

Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto"

VALORACIÓN *IN VITRO* DE DISCOS PARA ANTIBIOGRAMAS DE PRODUCCIÓN NACIONAL

Dr. Rafael Nocharse Hernández¹

RESUMEN

Se realizó la valoración *in vitro* de discos de antibióticos para antibiogramas producidos por primera vez en nuestro país. Éstos correspondieron a ceftriaxoma, cefotaxima, cefazolina, cefuroxima, ceftazidima, ciprofloxacina, vancomicina y oxacilín. Dicha valoración comprendió la actividad *in vitro* de los discos, así como la determinación del grado de estabilidad de éstos. Fueron utilizadas 911 cepas bacterianas, incluidas bacterias gramnegativas y grampositivas, aisladas en pacientes del hospital. Se determinó que la ciprofloxacina fue el antibiótico más efectivo de todos. De forma global los antibióticos probados tuvieron muy buena actividad inhibitoria frente a bacterias grampositivas y en menor grado frente a gramnegativas. Se compararon los resultados obtenidos usando discos de producción nacional de 4 antibióticos y sus similares de producción extranjera. La ceftriaxona y la cefotaxima nacionales alcanzaron mejores resultados, en oxacilín los resultados fueron idénticos en ambos y sólo en ciprofloxacina los discos nacionales tuvieron resultados ligeramente inferiores. Se comprobó que los discos probados mantuvieron su potencia a lo largo del estudio y no sufrieron alteraciones en su estado físico.

Descriptores DeCS: CEFOTAXIMA/aislamiento & purificación; CEFTRIAXONA/aislamiento & purificación; CEFUROXIMA/aislamiento & purificación; CIPROFLOXACINA/aislamiento & purificación; CEFTAZIOIMIA/aislamiento & purificación; VANOMIOINA/aislamiento & purificación; OXACILINA/aislamiento & purificación; TEST DE SENSIBILIDAD MICROBIANA.

En los últimos 10 años ha aparecido en el mercado un elevado número de nuevos antibióticos, que unen a su amplio espectro de actividad antimicrobiana su baja toxicidad; dichos fármacos han sido creados para combatir la cada vez más frecuente

multiresistencia de las bacterias causantes de infecciones nosocomiales.

Una de las limitaciones fundamentales de nuestros laboratorios de Microbiología, relacionadas con el estudio de la sensibilidad bacteriana a los anti-

¹ Especialista de I Grado en Microbiología

crobianos es precisamente la falta de discos conteniendo esos nuevos antibióticos, situación ésta que no es ajena a los centros hospitalarios militares.

La Empresa de Productos Biológicos "Carlos J. Finlay", encargada de la producción nacional de discos para antibiogramas y conocedora de este problema, se ha dado a la tarea de ampliar la producción de éstos, no sólo con estos nuevos antibióticos, sino con otros ya conocidos pero nunca antes fabricados y que mantienen su vigencia. Dicha empresa recabó la ayuda del laboratorio de Microbiología del Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto" para la necesaria valoración *in vitro* de discos de 8 antibióticos; de ellos, 5 cefalosporinas: ceftriaxona, cefotaxima, cefazolina, cefuroxima y ceftazidima; 1 fluorquinolona: ciprofloxacina; 1 glicepéptido: vancomicina y 1 penicilina: oxacillín. Esta Valoración comprendió el estudio de la actividad antibacteriana, así como el grado de estabilidad de los discos de dichos antibióticos.

Se consideró de utilidad establecer una comparación entre los resultados obtenidos en los discos de producción nacional y aquéllos obtenidos con sus similares de producción extranjera que estuvieron a nuestra disposición; para ésto se aprovechó un estudio de valoración realizado anteriormente en nuestro laboratorio con discos de ceftriaxona y cefotaxima producidos en el extranjero, así como 2 estudios de valoración realizados en forma paralela a este estudio actual; se utilizaron discos de ciprofloxacina y oxacillín de firmas foráneas.

MÉTODOS

Este estudio fue realizado en el Laboratorio de Microbiología del Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto", en el año 1997.

Fueron probadas 911 cepas bacterianas procedentes de enfermos ingresados en salas, tanto niños como adultos, de dicha institución.

La identificación de los microorganismos se realizó según normas microbiológicas vigentes.

La actividad *in vitro* de los antibióticos a probar se determinó por la técnica de discos estandarizada de Kirby-Bauer, recomendada por la OMS.¹ Para ésta se utilizaron los discos, procedentes de la EPB "Carlos J. Finlay": siguientes

1. Cefazolina-30 mg
2. Cefuroxima-30 mg
3. Ceftriaxona-30 mg
4. Cefotaxima-30 mg
5. Ceftazidima-30 mg
6. Ciprofloxacina-5 mg
7. Vancomicina-30 mg
8. Oxacillín-1 mg.

A todos los discos les fue realizado control de calidad a lo largo del estudio; para ello se utilizaron cepas de referencia de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Para la comparación de los resultados obtenidos con el uso de discos nacionales y extranjeros, se realizó un estudio en nuestro laboratorio en el año 1989 que valoró discos de ceftriaxona-30 mg y cefotaxima-30 mg de las firmas OXOID, inglesa, y Bigaux Diagnóstica, mexicana, respectivamente.² En relación con el estudio de ciprofloxacina, se usaron discos procedentes de la firma inglesa OXOID, con carga de 5 mg, los cuales se enfrentaron a 79 cepas de bacterias gramnegativas. Hay que señalar que en ambos estudios las cepas probadas sólo fueron enfrentadas a los discos extranjeros. En el caso de la valoración de los discos probados de oxacillín, se usaron discos de este antibiótico, tanto de los producidos nacionalmente como de la firma inglesa OXOID, ambos cargados con 1 mg, y sí se enfrentaron a las mismas cepas bacterianas, que correspondieron todas a *Staphylococcus aureus* en número de 30.

TABLA 1. Porcentaje de resistencia global de los microorganismos frente a los antibióticos en estudio

Tipo de bacterias	Peni- cilina OXA	Cefalosporinas				Fluor- quilona CIP	Glico- péptido VAN
		1º gen CFZ	2º gen CM	3º generación CRO CIX			
Gram negativas	-	-	-	27,2	26,9	10	5,8
Gram positivas	32	11,6	9,1	17	15	-	11,9

Legenda: OXA: oxacilina; CFZ: cefazolina; CM: cefuroxima; CRO: ceftriaxona; CIX: cefotaxima; CIZ: ceftazidima; CIP: ciprofloxacina; VAN: vancomicina; CRO: ceftriaxona; CIX: cefotaxima; CIZ: ceftazidima; CIP: ciprofloxacina; VAN: vancomicina, generación

RESULTADOS

En la tabla 1 se muestra la resistencia global de las bacterias aisladas frente a los antibióticos en estudio.

Ante las bacterias gramnegativas fueron probadas las cefalosporinas de tercera generación, así como ciprofloxacina, por ser éstas antibióticos de amplio espectro. Todos exhibieron buena actividad contra este tipo de gérmenes.

El fármaco de mayor actividad frente a bacterias gramnegativas fue la ciprofloxacina, con sólo el 5,8 % de resistencia.

A las bacterias grampositivas se enfrentaron todos los antibióticos a estudiar, excepto a ceftazidima que es más específica para la gramnegativas. Es de notar que la casi totalidad de los fármacos usados presentaron muy buena actividad inhibitoria contra este tipo de bacterias y sus porcentajes son muy similares, excepto el oxacilina.

A simple vista y de forma global, se puede ver que la ciprofloxacina fue el antibiótico más eficaz entre todos aquéllos probados, de amplio espectro; de igual manera se observó que la ceftriaxona y la cefotaxima fueron los menos activos, aunque con porcentajes aceptables y muy semejantes entre ellos.

La resistencia alcanzada por enterobacterias frente a los antibióticos probados en su contra es mostrada en la tabla 2.

TABLA 2. Porcentaje de resistencia de enterobacterias frente a antibióticos probados

Enterobacterias	CRO	CIX	CIZ	CIP
<i>E. coli</i>	13	15	6,8	8,3
<i>Klebsiella</i>	28	30,6	17	3,3
<i>Enterobacter</i>	29	27	20,5	0
<i>Proteus</i>	7,9	10,5	12,5	0
<i>Serratia</i>	4,3	5,2	2,5	0
<i>Citrobacter</i>	14,2	14,6	30,7	0
<i>Salmonella</i>	0	0	0	0
<i>Shigella</i>	0	0	0	0

Legenda: CRO: ceftriaxona; CIX: cefotaxima; CIZ: ceftazidima; CIP: ciprofloxacina.

Es de señalar lo sumamente eficaz de la acción de la ciprofloxacina, ya que la mayoría de las cepas, tanto de origen nosocomial como extrahospitalario, fue completamente sensible. Entre las cefalosporinas de tercera generación la ceftazidima tuvo buena actividad frente a *Escherichia coli*, *Proteus* y *Klebsiella*. La ceftriaxona y la cefotaxima mostraron su mejor acción ante *Serratia*, germen productor de sepsis intrahospitalaria grave. Las cepas de circulación comunitaria, como *Salmonella* y *Shigella*, no mostraron resistencia en ningún caso.

En la tabla 3 se observa la resistencia que presentaron las bacterias no fermentadoras, en este caso los 2 géneros más importantes: pseudomonas y acinetobacter, que como se sabe son las bacterias que más resistencia crean ante la mayoría de los antibióticos usados.³

TABLA 3. Porcentaje de resistencia de bacterias no fermentadoras frente a los antibióticos utilizados

Bacterias no fermentadoras	CRO	CIX	CIZ	CIP
Pseudomonas	37	42	14	8
Acinetobacter	46	49	18	13

Leyenda: CRO: ceftriaxona; CIX: cefotaxima; CIZ: ceftazidima; CIP: ciprofloxacina.

La ciprofloxacina, y sobre todo, la ceftazidima, una cefalosporina concebida contra pseudomonas, fueron los antibióticos de mayores resultados; todo lo contrario ocurrió con la ceftriaxona y la cefotaxima, cuyos porcentajes se acercan al 50 %.

En la tabla 4 se presenta la resistencia que alcanzaron las bacterias grampositivas frente a los antibióticos estudiados. Entre los estafilococos, el *S. aureus* resultó ser

muy sensible a los fármacos probados, excepto frente al oxacilín; el estafilococo coagulasa negativo tuvo porcentajes de resistencia mayores en todos los casos. El estreptococo beta-hemolítico mostró buena sensibilidad también. No ocurrió lo mismo con el enterococo, que con sus porcentajes tan altos fue el germen de mayor resistencia a los antimicrobianos probados en su contra, a excepción de la vancomicina que es la droga de elección ante este germen.

En la tabla 5 se comparan los resultados obtenidos usando discos nacionales y extranjeros en cuanto a 4 antibióticos: ceftriaxona, cefotaxima, ciprofloxacina y oxacilín. Para poder hacer más gráfica la relación entre ellos, se tomaron las resistencias globales frente a bacterias gramnegativas y grampositivas.

Con la ceftriaxona y la cefotaxima los mejores resultados están a favor de los discos nacionales; con el oxacilín los porcentajes son idénticos entre ellos y sólo con la ciprofloxacina los discos extranjeros exhiben resistencias más bajas, pero no muy distantes de las cifras alcanzadas por los discos de producción nacional.

TABLA 4. Porcentaje de resistencia de bacterias grampositivas frente a los antibióticos estudiados

Bacterias grampositivas	OXA	CFZ	CMX	CRO	CIX	CIP	VAN
<i>S. aureus</i>	20	58	58	7	55	8	1
ECN	44	21,7	12,5	26,9	28	11,7	8
EBH	-	49	5,1	11	4,7	10,8	15
Enterococo	-	23	57	54	46	30	0
Neumococo	-	14	20	0	11	0	20

Leyenda: OXA: oxacilín; CFZ: cefazolina; CMX: cefuroxima; CRO: ceftriaxona; CIX: cefotaxima; CIP: ciprofloxacina; VAN: vancomicina.

TABLA 5. Comparación entre discos de producción nacional y extranjeros (expresado en porcentaje)

Tipo de bacterias	Ceftriaxona		Cefotaxima		Ciprofloxacina		Oxacilín	
	Prodcas. nac.	ext..	rac.	ext..	rac.	ext..	rac.	ext..
Gran negativas	27	33	27	34	58	25	-	-
Gran positivas	17	42	15	32	-	-	16	16

DISCUSIÓN

En cuanto a la valoración de la actividad antibacteriana de los discos de producción nacional, podemos decir que en este estudio la ciprofloxacina fue el antibiótico más efectivo, ya que tanto frente a bacterias grampositivas y sobre todo ante las gramnegativas, incluidas *Pseudomonas* y *Acinetobacter*, alcanzó muy bajos porcentajes. Este resultado concuerda con lo esperado para este antibiótico de amplio espectro, si bien nuestras cifras son más bajas que las de otros autores;⁴ en este resultado influyó decisivamente lo poco que ha sido usado este fármaco en nuestro medio, lo que ha evitado la aparición de resistencias entre las bacterias.

En cuanto la cefazolina podemos decir que tuvo muy buenos resultados frente a *S. aureus* y estreptococos, para los que son una indicación precisa. De las otras cefalosporinas diremos que la cefuroxima, con un espectro de acción similar a la cefazolina; se une a los bajos porcentajes de ésta, un mejor resultado frente al estafilococo coagulasa negativo. Tanto la ceftazidima como la cefalosporina de tercera generación tuvieron una buena actividad frente a *Pseudomonas*, hecho ya descrito por otros autores,⁵ así como también ante *Acinetobacter*. La ceftriaxona y la cefotaxima tuvieron porcentajes casi idénticos entre sí; es de señalar sus buenos resultados frente a *Citrobacter* y *Serratia*, a pesar de la ya señalada relativa frecuencia con que esos microorganismos crean resistencia. Frente a bacterias no fermentadoras sus resultados no fueron buenos, pero era de esperarse, ya que ambas no desempeñan un papel activo en su terapéutica.⁶

En relación con la resistencia bacteriana a las cefalosporinas y otros beta-lactámicos, es fundamental conocer sobre

las beta-lactamasas y su acción. Las beta-lactamasas son enzimas que portan las bacterias gramnegativas y algunas grampositivas y que degradan a los antibióticos beta-lactámicos. Dichas enzimas evolucionaron a partir de las llamadas proteínas ligadoras de penicilina o PBP, que son precisamente el blanco de ataque de los beta-lactámicos, mediante un proceso mediado por plásmidos.⁶

A pesar de la relativa estabilidad a beta-lactamasas de las cefalosporinas de tercera generación, ya ha aparecido una nueva clase de enzimas denominada Abeta-lactamasas de espectro ampliado@, que es capaz de inactivar a estos antibióticos, con la consecuente aparición de cepas resistentes.⁷

La vancomicina, como es sabido, se emplea frente a gérmenes grampositivos resistentes a beta-lactámicos, entre ellos los estafilococos y enterococos. Este antibiótico mostró gran poder antibacteriano frente a los gérmenes contra los que se usó, especialmente el enterococo que no mostró resistencia alguna. Hasta hace poco no se conocían resistencias a este antibiótico; actualmente existen cepas de enterococos con fenotipos resistentes que pueden ser transferidas a otros enterococos e incluso a otras especies clínicamente importantes⁸ y que se han convertido en patógenos nosocomiales a tener en cuenta.⁹

Sólo el oxacillín no tuvo resultados adecuados frente a bacterias grampositivas. Este medicamento es una penicilina antiestafilocócica, o sea, es resistente a la acción de la enzima penicilinasasa de estafilococos; no obstante, estos microorganismos han creado otras formas de resistencia al fármaco a través de alteraciones en su cromosoma, lo que les permite evadir su acción, tal es el caso del estafilococo coagulasa negativo, del cual se reporta hasta el 40 % de resistencia a

este antibiótico,¹⁰ cifra muy similar a la reportada en este estudio, lo que explicaría este resultado.

De los resultados obtenidos entre los estudios de valoración realizados con discos nacionales y extranjeros debemos decir lo siguiente; en el caso de la ceftriaxona, la cefotaxima y la ciprofloxacina, más que una comparación lo que se quiso fue establecer un paralelismo entre ellas, teniendo en cuenta que las cepas probadas no fueron las mismas en ambos estudios, a diferencia del oxacillín. No obstante lo anterior, son innegables los mejores resultados obtenidos con discos de ceftriaxona y cefotaxima de producción nacional y si bien con ciprofloxacina nacional no fue así, la diferencia con la extranjera fue poca y el porcentaje alcanzado está incluso dentro del reportado por el fabricante (BAYER SA.).

Los discos nacionales de oxacillín, en estudio paralelo con los discos extranjeros, no mostraron diferencias.

En cuanto a la estabilidad presentada por los discos estudiados, podemos señalar que éstos mantuvieron su potencia a lo largo del estudio, comprobada frente a cepas bacterianas de referencia y no sufrieron alteraciones en su estado físico (color, textura, etcétera).

Por todo lo anterior concluimos que los discos producidos nacionalmente presentan condiciones adecuadas para su uso y que su incorporación al estudio de la susceptibilidad bacteriana, sobre todo en pacientes graves, será de gran ayuda en el tratamiento de éstos, además de las indudables ventajas económicas que aportan el contar con un producto que es producido en el país.

SUMMARY

The in vitro assessment of antibiotic discs for antibiograms produced for the first time in our country was made. These antibiotics were ceftriaxone, cefotaxime, cefazolim, cefuroxime, ceftazidime, ciprofloxacin, vancomycin, and oxacillin. Such assessment considered the in vitro activity of these discs, as well as the determination of their stability degree. 911 bacterial strains were used, including Gram-negative and Gram-positive bacteria isolated from patients at the hospital. It was determined that ciprofloxacin was the most effective antibiotic of all. Generally, the tested antibiotic had a very good inhibitory activity against Gram-positive bacteria and in a less extent against Gram-negative bacteria. The results obtained were compared using discs of national production of 4 antibiotics and their analogues produced abroad. National ceftriaxone and cefotaxime attained better results. As to oxacillin the results were identical for both, and only the national discs of ciprofloxacin had slightly inferior results. It was proved that the tested discs maintained their potency throughout the study and suffered no alterations in their physical state.

Subject headings: CEFOTAXIME/isolation & purification, CEFTRIAZONE/isolation & purification; CEFUROXIME/isolation & purification; CIPROFLOXACIM/isolation & purification; CEFTAZIDIME/isolation & purification; CEFAZOLIM/isolation & purification; VANCOMYCIN/isolation & purification; OXACILLIN/isolation & purification; MICROBIAL SENSITIVITY TESTS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bauer A, Kirby W. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 1966;45(4):493-6.
2. Nodarse R. Estudio comparativo de la actividad in vitro de antibióticos beta-lactámicos de uso reciente y aminoglucósidos de uso tradicional. *Rev Cub Hig Epidemiol* 1991;29(1):31-42.
3. Murray PR. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, DC: ASM Press, 1995:520-1.

4. Bassaris HP. Las quinolonas en las infecciones de vías respiratorias bajas. Ed. BAYER S.A, El Salvador, 1987;1-6.
5. Travieso J. Cefalosporinas. Rev Acta Méd 1990; 4(2):224-37.
6. Tubau MF. Meningitis por neumococo resistente a penicilina. En: Casos de Microbiología Clínica. Editorial Soria Melguizo, Madrid 1996; Octubre:71.
7. Jacoby GA. More extended spectrum B-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1991;35:1697-794.
8. Alós JI. Resistencia bacteriana a los antibióticos: The never ending story. Med Clí 1994;3(103):176-8.
9. Edberg S. Rapid detection of vancomycin-resistant enterococci. J Clin Microbiol 1994;32(9):2182.
10. Alós JI. Infección urinaria por *Staphylococcus saprophyticus*. En: Casos de Microbiología Clínica. Ed. Soria Melguizo. Madrid, 1994; Junio:5.

Recibido: 26 de diciembre de 1997. Aprobado: 12 de marzo de 1998.

Dr. *Rafael Nodarse Hernández*. Instituto Superior de Medicina Militar. "Dr. Luis Díaz Soto". Avenida Monumental, Habana del Este, CP 11700, Ciudad de La Habana, Cuba.