

SECCION LABORATORIO CLINICO

Efectividad *in Vitro* de Algunos Antibióticos y Quimioterápicos y su Interpretación.

LUIS E. SOLANO S.*

En 1960 presentamos las conclusiones sobre la efectividad *in vitro* de varios antibióticos y quimioterápicos basándonos en el estudio de 250 cepas de cultivos puros, aislados de diferentes orígenes e indicábamos el aumento de resistencia de las cepas hacia muchos de los antibióticos y quimioterápicos más usados (6).

Presentamos ahora un estudio similar basado en 360 cepas a las que se les practicó pruebas de sensibilidad utilizando el método de discos en dos concentraciones diferentes sobre tripticasa agar como medio de cultivo de los siguientes antibióticos y quimioterápicos.

Penicilina
Estreptomina
Clortetraciclina (aureomicina)
Oxitetraciclina (terramicina)
Tetraciclina (tetracina, acromicina, panmicina, policiclina, Steclina)
Cloranfenicol (cloromicentina)
Eritromicina (iloticina, eritrocina)
Novobiocina (albamicina, cathomycin)
Neomicina (mycifradin)
Oleandomicina (matromicina)
Polimixina B (aerosporina)
Colimicina (colistina)
Aminosidina (gabromicina)
Rifamicina (rifocyna)
Kanamycina (nikamycina, kantrex)
Mandelato methenamina (mandelamina)
Nitrofurantoina (furadantina) y
Novobiocina + tetraciclina (albamycin-T)

Los orígenes y frecuencia de hallazgo de cada una de estas cepas pueden observarse en el Cuadro N° 1.

En los gráficos de I a VII representamos la sensibilidad-resistencia de cada grupo de microorganismos a los antibióticos enumerados. En el término “% de sensibilidad” se han incluido las cepas encontradas como moderadamente sensibles.

* Jefe Laboratorio Clínico, Hospital Central C.C. S.S.

ORIGEN Y NUMERO TOTAL DE CEPAS AISLADAS

ORIGEN	GRUPO DE MICROORGANISMOS AISLADOS							
	Micrococcus pyogenes var. aureus*	Streptococcus Sp. hemolyticus	Escherichia coli	Aerobacter sp.	Klebsiella sp.	Proteus sp.	Pseudomonas sp.	
Orina	12	2	84	9	39	6	5	
L.C.R.	5	2	1		4			
Garganta	47	3	22	5	19	27	6	
Secreciones	13		1		2			
Lesiones piel	13		1		1	1		
Abcesos			3		3			
Líquido pleural	2				15			
Espuito	3	2	1					
Sangre								

* Con prueba de coagulasa positiva.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Puede definirse a los antibióticos como sustancias químicas de origen microbiano, capaces de inhibir el crecimiento o interrumpir los procesos metabólicos de otros microorganismos. Esta definición, comúnmente aceptada es de utilidad aun cuando algunos se han obtenido de otras fuentes, así como sintéticamente.

En los gráficos anteriores puede observarse los siguientes resultados in vitro:

PENICILINA: Resulta eficaz según pruebas de laboratorio sólo para el 28.5% de las cepas de *Streptococcus* aisladas. Estos datos no están de acuerdo con los resultados obtenidos en la clínica debido a algunos factores que luego se enunciarán así como por la pérdida de potencia en los discos impregnados con este antibiótico en lapsos más o menos cortos.

DEHIDROESTREPTOMICINA: Son resistentes a este antibiótico todas las cepas encontradas de *Streptococcus* y *Pseudomonas* y en un grado mínimo (3.4% al 8.8%) sensibles las cepas de *Micrococcus*, *Escherichia*, *Aerobacter*, *Klebsiella* y *Proteus*.

TETRACICLINAS: La clortetraciclina, oxitetraciclina y tetraciclina se comportan en las pruebas in vitro en forma igual. En las pruebas presentadas son totalmente ineficaces para *Proteus* y *Pseudomonas* y sensibles el resto de las cepas en porcentajes relativamente bajos, que fluctúan desde el 12.3% para *Escherichia* hasta el 28.5% para *Streptococcus*.

CLORANFENICOL: Es uno de los antibióticos llamados de amplio espectro. En nuestras pruebas resultan resistentes las cepas de *Pseudomonas* pero acusan sensibilidad el 40% de los *Micrococcus* y *Klebsiella*; el 85.7% de los *Streptococcus*, el 37.1% y 35.7% de las cepas de *Escherichia* y *Aerobacter* y *Proteus* respectivamente.

ERITROMICINA: Como era de esperar son resistentes todas las cepas Gram negativo pero es eficaz para *Micrococcus* en el 61.0% y en el 100% para *Streptococcus*.

NOVOBIOCINA: Se aíslan cepas sensibles de *Micrococcus* en el 61.0% y en el 100% de los *Streptococcus*. Para la flora Gram-negativa resulta eficaz en el 15% de las *Escherichia*; en el 28.5% de *Aerobacter*; solamente en el 4.6% para *Klebsiella* e inefectivo para *Proteus* y *Pseudomonas*.

NEOMICINA: Resultan sensibles el 58.9% de las cepas de *Micrococcus*; el 42.8% de las de *Streptococcus*; el 23.8% de las de *Escherichia*; el 42.8% de las de *Aerobacter*; el 9.3% de las de *Klebsiella*; el 17.1% de las cepas de *Proteus* y el 8.3% de las de *Pseudomonas*.

OLEANDOMICINA: Se obtiene un 48.4% de efectividad para las cepas de *Micrococcus* y 100% para las de *Streptococcus*; resulta totalmente ineficaz para la flora Gram-negativa.

POLIMIXINA B: Son sensibles el 2.1% de las cepas de *Micrococcus* y es ineficaz para las de *Streptococcus*. La flora Gram-negativa es sensible en el 15.4% las cepas de *Escherichia*; el 14.2% las cepas de *Aerobacter*; en el 4.6% las de *Klebsiella*.

Son resistentes las cepas de *Proteus* y sensibles el 16.6% de aquellas de *Pseudomonas* aisladas.

RIFAMICINA: Este antibiótico acusa eficacia para el 41.1% de las cepas de *Micrococcus* aisladas. No se probó para *Streptococcus* pero las pruebas indican sensibilidad de *Escherichia*, *Aerobacter* y *Klebsiella* en porcentajes muy bajos: 1.6%, 14.2% y 1.6% respectivamente. Todas las cepas de *Proteus* y *Pseudomonas* fueron resistentes.

AMINOSIDINA: Resulta este nuevo antibiótico uno de los más eficaces tanto para la flora Gram-positiva como Gram-negativa. Acusa el 90.5% de efectividad contra *Micrococcus* y el 71.4% para *Streptococcus*. Las cepas de *Escherichia* son sensibles en el 74.3%; las de *Aerobacter* en el 64.2%; las de *Klebsiella* en el 79.6% y 82.8% y 58.3% respectivamente para *Proteus* y *Pseudomonas*.

BACITRACINA: Aparece como ineficaz para la flora Gram-negativa (porcentajes de 0.0 a 7.1%) pero las cepas de *Micrococcus* son sensibles en el 43.1% y la de *Streptococcus* en el 71.4%.

KANAMICINA: Resulta este antibiótico bastante efectivo tanto para la flora Gram-positiva como la Gram-negativa de prueba.

Los *Micrococcus* son sensibles en el 93.3%; los *Streptococcus* en el 42.8% y *Escherichia* en el 57.1%; no se le practicó pruebas a las cepas de *Aerobacter* y *Klebsiella*, pero es eficaz para el 75.0% de las cepas de *Proteus*.

COLIMICINA: No se logró efectuar la prueba a la totalidad de las cepas. Es ineficaz para cocos Gram-positivo y resulta de efecto marcado sobre la flora Gram-negativa: 59.5% para las cepas de *Escherichia*; el 50.0% para las de *Aerobacter*; el 55.8% para *Klebsiella*; 14.2% para *Proteus* y 25.5% para *Pseudomonas*.

MANDELATO DE METHENAMINA: Este preparado, de aplicación limitada a infecciones del tracto genito-urinario es en las pruebas in vitro efectuadas, efectivo para el 74.7% de los *Micrococcus*; el 71.4% de los *Streptococcus*; el 100% para *Escherichia*; el 85.7% para *Aerobacter* y el 55.8% para *Klebsiella*; las cepas de *Proteus* son sensibles en el 77.1% y las de *Pseudomonas* en el 41.6%.

NITROFURANTOINA: Este otro quimioterápico indicado en infecciones del tracto genito urinario resulta eficaz para el 44.2% de las cepas de *Micrococcus*; el 57.1% de las de *Streptococcus*; el 67.5% de las de *Escherichia*; el 21.4% para las de *Aerobacter* y el 26.7% para las de *Klebsiella*. Solamente el 5.7% para *Proteus* y el 8.3% para *Pseudomonas*.

ALBAMYCIN-T: Este patentado compuesto de Novobiocina y tetraciclina es efectivo para el 58.9% de las cepas de *Micrococcus* y el 100% de las de *Streptococcus*. Estos porcentajes son bastantes parecidos a los encontrados para Novobiocina actuando sola.

Las cepas de *Escherichia* son sensibles en el 20.3%; las de *Aerobacter* en el 28.5%; las de *Klebsiella* en el 32.5% y las de *Pseudomonas* en el 16.6%.

Todas las cepas de *Proteus* resultan resistentes a esta combinación. Solamente con base a lo observado en las cepas de *Pseudomonas* y *Klebsiella* se logra deducir una mayor acción de estos dos antibióticos actuando juntos que en forma separada.

Si comparamos los resultados obtenidos con aquellos presentados en el año 1960 (6), podemos deducir los siguientes cambios in vitro para cada microorganismo**.

MICROCOCCUS PYOGENES VAR. AUREUS

Se puede apreciar aumento de resistencia para tetraciclinas; cloranfenicol; eritromicina, novobiocina, neomicina y nitrofurantoina. En cambio, la oleandomicina y la mandelamina aparecen ahora como más efectivos para este tipo de microorganismos.

Antibiótico	% Sensibilidad 1960	% Sensibilidad 1964
Tetraciclinas	33.8%	20.0%
Cloranfenicol	59.0%	40.0%
Eritromicina	76.0%	61.0%
Novobiocina	81.6%	61.0%
Neomicina	66.1%	58.9%
Nitrofurantoina	83.0%	44.2%
Oleandomicina	19.7%	48.4%
Mandelamina	64.7%	74.7%

STREPTOCOCCUS HEMOLYTICUS SP.

Se observa aumento de resistencia para las tetraciclinas y nitrofurantoina y mayor efectividad de la penicilina, cloranfenicol, eritromicina, neomicina y oleandomicina. Los resultados para este microorganismo no son muy comparables por cuanto el número de cepas estudiadas en el presente son muy pocas (9 en total).

Antibiótico	% Sensibilidad 1960	% Sensibilidad 1964
Tetraciclinas	40.6%	28.5%
Nitrofurantoina	81.2%	57.1%
Penicilina	9.3%	28.5%
Cloranfenicol	53.1%	85.7%
Eritromicina	65.6%	100.0%
Novobiocina	75.0%	100.0%
Neomicina	28.1%	42.8%
Oleandomicina	37.5%	100.0%

** En la presentación de 1960 no se practicó pruebas con los siguientes antibióticos: rifomicina, aminosidina, bacitracina, kanamicina y colimicina.

ESCHERICHIA COLI

Puede deducirse un ligero aumento de resistencia para las tetraciclinas y cloranfenicol así como para novobiocina, neomicina y nitrofurantoina y un ligero aumento de efectividad de la dihidroestreptomina para este microorganismo.

Antibiótico	% Sensibilidad 1960	% Sensibilidad 1964
Tetraciclinas	18.9%	12.3%
Cloranfenicol	41.7%	37.1%
Novobiocina	29.1%	15.0%
Neomicina	31.6%	23.8%
Nitrofurantoina	51.9%	20.3%
Dihidroestreptomina	0.0%	8.8%

KLEBSIELLA SP.

Se aprecia aumento de resistencia para tetraciclinas, cloranfenicol, novobiocina, neomicina, mandelamina y nitrofurantoina.

Antibiótico	% Sensibilidad 1960	% Sensibilidad 1964
Tetraciclinas	41.6%	13.9%
Cloranfenicol	54.1%	40.6%
Novobiocina	20.8%	4.6%
Neomicina	29.1%	9.3%
Mandelamina	79.0%	55.8%
Nitrofurantoina	33.3%	26.7%

PROTEUS SP.

Se observa aumento de resistencia para tetraciclinas, cloranfenicol, novobiocina, neomicina y nitrofurantoina.

Antibiótico	% Sensibilidad 1960	% Sensibilidad 1964
Tetraciclinas	6.4%	0.0%
Cloranfenicol	48.3%	35.7%
Novobiocina	45.1%	0.0%
Neomicina	41.9%	17.1%
Nitrofurantoina	22.5%	5.7%

PSEUDOMONAS SP.

Puede observarse aumento de resistencia para cloranfenicol, novobiocina, neomicina, polimixina B, mandelamina y nitrofurantoina. Tanto las cepas aisladas en 1960 como las que ahora presentamos, son resistentes a las tetraciclinas.

Antibiótico	% Sensibilidad 1960	% Sensibilidad 1964
Cloranfenicol	23.0%	0.0%
Novobiocina	15.3%	0.0%
Neomicina	15.3%	8.3%
Polimixina B	23.0%	16.6%
Mandelamina	61.5%	41.6%

En general puede deducirse, que aunque para alguna flora Gram-positiva parece haber aumentado la efectividad de algunos antibióticos, especialmente oleandomicina, se aprecia un marcado aumento de resistencia de los bacilos Gram-negativo a las tetraciclinas, cloranfenicol, novobiocina, neomicina y nitrofurantoina.

INTERPRETACION DE LAS PRUEBAS IN VITRO

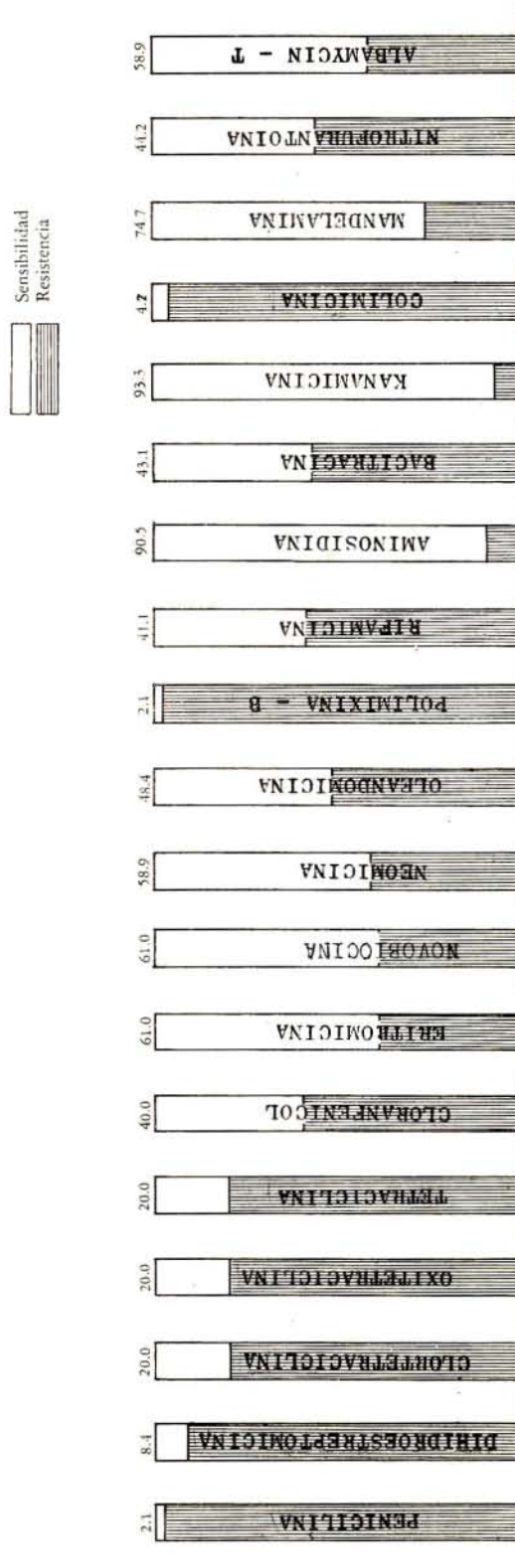
Los resultados que proporciona el Laboratorio, deben ser cuidadosamente interpretados. Se acepta en general que las pruebas de sensibilidad a los antibióticos in vitro, son útiles y sirven de guía en la escogencia del agente antimicrobiano. El método más difundido es el de discos, tabletas o papeles de filtro impregnados con el antibiótico objeto de estudio, el cual constituye un procedimiento cualitativo, indicando solamente sensibilidad o resistencia, pero no la correlación con la dosis o la cantidad necesaria para mantener un nivel sanguíneo adecuado, y por lo general, acusa mayor sensibilidad que la técnica por dilución en tubo de cantidades conocidas de antibióticos.

De esta forma, repetimos, el método del disco es recomendable como una guía terapéutica, pero su aplicación correcta o los resultados esperados dependen de múltiples factores así como del tipo de enfermedad, fisiología del paciente, localización de la infección y muy especialmente del "contacto" entre la droga y el microorganismo causante. El médico debe además considerar la efectividad del antibiótico, costo, facilidad de administración, aceptación del paciente, posibilidad de reacciones asociadas, y desarrollo de resistencia in vivo. Favorece la interpretación de estas pruebas *in vitro* aplicando discos, el hecho de que comercialmente estos son fabricados con cantidades relativamente pequeñas de los antibióticos en estudio.

Damos a conocer los resultados obtenidos in vitro con 360 cepas. Estos pueden servir únicamente como punto de referencia, ya que los datos anotados pueden fallar en su aplicación clínica por las siguientes razones:

GRAFICO I

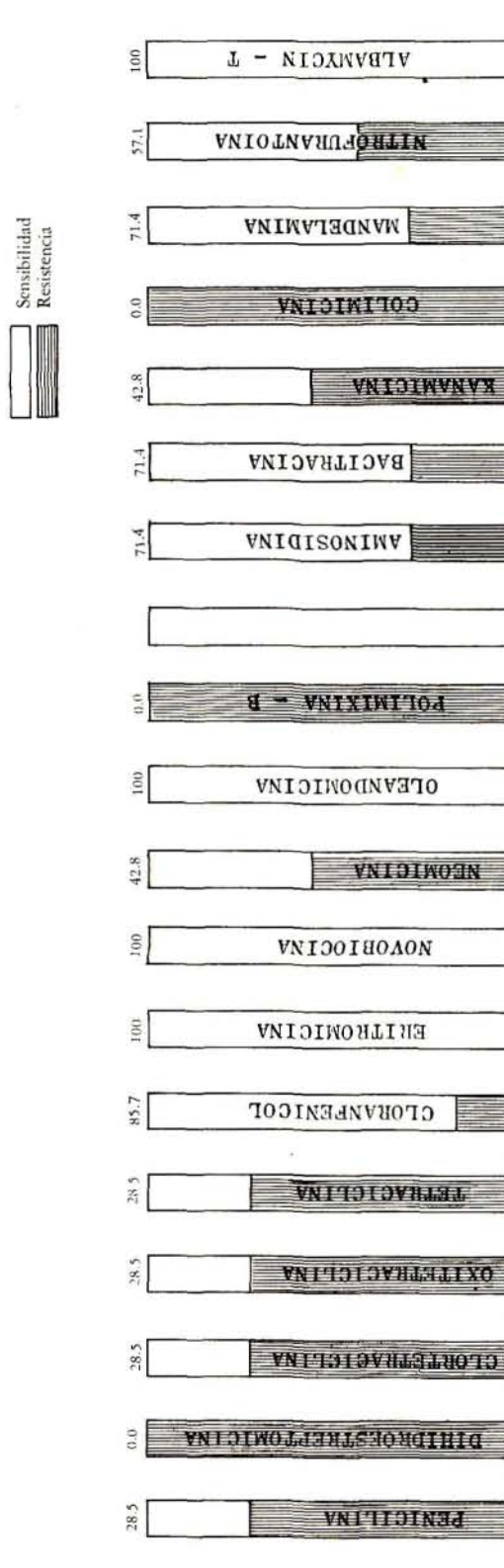
PORCENTAJE DE SENSIBILIDAD DE MICROCOCCUS PYOGENES VAR. AUREUS A LOS ANTIBIOTICOS Y QUIMIOTERAPICOS MAS COMUNES BASADO EN 93 CEPAS AISLADAS



Los datos sobre rifamicina se basan únicamente en 32 cepas.
Los datos sobre kanamicina se basan únicamente en 35 cepas.

GRAFICO II

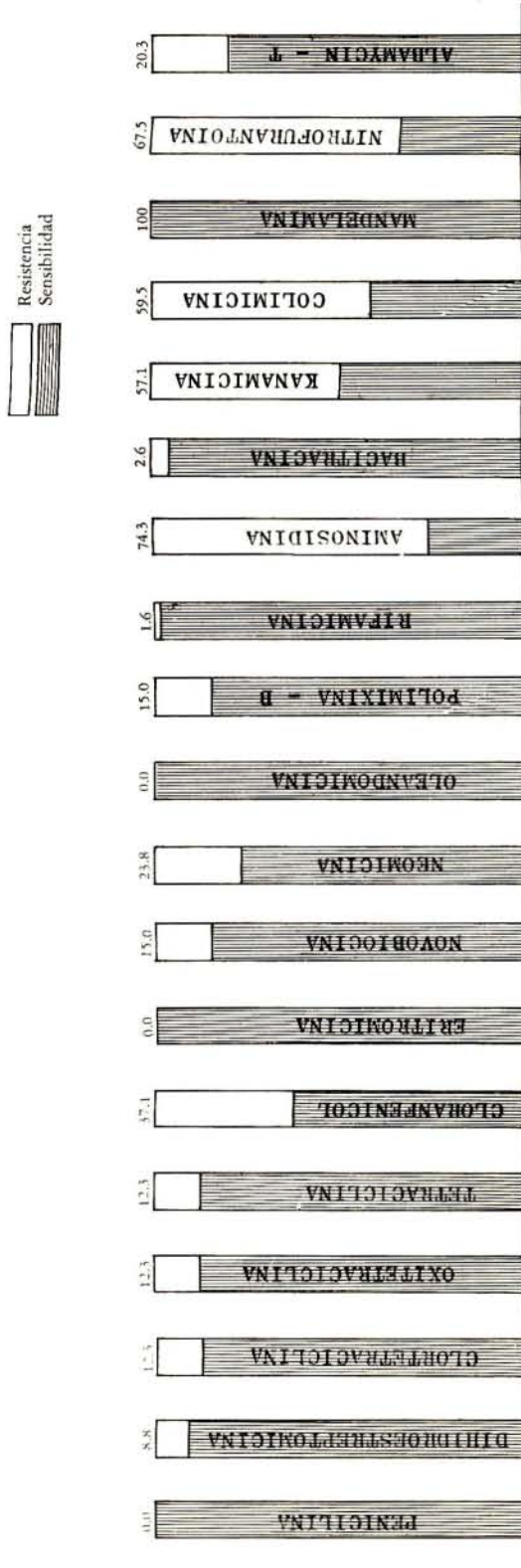
PORCENTAJE DE SENSIBILIDAD DE STREPTOCOCCUS HEMOLYTICUS A LOS ANTIBIOTICOS Y QUIMIOTERAPEUTICOS MAS COMUNES BASADO EN 9 CEPAS AISLADAS



No se practicó pruebas a rifamicina.

GRAFICO III

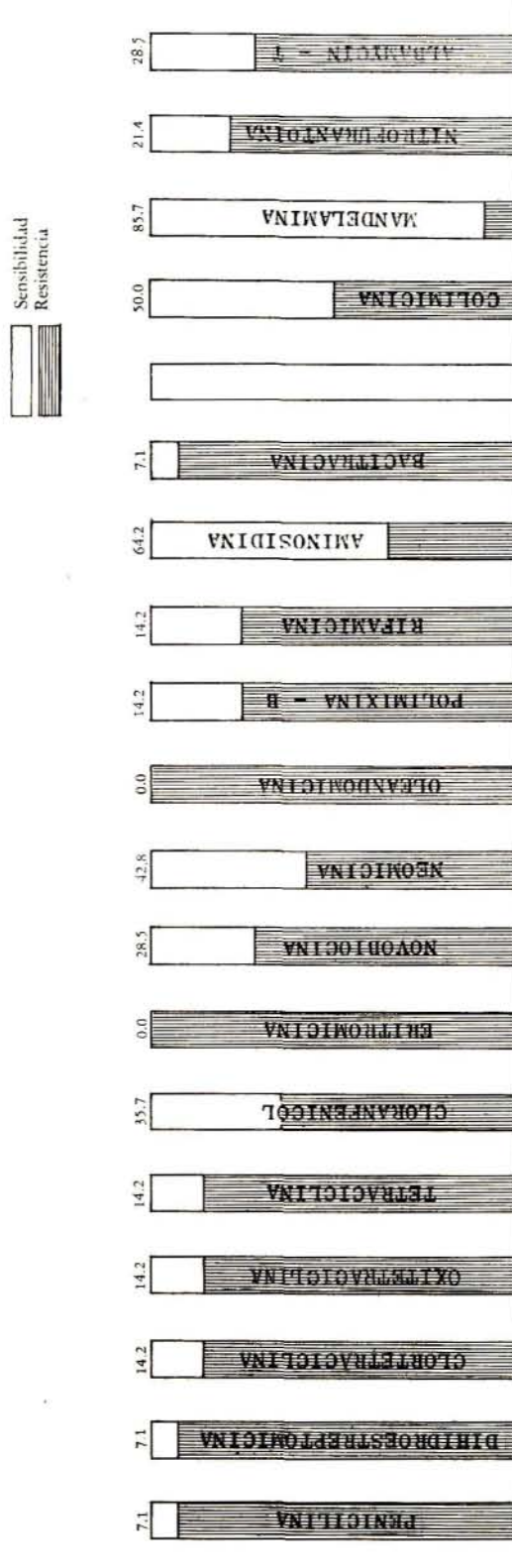
FORCENTAJE DE SENSIBILIDAD DE ESCHERICHIA COLI A LOS ANTIBIOTICOS Y QUIMOTERICOS MAS COMUNES BASADO EN 113 CEPAS AISLADAS



Los datos sobre Rifamicina se basan únicamente en 60 cepas.
 Los datos sobre colimicina se basan únicamente en 42 cepas.
 Los datos sobre Kanamicina se basan únicamente en 25 cepas.

GRAFICO IV

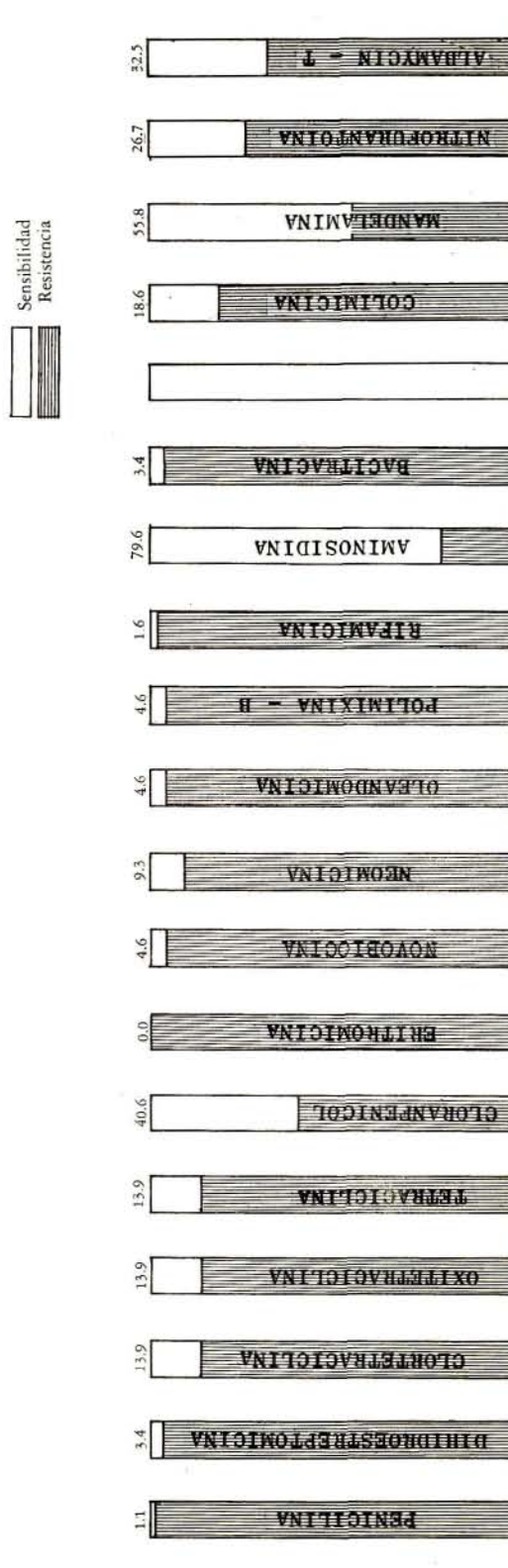
PORCENTAJE DE SENSIBILIDAD DE AEROBACTER SP A LOS ANTIBIOTICOS Y QUIMOTERAPICOS MAS COMUNES BASADO EN 14 CEPAS AISLADAS



No se practicó pruebas utilizando kanamicina.

GRAFICO V

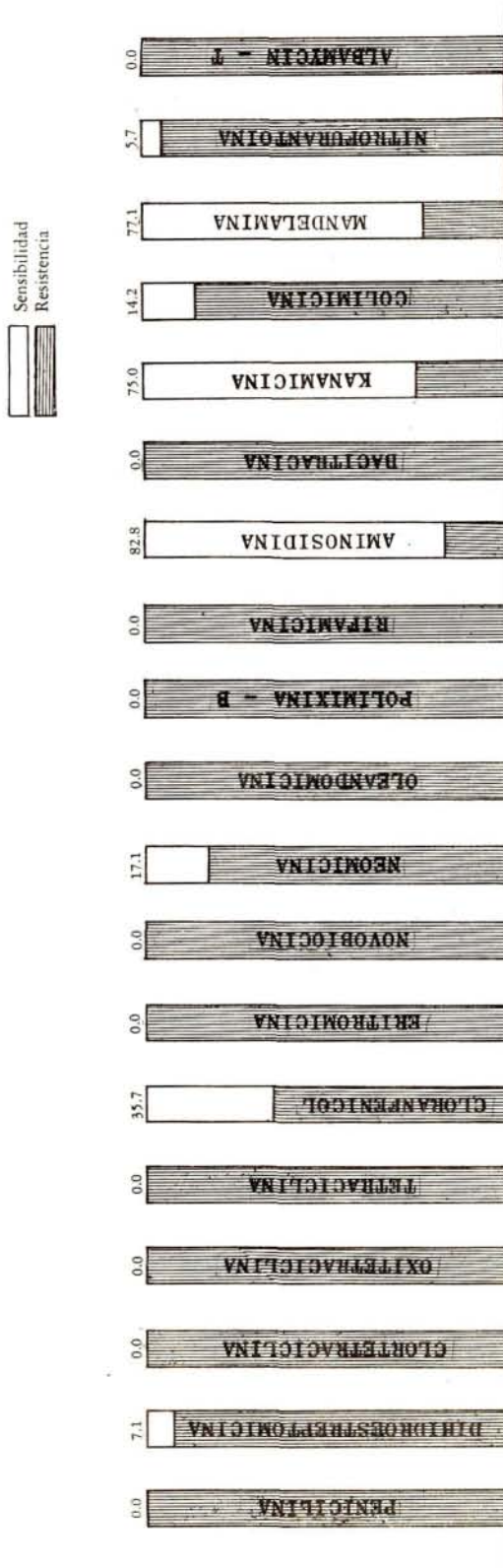
FORCENTAJE DE SENSIBILIDAD DE KLEBSIELLA SP A LOS ANTI-BIOTICOS Y QUIMIOTERICOS MAS COMUNES BASADO EN 83 CEPAS AISLADAS



No se practicó pruebas con kanamicina.

GRAFICO VI

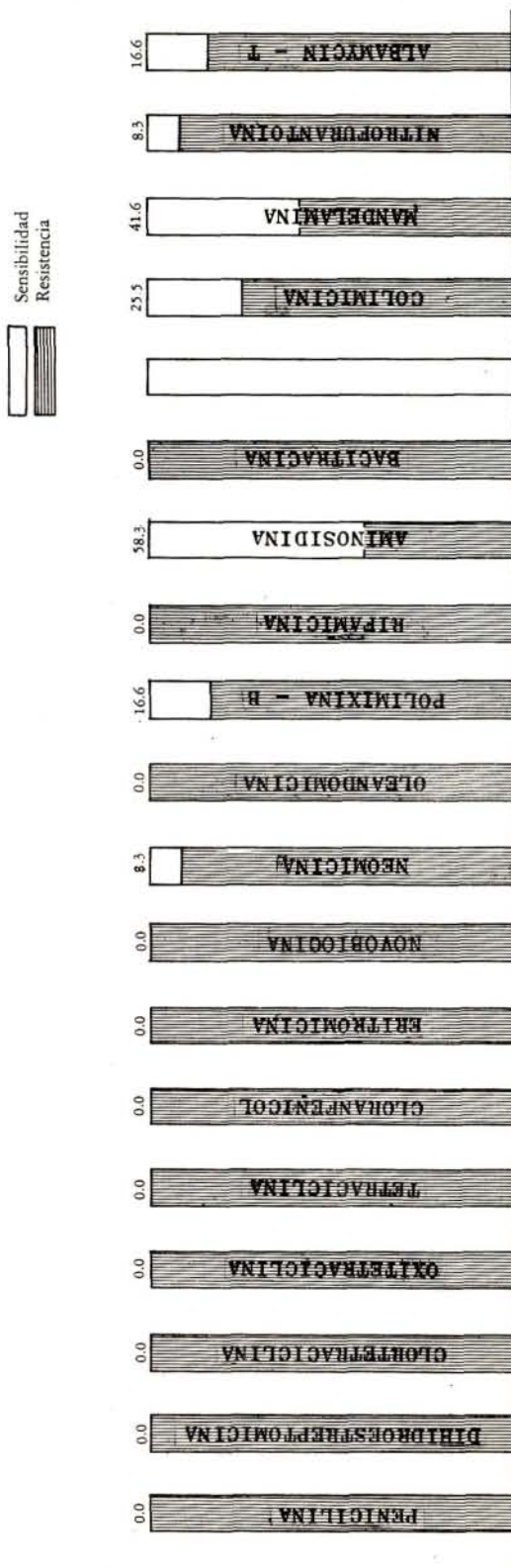
PORCENTAJE DE SENSIBILIDAD DE PROTEUS SP. A LOS ANTIBIOTICOS Y QUIMIOTERAPICOS MAS COMUNES BASADO EN 34 CEPAS AISLADAS



Los datos sobre aminosidina se basan únicamente sobre 20 cepas.
 Los datos sobre kanamicina se basan únicamente sobre 20 cepas.
 Los datos sobre rifamicina se basan únicamente sobre 20 cepas.
 Los datos sobre colimicina se basan únicamente sobre 20 cepas.

GRAFICO VII

PORCENTAJE DE SENSIBILIDAD DE PSEUDOMONAS SP. A LOS ANTIBIOTICOS Y QUIMIOTERICOS MAS COMUNES BASADO EN 12 CEPAS AISLADAS



No se efectuó pruebas a kanamicina. Los datos sobre colimicina se basan únicamente en 8 cepas.

I.—EL LABORATORIO INFORMA SENSIBILIDAD A DETERMINADOS ANTIBIOTICOS, PERO NO HAY RESPUESTA ADECUADA AL SER APLICADOS.

a) Presencia de más de un microorganismo patógeno, pero en el laboratorio se logró aislar solamente uno y la prueba de sensibilidad se le hace a esta cepa. El patógeno no aislado podría ser precisamente el más virulento. Por lo anterior, deben extremarse las observaciones cuidadosas de los preparados de cultivos, incluyendo la separación de diferentes cepas mediante discos impregnados de antibióticos como Neomycina, Bacitracina o Kanamycina.

b) Aislamiento y prueba de sensibilidad de un microorganismo "equivocado" como podría ser un patógeno o un contaminante.

c) Crecimiento de una mutante resistente, la que no estaba presente en el primer ploteo y por lo tanto no tomada en cuenta en la selección de las colonias.

d) La observación in vitro es correcta, pero el microorganismo causante de la infección se protege de la droga por la acción o presencia de un microorganismo de infección secundaria, el cual puede neutralizarla mediante la producción de ciertos metabolitos, como la penicilinasa.

e) Selección incorrecta de la droga, bien por la naturaleza de la enfermedad o por propiedades farmacológicas de la misma.

f) Otros factores, ajenos al control del Laboratorio tales como dosis inadecuada, vía incorrecta de aplicación, barreras mecánicas o anatómicas a la penetración del antibiótico, crecimiento de variedades mutantes, concentración de la droga en los sitios en que el microorganismo se multiplica y sustitución de la flora original susceptible por otra resistente.

2.—EL LABORATORIO REPORTA RESISTENCIA A DETERMINADO ANTIBIOTICO, PERO LA INFECCION CEDE CON LA APLICACION DEL MISMO.

Lo anterior puede deberse a:

a) Edad de los cultivos de prueba, uso de inóculos fuertes o materiales sin diluir, hidratación, composición y pH del medio de cultivo usado, potencial de oxi-reducción así como presencia de algunas sustancias inhibitorias como sangre, suero o peptonas. Tiempo y temperatura de incubación.

b) Lectura tardía de las placas. Como muchos de los antibióticos a probar son bacteriostáticos más que bactericidas, puede aparecer tardíamente crecimiento dentro del halo de inhibición primario.

c) Uso de medios de cultivo que contengan menos del 0.4% de cloruro de sodio.

d) Uso de discos de sólo una concentración baja.

e) Pérdida de actividad del antibiótico en el disco de prueba. En este factor influyen prolongado almacenamiento, ausencia de refrigeración o uso de discos de fcos. que se han mantenido abiertos durante algún tiempo.

f) Reporte de un microorganismo "equivocado" en aislamiento primario porque el verdadero patógeno no se aisló por iniciación temprana de la terapia.

g) Reporte correcto de resistencia, pero el paciente se recupera sin la aplicación terapéutica o con otro tipo de terapia diferente a la indicada por la prueba de sensibilidad.

h) Grado de difusión de los antibióticos en los medios de cultivo utilizados.

Las tetraciclinas y la polimixina B difunden poco, de ahí que pueda reportarse erróneamente falsas resistencias por no lograrse observar una amplia zona de inhibición. En cambio, la estreptomomicina y el cloranfenicol difunden ampliamente dentro del medio que se utilice para la prueba y se reportan con mayor frecuencia como sensibles, los microorganismos probados a estos antibióticos.

i) Criterio que se mantenga en relación a las colonias aisladas que crecen dentro de una zona de inhibición. Recomendamos se acepten como resistentes al antibiótico en estudio.

R E S U M E N

Se practicó a 360 cepas de bacterias puras aisladas, de diferentes orígenes, pruebas de sensibilidad a los antibióticos y quimioterápicos más comunes. Se anotan los resultados obtenidos con penicilina, dehidroestreptomomicina, tetraciclinas, cloranfenicol, eritromicina, novobiocina, neomicina, oleandomicina, polimixina B, rifamicina, aminosidina, bacitracina, kanamicina, colimicina, mandelamina, nitrofurantoina y Albamycin—T, actuando sobre cepas de *Micrococcus pyogenes var. aureus*, *Streptococcus hemolyticus*, *Escherichia coli*, *Aerobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, *Proteus sp.* y *Pseudomonas sp.*

Se comparan las pruebas de sensibilidad obtenidas con aquellas publicadas en 1960 y se deduce un aumento de resistencia de la flora Gram-negativa para las tetraciclinas, cloranfenicol, novobiocina, neomicina y nitrofurantoina.

Se describen los motivos de las discrepancias entre las pruebas *in vitro* que reporta el Laboratorio y los resultados prácticos obtenidos en la Clínica.

B I B L I O G R A F I A

- 1.—FINLAD, MAXWELL:
Present Status of Test for Sensitivity of Bacteria to Antimicrobial Agents. *Am. J. Clin. Path.*, 25:1333-1335, 1955.
- 2.—GOLDIN, MILTON AND DAVIDSOHN I.:
Laboratory Control of Antibiotic Therapy. *The Modern Hospital*, 82:92-100. Abril, 1954.
- 3.—HEDBERG, MARY:
Quantitative Study of Bacteria in Mixed Populations. A Surface plating Method for Enumerating, Identifying and Determining Antimicrobial Susceptibility. *Am. J. Clin. Path.* 41:332-336, 1964.
- JACKSON GEORGE GEE AND TURNER MARY P.:
Reliability of antibiotic Sensitivity test as Determined by Survey Study. *J. Lab. Clin. Med.*, 51:873-882, 1958.
- 5.—HOWE W. CHESTER:
Studies on the Susceptibility of Bacteria to Various Antibacterial Agents with a Comparison on the Serial Tube Dilution and Filter Paper disc Methods of Testing, *Surgery Gynecology and Obstetrics*, 91:669-672, 1950.
- 6.—SOLANO S., LUIS E. Y ESQUIVEL R., RODRIGO:
Efectividad *in vitro* de los antibióticos más comunes a varios grupos de microorganismos patógenos. *Revista Médica de Costa Rica*, 17:39-53. N° 318-319, 1960.