**CLASE:** 13-14

 **SUMARIO:**

* Procedimientos técnicos que se realizan para evaluar la sensibilidad antimicrobiana in vitro. Antibiograma de Bauer- kirby

**--- Concepto de Antimicrobiano:** pueden interferir diferentes funciones que lleva a cabo la bacteria, tales como la síntesis de sus ácidos nucleicos, de proteínas, o para el procesamiento de aminoácidos o azúcares del medio, necesarios para la biosíntesis de sus paredes o membranas celulares.

--- **Concepto de Antibiótico o quimioterápico:** productos químicos que tienen alguna o total acción sobre los microorganismos, bien de inhibición como de exterminio.

--- **Toxicidad selectiva**: para que una sustancia sea útil en el tratamiento sistemático debe ser perjudicial para el germen, pero relativamente inocua para las células del hospedero.

**--- Grupos de antibióticos útiles en la práctica clínica:**

**Aminoglucósidos:** el más conocido es la esteptomicina, aunque también actúan de modo parecido (kanamicina, neomicina, gentamicina, amikacina, etc)

**Tetraciclinas:** su acción es inhibidora y reversible al suspender el medicamento.

**Cloranfenicol:** su acción es bacteriostática.

**Macrólidos** (eritromicina, azitromicinay claritromicina)

**Lincomicinas** (lincomicina, clindamicina):

--- **Técnicas para el estudio de la susceptibilidad antimicrobiana in Vitro:** permite al Laboratorio conocer la sensibilidad de los diferentes microorganismos a las diversas drogas antimicrobianas

Métodos de difusión en agar: es la más usada, sencilla, rápida, aunque de menor precisión.

Bauer-Kirby: El antibiograma disco-placa basado en el trabajo de Bauer, Kirby y colaboradores es uno de los métodos que el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos.

El antibiograma disco-placa consiste en depositar, en la superficie de agar de una placa de petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos.

Tan pronto el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el papel de filtro absorbe agua y el antibiótico difunde al agar. El antibiótico difunde radialmente a través del espesor del agar a partir del disco formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición.

La concentración de antibiótico en la interfase entre bacterias en crecimiento y bacterias inhibidas se conoce como concentración crítica y se aproxima a la concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenida por métodos de dilución.

Estos métodos disco-placa no permiten una lectura directa del valor de la CMI.

**Preparación del inóculo:** Método del medio de cultivo líquido: Coger de 3 a 5 colonias iguales de la placa de cultivo de 18 a 24 horas y sembrarlas en 5 ml de un medio líquido (Brain-Heart, Todd Hewitt, Tripticasa soja, etc.) e incubar en la estufa a 35ºC durante 2 a 6 horas hasta conseguir o superar una turbidez del 0.5 de la escala de MacFarland. Si la turbidez es superior se realiza el ajuste necesario con suero salino estéril.

**Inoculación de las placas:** Antes de que transcurran 15 minutos de haber ajustado el inóculo, introducir un escobillón dentro de la suspensión y al retirarlo rotar varias veces contra la pared del tubo por encima del nivel del líquido con la finalidad de eliminar el exceso de inóculo.

Inocular las placas de Mueller-Hinton completamente, sin dejar ninguna zona libre. Esto se consigue deslizando el escobillón por la superficie del agar tres veces, rotando la placa unos 60º cada vez y pasándola por último por la periferia del agar para conseguir una siembra uniforme. Dejar secar de 3 a 5 minutos antes de depositar los discos.

**Dispensación de los discos.**

* Colocar los discos con los dispensadores o manualmente con pinzas estériles. Debe asegurase que contacten perfectamente con la superficie del agar, por lo que deben presionarse ligeramente sobre la superficie del agar. No deben situarse a menos de 15 mm del borde de la placa, y han de estar distribuidos de forma que no se produzca superposición de los halos de inhibición. Para placas de 150 mm no se emplearán más de 12 discos y para las de 100 mm no más de 6.
* Incubar las placas invertidas (agar en la parte superior), en grupos no superiores a 5 placas, a 35°C en atmósfera aeróbica antes de que transcurran 15 minutos.

Las placas se incubarán 18-24 horas

**SENSIBLE:** indica que la infección ocasionada por la cepa para la que se ha determinado su correspondiente halo de inhibición puede tratarse de forma adecuada empleando las dosis habituales de antimicrobiano

**INTERMEDIO:** Indica que el halo de inhbición se aproxima a las concentraciones de antimicrobiano alcanzables en sangre o tejidos y que puede esperarse eficacia clínica en aquellas localizaciones en las que se alcanzan altas concentraciones de antimicrobiano o cuando se emplean dosis más elevadas de lo habitual.

**RESISTENTE:** Se refiere a aquellos microorganismos que no se inhiben por las concentraciones habitualmente alcanzadas en sangre/tejidos del correspondiente antimicrobiano, o a aquellos microorganismos en los que existen mecanismos de resistencias específicos para el agente estudiado en los que no ha habido una adecuada respuesta clínica cuando se ha usado como tratamiento el correspondiente antimicrobiano.

¿Qué hacer frente a resultados “raros”?

1. Evaluar contaminación de la prueba.

2. Uso placa, disco, tarjeta, panel inadecuado o defectuoso.

3. Confirmar identificación de la cepa.

4. Repetir prueba de susceptibilidad.

5. Buscar errores de trascripción.

6. Buscar antecedentes de cepas similares confirmadas del paciente.

7. Enviar cepa a Laboratorio de Referencia.

En nuestro país, estos discos son suministrados por el Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología (INHEM).**:**

**BIBLIOGRAFÍA:**

* + **Procedimientos técnicos en Microbiología Clínica. 2004. Digitalizado.**
	+ Moran Villatoro, Luis. Obtención de muestras de calidad analítica. Editorial Ciencias Médicas.
	+ Jorge Suardíaz. Celso Cruz. Ariel Colina. Laboratorio Clínico. Editorial Ciencias Médicas.