

De todas formas, es necesario un acuerdo internacional para definir las concentraciones críticas aplicables a todos los antibióticos.

En la discusión participaron los doctores Gomez Lus, Zapatero, Bouanchaud, Moreno López Holguera, Reparaz, y versó sobre aspectos técnicos concretos.

"ANTIBIOGRAMA: ESTUDIO COMPARATIVO DEL MEDIO DE LOS TRES DISCOS Y EL DEL DISCO UNICO DE CONCENTRACION MAXIMA"

- **Destaca la gran discrepancia observada en la resistencia de los gérmenes según el método empleado**

Por el Prof. Rafael GOMEZ LUS

Catedrático de Microbiología e Higiene de la Facultad de Medicina. Zaragoza

En los últimos años, de los dos métodos del antibiograma (disco-placa) se ha utilizado preferentemente el de disco único, de concentración máxima o media, expresando los resultados en función del halo de inhibición. El método de los discos múltiples, de concentraciones variables, se ha usado menos porque es más laborioso y, además, presenta una menor correlación con la técnica de dilución en tubos. Por otra parte, como se comprobó en una encuesta realizada en 1964, dirigida por el doctor Isenberg (Hospital Judío de Long Island, Nueva York), y en la que participamos 88 bacteriólogos de cuatro continentes, los resultados son reproducibles, siempre que se estandarice el inóculo y la concentración de los discos. En esta comunicación se ha estudiado comparativamente con los dos métodos, de discos único y múltiple, la sensibilidad de 200 cepas de origen clínico, pertenecientes a las especies Staphylococcus aureus (50) y Pseudomonas aeruginosa (50). Los antibióticos ensayados fueron penicilina (2, 5 y 10 unidades), colimicina (2, 5 y 10 mcg.) y tetraciclina (5, 10 y 20 mcg.).

La técnica seguida fue la siguiente: 1. Siembra de 8-10 colonias de cultivo original en 3 c. c. de caldo triptcase soja. 2. Incubación a 37º durante tres-cuatro horas, obteniéndose una concentración de 10⁸ a 10⁹ microorganismos por centímetro cúbico. 3. Se mezcla el cultivo en caldo con 20 c. c. de agar Mueller-Hinton y se vierte en una placa de Petri de 12 cm. 4. A los cinco minutos de haberse solidificado el agar se colocan los discos, nueve por placa, y se incuba a 37º durante 18 horas. 5. Lectura de resultados.

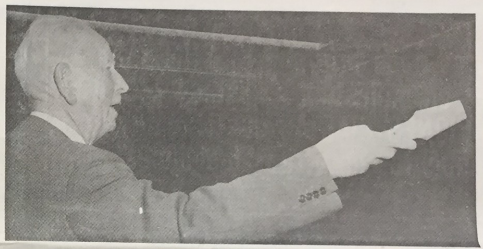
Destaca la gran discrepancia observada en la resistencia de los gérmenes según el método empleado. Así el Staphilococcus aureus es resistente a la penicilina en el 84 por 100 con la técnica de disco único, y sólo en el 50 por 100 con los discos múltiples. Asimismo, la resistencia a la tetraciclina con el primer método es del 42 por 100 y del 0 por 100 con el segundo. Sin embargo, las diferencias son menores con Pseudomonas aeruginosa, cuya sensibilidad es similar, tanto se efectúe con un método u otro. Si agrupamos la sensibilidad a la tetraciclina, hallamos una discrepancia absoluta del 20 por 100 respecto al Staphilococcus aureus, del 34 por 100 con E. Coli, 28 por 100 con Klebsiella y 6 por 100 con Pseudomonas aeruginosa. Esta discrepancia significa que con el método de disco único la valoración es resistente, y con el disco múltiple, sensible. La discrepancia es menor con la penicilina y la colimicina.

Simposio de ANTIBIOGRAMAS: TRABAJOS CIENTIFICOS

- **Es necesario un acuerdo internacional para definir las concentraciones críticas aplicables a todos los antibióticos**

SEGUNDA SESION DE TRABAJO

Moderador: Prof. Rafael GOMEZ LUS



- **El aislamiento de la especie patógena es un dato fundamental a la hora de la realización de un antibiograma procedente de un cultivo puro**
- **Deben perfeccionarse los métodos, pero, al mismo tiempo, simplificarlos y que se hagan practicables para cualquier laboratorio**

El profesor Garrod en un momento de su conferencia, en la que trató de determinar los casos en que se precisa la práctica del antibiograma y expuso las consideraciones para la realización de pruebas de sensibilidad

"CONSIDERACIONES GENERALES PARA LA REALIZACION DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD"

Por el Prof. L. P. GARROD

Se señala, en primer lugar, que los antibióticos son innecesarios para el tratamiento de infecciones triviales, y, por tanto, no deben realizarse pruebas de sensibilidad en estos procesos. Se trata, sobre todo, de infecciones de las vías respiratorias, en las que se aísla una flora normal, y es innecesario informar sobre su sensibilidad a los antibióticos.

Existe, sin embargo, una excepción en la flora de la cavidad bucal en enfermos predispuestos a endocarditis bacteriana en los que se va a realizar una extracción dentaria. Durante el tratamiento penicilínico, las cepas sensibles del estreptococo desaparecen y aparecen otras resistentes. Si se realiza la extracción dentaria, puede ser necesario administrar otro antibiótico para impedir el paso de estos gérmenes a la sangre.

El estudio del cultivo primario puede contener más de una especie como causante de la infección, aunque la responsable sea solamente una de ellas. Si las pruebas de sensibilidad se hacen con la especie que no es directamente responsable, los resultados no tienen valor y pueden desorientar al clínico.

El aislamiento de la especie patógena es, pues, un dato fundamental a la hora de la realización de un antibiograma procedente de un cultivo puro.

El número de antibióticos utilizados para las pruebas de sensibilidad debe ser limitado. 1) Deben eliminarse los discos que contienen dos antibióticos. 2) Deben probarse sensibilidades a una sola droga (por ejemplo, sulfonamidas o tetraciclinas), ya que la resistencia cruzada entre ellas es prácticamente la norma. 3) Deben eliminarse aquellos antibióticos tóxicos no susceptibles de administración sistemática (bacitracina, etc.). Existe otro grupo que no puede ser representado por un solo antibiótico—estreptomicina, kanamicina, gentamicina, y también con los macrólidos y las penicilinas de amplio espectro deben probarse separadamente.

Elección de los antibióticos

Se señala la resistencia de los estreptococos a la meticilina y otras penicilinas isoxazólicas y el problema que representan a la hora de determinar la actividad.

La elección de los antibióticos, pose a la práctica del antibiograma, depende de la identidad del organismo aislado. Para el **estreptococo hemolítico**, en el caso en que esté contraindicada la penicilina, debe probarse la sensibilidad a la eritromicina, oleandomicina, lincomicina, tetraciclina. **El estafilococo aureus** debe ponerse frente a la penicilina, meticilina, tetraciclina, rifamicina, eritromicina, lincomicina, ácido fusídico y kanamicina. Frente a los gramhemophilus influenzae deben ensayarse la ampicilina, tetraciclina, eritromicina, estreptomicina y cloranfenicol, y frente a las salmonellas y shiguellas, ampicilina, tetraciclina, estreptomicina, cloranfenicol, gentamicina y colistina.

En cuanto al e. coli, proteus, klebsiellas, deben ensayarse la ampicilina, cefaloridina, tetraciclina, estreptomicina, cloranfenicol, kanamicina, gentamicina, carbenicilina y colistina.

Frente a las pseudomonas, debe probarse la estreptomicina, kanamicina, gentamicina, carbenicilina y colistina.

Existen indicaciones para métodos especiales, tales como la práctica de pruebas de sensibilidad a las asociaciones de antibióticos, y no tienen en cuenta, además, los métodos de dilución en varios tubos con concentraciones diversas de antibióticos, que se inoculan con el organismo problema y los resultos se expresan en términos de M. I. C.

Las pruebas practicadas en cultivos primarios deben realizarse si los "tests" descritos no pueden efectuarse. Debe realizarse una siembra, de modo que se obtenga un crecimiento homogéneo; se pueden aplicar después los discos, y si el crecimiento es puro, los resultados son válidos. Sin embargo, pueden aparecer gérmenes secundarios que crecen en las zonas de inhibición. Se describe el método de Stokes, en el que se compara la sensibilidad del germen problema con otro de sensibilidad conocida.

Como conclusión, se propone que se perfeccionen los métodos, pero que al mismo tiempo se simplifiquen y se hagan practicables para cualquier laboratorio.

COMUNICACIONES

"EL ANTIBIOGRAMA ESTAFILOCOCICO Y FAGOTIPOS"

Por el Prof. Vicente SANCHIS-BAYARRI

Catedrático de Microbiología e Higiene de la Facultad de Medicina. Valencia

L autor expresa los resultados obtenidos en un estudio epidemiológico realizado con cepas procedentes de epidemias estafilocócicas hospitalarias de la región valenciana. Se indica la diversidad de tipos de estafilococos cuya individualidad se ha señalado por los diversos fagotipos a los que son sensibles. Se señala que el antibiograma de las cepas ensayadas no es siempre igual, aunque pertenezcan al mismo grupo fagotipo. Se señala que sólo con un antibiótico han mostrado todas las cepas estafilocócicas la misma sensibilidad, aunque los fagotipos eran distintos. Con los estafilococos lisables por los fagos D77 y 85, sólo al cloranfenicol y la novobiocina muestran la misma actividad.