



- **Materia:** FARMACOLOGIA VETERINARIA
- **Tema:** PRUEBAS DE SENSIBILIDAD
- **Carrera:** Medicina veterinaria y zootecnia
- **Cuatrimestre:** 3º
- **Alumno:** Edgar Uriel Encino López

La prueba de sensibilidad antimicrobiana es una de las tantas armas con las que contamos en el laboratorio para ayudar a los profesionales en medicina controlar los procesos infecciosos que se desarrolla en los pacientes.

Pero para poder desarrollar todo el potencial con que se cuenta hay que cumplir con un requisito fundamental: es necesario lograr el aislamiento del agente productor del cuadro clínico mediante los cultivos correspondientes.

Hay un axioma que no pierde actualidad y sobre el que es indispensable insistir: Primero cultivar y luego medicar.

Sin que importe el método a emplear, hay tres facetas o pasos que se deben considerar: el medio de cultivo a emplear, el antibiótico a utilizar y la cepa bacteriana a probar. Cualquiera que sea el método hay que controlar cada una de estas tres variables y cada una de ellas es importante a su manera

Todos estos medios de cultivo deben ser preparados de la mejor manera posible, ajustando el pH, y asegurándose de que la concentración del agar sea la correcta. En especial, para la técnica de la difusión en agar, estos parámetros deben ser aún más claramente controlados. Un agar muy suave, puede producir falsa sensibilidad y a su vez, un agar muy duro, puede producir una falsa resistencia, al incidir en un cambio en la velocidad y distancia de la difusión del antibiótico.

la profundidad del agar, la cual debe ser exactamente de 4 mm. Un agar delgado, permite una mejor difusión de los antibióticos produciendo una falsa sensibilidad, pero también un agar con más de 4 mm de profundidad puede producir una disminución en la migración (difusión) del antibiótico con la consiguiente falsa resistencia

los medios de cultivo deben ser lo más frescos posible, con no más de 7 días de preparados y siempre deben ser guardados en bolsas plásticas selladas y a 4°C Podemos tener cuatro tipos de posibilidades, discos de papel impregnados con una concentración conocida del antibiótico, pastillas con una concentración conocida del antibiótico, preparaciones farmacéuticas del antibiótico o tiras de plástico con una matriz propia y una gradiente decreciente del antibiótico determinado. Lo importante es que estas diferentes presentaciones del antibiótico estén en la mejor condición posible, que se respete la cadena de frío, que no se humedezcan, y que realmente contengan la concentración del antibiótico que dice tener. En cuanto a la cepa bacteriana, es indispensable que sea fresca (un periodo de incubación no mayor de 24 horas) y que haya sido crecida en un medio de cultivo no inhibitorio.

Para efectuar las pruebas de sensibilidad, se cuenta con los siguientes métodos:

A-Disfusión en agar (Técnica de Bauer & Kirby)

La técnica de difusión en agar, es cualitativa y sus resultados se pueden interpretar únicamente como sensible, intermedio o resistente, y está diseñada específicamente para bacterias de crecimiento rápido como los *Staphylococcus* sp. O los integrantes de la familia *Enterobacteriaceae*.

Esta técnica, el inóculo bacteriano llevado a una concentración igual a la del estándar 0,5 de McFarlane, se aplica sobre la superficie de una placa seca de agar Müller-Hinton que tenga un pH entre 7, 2 y 7,4 medido a temperatura ambiente y una vez solidificado el medio de cultivo. La cepa se debe rayar sobre la superficie del medio de solidificado el medio de cultivo. La cepa se debe rayar sobre la superficie del medio de forma tal que se logre un crecimiento confluyente. Una vez realizado esto, en un plazo no mayor de 15 minutos, se procede a colocar los discos o las pastillas con el antibiótico.

B-Método de Dilución en agar

Siendo la técnica de difusión en agar únicamente cualitativa, y teniendo en mente que en muchas oportunidades clínicas se hace necesario conocer con exactitud qué concentración de antibiótico es la necesaria para lograr controlar un proceso infeccioso dado, es evidente la necesidad de contar con metodología que solvente ese problema.

De este tipo de técnicas podemos mencionar tres: la dilución en agar, la dilución en tubo y la microtitulación.

La dilución en tubo sigue siendo el estándar dorado de las pruebas de sensibilidad, o sea, es la técnica de referencia, aun cuando, ante todo presenta el problema de la contaminación y la dificultad para detectarla.

En la técnica de la dilución en agar, se preparan tubos con la concentración definida de antibiótico y se le agrega a cada tubo una cantidad conocida del agar Müller-Hinton, este tubo se homogeniza y se chorrea en una placa de Petri vacía con lo que se logra una placa de agar Müller-Hinton con el antibiótico diluido a una concentración determinada

Macrotitulación en tubo

Esta técnica se deriva de la anterior, pero no se utiliza por la cantidad de material que emplea, y porque presenta el grave problema de la dificultad para detectar contaminaciones del medio de cultivo, lo que podría producir una falsa resistencia. Sin embargo, la técnica que se usa es la misma de la microdilución y la interpretación es la misma también

D-Microtitulación

Aquí empleamos unas placas plásticas, estériles, con tapa, de 96 pozos y un fondo en U.

Cada placa permite realizar una CMI de un antibiótico a ocho cepas diferentes, o una CMI de una cepa contra ocho diferentes antibióticos.

El medio de cultivo empleado es Müller-Hinton en caldo o el medio caldo HTM, si la cepa a estudiar es un *Haemophilus* sp..

La cepa se prepara en las mismas condiciones de turbidez, pureza y crecimiento de todas las pruebas de sensibilidad.

Para preparar las diferentes diluciones del antibiótico se parte de una solución madre que se debe diluir en las condiciones adecuadas para cada antibiótico. Esta solución madre es diferente para cada antibiótico y su escogencia depende del tipo de antibiótico y la cepa a probar.

Con esa técnica se pueden determinar dos diferentes valores: la CMI y la CMB

E-E test

Este método emplea una tira con una matriz plástica que tiene una concentración decreciente de un antibiótico determinado. El medio que se usa es agar sangre con sangre de caballo al 5% y con una base de Müller-Hinton o puede utilizarse agar HTM o agar chocolate suplementado.

Aquí, se determina solamente la CMI y ésta se encuentra en la interfase de la elipse. La lectura debe ser muy cuidadosa y puede hacerse con la ayuda de una lupa.

F-Métodos automatizados

Este utiliza tarjetas de plástico transparente para la prueba de sensibilidad. Se trata de tarjetas de 30 pozos que llenan con el inóculo bacteriano estandarizado, mediante una bomba de vacío y luego las tarjetas son selladas herméticamente, se introducen a un incubador a 35°C y cada 10 minutos el sistema hace una lectura y se mide la concentración del inóculo bacteriano. Cada tarjeta tiene un pozo control positivo de crecimiento y es este pozo donde se construye una curva normal de crecimiento bacteriano

Cada uno de los pozos de antibióticos es referido al control positivo de crecimiento y la curva obtenida en cada uno a su vez, se controla la curva normal obtenida en el pozo de control positivo.

Así pues, una cepa resistente, tendría una curva exacta o muy parecida a la normal, una cepa intermedia presentaría una curva mucho menos amplia y con un

menor recuento bacteriano que el control; una cepa sensible, no tendría una curva, tendría una línea recta

G-Pruebas especiales

Son técnicas que se utilizan con fines especiales y que se emplean en estudios de resistencia bacteriana en condiciones muy claramente definidas

Los métodos a discutir son los siguientes: detección de la resistencia contra aminoglucósidos en los *Enterococcus*, detección de la resistencia de *Enterococcus* contra la vancomicina, detección de la resistencia a la oxacilina en *Staphylococcus*, detección de la B-lactamasa y determinación de la actividad bactericida

BIBLIOGRAFIA

AUTOR:

Dr. Marco Luis Herrera

TOMADO DE:

file:///C:/Users/Jose%20Alberto/Desktop/tarea%20uriel%20uds/Pruebas%20de%20sensibilidad%20antimicrobiana_%20m%C3%A9todo%20de%20laboratorio.html

FECHA DE CONSULTA:

30 / JULIO / 2020