

Discos Múltiples

IVD

Para la prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos por difusión en agar.

INTRODUCCIÓN

La susceptibilidad bacteriana a los antimicrobianos puede medirse *in vitro* utilizando los principios de la difusión en agar, mediante el uso de discos de papel impregnados con soluciones de distintos antimicrobianos.

USO AL QUE ESTÁ DESTINADO

Prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos por difusión en agar.

FUNDAMENTO

El fundamento de esta técnica (Bauer y Kirby) se basa en la obtención de halos de inhibición que se correlacionan con la concentración inhibitoria mínima (CIM) y el comportamiento clínico de las cepas bacterianas como: "Sensibles", "Intermedias" y "Resistentes".

Por lo tanto si se desean resultados confiables, los detalles técnicos deben ser cuidadosamente normalizados y controlados. De acuerdo con los informes de la O.M.S. y C.L.S.I.

ELEMENTOS DEL SISTEMA

Provisto Ver Series

Discos de 5 puntas impregnados con distintos antimicrobianos. (Variable de acuerdo a cada Serie)

No provisto

- Agar Mueller Hinton.
- Caldo Tripto Soya.
- Patrón de turbidez.
- Cepas patrones.

MATERIAL REQUERIDO

Provisto

Regla calibre.

No provisto

- Ansa.
- Mechero.
- Estufa de cultivo.
- Tubos estériles.
- Hisopos estériles.
- Pinza.
- Placas de petri.

ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN

Los elementos del sistema provistos son estables hasta la fecha de vencimiento indicada en el envase, mantenidos por debajo de -20°C y en su envase original.

PROCEDIMIENTO

DISCOS

Si bien ANMAT recomienda no utilizar más de 6 antimicrobianos por placa de 10 cm de diámetro, **Brizuela-Lab.** rediseñó sus discos múltiples incorporando sólo 5 antibióticos para lograr de esta manera adaptarlos a los nuevos criterios bacteriológicos internacionales vigentes (Manual of Clinical Microbiology 11ª edición 2015) que recomiendan el uso de sólo 5, separados a una distancia mayor a 2,4 cm entre centros. En las nuevas estrellas se cumplen todas las recomendaciones y se obtiene una separación entre centros de 3,1 cm. Con esto se logra evitar la interacción entre antimicrobianos y obtener halos completos dentro de la placa.

La conservación de los mismos es muy importante para obtener un resultado confiable. Se deberán conservar a la temperatura que indique el envase y previamente se deben dejar que tomen temperatura ambiente durante 1 ó 2 horas, para evitar la condensación que pueda ocurrir. No se deberá usar discos cuyo vencimiento haya expirado.

MEDIO DE CULTIVO

Se deberá usar agar Mueller Hinton, pues este medio proporciona una buena reproducibilidad lote a lote, es pobre en contenido de inhibidores de sulfonamidas, trimetoprima y tetraciclinas. Además, brinda crecimiento satisfactorio para muchos patógenos. El contenido excesivo de timidina, puede causar la obtención de halos de inhibición menores, cuando se ensaya con trimetoprima.

Para evaluar el contenido de timidina en un lote de agar Mueller Hinton se puede usar una cepa control de *E. faecalis* ATCC 29212, con discos de trimetoprima. Medios con contenido satisfactorio de timidina, darán zonas claras de inhibición mayor a 24 mm.

El pH del medio deberá estar entre 7,2 - 7,4 (25°C).

INÓCULO

La suspensión de gérmenes que habrá de utilizarse para la realización de la prueba deberá provenir de cultivos monomicrobianos. Para la correcta preparación del inóculo se deberá comparar con un patrón de turbidez el cual se prepara mezclando 0,5 ml de una solución de Cl₂Ba (48 mmol/L) y 99,5 ml de una solución de H₂SO₄ (180 mmol/L). Este patrón de turbidez puede fraccionarse en tubos, similares a los que se utilizarán para la preparación del inóculo, se cerrarán perfectamente y se deberán conservar refrigerado durante un período de 6 meses. Al ser utilizado deberá agitarse antes de proceder a la comparación.

Para la preparación del inóculo se tomarán 4 ó 5 colonias del germen en estudio y se suspenderán en una porción de caldo Tripto Soya, hasta lograr una turbidez a ojo desnudo, comparable al patrón de turbidez. En caso de obtener una suspensión con turbidez menor al patrón se podrá incubar a 37°C, durante algunas horas, hasta igualar la turbidez del patrón. En caso de que el inóculo sea de concentración menor a la referida se obtendrán halos mayores y viceversa.

Composición de las Distintas Series

Gram Negativos

Serie A

Ciprofloxacina (CIP) 5 µg
Ceftazidima (CAZ) 30 µg
Piperac./Tazob. (PTZ) 100/10 µg
Imipenem (IMP) 10 µg
Amoxic./Clavul. (AMC) 20/10 µg

Serie B

Amicacina (AN) 30 µg
Gentamicina (GM) 10 µg
Ampicilina (AM) 10 µg
Cefalotina (CF) 30 µg
Fosfomicina (FOS) 50 µg

Serie C

Colistina (CS) 10 µg
Nalidixico (NA) 30 µg
Ciprofloxacina (CIP) 5 µg
Ampic./Sulb. (AMS) 10/10 µg
Trimet./Sulf. (SXT) 1,25/23,75 µg

I.U. Pediátrico

Amicacina (AN) 30 µg
Gentamicina (GM) 10 µg
Cefalotina (CF) 30 µg
Trimet./Sulf. (SXT) 1,25/23,75 µg
Nitrofurantoina (FT) 300 µg

Gram Positivos

Serie A

Penicilina (P) 10 U
Oxacilina (OX) 1 µg
Vancomicina (VA) 30 µg
Ciprofloxacina (CIP) 5 µg
Amoxic./Clavul. (AMC) 20/10 µg

Serie B

Eritromicina (ERY) 15 µg
Clindamicina (CLI) 2 µg
Rifampicina (RA) 5 µg
Trimet./Sulf. (SXT) 1,25/23,75 µg
Gentamicina (GM) 10 µg

I.U. Ambulatorio

Serie A

Amoxic./Clavul. (AMC) 20/10 µg
Ciprofloxacina (CIP) 5 µg
Ampicilina (AM) 10 µg
Trimet./Sulf. (SXT) 1,25/23,75 µg
Fosfomicina (FOS) 50 µg

Serie B

Gentamicina (GM) 10 µg
Cefalotina (CF) 30 µg
Nitrofurantoina (FT) 300 µg
Norfloxacina (NOR) 10 µg
Ampic./Sulb. (AMS) 10/10 µg

I.U. Hospitalario

Serie A

Amicacina (AN) 30 µg
Gentamicina (GM) 10 µg
Ampic./Sulb. (AMS) 10/10 µg
Fosfomicina (FOS) 50 µg
Cefalotina (CF) 30 µg

Serie B

Ceftazidima (CAZ) 30 µg
Nitrofurantoina (FT) 300 µg
Amoxic./Clavul. (AMC) 20/10 µg
Piperac./Tazob. (PTZ) 100/10 µg
Ciprofloxacina (CIP) 5 µg

PREPARACIÓN DE LAS PLACAS

La altura de la capa de agar deberá ser de 4 mm aproximadamente, una vez colocado el agar se tapanán y se dejará solidificar el agar y se procederá al secado de las mismas para retirar el exceso de humedad, para lo cual se colocarán invertidas en estufa a 37°C, durante 10 a 30 minutos.

Pueden conservarse durante 7 días, refrigeradas, teniendo la precaución de evitar la evaporación.

INOCULACIÓN DE LAS PLACAS

Existen varias técnicas estandarizadas para la aplicación del inóculo, pero la más sencilla es por escobilladura, para lo cual se embebe un hisopo estéril en la suspensión previamente preparada, se elimina el exceso de líquido haciendo rotar el hisopo contra la pared del tubo y se aplica sobre la superficie de la placa efectuando un barrido en por lo menos tres direcciones, girando el hisopo en cada dirección.

APLICACIÓN DE LOS DISCOS

Aplicar los discos con la ayuda de una pinza estéril ejerciendo una ligera presión sobre la superficie del medio. Debido a la rápida difusión del antimicrobiano, no se deberá mover el disco una vez colocado en la placa.

INCUBACIÓN DE LAS PLACAS

Antes de los 15 minutos de aplicados los discos, se deberá comenzar la incubación a 35 - 37°C, durante 18 a 24 horas.

LECTURA DE LOS DIÁMETROS

Luego de la incubación de las placas se procederá a la lectura de los halos de inhibición, con la ayuda de un calibre o regla se medirá el diámetro de la zona de inhibición completa.

EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

De acuerdo a los diámetros obtenidos se informarán como Sensibles, Intermedios o Resistentes, según corresponda, basado en la siguiente Tabla de Interpretación de Resultados (C.L.S.I.).

LIMITACIONES Y CUIDADOS

Si los discos no se mantienen dentro del rango de temperatura indicado en el envase, y no se protegen adecuadamente de la humedad, pueden inutilizarse, arrojando resultados falsos resistentes.

- No utilizar discos cuyo vencimiento haya expirado.
- Utilizar sólo medio de cultivo Mueller Hinton, ajustando su pH y controlando la concentración de timidina. El uso de otros medios de cultivo pueden inducir a error.
- El espesor de la capa de agar deberá ajustarse a 4 mm. Una capa demasiado delgada, producirá halos de inhibición más amplios y viceversa.
- La turbidez del inóculo se deberá estandarizar correctamente, pues un inóculo de menor turbidez determinará halos de inhibición más grandes y viceversa.

CONTROL DE CALIDAD

Cuando puedan existir dudas acerca de los resultados obtenidos en los ensayos de rutina, pueden efectuarse pruebas con cepas de referencia. Los resultados obtenidos deberán estar comprendidos dentro de los rangos que correspondan a dichas cepas. Las cepas patrones son las siguientes:

Escherichia coli ATCC 25922 - *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 - *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 35218. Esta última se deberá ensayar con los discos que presenten combinaciones de betalactámicos e inhibidores de betalactamasas.

BIBLIOGRAFÍA

- Barry, A.L.; García, F. (1970)
- Amer. J. Clin. Pathol. 53,149-158
- Bauer, A. W.; Kirby, V. M.; Sherris, J. C. (1966)
- Amer. J. Clin. Pathol. 45,493-496
- Coyle, M. B. Lampe, M. F. Sherris J. C. (1976)
- Antimicrob. Agents Chemother 10, 436-440
- Ericsson, H. M.; Sherris, J. C. (1971)
- Acta Pathol. Microbiol. Scand. Section B, Suppl. 217, 1-90
- NCCLS 1979-1982-1993-1997
- WHO Expert committee on Biological Standardization (1971)
- Technical Report Series Nº 610, 98-128
- OMS Series de Informes Técnicos Nº 210-1961
- Manual of Clinical Microbiology 7ª edición 1999

PRESENTACIÓN

Gram Negativos Serie A	25 y 50 discos.	COD B51112A - B51112
Gram Negativos Serie B	25 y 50 discos.	COD B51113A - B51113
Gram Negativos Serie C	25 y 50 discos.	COD B51114 - B51114A
Gram Negativos Serie A+B+C	75 discos.	COD B51114C
Gram Positivos Serie A+B	26 y 50 discos.	COD B51115A - B51115
IU Pediátrico	25 y 50 discos.	COD B51122A - B51122
IU Adulto Ambulatorio Serie A+B	26 y 50 discos.	COD B51123 - B51123A
IU Hospitalario Serie A+B	26 y 50 discos.	COD B51126 - B51126A

Producto elaborado por

Laboratorios W. Brizuela S.A.

Av. Figueroa Alcorta 123/139- 5000 Córdoba (Argentina)

info@brizuela-lab.com.ar

www.brizuela-lab.com.ar

Director Técnico: Marcelo Brizuela

Producto Autorizado ANMAT Nº 192

TABLA DE INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS
Método de difusión en agar (Normas CLSI - Año 2005)

AGENTE ANTIMICROBIANO	CARGA	RESIS. ≤ (mm)	INTER. (mm)	SENS. ≥ (mm)
AMICACINA	30 µg	14	15-16	17
AMOXICILINA/CLAVULANICO				
<i>Staphylococcus spp. - Haemophilus spp.</i>	20/10 µg	19	-	20
Enterobacterias	20/10 µg	13	14-17	18
AMPICILINA				
Entéricos Gram Negativos	10 µg	13	14-16	17
<i>Staphylococcus spp</i>	10 µg	28		29
<i>Enterococcus spp.</i>	10 µg	16		17
<i>Haemophilus spp.</i>	10 µg	18	19-21	22
AMPICILINA/ SULBACTAM				
Entéricos Gram Negativos y <i>Staphylococcus spp</i>	10/10 µg	11	12-14	15
<i>Haemophilus spp.</i>	10/10 µg	19		20
AZLOCLINA con <i>P. aeruginosa</i>	75 µg	17	S	18
AZITROMICINA	15 µg	13	14-17	18
<i>Haemophilus spp.</i>				12
AZTREONAN	30 µg	15	16-21	22
<i>Haemophilus spp.</i>				26
CARBENICILINA				
<i>P. aeruginosa</i>	100 µg	13	14-16	17
Enterobacterias y <i>Acinetobacter spp.</i>	100 µg	19	20-22	23
CEFAFLOR	30 µg	14	15-17	18
<i>Haemophilus spp.</i>				20
CEFALOTINA	30 µg	14	15-17	18
CEFAMANDOLE	30 µg	14	15-17	18
CEFAZOLINA	30 µg	14	15-17	18
CEFEPIME	30 µg	14	15-17	18
<i>N. gonorrhoeae</i>	30 µg			31
Grupo Viridans	30 µg	21	22-23	24
CEFETAMET	10 µg	14	15-17	18
<i>N. gonorrhoeae</i>	10 µg			29
CEFIXIMA	5 µg	15	16-18	19
<i>N. gonorrhoeae</i>	5 µg			31
CEFMETAZOLE	30 µg	12	13-15	16
<i>N. gonorrhoeae</i>	30 µg	27	28-32	33
CEFONICID	30 µg	14	15-17	18
CEFOPERAZONA	75 µg	15	16-20	21
CEFOPERAZONA/SULBACTAM(*)	75/30 µg	15	16-20	21
CEFOTAXIMA	30 µg	14	15-22	23
<i>N. gonorrhoeae</i>	30 µg			31
Estreptococos β Hemolíticos	30 µg			24
Grupo Viridans	30 µg	25	26-27	28
CEFOTETAN	30 µg	12	13-15	16
<i>N. gonorrhoeae</i>	30 µg	19	20-25	26
CEFOXITINA	30 µg	14	15-17	18
<i>N. gonorrhoeae</i>	30 µg	23	24-27	28
<i>S. aureus</i> y <i>S. lugdunensis</i>	30 µg	19		20
<i>Staphylococcus Coag. (-)</i> excepto <i>S. lugdunensis</i>	30 µg	24		25
CEFPODOXIME	10 µg	17	18-20	21
<i>N. gonorrhoeae</i>	10 µg			29
<i>Haemophilus spp.</i>	10 µg			21
CEFPROZIL	30 µg	14	15-17	18
CEFTAZIDIMA	30 µg	14	15-17	18
<i>N. gonorrhoeae</i>	30 µg			31
CEFTIBUTEN	30 µg	17	18-20	21
<i>Haemophilus spp.</i>	30 µg			28
CEFTIZOXIMA	30 µg	14	15-19	20
<i>N. gonorrhoeae</i>	30 µg			38
CEFTRIAXONA	30 µg	13	14-20	21
<i>N. gonorrhoeae</i>	30 µg			35
Estreptococos β Hemolíticos	30 µg			24
Grupo Viridans	30 µg	13	14-20	21
CEFUROXIMA AXETIL ORAL	30 µg	14	15-22	23
<i>Haemophilus spp.</i>	30 µg	16	17-19	20
CEFUROXIMA SODICA (PARENTERAL)	30 µg	14	15-17	18
<i>N. gonorrhoeae</i>	30 µg	25	26-30	31
CIPROFLOXACINA	5 µg	15	16-20	21
<i>N. gonorrhoeae</i>	5 µg	27	28-40	41
<i>Haemophilus spp.</i>	5 µg			21
CLARITROMICINA	15 µg	13	14-17	18
<i>Haemophilus spp.</i>	15 µg	10	11-12	13
CLINDAMICINA	2 µg	14	15-20	21
<i>S. pneumoniae</i>	2 µg	15	16-18	19
CLORAMFENICOL	30 µg	12	13-17	18
<i>S. pneumoniae</i>	30 µg	20		21
<i>Haemophilus spp.</i>	30 µg	25	26-28	29
COLISTINA (*)	10 µg	8	9-10	11
DOXICICLINA	30 µg	12	13-15	16
ENOXAXINA				
<i>S. saprophyticus</i> y <i>S. epidermidis</i>	10 µg	14	15-17	18
<i>N. gonorrhoeae</i>	10 µg	31	32-35	36

AGENTE ANTIMICROBIANO	CARGA	RESIS. ≤ (mm)	INTER. (mm)	SENS. ≥ (mm)
ERITROMICINA	15 µg	13	14-22	23
<i>S. pneumoniae</i>	15 µg	15	16-20	21
ESPREPTOMICINA				
<i>Enterococcus</i> (Alta resistencia)	300 µg	6	7-9	10
Otros microorganismos	10 µg	11	12-14	15
FOSFOMICINA (*) (**)	50 µg	12	S	18
FOSFOMICINA (**)	200 µg	12	13-15	16
GENTAMICINA				
<i>Enterococcus</i> (Alta resistencia)	120 µg	6	7-9	10
Otros microorganismos	10 µg	12	13-14	15
KANAMICINA	30 µg	13	14-17	18
LOMEFLOXACINA	10 µg	18	19-21	22
<i>N. gonorrhoeae</i>	10 µg	26	27-37	38
<i>Haemophilus spp.</i>	10 µg			22
LORACARBEF	30 µg	14	15-17	18
<i>Haemophilus spp.</i>	30 µg	15	16-18	19
LEVOFLOXACINA	5 µg	13	14-16	17
<i>Staphylococcus spp.</i>	5 µg	15	16-18	19
<i>Haemophilus spp.</i>	5 µg			17
METICILINA con <i>S. aureus</i>	5 µg	9	10-13	14
MEZLOCLINA				
<i>P. aeruginosa</i>	75 µg	15		16
<i>Acinetobacter spp.</i> y Enterobacterias	75 µg	17	18-20	21
MINOCILINA	30 µg	14	15-18	19
MOXALACTAM	30 µg	14	15-22	23
NAFICILINA con <i>S. aureus</i>	1 µg	10	11-12	13
NALIDIXICO ACIDO	30 µg	13	14-18	19
NETILMICINA	30 µg	12	13-14	15
NITROFURANTOINA	300 µg	14	15-16	17
NORFLOXACINA	10 µg	12	13-16	17
OFLOXACINA	5 µg	12	13-15	16
<i>N. gonorrhoeae</i>	5 µg	24	25-30	31
<i>Staphylococcus spp.</i>	5 µg	14	15-17	18
<i>Haemophilus spp.</i>	5 µg			16
OXACILINA				
<i>S. aureus</i> y <i>S. lugdunensis</i>	1 µg	10	11-12	13
<i>Staphylococcus Coag. (-)</i> excepto <i>S. lugdunensis</i>	1 µg	17		18
<i>S. pneumoniae</i>				20
PENICILINA G				
<i>Staphylococcus spp.</i>	10 U	28		29
<i>Enterococcus spp.</i>	10 U	14		15
<i>N. gonorrhoeae</i>	10 U	26	27-46	47
<i>Streptococcus</i> excepto <i>S. pneumoniae</i>				24
PEFLOXACINA (*)	5 µg	16	S	22
PIPERACILINA				
<i>P. aeruginosa</i>	100 µg	17		18
Enterobacterias y <i>Acinetobacter spp.</i>	100 µg	17	18-20	21
PIPERACILINA/TAZOBACTAM				
<i>P. aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus spp.</i>	100/10 µg	17		18
Enterobacterias y <i>Acinetobacter spp.</i>	100/10 µg	17	18-20	21
POLIMIXINA B (*)	300 U	8	9-11	12
RIFAMPICINA				
<i>Staphylococcus spp. - Enterococcus spp.</i>	5 µg	16	17-19	20
<i>Haemophilus spp.</i>				
<i>S. pneumoniae</i>	5 µg	16	17-18	19
TETRACICLINAS				
<i>Staphylococcus spp. - V. cholerae</i>	30 µg	14	15-18	19
<i>N. gonorrhoeae</i>	30 µg	30	31-37	38
<i>Streptococcus spp.</i>	30 µg	18	19-22	23
<i>Haemophilus spp.</i>	30 µg	25	26-28	29
TEICoplanina	30 µg	10	11-13	14
TICARCILINA				
<i>P. aeruginosa</i>	75 µg	14	15-19	15
Enterobacterias y <i>Acinetobacter spp.</i>	75 µg	14		20
TICARCILINA-A CLAVULANICO				
<i>P. aeruginosa</i>	75/10 µg	14		15
Enterobacterias y <i>Acinetobacter spp.</i>	75/10 µg	14	15-19	20
<i>Staphylococcus spp.</i>	75/10 µg	22		23
TOBRAMICINA	10 µg	12	13-14	15
TRIMETOPRIMA	5 µg	10	11-15	16
TRIMETOPRIMA/SULFAMETOXAZOL	1,25/23,75 µg	10	11-15	16
<i>Pseudomonas spp.</i>	1,25/23,75 µg	15	16-18	19
VANCOMICINA				
<i>Enterococcus spp.</i>	30 µg	14	15-16	17
<i>Staphylococcus spp.</i>	30 µg	14		15
<i>Streptococcus spp.</i>	30 µg			17

(*) No hay información por parte del CLSI para estos antimicrobianos. Los datos fueron tomados de otras publicaciones.

(**) Contiene 50 µg de glucosa 6 fosfato

