

Protocolo de control de calidad de la eficacia antibacteriana de los discos antibióticos para pruebas de susceptibilidad

Mónica Córdova & Rissel Loayza

M. Córdova & R. Loayza

Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas, Calle Dalence Nº 51, Sucre- Bolivia.

M. Ramos, J. Pizarro, M. Mojica, N. Pereira, M Solis (eds). Tópicos Selectos de Química -©ECORFAN-Bolivia. Sucre, Bolivia, 2014.

Abstract

Clinical Microbiology Laboratory at the Faculty of Chemical and Pharmaceutical Sciences Biochemical of UMRPSFXCH, annually provides for the conduct of its susceptibility to antibiotics varied stock of various lines, some with expired date records. In this situation if the questioning of the effectiveness of the antibacterial activity of the antibiotic disks used in that laboratory in 2011, is within acceptable limits of the rules of the Institute of Clinical and Laboratories Standards (NCCLS) arises.

It is argued that the effectiveness of the antibacterial activity of the antibiotic disks used is not in good condition for use by 50%, and that do not meet the standards set by the NCCLS QC.

To meet the objective were considered Antibiotics Discs, expiring between 2007 to 2013 and different business lines such as Britania, Bioanalyse, Valtex, Oxoid lines. Quality control of Mueller Hinton, the petri dishes and distilled water was also conducted to ensure the results of the investigation. The method used to determine the antibacterial efficacy of the discs was the Kirby Bauer disk diffusion.

8 Introducción

Sucre, Capital Constitucional del Estado Plurinacional de Bolivia, donde se encuentra el Laboratorio de Microbiología Clínica perteneciente a la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas dependiente de la UMRPSXFCH realiza anualmente actividades de atención al paciente, siendo los cultivos y los antibiogramas los análisis más frecuentes. Requiriéndose Control de Calidad de los Discos Antibióticos y medios de cultivo para la optimización de los resultados.

El antibiograma es un método de difusión en disco bajo estándares para su interpretación clínica, que tiene la finalidad de determinar la sensibilidad de las bacterias expuestas frente a los antibióticos y brindar al médico opciones de tratamiento farmacológico.

El Control de Calidad que se define como todos los mecanismos, técnicas, herramientas y actividades de acción operativa, indispensables para valorar la Eficacia, calidad y detectar la inactividad de los Discos Antibióticos.

La necesidad de realizar un estudio valorativo sobre la Eficacia de los Discos Antibióticos como Control de Calidad se hace necesario y oportuno para conocer la actividad antibacteriana en los discos antibióticos que dispone el Laboratorio de Microbiología Clínica, cuyas fechas de expiración incluyen el 2007, 2010, 2011, 2012, 2013, que están en condiciones óptimas de almacenamiento.

Por consiguiente surge el siguiente problema; ¿La Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos, utilizados en el Laboratorio de Microbiología Clínica de la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas de Sucre 2011, estará según los límites aceptables de la normativa del Instituto de Estándares Clínicos y de los Laboratorios NCCLS?.

Siendo el Objeto de estudio los Discos Antibióticos utilizados en el Laboratorio de Microbiología Clínica y el Campo de acción la determinación de la Eficacia de la Actividad Antibacteriana; el método que utilizaremos recomendado por el Sub Comité de Ensayos de Susceptibilidad de NCCLS está basado en el método originalmente descrito por Kirby-Bauer (método de Kirby-Bauer).

El Objetivo general propuesto para este estudio es Determinar la Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos, utilizados en el Laboratorio de Microbiología Clínica .y para el cumplimiento del mismo se han planteado los siguientes Objetivos específicos:

Determinar la Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos, frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, empleando la técnica de difusión agar.

Establecer la Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos, frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, empleando la técnica de difusión agar.

Relacionar la Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos con la fecha de expiración de los mismos.

Determinar la Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos tomando en cuenta la línea comercial.

Dando la respuesta al problema se formuló la siguiente hipótesis, la Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos utilizados en el Laboratorio de Microbiología Clínica de la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas, no se encuentra en condiciones óptimas para su uso en un 50%, ya que no cumplen con las normas establecidas por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (NCCLS) del Control de Calidad.

Siguiendo el diseño metodológico se obtuvieron los resultados sobre la Eficacia Antibacteriana de los Discos del Laboratorio de Microbiología Clínica para realizar las recomendaciones oportunas y necesarias al responsable del laboratorio.

Paralelamente se elaboró un protocolo de Control de Calidad de Discos Antibióticos descrito en el estudio.

8.1 Marco contextual

Bolivia, nombre oficial Estado Plurinacional de Bolivia, situada en la región central de Sudamérica. La superficie total del país es de 1.098.581 km² con una población de 8.989.046 habitantes. Actualmente Estado Plurinacional esta dividida en 9 departamentos siendo Sucre la Capital Constitucional del Estado y La Paz Sede de Gobierno.

Chuquisaca tiene una superficie de 51.524 kilómetros cuadrados y una densidad demográfica de 8 habitantes por kilómetro cuadrado, su población citadina es alrededor de los 200.000 habitantes, es también conocida como ciudad de los cuatro nombres: Chuquisaca, Charcas, La Plata y Sucre, este último en homenaje al Mariscal Antonio José de Sucre primer presidente de la república de Bolivia.

Sucre Capital del Estado Plurinacional, se encuentra en un valle alto al sur de la sede de gobierno a 2.850 metros sobre el nivel del mar, declarado por la UNESCO “Patrimonio Cultural de la Humanidad” fundada en 1.538 al pie de los cerros SicaSica y Churuquilla, es una ciudad eminentemente universitaria y estudiantil, lo que impulsa social y económicamente a la población, de esta manera el problema del departamento es sobre todo la falta de estructura para un aumento de la productividad, no tendría una economía mas o menos estable si se omitiese la universidad y los diferentes centros de estudio, por lo tanto es importante que se impulse este factor, estas insuficiencias influyen en la economía baja de la mayoría de la población. (17)

Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca

Fundada el 27 de marzo de 1624, en cumplimiento de la bula del Papa Gregorio XV, del 8 de agosto de 1621 y de la Real Cédula de Felipe III, del 2 de febrero de 1622.

El padre Juan Frías de Herrán su fundador le dio las bases para su funcionamiento y su primera reglamentación. La Universidad primero doctoró en Teología, organizándose posteriormente una facultad de leyes.

Juan José de Segovia nacido en Tacna, vivió en La Plata desde su más tierna infancia y se graduó como abogado en la Universidad de San Francisco Xavier, en 1785, en plena vigencia de la Universidad reformada. Luego de la expulsión de la Compañía de Jesús, se constituyó en el primer rector de origen criollo.

En 1798, el Rey Carlos IV de España, ordenó la dotación de la cátedra de Medicina, disponiendo por consiguiente la fundación de la Facultad de Medicina.

La influencia de la Universidad en la fundación de la República es indiscutible, en ella estudiaron y se formaron los hombres de la generación de 1809 forjadores del proceso revolucionario del Alto Perú y la América y precursores de la integración continental.

La Universidad ha realizado una positiva labor y ejercicio una efectiva participación en las grandes decisiones nacionales.

Particularmente en las materias de ley, así también como en la Real Academia Carolina, se formó la sociedad Colonial de clase alta de los siglos 17 y 18. Algunos de esos pupilos distinguidos, conocidos como los "Doctores de Charcas" fueron quienes llevaron adelante el movimiento libertario del 25 de Mayo de 1809 y otros lo llevaron a cabo en La Paz, Quito, Tucumán y Buenos Aires.

San Francisco Xavier está empeñado en servir al pueblo boliviano a través de la búsqueda de la definición de su identidad cultural y nacional, ayudando a encontrar soluciones adecuadas a los problemas sociales y económicos, poniendo a los estudiantes en contacto directo con la realidad del país, a fin de que con esta motivación se formen íntegramente para prestar un servicio autentico en bien de la comunidad.

Actualmente las Autoridades de nuestra Universidad son: Rector Ing. Walter Arízaga Cervantes y el Vicerrector Ing. Eduardo Rivero Zurita. (18)

Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas

Por decreto supremo del 10 de noviembre de 1838, el General José Ballivian dispone de la creación de la Escuela de Farmacia, como materia farmacéutica y farmacia experimental dentro de la facultad de Medicina donde los profesionales ostentan 2 títulos: Médico-Farmacéutico.

En 1950 se plantea reformular el plan de estudios, enfocando la formación desde el punto de vista Bioquímico.

El año 1966 nace la escuela de Farmacia y Bioquímica, con 5 años de estudio y otorga los títulos de: Farmacéuticos y Bioquímicos Farmacéuticos.

El 24 de julio de 1970 por resolución del consejo Universitario N°58/70, se determina la creación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

Desde 1986 se aprueba un nuevo currículo y se otorga los títulos de: Farmacéutico Bioquímico, con duración de 5 años y la opción de lograr el título de Farmacéutico con 4 años. La única modalidad de egreso hasta el año 1990 fue la Tesis de Grado. A partir de este año a la fecha, surge la opción de elegir el internado rotatorio evaluado o la tesis de grado.

El año 1998 en asamblea Docente- Estudiantil se determinó culminar con la carrera integrada de Bioquímica Farmacéutica y separar en. Carrera de Química Farmacéutica y Carrera de Bioquímica con 5 años de estudio en ambas.

Durante las gestiones 2004 a 2006 la comisión de evaluación de las carreras dependientes de la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas trabajó permanentemente con el fin de participar en el proceso de evaluación externa con miras a la acreditación.

En fecha 28 de julio del 2006 las comisiones evaluadoras informan y recomiendan la acreditación de las dos carreras, emitiéndose la certificación de Acreditación por Resolución del Consejo de Secretarios Nacionales de CEUB N° 1356 para la Carrera de Bioquímica y N° 1357 para la carrera de Ciencias Químico Farmacéuticas en el mes de Septiembre del 2006.(17)

A partir de la gestión 2007 a 2009 empiezan con las mejoras tanto a nivel académico, como estructural, realizando en cada gestión autoevaluaciones, tanto del sector estudiantil como del sector Docente; para la mejora de la facultad. Así mismo, se procede con la remodelación de los laboratorios del instituto de Biología Molecular previo al proyecto aprobado en la gestión de la Dra. Jenny Duran.

En el año 2010 se procede a la separación y elección de las direcciones de carrera, siguiendo a una recomendación de la CEUB. En la misma gestión se hace la entrega del primer bloque de los laboratorios del instituto.

En mayo del 2011, se hace la entrega, del segundo bloque. Teniendo por concluir la fachada de los laboratorios y entrega de algunos mas. En este momento se tiene el proyecto de sacar al mercado la sangre de cordero defibrinada, ya que contamos con la crianza de corderos en Yotala de los cuales obtenemos la sangre la defibrinamos y utilizamos para mejorar la calidad de los cultivos del laboratorio de microbiología clínica.

Actualmente en el año 2011 la facultad tiene como autoridades al Decano Dr. Juan Carlos Pizarro; como Directora de la carrera de Bioquímica la Dra. Mary Cruz Mójica; y Directora de la carrera de Químico Farmacéutica la Dra. Rosario Aliaga.

Carrera de Bioquímica

Visión

La carrera de Bioquímica, acreditada nacional e internacionalmente como formadora de profesionales de alta calidad y competitividad, con capacidad investigativa e innovadora que contribuya a mejorar las condiciones de vida de la población en las áreas de su competencia de formar equipos multidisciplinarios para la solución de problemas de salud y el establecimiento de vínculos en el ámbito nacional e internacional para la generación de proyectos en investigación científica, innovación tecnológica y educación de pre y postgrado, con perfiles que respondan a las demandas de la sociedad.

Misión

Formar profesionales líderes de reconocida calidad, y valores éticos, capaces de investigar científicamente, desempeñarse en la aplicación e interpretación del análisis laboral, análisis de alimentos, preservación del medio ambiente, desarrollo industrial y contribuir al diagnóstico, pronóstico y seguimiento de problemas de salud prevalentes. Y emergentes en la región y el país. (17)

En cuanto al Laboratorio de Microbiología Clínica que hace dos años cuenta con una nueva estructura, es un laboratorio de enseñanza practica que permite desarrollar conocimiento, aprendizaje; potencializar habilidades de los nuevos recursos humanos para el ejercicio de la profesión. En la última gestión academia el estudiante hace una rotación de 6 semanas, con una muestra determinada de pacientes supervisadas por el docente monitor, el cual aplica la práctica laboral en el marco de las exigencias actuales de la salud.

8.2 Marco teórico

Discos de sensibilidad

Definición

Es aquel que resulta de la impregnación de una cantidad conocida de antibiótico en un disco de papel filtro, empleado en los métodos de susceptibilidad por difusión agar, utilizados para determinar la sensibilidad o no del microorganismo.

Método convencional para la difusión de discos

A medida que fueron apareciendo más agentes antimicrobianos disponibles para tratar las infecciones bacterianas. Antes que se dispusiera de la tecnología de micro dilución se necesitaba un método más práctico y conveniente para probar varios agentes antimicrobianos contra diferentes cepas bacterianas. Debido a esta necesidad se desarrolló la prueba de difusión de discos, como resultado del estudio pionero de Bauer, Kirby, Sherris y Turck, en 1966. (15)

Estos investigadores estandarizaron y correlacionaron el uso de discos de papel de filtro impregnados con antibióticos (discos de antibióticos) con la Concentración Mínima Inhibitoria para muchas cepas bacterianas.

En la prueba de sensibilidad por difusión con discos la resistencia a los antimicrobianos se detecta exponiendo los aislamientos bacterianos a discos antibióticos que se colocan en una placa de agar cuya superficie se ha sembrado con bacterias.

Cuando los discos contienen una concentración conocida de agente antimicrobiano, se colocan sobre la superficie de una placa recién sembrada, inmediatamente el agente empieza a difundirse y establece un gradiente de concentración alrededor del disco de papel. La concentración más alta es la más cercana al disco. (15)

Durante la incubación las bacterias se desarrollan en la superficie de la placa, excepto donde la concentración de antibióticos en el gradiente formado alrededor de cada disco es suficientemente alta como para inhibir el desarrollo. Después de la incubación, el diámetro del halo de inhibición alrededor de cada disco se mide en milímetros. (15)

Clasificación de los discos de sensibilidad

Los discos de sensibilidad están compuestos por antibióticos que son sustancias, bien producidas por microorganismos o bien sintéticas, que a bajas concentraciones tienen la capacidad para inhibir el desarrollo de bacterias o para destruirlas.

Están deben ser sustancias muy selectivas porque deben ser capaces de destruir a las bacterias sin destruir a las células o ser tóxicas para el organismo humano.

Son fármacos de elección para el control y la curación de infecciones bacterianas. (20)

Se clasifican en:

β -lactámicos

Los antibióticos β -Lactámicos comparten un anillo central de 4 β -Lactam y su principal modo de acción es la inhibición de síntesis de la pared celular.

Anillos adicionales a la estructura o grupos agregados al anillo β -Lactam determina si el agente es penicilina, cefem, carbapenem, o monobactam. (16)

Penicilinas

Las penicilinas son antibióticos derivados del moho u hongo *Penicillium notatum*. Las propiedades de este antibiótico fueron descubiertas en 1928 por el bacteriólogo británico Alexander Fleming, pero transcurrieron otros diez años hasta que, gracias al trabajo del bioquímico británico Ernst Boris Chain, del patólogo también británico Howard Walter Florey y de otros científicos, la penicilina pudo producirse en grandes cantidades. (19)

La penicilina actúa matando a las bacterias e inhibiendo su crecimiento; se trata de un antibiótico bactericida. Sólo puede destruir a los organismos que están creciendo y multiplicándose, no a los que se encuentran en estado latente. Es muy efectiva contra un amplio espectro de microorganismos responsables de diversas enfermedades, como los neumococos, los estreptococos, los gonococos, los meningococos, el bacilo *Clostridium tetani* causante del tétanos y la espiroqueta responsable de la sífilis. Este fármaco ha sido utilizado con éxito para tratar ciertos procesos que resultaban mortales antes de la era antibiótica, como la endocarditis bacteriana subaguda, la septicemia, la gangrena gaseosa, la gonorrea y la escarlatina. (19)

La penicilina es un antibiótico importante que deriva del moho *Penicillium notatum*. Es eficaz frente a una gran variedad de enfermedades producidas por bacterias, a las que destruye de forma directa o inhibiendo su crecimiento.

Las complicaciones tras la administración de penicilina o sus derivados no son frecuentes, pero sí pueden ser graves, como en el caso de las reacciones anafilácticas, la manifestación más grave de la reacción alérgica a la penicilina.

Las reacciones alérgicas son cruzadas para toda esta familia de fármacos (si aparecen tras la administración de uno de ellos, también aparecerán con el resto del grupo). Las reacciones alérgicas son mucho más graves tras la administración intravenosa que tras la toma oral. La sensibilización a la penicilina se pone de manifiesto mediante pruebas cutáneas de detección; las personas alérgicas a la penicilina deben llevar alguna identificación para evitar que se les administre este medicamento u otros de la familia. El problema de las resistencias bacterianas a la penicilina ha ido en aumento con el transcurso de los años, y ha hecho necesaria la búsqueda de antibióticos alternativos o bien el incremento de las dosis para conseguir el mismo efecto. (19)

El espectro de actividad de la penicilina primaria incluye no productores de β -lactamasa, gram positivos y algunos fastidiosos, y bacterias gram negativas. Las acilamina, penicilinas; ampicilina y amoxicilina, tienen actividad específica contra más especies de gram negativos, incluyendo miembros de la familia, Enterobacteriaceae no productoras de β -Lactamasa. Carboxi-penicilinas (carbenicilina y ticarcilina) y ureido-penicilinas (mezlocilina y piperacilina) tienen un amplio y considerable espectro contra gram negativos, incluyendo actividad contra *Pseudomonas* spp.

Penicilinas penicilinasas resistentes (cloxacilina, dicloxacilina, metilicina, nafcilina y oxacilina) que tienen un espectro predominantemente gram positivo, incluyendo *Staphylococcus* spp. Productor de penicilinasas. (16)

Combinación de β -Lactámicos / Inhibidor de β -Lactamasa

Estos agentes antimicrobianos incluyen una penicilina y un segundo agente que tiene una mínima actividad antibacteriana pero funciona como un agente inhibidor de algunas β -Lactamasas. Actualmente, tres inhibidores de β -Lactamasas están en uso: clavulanato, sulbactam, y tazobactam. (16)

Cefemes incluyendo Cefalosporinas

Las cefalosporinas son antibióticos semisintéticos de amplio espectro y de estructura betalactámica, que actúan sobre las bacterias sensibles mediante la inhibición de la síntesis de la pared celular.

Su origen se debió al descubrimiento de la actividad antibiótica de un hongo, el *Cephalosporium acremonium*. Se pudo comprobar que los cultivos de este hongo inhibían el crecimiento in vitro de *Staphylococcus aureus* y curaban las infecciones estafilocócicas y la fiebre tifoidea en el hombre.

El mecanismo de actuación de las cefalosporinas es de tipo bactericida (destruyen las bacterias susceptibles), y sólo es eficaz sobre las bacterias que se encuentran en fase de crecimiento. En función de su espectro de actividad estos antibióticos se han ido agrupando en distintas "generaciones". Entre las cefalosporinas de primera generación se pueden incluir, por ejemplo, la cefalotina, la cefazolina y la cefalexina.

En el grupo de las de segunda generación están la cefoxitina, el cefaclor y el cefonicid, y en el último grupo, las de tercera generación, destacan la cefotaxima y la ceftriaxona. (19)

Diferentes antibióticos cefemes, incluyendo cefalosporina, pueden tener un espectro de actividad algo diferente contra bacterias gram positivas y gram negativas. Estos agentes a menudo son llamados como "primera", "segunda", o "tercera" generación de cefalosporinas, basado en la extensión de su actividad contra la mayoría de bacterias gram negativas resistentes a antibióticos.

No todos los representantes de un grupo específico o generación necesariamente tienen el mismo espectro de actividad. Debido a estas diferencias de actividad un representante de cada grupo puede ser seleccionado para test de rutina. (16)

Carbapenems

Carbapenems difieren ligeramente en estructura de las penicilinas y son mucho más resistentes a la hidrólisis por β -Lactamasa, lo que da a ellos un amplio espectro de actividad contra muchas bacterias gram positivas y gram negativas. (16)

Monobactams

Estos antibióticos son los únicos que estructuralmente muestran una significativa actividad sólo contra bacterias gram negativas aeróbicas. Aztreonam es el único monobactam aprobado para uso por la FDA. (16)

Glicopéptidos

Antibióticos Glicopéptidos comparten una compleja estructura química y el modo de acción es la inhibición de síntesis de la pared celular en sitios diferentes a los sitios de acción de los β -Lactámicos. La actividad de este grupo es dirigida primeramente a bacterias gram positivas. La vancomicina es un agente aceptado para tratamiento de infecciones por bacterias gram positiva en pacientes alérgicos a la penicilina y es útil para terapia en infecciones causadas por bacteria gram positivas β -lactamasa resistentes, por ej. *Staphylococcus aureus* y algún *Enterococcus* spp. (16)

Aminoglicósidos

Miembros de este grupo de antibióticos inhiben la síntesis de proteínas bacterianas a nivel del ribosoma. Los aminoglicósidos son usados primeramente para tratar infecciones por bacterias aeróbicas gram negativas o en combinación sinérgica con antibióticos activos, en la pared celular contra algunos gram positivo resistentes, por ej.: *Enterococcus* spp. (16).

Macrólidos

Macrólidos están estructuralmente relacionados a antibióticos que inhiben la síntesis protéica a nivel del ribosoma.

Hay varios miembros de esta clase actualmente en uso que pueden ser considerados para pruebas contra fastidiosos gram positivo o gram negativo.

Drogas de este grupo están estrechamente relacionadas entre sí, con pocas excepciones, solo es necesario probar de rutina la tetraciclina. (16)

Tetraciclinas

Antibióticos de amplio espectro, de actividad primariamente bacteriostática, que actúan sobre los microorganismos sensibles inhibiendo la síntesis proteica. Sólo son eficaces cuando los microorganismos están en fase de crecimiento.

La primera tetraciclina que se descubrió fue la clorotetraciclina, en un caldo de cultivo de bacterias del género *Streptomyces*, mediante un proceso de fermentación. A partir de aquí se fueron encontrando otras tetraciclinas naturales y de éstas se obtuvieron los distintos derivados semisintéticos que se fueron buscando para aumentar la hidrosolubilidad, la absorción digestiva o para prolongar la vida media de los preparados naturales.

Su espectro de actividad es muy amplio, cubriendo tanto cocos Gram positivos y negativos, como bacilos Gram positivos y negativos.

La adquisición de resistencias a las tetraciclinas suele ser lenta y, en general, suele ser cruzada con el cloranfenicol y la eritromicina.

Normalmente se trata de fármacos de absorción oral que no deben ser administrados junto con las comidas, sobre todo con alimentos ricos en calcio que, al unirse a estos antibióticos, forman unos quelatos no absorbibles. (19)

Presentan diferentes tipos de efectos secundarios como trastornos digestivos y alteraciones hepáticas, hematológicas, renales y neurológicas, aunque son de destacar las alteraciones que producen a nivel óseo y dentario.

Las tetraciclinas se depositan en las áreas de calcificación de los huesos y de los dientes.

En estos últimos el depósito se origina en el esmalte y la dentina, dando lugar a hipo mineralización, hipoplasia y malformación del esmalte que se manifiesta como una pigmentación peculiar que, siendo en un principio de color amarillento, pasa después a adquirir un tinte pardusco, oscureciéndose poco a poco con la luz del sol. (19)

Estos trastornos son típicos de niños que han sido tratados con estos antibióticos antes de los 10 años, sobre todo cuando han sido administrados a madres gestantes o a recién nacidos. Algo similar ocurre en los huesos, pudiendo alterar el desarrollo del esqueleto fetal cuando se toman durante la gestación. Todo esto hace que su uso esté contraindicado durante el embarazo, así como en niños pequeños.

Entre los principales cuadros clínicos en los que están indicadas las tetraciclinas destacan la brucelosis; las salmonelosis gastrointestinales; las enfermedades producidas por espiroquetas del género *Borrelia*, como la fiebre recurrente; y las infecciones por clamidias y rickettsias. (19)

Las tetraciclinas inhiben la síntesis proteica a nivel del ribosoma de ciertas bacterias gram negativas y gram positivas. Las drogas en este grupo están estrechamente relacionadas y, con pocas excepciones, sólo la tetraciclina puede requerir ser probada de rutina. (16)

Quinolonas

Familia de fármacos antibacterianos producidos por síntesis en laboratorio y formada por el ácido nalidíxico y sus derivados fluorados y no fluorados ofloxacina, norfloxacina, pefloxacina, ciprofloxacina y lomefloxacina.

Producen la muerte bacteriana al inhibir la actividad de la subunidad A de la enzima bacteriana ADN girasa, encargada de formar la hélice del ADN bacteriano. Algunas bacterias (estafilococos, pseudomonas) desarrollan resistencias frente a estos fármacos por mutación de la ADN-girasa o por impermeabilidad de la pared bacteriana a su penetración.

Todos se pueden administrar por vía oral. Presentan elevada actividad frente a bacilos gram-negativos, mediana actividad frente a estafilococos (especialmente ofloxacina y ciprofloxacina), muy escasa frente a estreptococos y nula con bacterias anaerobias.

La norfloxacina es utilizada muy frecuentemente como primera elección en infecciones urinarias. Son de gran utilidad en infecciones sistémicas (de origen urinario o intestinal) o localizadas (osteomielitis, otitis) por gram-negativos.

No deben emplearse en niños ni en gestantes porque pueden alterar el desarrollo de los cartílagos en crecimiento. Producen, en menos de un 5% de los pacientes, efectos secundarios leves de carácter gastrointestinal (diarrea, náuseas) o nervioso (insomnio, mareos). Pueden interferir con los fármacos broncodilatadores de la familia de las teofilinas y con la cafeína. (19)

Este grupo de compuestos incluye a un número de agentes estrechamente relacionados que funcionan primeramente por inhibición de la actividad de la DNA girasa de muchas bacterias gram negativas y gram positivas. Por algunas diferencias en el espectro se requiere probarlos individualmente. (16)

Sulfonamidas y Trimetoprim

Este grupo de compuestos abarca varios agentes quimioterapéuticos con espectro similar de actividad resultante de la inhibición del metabolismo bacteriano. Sulfisoxazole es la sulfonamida más usada en el tratamiento de infecciones en el tracto urinario, y debe probarse in vitro. Sulfometoxazole es usualmente probada en combinación con trimetoprim. (16)

Cepas ATCC

Son microorganismos de referencia cuya actividad antibacteriana ha sido verificada para cada disco antibiótico, por lo cual es empleada en el Control de Calidad de los mismos.

Estas son:

Staphylococcus aureus 25923

El *Staphylococcus aureus*, conocido comúnmente como estafilococo aureus o dorado, es una bacteria anaerobia facultativa gram positiva productora de coagulasa y catalasa que se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, estimándose que una de cada tres personas se hallan colonizadas, que no infectadas, por ella. (24).

Cápsula

Se han reportado casos de cepas de *S. aureus* que se encuentran recubiertas por una capa de polisacáridos externos, la cual recibe el nombre de slime o cápsula mucoide, que incrementa su capacidad de adherencia, así como refuerza el efecto antifagocítico. (24).

Escherichiacoli 25922

La Escherichiacoli (pronunciado /eske'rikiá 'koli/), también conocida por la abreviación de su nombre, *E. coli*, es quizás el organismo procariota más estudiado por el ser humano. Se trata de una enterobacteria que se encuentra generalmente en los intestinos animales, y por ende en las aguas negras, pero se lo puede encontrar en todos lados, dado que es un organismo ubicuo.

Fue descrita por primera vez en 1885 por Theodore von Escherich, bacteriólogo alemán, quien la denominó *Bacterium coli*. Posteriormente la taxonomía le adjudicó el nombre de Escherichiacoli, en honor a su descubridor.

Es una bacteria utilizada frecuentemente en experimentos de genética y biología molecular. (24)

3.4.3. Aplicación.- Ambas bacterias previa su purificación son usadas como reactivo para el control de calidad; tanto de medios de cultivo, como en discos antibióticos. Aplicado en la presente investigación. (24).

Control de calidad

El Control de Calidad se define como todos los mecanismos, técnicas, herramientas, y actividades de acción operativa, que realizamos para evaluar los requisitos, que se deben cumplir respecto a la calidad de los Discos Antibióticos y a la vez detectar la presencia de errores. (1) y (4)

Para controlar la calidad de un producto se realizan inspecciones o pruebas de muestreo para verificar que las características del mismo sean óptimas. El único inconveniente de estas pruebas es el gasto que conlleva el control de cada producto fabricado, ya que se eliminan los defectuosos, sin posibilidad de reutilizarlo. (4)

Este control nos indica que tan bueno es nuestro trabajo y establece mecanismos para asegurar la generación de información de utilidad clínica rápida y segura. Este concepto incluye entrenamiento y calificación del personal, evaluación de los reportes, rapidez y seguridad diagnóstica, certificación de los laboratorios, controles externos, etc. (1).

El Control de Calidad en el laboratorio tiene como objetivo, que el producto final del trabajo tenga un grado aceptable de seguridad, de conformidad con los límites establecidos. Debido a que la mayoría de los resultados en microbiología son producto de interpretaciones y evaluación de reacciones bioquímicas de seres vivos, donde la capacidad y experiencia del evaluador tienen un gran valor.

Los cálculos de coeficientes de variación y desviaciones estándares que son parte de funciones analíticas, tienen poca aplicación en el laboratorio de microbiología. Es por ello que algunos expertos consideran que el Control de Calidad en microbiología es más un arte que una ciencia. (2)

Tipos de control de calidad

- Control de calidad de los medios de cultivo.

- Control de calidad de reactivos.
- Control de calidad de tintes.
- Control de calidad de antisueros.
- Control de calidad de los Discos de Sensibilidad a los Antibióticos. .
- Control de calidad de equipos y materiales de trabajo.
- Control de calidad del agua destilada. (3)

Control de calidad de los discos de sensibilidad

Las metas de un programa de Control de Calidad van destinadas a monitorear: la precisión del procedimiento de la prueba de susceptibilidad. (2)

Es necesario emplear cepas control para supervisar la exactitud y fiabilidad de la metodología, debido también al gran número de variables que pueden afectar los resultados. (13)

Se quiere resaltar los aspectos de la Eficacia de la Actividad de los Discos Antibióticos en la prueba de sensibilidad a los antibióticos por difusión simple en agar, utilizando Discos de Sensibilidad, ya que es la prueba de mayor utilidad en nuestro medio.

Es importante tener presente que ésta prueba ha sido designada exclusivamente para examinar microorganismos de rápido crecimiento, utilizando la normativa Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio. (NCCLS M2-A6).

Este método no es útil para organismos fastidiosos, de crecimiento lento o para anaerobios. El método de difusión simple en agar es sin lugar a dudas el sistema de mayor uso para la realización de la sensibilidad bacteriana. (2)

Método de Difusión de Kirby Bauer

Este es un método cualitativo, que nos permite valorar la sensibilidad de los discos antibióticos a partir de los halos de inhibición obtenidos y comparados con otros de referencia especificados en el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio, en presencia de cepas bacterianas American Type Culture Collection. En el presente trabajo de investigación será empleado este método para el Control de Calidad de los discos en el laboratorio de microbiología clínica. (11)

El método de disco difusión consiste en depositar en la superficie de una placa de agar MuellerHinton previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel de filtro impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado en antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde por el agar, formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18 a 24 horas de incubación, los discos pueden o no aparecer rodeados por una zona de inhibición de crecimiento bacteriano.

Posteriormente se realiza una medición del radio de los halos de inhibición y se compara con los de referencias especificadas en el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio.

Si los halos de inhibición son menores a los de referencia se puede inferir en la caída de la actividad del antibiótico, por el contrario, el aumento de los halos obtenidos con los de referencia significaría un aumento en la dosis contenida en el disco. (12)

Los pasos para el método de difusión agar son:

Preparación del Inóculo, a partir de una placa de cultivo incubada de 18 a 24 horas, coger varias colonias con un asa y ajustar el inóculo a una turbidez equivalente al 0.5 de la escala de McFarland 0.5 en suero fisiológico. Agitar en un agitador "vortex" durante 15-20 segundos.

Inoculación de las Placas, antes de que transcurran 15 minutos de haberse ajustado el inóculo, introducir un Hisopo 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 hisopo por la superficie del agar tres veces, rotando la placa unos 60° 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 asegurarse 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 discos.

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.

Lectura de los Resultados, después de 18 horas de incubación leer el diámetro de las zonas de completa inhibición con un pie de rey o regla. (13)

Cepas American Type Culture Collection (ATCC) empleadas para el control de Discos Antimicrobianos

Para determinar la eficacia de la actividad de los Discos Antibióticos para el Control de Calidad, se emplean cepas ATCC (American Type Culture Collection)

Adicionalmente, se pueden utilizar cepas de referencia que son resistentes a ciertos antibióticos, como E. coli ATCC 25922 y S. aureus ATCC 25923, las cuales son β -lactamasa-positivas, S. aureus ATCC 43300 que es meticilina-resistente, o E. faecalis ATCC 51299 que es vancomicina-resistente y posee un alto nivel de resistencia a aminoglicósidos.

Tabla 8 Cepas empleadas para la eficacia de la actividad antibacteriana según las NCCLS descritas a continuación

AGENTE ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DISCO	Escherichia coli ATCC* 25922	Staphylococcus aureus ATCC* 25923	Pseudomonas aeruginosa ATCC* 27853	Escherichia coli ATCC* 35218
Telithromycin	15 ug		24-30		
Tetracycline	30 ug	18-25	24-30		
Ticarcilin	75 ug	24-30		21-27	6
Ticarcilin-clavulanic acid	75/10 ug	24-30	29-37	20-28	21-25
Tigecycline	15 ug	20-27	20-25	09_13	
Tobramycin	10 ug	18-25	19-29	19-25	
Trimethoprim	5 ug	21-28	19-26		
Trimethoprim-sulfamethox	1,25/23,75 ug	23-29	24-32		
Trospectomycin	30 ug	10_16	15-20		
Trovafloxacin	10 ug	26-36	29-35	21-27	
Ulifloxacin (prulifloxacin)	5 ug	32-38	20-26	27-33	
Vancomycin	30 ug		17-21		

AGENTE ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DISCO	<i>Escherichia coli</i> ATCC* 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC* 25923	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC* 27853	<i>Escherichia coli</i> ATCC* 35218
Amikacin	30 ug	19-26	20-26	18-26	
Amoxicilin-clavulanic acid	20/10 ug	18-24	28-36		17-22
Ampicilin	10 ug	16-22	27-35		6
Ampicilin-sulbactam	10/10 ug	19-24	29-37		13-19
azithromycin	15 ug		24-26		
Azlocilin	75 ug			24-30	
Aztreonam	30 ug	28-36		23-29	
Carbenicilin	100 ug	23-29		18-24	
Cefactor	30 ug	23-27	27-31		
Cefamandole	30 ug	26-32	26-34		
Cefazolin	30 ug	21-27	29-35		
Cefdinir	5 ug	24-28	25-32		
Cefditoren	5 ug	22-28	20-28		
Cefepime	30 ug	31-37	23-29	24-30	
Cefetamet	5 ug	23-27			
Cefixime	30 ug	26-32	25-34		
Cefmetazole	30 ug	25-29	22-28		
Cefonicid	75 ug	28-34	24-33	23-29	
Cefoperazone	30 ug	28-34	17-23		
Cefotaxime	30 ug	23-29	23-29		
Cefotetan	10 ug	23-28	19-25		
Cefoxitin	30 ug	21-27	27-33		
Cefpodoxime	30 ug	26-34	26-35		
Cefprozil	30 ug	21-27	27-33		
Ceftaroline	30 ug	26-34	26-35		
Ceftazidime	30 ug	25-32	16-20	22-29	
Ceftibuten	30 ug	27-35			
Ceftizoxime	30 ug	30-36	27-35	12_17	
Ceftobiprole	30 ug	30-36	26-34	24-30	
ceftriaxone	30 ug	29-35	22-28	17-23	
Cefuroxime	30 ug	20-26	27-35		
Cephalothin	30 ug	15-21	29-37		
Chloramphenicol	30 ug	21-27	19-26		
Cinoxacin	100 ug	26-32			
Ciprofloxacin	5 ug	30-40	22-30	25-33	
Clarithromycin	15 ug		26-32		
Clindamycin	5 ug	31-40	28-37	28-35	
Colistin	10 ug	11_17	24-30	11_17	
Daptomycin	30 ug		18-23		
Dirithromycin	15 ug		18-26		
Doripenem	10 ug	27-35	33-42	28-35	
Doxycyclina	30 ug	18-24	23-29		
Enoxacin	10 ug	28-36	22-28	22-28	

AGENTE ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DISCO	Escherichia coli ATCC* 25922	Staphylococcus aureus ATCC* 25923	Pseudomonas aeruginosa ATCC* 27853	Escherichia coli ATCC* 35218
Ertapenem	10 ug	29-36	24-31	13-21	
Erythromycin	15 ug		22-30		
Faropenem	5 ug	20-26	27-34		
Fleroxacin	5 ug	28-34	21-27	12_20	
Fosfomicin	200 ug	22-30	25-33		
Gerenoaxacin	5 ug	28-35	30-36	19-25	
Gatifloxacin	5 ug	30-37	27-33	20-28	
Gemifloxacin	5 ug	29-36	27-33	19-25	
Gentamicin	10 ug	19-26	19-27	16-21	
Grepafoxacin	5 ug	28-36	26-31	20-27	
Iclaprim	5 ug	14-22	25-33		
Imipenem	10 ug	26-32		20-28	
Kanamycin	30 ug	17-25	19-26		
Levofloxacin	5 ug	29-37	25-30	19-26	
Linezolid	30 ug		25-32		
Linopristin-flopristin	10 ug		25-31		
Lomefloxacin	10 ug	27-33	23-29	22-28	
Loracarbete	30 ug	23-29	23-31		
Mecilinam	10 ug	24-30			
Meropenem	10 ug	28-34	29-37	27-33	
Methicilin	5 ug		17-22		
Mezlocilin	75 ug	23-29		19-25	
Minocycline	30 ug	19-25	25-30		
Moxolactam	30 ug	28-35	18-24	17-25	
Moxifloxacin	5 ug	28-35	28-35	17-25	
Nafcilin	1 ug		16-22		
Malidix acid	30 ug	22-28			
Netilmicin	30 ug	22-30	22-31	17-23	
Nitrofurantoin	300 ug	20-25	18-22		
Norfloxacin	10 ug	28-35	17-28	22-29	
Ofloxacin	5 ug	29-33	24-28	17-21	
Oxacilin	1 ug		18-24		
Penicillin	10 units		26-37		
Piperacillin	100 ug	24-30		25-33	12_18
Piperacillin-tazobactam	100/10 ug	24-30	27-36	25-33	24-30
Polymyxin B	300 units	13-19		14-18	
Quinupristin-dalfopristin	15 ug		21-28		
Razupenem	10 ug	21-26			
Rimfapin	5 ug	08_10	26-34		
Sparfloxacin	5 ug	30-38	27-33	21-29	
Streptomycin	10 ug	12_20	14-22		
Sulfisoxazole	50 ug or 300 u	15-23	24-34		
Teicoplanin	30 ug		15-21		
Telavancin	30 ug		16-20		

Tabla 8.1 Cepas utilizadas para el control de calidad interno según el monitoreo

CEPA	GENERO Y ESPECIE	FUNCION DE MONITOREO QUE CONTROLA
ATCC 25922	<i>E. coli</i>	La actividad de antimicrobianos para gram negativo •El pH del medio mueller hinton
ATCC 25923	<i>S. aureus</i>	• La actividad de antimicrobianos para gram positiva
ATCC 35218	<i>E. coli</i>	•La actividad de antimicrobianos con inhibidores de beta lactamasas •Cepa control positivo productora de BLEA
ATCC 29212	<i>E. faecalis</i>	•Concentración de timina y timidinadel medio Mueller hinton
ATCC 27853	<i>P. aeruginosa</i>	•Concentración de cationes bivalentes del medio mueller hinton (Ca, Mgy Zn). •La actividad de antimicrobianos para <i>Pseudomonas</i>
ATCC 51299	<i>E. faecalis</i>	Cepa control positivo vancomicinay teicoplaninaResistencia fenotipo VAN A
ATCC 43300	<i>S. aureus</i>	Cepa control positivo

Causas por las cuales el disco pierde sensibilidad

- Contaminación u otros cambios en la cepa control.
- Incorrecta temperatura, tiempo o atmósfera de incubación.
- Pérdida de la potencia del disco durante su transporte, su manejo o su almacenaje en el laboratorio.

Si el pH es muy bajo, ciertos medicamentos pierden potencia (por ej. Aminoglicosidos, Quinolonas y macrólidos), mientras otros agentes pueden presentar excesiva actividad (por ej. tetraciclinas). Si el pH es muy alto, puede esperarse efectos opuestos.

El medio que contiene excesiva cantidad de Timidina o Timina puede invertir los efectos inhibitorios de sulfonamidas y trimetoprim, dando zonas más pequeñas, menos nítidas o ninguna zona., lo que podría resultar en un falso informe de resistencia.

La variación en cationes divalentes, principalmente Magnesio y Calcio, afecta los resultados de ensayo de aminoglicosidos y tetraciclinas con cepas de Pseudomonaaeruginosa. Un contenido excesivo de cationes reduce el tamaño de las zonas, mientras que el bajo contenido podría resultar en un tamaño inaceptable de la zona de inhibición.(16)

Factores que influyen en la prueba de sensibilidad antibiótica por el método de difusión en agar

Los resultados de una prueba de sensibilidad a los antibióticos por el método de la difusión del disco pueden ser influenciados por una gran cantidad de variables.

Algunos de los factores, tales como la densidad del inculó y la temperatura de la incubación son fáciles de controlar, pero el laboratorio debe estar al tanto de otras variables que pueden afectar el resultado. Todo lo anterior justifica un estricto Control de Calidad, el cual debe ser parte del procedimiento rutinario del laboratorio. (2)

Factores que influyen en la prueba de sensibilidad antibiótica

Diferentes factores modifican la sensibilidad de los antibióticos como se puede observar en la tabla siguiente:

Tabla 8.2 Factores que influyen en la prueba de sensibilidad antibiótica

Factor	Influencia
Densidad del inóculo	Zonas más grandes con inóculo ligero y zonas más pequeñas con inóculo grueso
Retraso en la incubación	Si después del aplicar el disco, el plato no es colocado pronto en la incubadora, el resultado podría ser halos de inhibición más pequeños.
Temperatura incubación	Temperaturas < 35 o C producen zonas más grandes de inhibición.
Tiempo de incubación	16-18 horas es lo ideales; menos tiempo no da resultados confiables. Otros (MERSA) requieren 24 horas exactas.
Tamaño de la placa	Placas más pequeñas acomodan menos discos
Profundidad del medio del agar	Los medios gruesos producen zonas de inhibición pequeñas y las delgadas zonas grandes.
Espacio entre los discos	Evita el montaje de zonas de inhibición
Potencia de los discos	El deterioro (mala conservación) de los discos reduce el tamaño de la zona.
Composición del medio	Afecta el índice de crecimiento, la difusión de antibióticos y la actividad de antibióticos
PH ácido del medio	Con Tetraciclina, Novobiocina, y Meticilina, producen zonas grandes.
PH alcalino del medio	Los Aminoglicosidos y Eritromicina, producen zonas más grandes.
Incubación en CO 2	Aumenta el tamaño de la zona de la Tetraciclina y Meticilina.
Adición de Timidina	Disminuye la actividad del Trimethoprim
La adición de sangre defibrinada	Disminuye la actividad de Sulfamidas
En agar chocolate decrece la actividad de	Sulfamidas, Trimethoprim y A minoglicosidos
Lectura de zonas	Errores subjetivos en la determinación de bordes claros
Agentes como la gelatina, calcio, magnesio y hierro	Disminuyen la difusión de la Tetraciclina y Gentamicina

Factores técnicos relacionados con el operador que influyen en el tamaño de la zona en el método de difusión por discos

Densidad del inóculo

Si el inóculo es muy poco denso, las zonas de inhibición serán de mayor tamaño aunque no varié la sensibilidad del microorganismo. En tales casos, pueden tomarse como sensibles cepas, que son relativamente resistentes.

Por el contrario, si el inóculo es muy denso, el tamaño de las zonas disminuirá y es posible que se tomen como resistentes cepas que son sensibles. Generalmente, los mejores resultados son los que se obtienen eligiendo un volumen de inóculo que de un crecimiento casi confluyente.

Momento en que se colocan los discos

Si después de sembrarlas con la cepa problema, se dejan las placas a temperatura ambiente durante más tiempo del previsto, los microorganismos del inóculo pueden multiplicarse antes de que se hayan colocado los discos. Esto da lugar a una disminución del diámetro de la zona y a que se califique de resistente una cepa que de hecho es sensible.

Temperatura de incubación

En las pruebas de sensibilidad la incubación se hace normalmente a 35° C. para obtener un crecimiento óptimo. Si se reduce la temperatura el tiempo necesario para obtener un crecimiento efectivo se prolonga y se producen zonas de inhibición más grandes. Cuando se evalúa la sensibilidad a la Meticilina (oxacilina) de una cepa de *Staphylococcus aureus* heteroresistente, la porción resistente de la población puede detectarse a 35°C. a temperaturas más altas, todo el cultivo parece ser sensible.

A 35°C o menos, en la zona de inhibición aparecen colonias resistentes. Estas son más visibles si se deja la placa durante varias horas a la temperatura ambiente antes de leer el resultado. Tales colonias deben identificarse siempre para determinar si son o no contaminantes.

Tiempo de Incubación

En casi todas las técnicas el periodo de incubación está comprendiendo entre 16 y 18 horas. En situaciones de urgencia, sin embargo, se puede facilitar un informe provisional a las seis horas, pero no se recomienda hacer esto sistemáticamente; el resultado debe confirmarse siempre al término del periodo de incubación ordinario.

Tamaño de la placa, Espesor del medio de Agar y Separación de los Discos Antibióticos:

Las pruebas de sensibilidad se suelen efectuar en placas de 9 a 10 cm de diámetro y con 6 a 7 discos de antibiótico como máximo en cada placa. Si hay que evaluar un mayor número de antibióticos, es preferible utilizar dos placas o una placa de 14cm.

Si la capa de agar es muy fina pueden formarse zonas de inhibición demasiado grandes, y viceversa. Las pequeñas variaciones del espesor de la capa de agar tienen efecto. La separación adecuada de los discos es esencial para evitar que se superpongan las zonas de inhibición o se deformen cerca del borde de las placas.

Actividad de los discos de antibiótico

El diámetro de la zona de inhibición es proporcional a la cantidad de medicamento que contiene el disco.

Si la potencia del fármaco se reduce por deterioro durante el almacenamiento, la zona de inhibición acusará una disminución correspondiente de tamaño.

Se puede aplicar métodos estandarizados para valorar la calidad de la actividad de los discos antibióticos según normas de la CLSSI motivo de estudio de la presente investigación.

Composición del Medio:

El medio influyente en el tamaño de la zona por su efecto en el ritmo de crecimiento del microorganismo, en la difusión del antibiótico y en la actividad de este. Es esencial utilizar el medio apropiado para cada método. (15)

8.3 Diseño metodológico

Tipo de estudio

Es un estudio analítico, descriptivo, observacional y transversal.

Analítico, porque nos permitió indagar e investigar al objeto de estudio, para conocer la causa de la ineficacia de la Actividad de los Discos Antibióticos.

Descriptivo porque nos permitió caracterizar y señalar la Eficacia de los Discos Antibióticos según parámetros de las normas de las CLSSI.

Observacional porque nos permitió observar todo el proceso de la investigación. Transversal porque los datos se obtuvieron a partir de un tiempo determinado hacia adelante

Variables

Determinación de Variables Definición Conceptual

Actividad antibacteriana

Es la capacidad que tienen los Discos Antibióticos para producir la inhibición de los microorganismos alrededor de los mismos.

Registro de la fecha de expiración de los Discos Antibióticos

Es el tiempo establecido en mes y año otorgado por el fabricante para denotar la actividad límite de los Discos Antibióticos, para ser empleados en las pruebas de susceptibilidad.

Línea comercial de los Discos Antibióticos

Es el nombre de la industria Farmacéutica donde se elaboran los Discos Antibióticos.

Definición Operacional

Actividad antibacteriana de los Discos Antibióticos

La actividad se determinará empleando Discos Antibióticos para inhibir el crecimiento de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichiacoli* ATCC 25922 mediante métodos de difusión agar, los cuales serán comparados con parámetros de referencia de la NCCLS; obteniéndose las siguientes categorías:

- Dentro de los parámetros referencia
- Fuera de los parámetros de referencia.

- Ausencia de la actividad antibacteriana.

Fecha de expiración de los Discos Antibióticos

Es el tiempo de vida útil establecido por el fabricante, en el cual los Discos Antibióticos conservan sus características y su potencia. Obtendremos la fecha de expiración de la información comprendida en la etiqueta de cada Disco Antibacteriano, clasificándolos en:

- Discos Antibióticos Expirados
- Discos Antibióticos No expirados

Línea comercial de los Discos Antibióticos

La línea comercial de los discos antibióticos, proviene de la empresa en la que fueron elaborados y estos discos pueden variar en sus características dependiendo de las condiciones en las que fueron procesados. Por ello evaluaremos la eficacia de la actividad antibacteriana, en dos líneas como ser:

- Britania
- Bioanalyse
- Oxoide
- Valtex

Fijación de límites

La investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología Clínica del Instituto Experimental de Biología dependiente de la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011.

El tiempo de ejecución correspondió a 11 meses comprendidos entre diciembre 2010- Octubre 2011.

Muestra

La muestra estuvo comprendida por 45 discos antibióticos del laboratorio de Microbiología Clínica de la facultad Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas.

Procesamiento de la información

Para la obtención de los resultados y garantizar la validez de los mismos se realizó el control de calidad de las cepas ATCC, material de vidrio y esterilización y pH del MuellerHinton y posteriormente se ejecutaron las pruebas de susceptibilidad para determinar la eficacia antibacteriana de los discos.

Control de Calidad

Previo a la ejecución de la metodología empleada en la determinación de la eficacia de la actividad antibacteriana de los discos antibióticos se efectuó un control riguroso de la pureza de las cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922, del lote de cajas petri, el pH del medio de MuellerHinton y la altura de 4 mm de los medios de cultivo para asegurar el control de calidad de los Discos Antibióticos.

Para determinar la Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos, se empleó el Método de Kirby Bauer

Control de la Calidad de las cepas ATCC

Las cepas empleadas para el control de calidad fueron el *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

Las cepas fueron enriquecidas en caldos BHI y posteriormente resembradas en Agar Sangre y Agar MC CONKEY con el fin de obtener colonias aisladas a partir de las cuales se realizó las pruebas de identificación para verificar su género y especie.

Para conservar las cepas por tiempos prolongados fueron refrigeradas a temperaturas <de 20°C

Control de la Calidad del Medio de cultivo MuellerHinton

Para el MuellerHinton se valoró el pH, la profundidad y esterilidad.

El agar Mueller - Hinton se preparó a partir del reactivo comercial deshidratado y de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Para determinar el pH del medio se empleó papel indicador de pH por una parte y por otra se empleó una cepa *Escherichia coli* ATCC25922 frente a discos de: Gentamicina y Tetraciclina. Si los medios de cultivo tienen un pH óptimo, los halos de inhibición para gentamicina 10ug. = 19 – 26 mm y tetraciclina 30ug. = 18 – 25 mm. El agar deberá tener un pH entre 7,2 y 7,4 después de gelificar a temperatura ambiente.

Para medir el pH del MuellerHinton se autoclavó y enfrió en un baño de agua a 45 - 50°C.

Para determinar la profundidad de agar en la caja petri, se empleó un portaobjeto graduado a 4 mm de su borde inferior el cual se sumergió en el medio o en el agar depositado en la caja petri antes de su agarización.

El MuellerHinton se enfrió a temperatura ambiente hasta su agarización completa, aquellas unidades de agar que no fueron utilizadas ese día se almacenaron en el refrigerador (2 - 8° C).

Para determinar la esterilidad de los medios se tomó una muestra representativa de cada lote de placas y llevo a incubación a 37°C por 24 a 48 horas para verificar ausencia de colonias contaminantes.

Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos

El procedimiento empleado para determinar la Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos consistió en:

1. Obtención del inóculo: Se reconstituyó las cepas ATCC previamente identificadas en Caldo BHI, Caldo Soya Tripticasa o Agua Peptonada, para su enriquecimiento a una temperatura de 37°C por 24 horas; partir del cual se obtuvo una suspensión del microorganismo enriquecido en 2 ml solución fisiológica.
2. Estandarización del inóculo: Se estandarizo el inóculo obtenido, comparando con el patrón de turbidez 0,5McFarland hasta obtener la misma turbidez por comparación.
3. Siembra del inóculo: Se introdujo un hisopo estéril en el tubo que contuvo al inóculo estandarizado, se escurrió por las paredes y se procedió a la siembra del medio MuellerHinton en tres direcciones, haciendo girar la caja petri en un ángulo de 65°, esto permitió la distribución homogénea del inóculo.
4. Selección de los Discos: Se procedió a atemperar los discos antibióticos dos horas previas para que adquieran la temperatura ambiente antes de ser utilizados. Se empleó una pinza estéril para depositar los discos sobre la superficie del medio. Se utilizó 4 a 5 discos por cada caja petri de 90mm, la distancia entre cada disco debe ser de 2,5 cm y del disco al borde de la caja de 2cm. Una vez colocado el Disco de Sensibilidad no se movido, porque el disco difunde inmediatamente sobre el agar.
5. Incubación de los medios de cultivo: Se llevó la caja petri con el medio sembrado y los discos seleccionados a la estufa de incubación a 37°C durante 24 a 48 horas.
6. Lectura e interpretación de los resultados: Se empleo un calibre o regla para medir los halos de inhibición formados después de la incubación y se registro en una ficha de laboratorio para luego ser comparados con los valores de referencia del NLCCS. (7)

8.4 Resultados

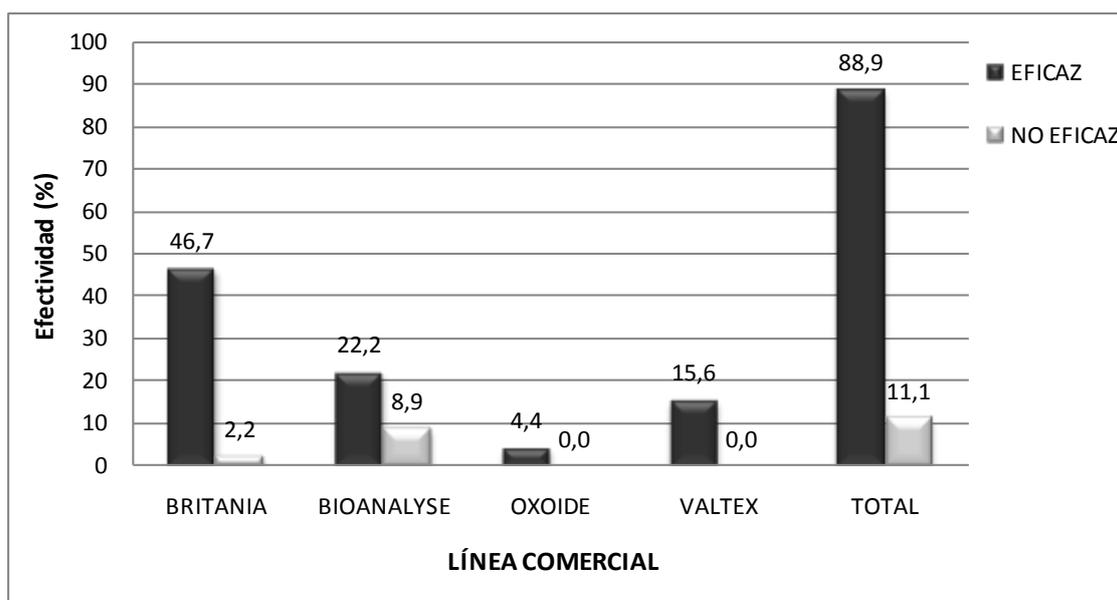
A continuación tenemos los resultados de la Eficacia de los Discos Antibióticos valorados con la cepa Escherichiacoli ATCC 25922 y Staphylococcosaureus ATCC 25923.

Tabla 8.3 Efectividad de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos de las líneas comerciales frente a la *Escherichia coli* ATCC 25922 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011

Línea Comercial	Eficaz		No Eficaz		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Britania	21	46,7	1	2,2	22	48,9
Bioanalyse	10	22,2	4	8,9	14	31,1
Oxoid	2	4,4	0	0,0	2	4,4
Valtex	7	15,6	0	0,0	7	15,6
Total	40	88,9	5	11,1	45	100,0

p= 0,0421

Grafico 8 Efectividad de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos de las líneas comerciales frente a la *Escherichia coli* ATCC 25922 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011



De la tabla 8.4 y el grafico 8.1 Se observa que del 100% de los discos examinados que correspondían a las líneas Britania, Bioanalyse, Valtex, Oxoid; el 88.9% es eficaz y el 11.1% no eficaz frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.

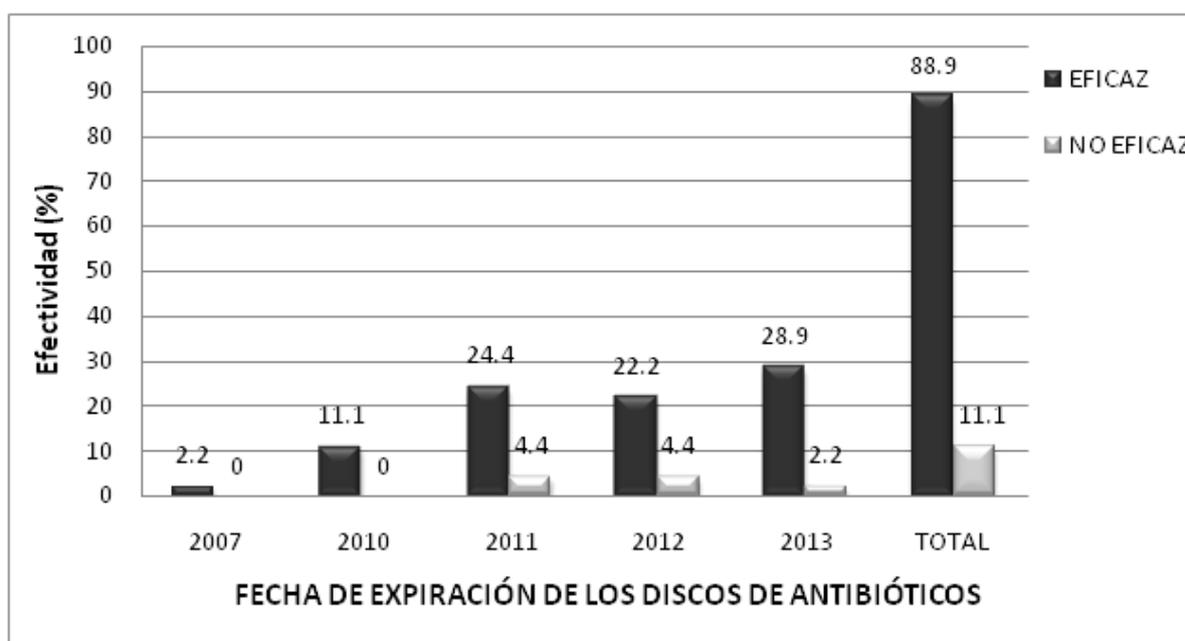
Teniendo los discos antibióticos de la línea Britania un alto porcentaje 46,7% y la línea Oxoid un 4,4% más bajo. Estadísticamente se encontró significancia $p=0,0421$ ($<0,05$) a un nivel de confianza del 95% entre la eficacia de la línea comercial y la actividad antibacteriana.

Tabla 8.4 Efectividad de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos según fecha de expiración frente a la Escherichiacoli ATCC 25922 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011

Fecha Expiración	Eficaz		No Eficaz		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
2007	1	2,2	0	0	1	2,2
2010	5	11,1	0	0	5	11,1
2011	11	24,4	2	4,4	13	28,9
2012	10	22,2	2	4,4	12	26,7
2013	13	28,9	1	2,2	14	31,1
Total	40	88,9	5	11,1	45	100,0

p=0,7265

Grafico 8.1 Efectividad de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos de fecha de expiración frente a la Escherichiacoli ATCC 25922 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011



De la tabla 8.5 y grafico8.2 Se observa que del 100% de los discos examinados que correspondían a la fecha de vencimiento 2007, 2010, 2011, 2012, 2013; el 88.9% es eficaz y el 11.1% no son eficaces frente a la cepa de Escherichiacoli ATCC 25922.

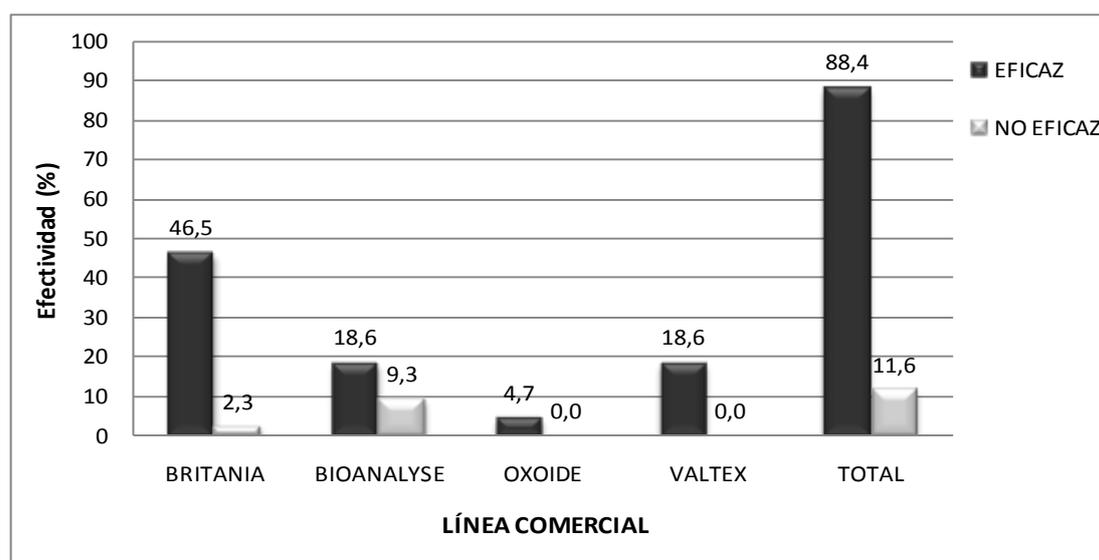
Teniendo los discos antibióticos con fecha de vencimiento 2013 tiene un alto porcentaje de eficacia del 28.9% y no eficaz el 2.2% y la fecha de vencimiento del 2007 tiene un porcentaje de eficacia del 2.2%. Estadísticamente no se encontró significancia $p=0,7275$ ($>0,05$) a un nivel de confianza del 95% entre la eficacia de la fecha de vencimiento y la actividad antibacteriana.

Tabla 8.5 Efectividad de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos de la líneas comerciales frente a la *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011

Línea Comercial	Eficaz		No Eficaz		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Britania	20	46,5	1	2,3	21	48,8
Bioanalyse	8	18,6	4	9,3	12	27,9
Oxoide	2	4,7	0	0,0	2	4,7
Valtex	8	18,6	0	0,0	8	18,6
Total	38	88,4	5	11,6	43	100,0

$p=0,0277$

Grafico 8.2 Efectividad de la actividad antibacteriana de los discos antibióticos de la líneas comerciales frente a la *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011



De la tabla 8.6 y Grafico 8.3 Se observa que del 100% de los discos antibióticos examinados que correspondían a las líneas Britania, Bioanalyse, Valtex, Oxoid; el 88.4% es eficaz y el 11.6% es ineficaz frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Teniendo los discos antibióticos de la línea Britania un alto porcentaje 46,5% y la línea Oxoid un 4,7% más bajo.

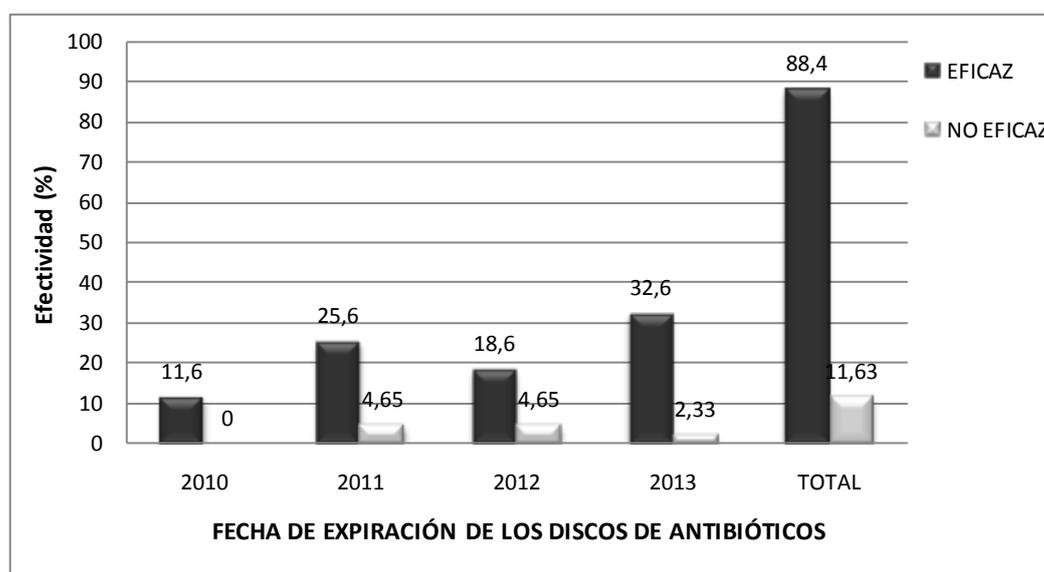
Estadísticamente se encontró significancia $p=0,0277$ ($<0,05$) a un nivel de confianza del 95% entre la eficacia de la línea comercial y la actividad antibacteriana.

Tabla 8.6 Efectividad de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos de fecha de expiración frente a la *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011

Fecha Expiración	Eficaz		No Eficaz		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
2010	5	11,6	0	0	5	11,6
2011	11	25,6	2	4,65	13	30,2
2012	8	18,6	2	4,65	10	23,3
2013	14	32,6	1	2,33	15	34,9
Total	38	88,4	5	11,63	43	100,0

p=0,6007

Grafico 8.3 Efectividad de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos de fecha de expiración frente a la *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011



De la tabla 8.7y gráfico 8.4 Se observa que del 100% de los discos antibióticos examinados que correspondían a la fecha de vencimiento 2010, 2011, 2012, 2013; el 88.4% es eficaz y el 11.6% es ineficaz frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Teniendo los discos antibióticos con fecha de vencimiento 2013 tiene un alto porcentaje de eficacia del 32.6% e ineficaz del 2.33% y la fecha de vencimiento del 2010 tiene un porcentaje de eficacia del 11.6%.

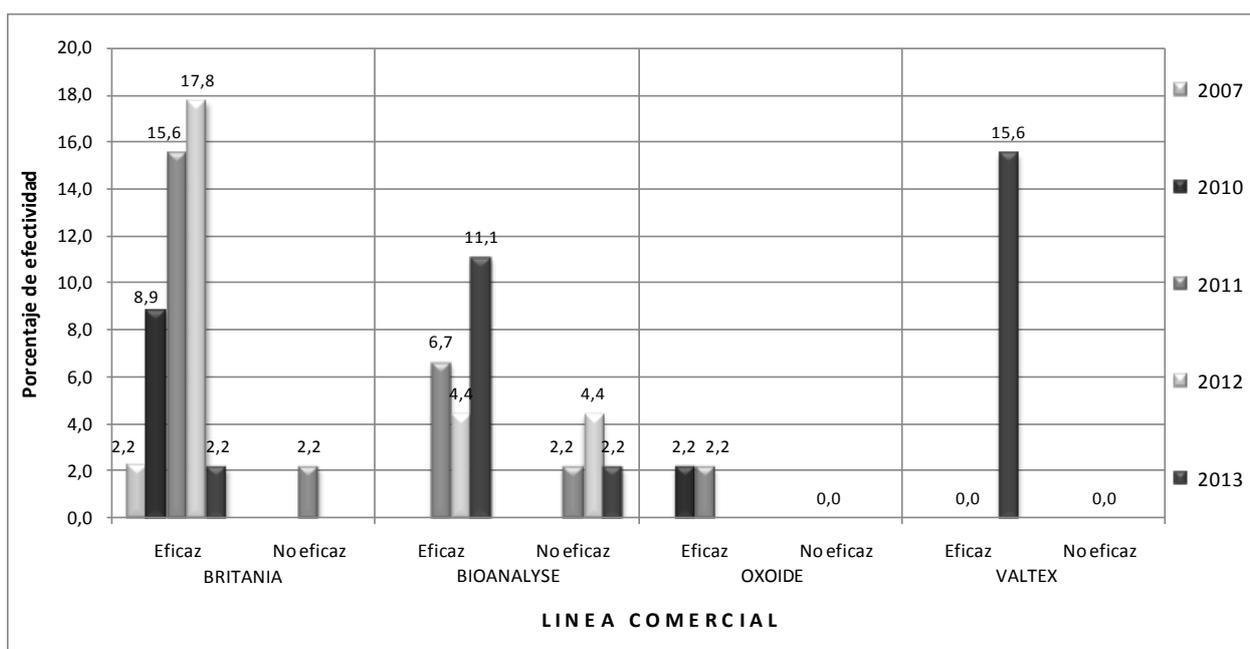
Estadísticamente no se encontró significancia p=0,6007 (>0,05) a un nivel de confianza del 95% entre la eficacia de la fecha de vencimiento y la actividad antibacteriana.

Tabla 8.7 Relación entre la fecha de expiración de los Discos Antibióticos y líneas comerciales para la Escherichiacoli ATCC25922 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011

Britania		Bioanalyse				Oxide				Valtex				Total			
Eficaz		No Eficaz		Eficaz		No Eficaz		Eficaz		No Eficaz		Eficaz		No Eficaz		Total	
Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
1	2,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	2,2
4	8,9	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	2,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	5	11,1
7	15,6	1	2,2	3	6,7	1	2,2	1	2,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	13	28,9
8	17,8	0	0,0	2	4,4	2	4,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	12	26,7
1	2,2	0	0,0	5	11,1	1	2,2	0	0,0	0	0,0	7	15,6	0	0,0	14	31,1
21	46,7	1	2,2	10	22,2	4	8,9	2	4,4	0	0,0	7	15,6	0	0,0	45	100,0
-	-	-	-	0,5218	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*A un nivel de confianza del 95%

Grafico 8.4 Relación entre la fecha de expiración de los Discos de Antibióticos y líneas comerciales para la Escherichiacoli ATCC25923 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011



De la tabla 8.8 y Grafico 8.5 Se observa que los discos antibióticos de la línea Britania muestran ineficacia en un 2.2 % con fecha de vencimiento 2011, siendo eficaces aquellos de fecha de vencimiento 2007, 2010, 2011, 2012, 2013 con un 46.7% del 100% de los discos analizados.

Los discos de la línea Bioanalyse muestran ineficacia en un 8.9 % con fecha de vencimiento 2011, 2012, 2013, siendo eficaces los de fecha de vencimiento 2007, 2010, 2011, 2012, 2013 en el 22.2% del 100% de los discos analizados.

Todos los discos de la línea Oxide muestran eficacia en un 4.4 % del 100% de los discos analizados con fecha de vencimiento 2010, 2011, no existiendo discos ineficaces al ser valorada frente a la Escherichiacoli ATCC25922

Todos los discos de la línea Valtex muestran una eficacia en un 15. 6% con fecha de vencimiento 2013.

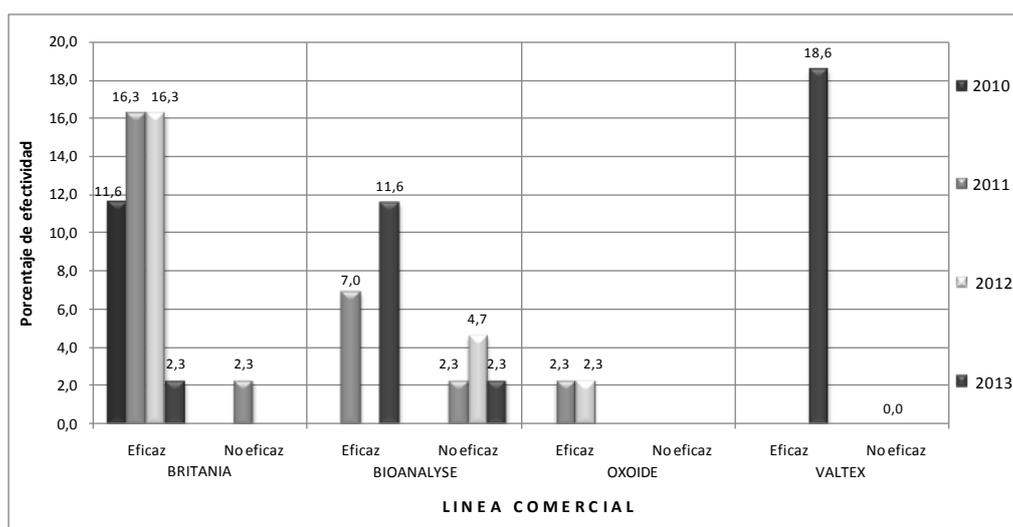
Por lo tanto la línea Bioanalyse mostró con respecto a las otras líneas menor eficacia antibacteriana sobre la *Escherichiacoli* ATCC25922.

Tabla 8.8 Relación entre la fecha de expiración de los Discos de Antibióticos y líneas comerciales para la *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011

Fecha Expiración	Britania				Bioanalyse				Oxoid				Valtex				Total	
	Eficaz		No Eficaz		Eficaz		No Eficaz		Eficaz		No Eficaz		Eficaz		No Eficaz		N°	%
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%				
2007	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2010	5	11,6	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	5	11,6
2011	7	16,3	1	2,3	3	7,0	1	2,3	1	2,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	13	30,2
2012	7	16,3	0	0,0	0	0,0	2	4,7	1	2,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	10	23,3
2013	1	2,3	0	0,0	5	11,6	1	2,3	0	0,0	0	0,0	8	18,6	0	0,0	15	34,9
Total	20	46,5	1	2,3	8	18,6	4	9,3	2	4,7	0	0,0	8	18,6	0	0,0	43	100,0
P*	-				0,0874				-				-					

*A un nivel de confianza del 95%

Grafico 8.5 Relación entre la fecha de expiración de los Discos de Antibióticos y líneas comerciales para la *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011



De la tabla 8.9 y Grafico 8.6: Se observa que los discos antibióticos de la línea Britania muestran ineficacia en un 2.3 % con fecha de vencimiento 2011, siendo eficaces los de fecha de vencimiento 2010, 2011, 2012, 2013 con un 46.5% del 100% de los discos analizados.

Los discos de la línea Bioanaly se muestran ineficacia en un 9.3 % con fecha de vencimiento 2011, 2012, 2013, siendo eficaces los de fecha de vencimiento 2011, 2013 con un 18.6% del 100% de los discos analizados.

Todos los discos de la línea Oxide muestran eficacia en un 4.7 % con fecha de vencimiento 2011, 2012, no existiendo discos ineficaces al ser valorada frente al *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 del 100% de los discos analizados.

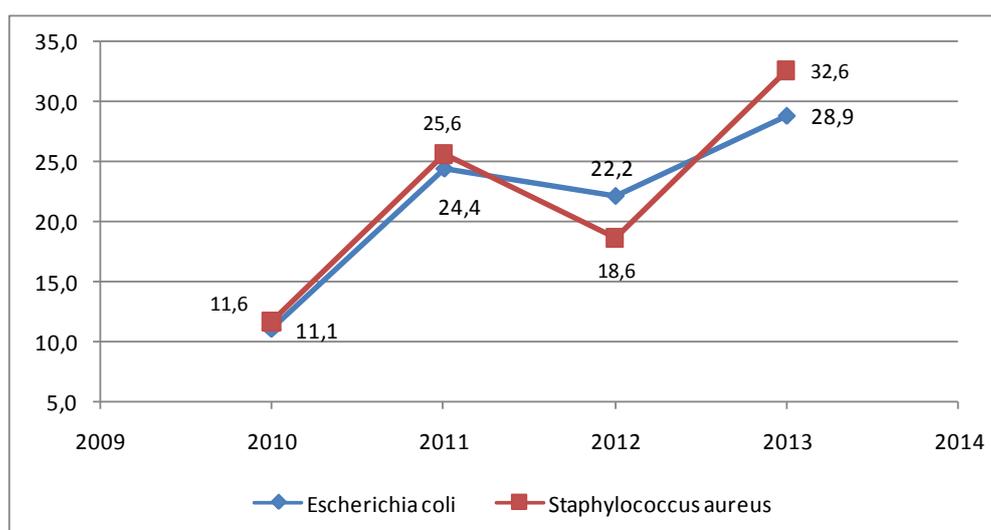
Todos los discos de la línea Valtex muestran una eficacia en un 18. 6% con fecha de vencimiento 2013, puesto que no mostro ninguna ineficacia del total de las muestras.

Por lo tanto la línea Bioanaly se mostró con respecto a las otras líneas menor eficacia antibacteriana frente al *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Tabla 8.9 Efectividad de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos de fecha de expiración del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011

Fecha expiración	Escherichiacoli atcc 25922		Staphylococcus aureus atcc 25923	
	Eficaz		Eficaz	
	Nº	%	Nº	%
2007	1	2,2	-	-
2010	5	11,1	5	11,6
2011	11	24,4	11	25,6
2012	10	22,2	8	18,6
2013	13	28,9	14	32,6
Total	40	86,7	38	88,4

Grafico 8.6 Efectividad de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos de fecha de expiración del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011

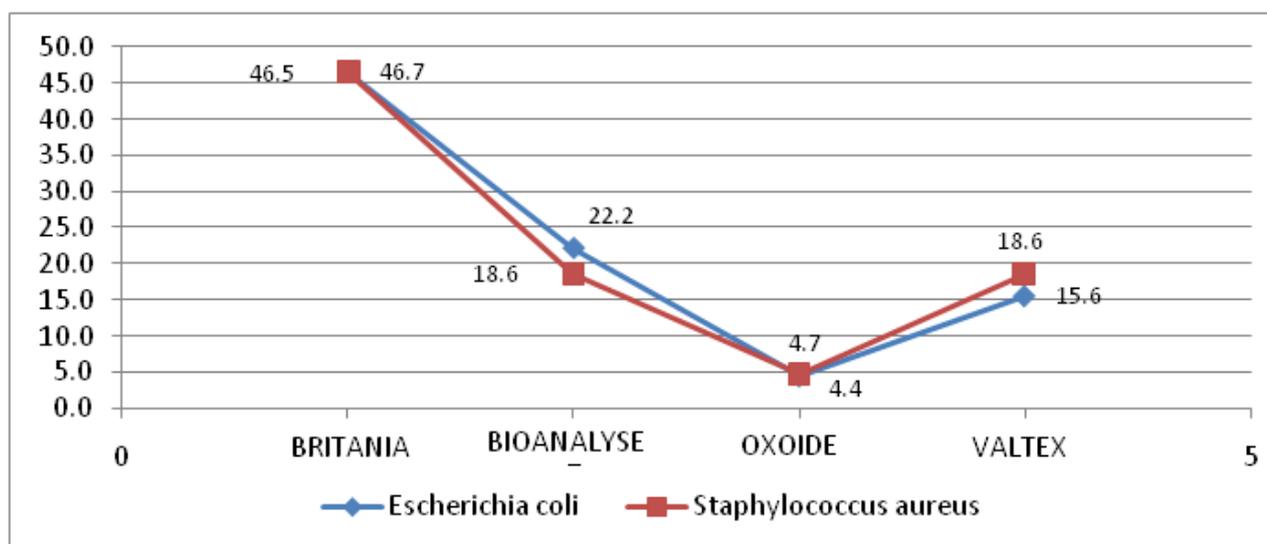


De la tabla 8.11 y Grafico 8.7 Se observa que del 100% de los discos examinados que correspondían a la fecha de vencimiento; 2007, 2010, 2011, 2012, 2013; la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con un porcentaje del 88.4% mostro mayor eficacia con respecto a la cepa de la *Escherichiacoli* ATCC 25922 con un porcentaje de 86.7%.

Tabla 8.11 Efectividad de la Actividad Antibacteriana de Discos de Antibióticos según línea comercial del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011

Línea Comercial	Escherichiacoli Atcc 25922		Staphylococcus aureus Atcc 25923	
	Eficaz		Eficaz	
	Nº	%	Nº	%
Britania	21	46,7	20	46,5
Bioanalyse	10	22,2	8	18,6
Oxoide	2	4,4	2	4,7
Valtex	7	15,6	8	18,6
Total	40	88,9	38	88,4

Grafico 8.7 Efectividad de la Actividad Antibacteriana de Discos de Antibióticos según línea comercial del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011



De la tabla 8.12 y Grafico 8.8: Se observa que del 100% de los discos examinados que correspondían a la línea comercial; Britania, Bioanalyse, Oxoid, Valtex; la cepa de Escherichiacoli ATCC25922 con un porcentaje del 88.9% mostro mayor eficacia con respecto a la cepa del Staphylococcus aureus ATCC 25923 con un porcentaje de 88.4%.

8.5 Análisis y discusión

En la valoración de la eficacia antibacteriana de los Discos antibióticos en relación a la línea comercial en ambas cepas tanto la Escherichiacoli ATCC25922 en un 88.9% y en el Staphylococcus aureus ATCC 25923 en un 88.4%, se obtuvo un alto porcentaje siendo la línea comercial Britania la de mayor eficacia frente a la demás, podría deberse a que tiene una buena conservación, es una línea que muestra calidad y es distribuida por el vendedor en buenas condiciones.

La línea que mostro mayor ineficacia en la valoración fue Bioanalyse en un 9.3% frente al *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, y en un 8.9% frente a la *Escherichia coli* ATCC 25922; ello podría deberse a las deficientes condiciones de transportación del producto e inadecuada conservación del producto.

En la valoración de la fecha de vencimiento frente a la eficacia de los discos antibióticos en ambas cepas tanto la *Escherichia coli* ATCC25922 y en el *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; se observó que no es determinante la fecha de vencimiento para la utilización clínica de los discos antibióticos, puesto que una mayoría de los discos ya vencidos fueron eficaces, podría deberse a que el fabricante puso una concentración elevada del antibiótico y que pesar del tiempo aún no se esta degradando, por buena conservación no obstante es una necesidad hacer siempre un control de calidad para tener un resultado clínico confiable.

En la comparación realizada de la línea comercial, con la fecha de vencimiento, con un porcentaje de 46.7% para *Escherichia coli* ATCC25922 y un 46.5% para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; se observó que la eficacia de la línea BRITANIA tiene mayor porcentaje sobre las otras líneas, por tanto la fecha de vencimiento no es un indicador de ineficacia de los discos antibióticos y podría deberse, a las buenas condiciones de conservación del producto y la excelente calidad del mismo.

En el caso de la línea "BIOANALYSE" esta mostró mayor ineficacia en un 9.3% frente al *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, y un 8.9% frente a la *Escherichia coli* ATCC25922 con respecto a las otras líneas y la fecha de vencimiento no fue determinante puesto que en algunos casos los discos con fecha de vencimiento actual no tuvieron actividad antibacteriana, esto podría deberse a la deficiente conservación de los discos antibióticos de la casa distribuidora distribuidor local y al uso de los discos antibióticos en condiciones inadecuadas.

En el cuadro donde se comparó la eficacia de ambas cepas; con respecto a la fecha de vencimiento, la eficacia es relativamente proporcional al tiempo de uso puesto por el fabricante esto podría deberse a que muchos de los antibióticos con el tiempo y factores externos pierden su actividad por degradación del antibiótico, antibióticos fotosensibles a la exposición de luz, humedad y calor.

La línea Britania tiene mayor eficacia debido a que se analizó en número apreciable de discos antibióticos (21 discos antibióticos) y la Oxoide menor actividad ya que solo se analizó (2 discos antibióticos), por tanto la línea comercial no es un indicador de la eficacia de la actividad antibacteriana.

Sin embargo la eficacia de los discos antibióticos frente al *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC25922, en la línea Bioanalyse Y Valtex muestra una ligera diferencia porcentual que podría deberse a que algunos discos antibióticos tienen alta o baja concentración antibiótica pero no la concentración ideal para inactivar a las dos cepas bacterianas.

8.6 Conclusiones

La Eficacia de los Discos Antibióticos, correspondió al 88.7% para *Escherichia coli* ATCC 25922, 88.4% para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; por lo que la hipótesis planteada no se cumple. Debido a que se planteo una eficacia del 50%.

La ineficacia de discos correspondió al 13,3% para *Escherichia coli* ATCC 25922 y 11,6% para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, del 100% de los discos analizados.

La Eficacia según fecha de expiración, para los discos antibióticos 2010 valorados con la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 correspondió en un 11.6% y 76.46% para el resto de los discos vigentes 2011, 2012, 2013.

La Eficacia según fecha de expiración, para los discos antibióticos 2007, 2010 valorados con la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 correspondió en un 13.3% y 75.5% para el resto de los discos vigentes 2011, 2012, 2013.

La fecha de expiración no es un indicador definitivo de la ineficacia de los discos antibióticos.

La Eficacia según la línea comercial correspondió a la marca BRITANIA, en un 46.7% (2007, 2010, 2011, 2012, 2013) en relación a las otras marcas para ambas cepas ATCC.

La línea Bioanalyse es ineficaz en un 8,8% (2011,2012,2013) en relación a las otras marcas comerciales.

Finalmente hacemos notar que la presente investigación toma en cuenta la eficacia de los discos antibióticos conservados en el Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas de ahí que se hace mención a las líneas comerciales.

8.7 Recomendaciones

Realizar un control de calidad a los nuevos lotes de Discos Antibióticos que una vez abiertos adquiera la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas para la próxima gestión, para realizar un seguimiento de la actividad antibacteriana.

Efectuar controles de calidad continuos de los discos antibióticos, medios de cultivos y reactivos en el laboratorio de Microbiología Clínica.

Aplicar el protocolo adjunto en anexos a esta investigación en controles sucesivos en el laboratorio de Microbiología Clínica.

Implementar control de calidad interno de equipos empleados en al conservación de discos antibióticos.

8.8 Agradecimientos

Los investigadores agradecen a la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca por el apoyo brindado en el desarrollo del presente trabajo

8.9 Referencias

Weng Alemán, Z. Hernández Iglesias B., Beltrán Díaz “Control de medios de cultivo con empleo de cepas bacterianas autóctonas como patrones secundarios de referencia” Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología (INHEM) weng@infomed.sld.cu [Accesado 3 de Noviembre2010].

McGowan J., “Control microbiológico de antibióticos”. Curvas estándar, determinación de potencia y preparación de discos para pruebas de sensibilidad. ”<http://www.monografias.com/trabajos73/manual-control-calidad-microbiologia/manual-control-calidad-microbiologia2.shtml> 1 [Accesado 12 noviembre 2010]

Isenberg H. “Selección De Cepas Antibiótico-Sensibles Y Determinación De Curvas Estándar.” www.scielo.org.pe/pdf/rins/v17n1-4/a04v17n1-4.pdf [Accesado 16 de Noviembre del 2010]

Marko A. “Existen herramientas básicas para el Control de Calidad de una empresa.” <http://www.monografias.com/trabajos11/prico/prico.shtml> [Accesado 22 de Noviembre 2010]

Lobos H. R., D García M.J. “Microbiología General” Procedimientos y Técnicas de Laboratorio Ed. Vol. 1. Edit. Instituto de Salud Pública de Chile. Ciudad Santiago 2008.

Trigoso A. Cristian y Colaboradores “Bacteriología Básica” Ed.1º Edit. Universidad Mayor de San Andrés Ciudad La Paz Bolivia.

INLASA “Bitácora para el Control de Calidad Interno del Antibiograma”

“CercenadoEmilia “Limites de Confianza” <http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/SeminarioAntibioticos.htm> [Accesado 5 de Diciembre2010]

Obregón G, Zavaleta A. “Evaluación de la calidad de discos de sensibilidad antimicrobiana” <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap32.asp> [Accesado 7 de Enero 2011]

Aguilar Merino J. M. “Control De Los Medios De Cultivo” <http://html.rincondelvago.com/analisis-microbiologico.html> [Accesado 10 de Enero 2011]

Ferraro, M. J. “Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing” Eleventh Informational Supplement. Vol21, Nº 1 M100-S11 NCCLS National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. [Accesado 9 de febrero del 2011].

García Rodríguez José A. “Método del Antibiograma Difusión Agar” <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap11.htm> [Accesado 12 de Abril del 2011].

Contreras Quispe. Rosa “Fase pre analítica y analítica del diagnóstico microbiológico” Control de calidad” Laboratorio de IRAS e IIHCNSP –INS. [Accesado 15 de abril del 2011]

Lobos Vandepitte. “Métodos Básicos de Laboratorio en Bacteriología Clínica” Organización mundial de la salud Ginebra.[Accesado 21 de abril del 2011].

“Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en Agar” NCCLS http://www.ispch.cl/lab_sal/doc/man_suscep.pdf [Accesado 23 de abril 2011]

Tríptico de la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas 2006. [Accesado 24 de abril del 2011].