

3
2j



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**ESTANDARIZACION DE LA PRUEBA DE KIRBY-BAUER
PARA SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS EN
EL HOSPITAL GENERAL DE ZONA No. 1 DE
CUERNAVACA MORELOS**

TESIS PROFESIONAL

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

PRESENTA:

MARIO BARRERA MARTINEZ

MEXICO, D. F.

ENERO DE 1988

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

Pág.

Lista de Abreviaturas	4
I. INTRODUCCION	5
II. GENERALIDADES	
1. TECNICAS PARA EFECTUAR PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD..	7
2. TECNICA DE DIFUSION EN AGAR O TECNICA DE KIRBY-BAUER	9
- Fundamento de la Técnica	9
- Objetivos de la Técnica	9
a) Medio de Agar	10
b) Selección de Potencia de Disco	11
c) Conservación de Discos de Antimicrobianos	13
d) Inoculación de Placas de Prueba	13
e) Lectura e Interpretación	13
f) Limitaciones del Método	14
g) Control de Calidad	14
h) Fuentes Comunes de Error	15
3. OBJETIVOS	17
III. MATERIAL Y METODOS	
1. MATERIAL	
A. Material Biológico	18

	Pág.
B. Medios de Cultivo	18
C. Reactivos	19
D. Antimicrobianos	19
2. METODOS	
A. Aislamiento Primario	21
B. Caracterización Bioquímica de las Cepas Aisladas	27
C. Desarrollo de la Técnica de Kirby-Bauer ..	27
IV. RESULTADOS	
1. PROPORCION DE AISLAMIENTO	32
2. SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS	32
3. CONTROL DE CALIDAD	32
V. DISCUSION	49
VI. CONCLUSIONES	53
VII. RESUMEN	56
VIII. BIBLIOGRAFIA	58
Anexo 1	62
Anexo 2	66

LISTA DE ABREVIATURAS

1. FDA Food and Drug Administration .
2. NCCLS National Committee for Clinical Laboratory Standard.
3. CIM Concentración Mínima Inhibitoria
4. CBM Concentración Bactericida Mínima
5. ug r Microgramos
6. CC Cepa Control
7. M - H Agar Mueller - Hinton
8. SS Agar Salmonella - Shigella
9. O - F Oxidación - Fermentación

INTRODUCCION

Debido a la constante aparición de cepas resistentes en los medios hospitalarios frente a los antimicrobianos más comúnmente empleados en la terapéutica de una enfermedad infecciosa, es conveniente la evaluación continúa de nuevos antimicrobianos para aplicarlos, y así poder evitar que se manifieste dicha resistencia.

Por ello, cuando el médico ha llegado a la conclusión de que se justifica la utilización de antimicrobianos en la terapéutica de una enfermedad infecciosa, en muchas ocasiones surge la necesidad de contar con un método reproducible y eficaz, que proporcione información clara, precisa y que sirva de apoyo para saber cual es el antimicrobiano que se debe utilizar para eliminar al microorganismo que está provocando dicha infección (9).

Para ello el procedimiento más utilizado es el método de difusión a partir de un disco (Método de Kirby-Bauer), el cual ha sido aceptado por la Food and Drug Administration (FDA) y aceptado como estándar por el National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS) (14,19).

Este procedimiento es esencialmente una prueba cualitativa que ubica a los microorganismos en la categoría de sensibles (susceptibles), intermedios (indeterminados) o resistentes.

Actualmente dicho procedimiento solo se encuentra fun
cionando en el Centro Médico "La Raza" y en el Hospital Gene
ral de la Ciudad de México, en donde se tienen sus propios
parámetros de susceptibilidad y resistencia.

Sin embargo, debido a que existe variación de una cepa bacte
riana a otra respecto a la susceptibilidad, mucho mayor va
riación existe de un hospital a otro.

Por todo esto resulta conveniente la estandarización de ésta
prueba dentro de la población hospitalaria de la ciudad de
México, con el fin de establecer cada uno sus propios valo
res en cuanto a la susceptibilidad antimicrobiana; ésto ha
sido motivo para ser analizado en el presente estudio.

GENERALIDADES

1.- TECNICAS PARA EFECTUAR PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD

Estas técnicas son de tres tipos:

- a) de dilución en agar o medio líquido
- b) de difusión en agar
- c) Métodos automatizados

Cada una de ellas tiene ventajas y desventajas (Cuadro 1), por lo que el procedimiento que se prefiera tendrá que ser seleccionado de acuerdo a:

- Número de pruebas que se procesen en el Hospital, Laboratorio y Centros de Referencia.
- Tipo de microorganismo y sitio de donde se aisló (sangre, Líquido cefalorraquídeo, etc.); mecanismos de patogenicidad, susceptibilidad, etc.
- Características del agente antimicrobiano: propiedades físicoquímicas, espectro, toxicidad, etc.
- Huésped, su estado general, dosis, vía de administración, localización de la infección, biodisponibilidad, farmacocinética, etc. (9).

Los métodos de dilución son de tipo cuantitativo y se prefieren para aquellos pacientes con infecciones severas en los que no basta saber si el organismo es susceptible o resistente como lo informaría el antibiograma, sino la concentración en microgramos del antimicrobiano para inhibir su crecimiento.

Cuadro 1. Ventajas y desventajas de las diferentes pruebas de susceptibilidad.

PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD					
Característica.	Dilución			Difusión	Automatizadas.
	Caldo		Agar		
	Tubo	Micro ¹			
Proporcionan CIM	+	+	+	-	+
Proporcionan CBM.	+	+	-	-	-
Precisión + 1 dilución.	+	+	+	-	-
Contaminación visible.	-	-	+	+	-
Tiempo (horas)	24	24	24	24	4 - 6
Costeabilidad.	-	+	+	+	+

¹Micro = Microdilución

+ = Sí proporciona esa característica.

- = No proporciona esa característica.

2.- TECNICA DE DIFUSION EN AGAR O TECNICA DE KIRBY-BAUER

Fundamento de la Técnica.

Utilizando discos de papel filtro con diferentes concentraciones del antimicrobiano, se obtienen diámetros en la zona de inhibición proporcionales a la concentración. Si se grafica el diámetro de la zona de inhibición contra el logaritmo de la concentración mínima inhibitoria, se logra casi siempre una recta que constituye una línea de regresión que puede ser calculada matemáticamente. La interpretación de los términos sensible, intermedio y resistente se obtienen de la línea de regresión.

Efectuando estudios de varios microorganismos y su distribución en puntos sobre la recta, es posible establecer para cada antimicrobiano, un diámetro de zona mínima para microorganismos estimados como susceptibles y un diámetro de zona máxima para organismos resistentes (22).

Se considera también, la farmacocinética del antimicrobiano y se corrigen los errores de interpretación de acuerdo a la desviación estándar, para elaborar tablas útiles como patrones de referencia.

Objetivos de la Técnica.

- a) Determinar la susceptibilidad o resistencia de un microorganismo a determinados antimicrobianos.
- b) Buscar la relación entre concentración inhibitoria mínima y la concentración crítica, capaz de dar un halo de inhibición cuyo diámetro en milímetros indica el grado de susceptibilidad.

Para llevar a cabo esta prueba, es conveniente tomar en cuenta ciertas características del material utilizado, como puede ser las condiciones óptimas del medio de agar, conservación de los discos, modo de inoculación de las placas, forma de llevar a cabo la lectura, saber cuales son las limitaciones del método, así como contar con un control de calidad y sobre todo conocer cuáles son las más comunes fuentes de error.

A continuación se detallan cada una de estas situaciones.

a) Medio de Agar

La técnica recomienda el uso del agar de Mueller-Hinton. El medio sin suplemento favorece el crecimiento de casi todos los microorganismos para los que son más importantes las pruebas de susceptibilidad. Otros microorganismos pueden necesitar el agregado de sangre de oveja desfibrinada al 5%, de caballo o de otro animal (13,9).

Debido a que existe variación de lote a lote en la utilización de los agares de Mueller-Hinton¹⁶, cada nuevo lote debe probarse con las cepas de control indicadas antes de autorizar su uso en las pruebas de susceptibilidad^{17,18}.

Los medios que no cumplan las condiciones de trabajo, no deben utilizarse. Se considerará aceptable cuando las cepas de control den zonas que estén dentro de los límites de control especificados por la FDA.

El pH del medio debe verificarse al vertirse para su uso. Este debe ser de 7.2 a 7.4. El medio recién preparado y enfriado se vierte en placas de Petri sobre una superficie horizontal uniforme para alcanzar una misma profundidad aproximada-

mente de 4 mm por caja. Después se deja enfriar el medio a temperatura ambiente, para posteriormente guardarse en un refrigerador (2 a 8°C). Inmediatamente antes de usarlas, las placas deben colocarse en una incubadora (35°C) con las tapas entreabiertas, hasta que el exceso de humedad superficial se pierda por evaporación (generalmente unos 10 a 20 minutos). No debe haber gotitas de agua sobre la superficie del medio ni en la tapa de la caja Petri (13).

b) Selección de Potencia de Disco

Para las pruebas de susceptibilidad por difusión en agar es necesario uniformar la cantidad de antimicrobiano del disco. Si el contenido del disco se cambia y las normas de interpretación de zona se ajustan debidamente, el resultado no se verá mayormente afectado. Los pequeños cambios del contenido del disco, producen cambios también menores en los diámetros de zona. El disco más apropiado contiene solo suficiente antimicrobiano para producir zonas de 10 mm de diámetro, por lo menos, con todas las cepas inhibidas por la mayor concentración que puede tener interés clínico. Por otra parte, el disco no debe ser tan potente que las cepas susceptibles produzcan zonas demasiado grandes de inhibición (casi siempre ≤ 30 mm, raramente ≥ 40 mm).

Por razones prácticas, el número de antimicrobianos probados rutinariamente debe ser limitado (5,13).

Los antimicrobianos pueden clasificarse en familias de estructuras químicas semejantes. A su vez, es posible clasificar a los miembros de cada familia químicamente relacionada en clases de antimicrobianos con espectros de actividad

similares. Un solo representante de cada clase de antimicrobiano puede usarse a menudo para predecir la susceptibilidad o resistencia de los otros antimicrobianos de esa clase.

Cuando se introduce un nuevo antimicrobiano, su espectro de actividad debe compararse con el de otros antimicrobianos químicamente afines, especialmente los representantes establecidos de clase (13).

Esta comparación de la actividad antimicrobiana es de suma importancia, ya que para que se lleve a cabo la aceptación de un nuevo producto, éste debe mostrar un espectro de actividad que le sea exclusivo y peculiar. El antimicrobiano puede tener otras ventajas, pero el espectro de actividad es el único aspecto que se considera en las pruebas.

El representante debe ser el antimicrobiano menos activo de cada clase para que las diferencias que se produzcan se inclinen hacia la "falsa" resistencia y no a la "falsa" susceptibilidad. De éste modo, todos los aislamientos susceptibles al representante de clase deben suponerse susceptibles a los demás antimicrobianos afines.

Sin embargo, se debe tener mucho cuidado en este tipo de análisis ya que algunas cepas que muestran resistencia al representante de la clase pueden ser susceptibles a uno o más antimicrobianos dentro de esa clase, y si está clínicamente indicado pueden requerirse pruebas contra esos antimicrobianos con procedimientos de dilución(13).

c) Conservación de Discos de Antimicrobianos

Para la realización de ésta prueba se utilizan discos de papel filtro impregnados con el antimicrobiano, para ello existen en el comercio cartuchos con el antimicrobiano y que son específicamente garantizados para pruebas de susceptibilidad. Generalmente son individuales y contienen un agente desecante. Estos deben guardarse bajo refrigeración (2 a 8°C) o "congelados" a -14°C, para su conservación (13).

Los recipientes que contienen dichos antimicrobianos deben sacarse del refrigerador o congelador 1 ó 2 horas antes de ser usados sin ser abiertos, dejándolos equilibrarse a temperatura ambiente antes de abrirlos. Esto es para minimizar la cantidad de condensación que se produciría cuando el aire ambiente cálido entre en contacto con los recipientes fríos. Solamente deben usarse los discos que no han llegado a la fecha de vencimiento declarada por el fabricante (13).

d) Inoculación de Placas de Prueba

Método Estándar⁵. (Ver anexo 1).

e) Lectura e Interpretación

Después de 16 a 18 horas de incubación, las placas se examinan y los halos de las zonas de inhibición total se miden hasta el milímetro entero más cercano (Ver anexo 1).

f) Limitaciones Del Método

Esta técnica se recomienda para microorganismos de crecimiento rápido, por lo que no deberá emplearse en organismos de crecimiento lento, anaerobios obligados, ni en capnófilos. Siempre se realizará la prueba con cultivos puros. Los microorganismos que de por sí no requieren un antibiograma son: S. pyogenes, S. pneumoniae, N. meningitidis, N. gonorrhoeae, B. pertussis, B. melitensis y otros. En condiciones de investigación o para datos epidemiológicos de la actividad antimicrobiana de estos microorganismos, podría ser útil realizar la prueba (13).

g) Control de Calidad

Para una mayor reproducibilidad en la técnica, se recomienda la utilización de cepas control, de las cuales se deberá trabajar con la cepa de Staphylococcus aureus ATCC 25923 y Escherichia coli ATCC 25922, las pruebas con estas cepas deberán incluirse cada que se necesite probar microorganismos problema (9,15).

La FDA también recomienda el uso de la cepa de Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 susceptible a gentamicina y carbenicilina (2).

Deben emplearse siempre bajo las mismas condiciones que las cepas problema. Estas cepas control deberán mantenerse congeladas a -60°C en caldo glicerol al 15% o suero fetal de ternera al 50% en caldo(8). Se evitarán subcultivos repetidos.

Se recomienda que cada laboratorio establezca en forma paralela sus propios valores, con desviaciones estándar recalculadas cada 3 a 6 meses. Si los valores obtenidos de la mayoría de los antimicrobianos probados es mayor, es probable que el inóculo sea muy pequeño. Pequeñas zonas de inhibición en forma repetida sugiere un inóculo excesivo (6).

h) Fuentes Comunes de Error

Aunque el método de difusión con disco es un procedimiento bastante exacto, los errores técnicos pueden comprometer su exactitud y seguridad, y un error puede neutralizar o complicar el efecto de otro tipo de error. Las siguientes son algunas de las más comunes fuentes de error: (9,13)

- Uso de otro medio que no sea el de Mueller-Hinton.
- Preparación inadecuada del medio de M-H, sobre todo el que no se ajuste a lo requerido por la técnica.
- Conservación inadecuada de las placas de Petri con medio de M-H.
- Almacenamiento inadecuado de los discos antimicrobianos.
- Inóculo inadecuado por error en el ajuste de la densidad del microorganismo en el caldo.
- No quitar el exceso de líquido del hisopo antes de inocular las cajas.

- Preparación o almacenamiento inadecuado del tubo de referencia para turbiedad.
- Retardo excesivo entre la preparación del inóculo y la inoculación.
- Retardo excesivo en la aplicación de los discos después de la inoculación en la placa.
- Retardo excesivo en la incubación de la placa después de la colocación de los discos.
- Temperatura variable a 35°C o el uso de una atmósfera con aumento de CO_2 .
- Lectura prematura de los resultados antes de completarse (16 a 18 horas).
- No leer cuidadosamente los límites de la zona de inhibición.
- Intentos de probar cultivos mixtos.
- Aplicación del procedimiento a microorganismos de crecimiento lento o anaerobios.
- No utilizar cepas de control de calidad o no anotar los resultados de las pruebas de control.
- Error de transcripción al anotar resultados de pruebas individuales.

3.- OBJETIVOS

- Estandarizar la prueba de Kirby-Bauer para sensibilidad a los antimicrobianos en el Hospital General de Zona No. 1 de Cuernavaca Morelos.
- Poner en práctica el método de Kirby-Bauer para sensibilidad a los antimicrobianos utilizando muestras clínicas proporcionadas por dicho Hospital.
- Hacer un estudio comparativo en la utilización de un multidisco y un unidisco en dicha prueba de sensibilidad a los antimicrobianos.

M A T E R I A L Y M E T O D O S

I. M A T E R I A L

A. Material Biológico

Se utilizaron las siguientes muestras clínicas:

- Exudados Faríngeos
- Urocultivos
- Coprocultivos

Se trabajó con las siguientes Cepas Control:

- Staphylococcus aureus ATCC 25923
- Escherichea coli ATCC 25922
- Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

B. Medios de Cultivo

a) Medios Sólidos en Placa

- Agar Mac Conkey (Merck de México)
- Base de Agar sangre (Merck de México,
- Agar SS (Merck de México)
- Agar Mueller-Hinton (Merck de México)
- Agar Cerebro Corazón (Merck de México)
- Medio de SIM (Merck de México)

b) Medios Sólidos Inclinaados en Tubo.

- Agar hierro de Kligler (Merck de México)
- Base para agar Urea (Merck de México)

c) Medios Semisólidos.

- Medio de Oxidación-Fermentación (O/F) (Merck de México)
- Caldo para reducción de Nitratos (Merck de México)
- Caldo Malonato (Merck de México)

d) Soluciones

- Caldo Tetracionato (Merck de México)
- Caldo digesto de Soya-Caseína (Merck de México)
- Solución Salina al 0.85%

C. Reactivos

- Reactivo de Oxidasa (Merck de México)
- Reactivos para reacción de Nitratos (Merck de México)

D. Antimicrobianos

- Ampicilina (Pot. 10 ug)
- Carbenicilina (Pot. 100 ug)

- Cefotaxima (Pot. 30 ug)
- Cefalexima (Pot. 30 ug)
- Cloramfenicol (Pot. 30 ug)
- Eritromicina (Pot. 15 ug)
- Gentamicina (Pot. 10 ug)
- Kanamicina (Pot. 30 ug)
- Ac. Nalidixico (Pot. 30 ug)
- Neomicina (Pot. 30 ug)
- Nitrofurantoina (Pot. 300 ug)
- Estreptomicina (Pot. 10 ug)
- Tetraciclina (Pot. 30 ug)
- Trimetoprim-Sulfametoxazol (Pot. 25 ug)
- Penicilina G (Pot. 10 ug)
- Lincomicina (Pot. 2 ug)
- Dicloxacilina (Pot. 5 ug)
- Amicacina (Pot. 30 ug)
- Tobramicina (Pot. 10 ug)

NOTA: Todos éstos antimicrobianos fueron una aportación de
INVESTIGACION FARMACEUTICA S. A. DE C. V. de Cuerna-
vaca Morelos.

2. M E T O D O S

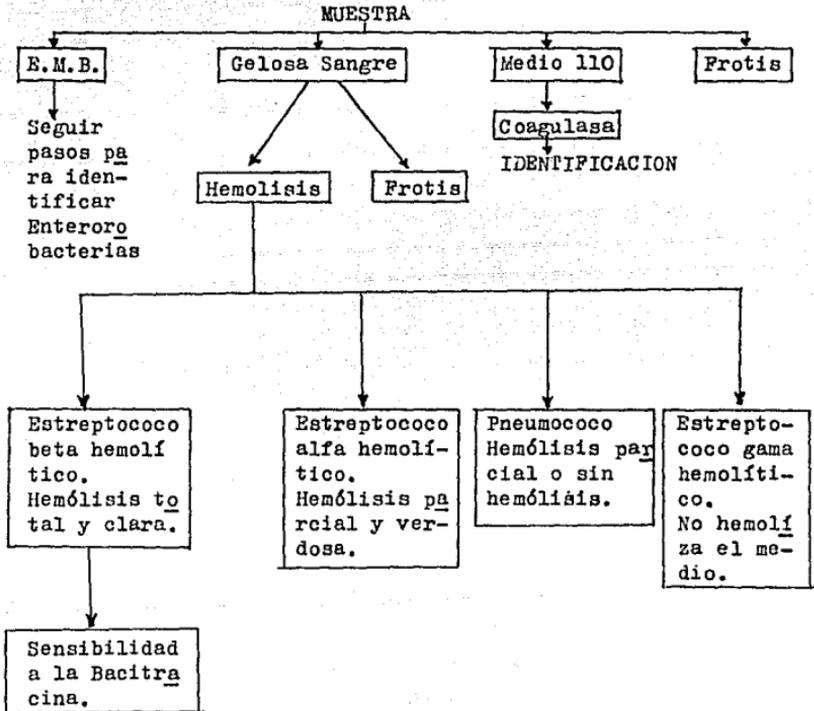
A. Aislamiento Primario

Se colectaron durante 6 meses (Diciembre 86-Mayo 87) los microorganismos patógenos a partir de las muestras antes mencionadas. Para éste fin se trabajó un total de 78 muestras, las cuales se tomaron en el Hospital donde se realizó dicho estudio.

Las muestras clínicas se siembran de acuerdo a los Esquemas 1, 2 y 3 según el tipo de muestra, para el aislamiento de los microorganismos, a los que se les corre la prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos por la técnica de Kirby-Bauer (ver anexo 1) y la convencional del multidisco.

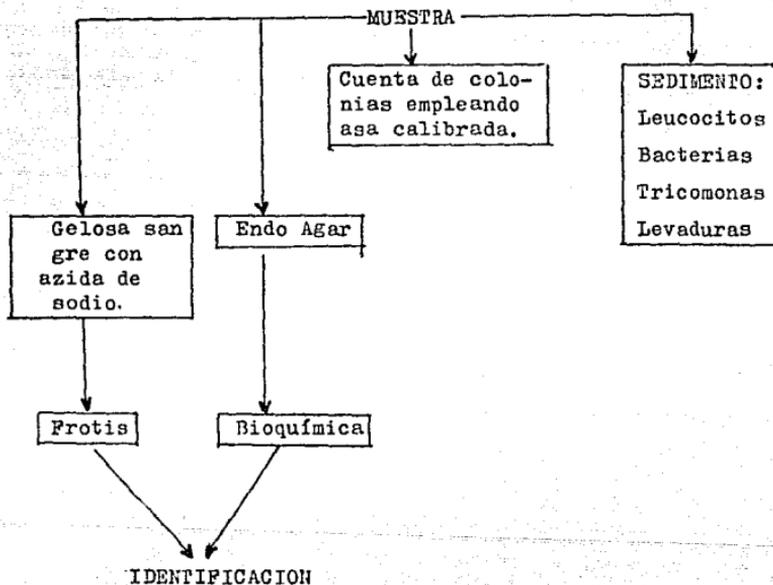
Una vez que se logra el crecimiento de colonias de microorganismos según la metodología empleada, se procede a identificarlos: primero con la ayuda de los medios de cultivo, la morfología de las colonias y la afinidad tintorial que presentan, posteriormente, se realizan las pruebas metabólicas según los esquemas 4 y 5, y dependiendo de los resultados de esta serie de pruebas primarias, los microorganismos se someten a pruebas bioquímicas más especializadas para clasificarlos en género y especie.

Esquema 1. Diagrama de trabajo empleado para el aislamiento de patógenos a partir de muestras de Exudados Faríngeos.



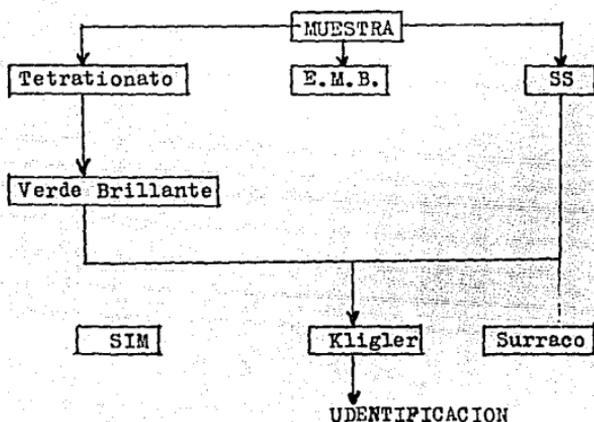
Tomado de: Manual de Procedimientos-Laboratorio Clínico del Instituto Mexicano del Seguro Social. (1974).

Esquema 2. Diagrama de trabajo empleado para el aislamiento de microorganismos patógenos apartir de muestras de Urocultivos.



Tomado de: Manual de Procedimiento-Laboratorio Clínico del Instituto Mexicano del Seguro Social. (1974).

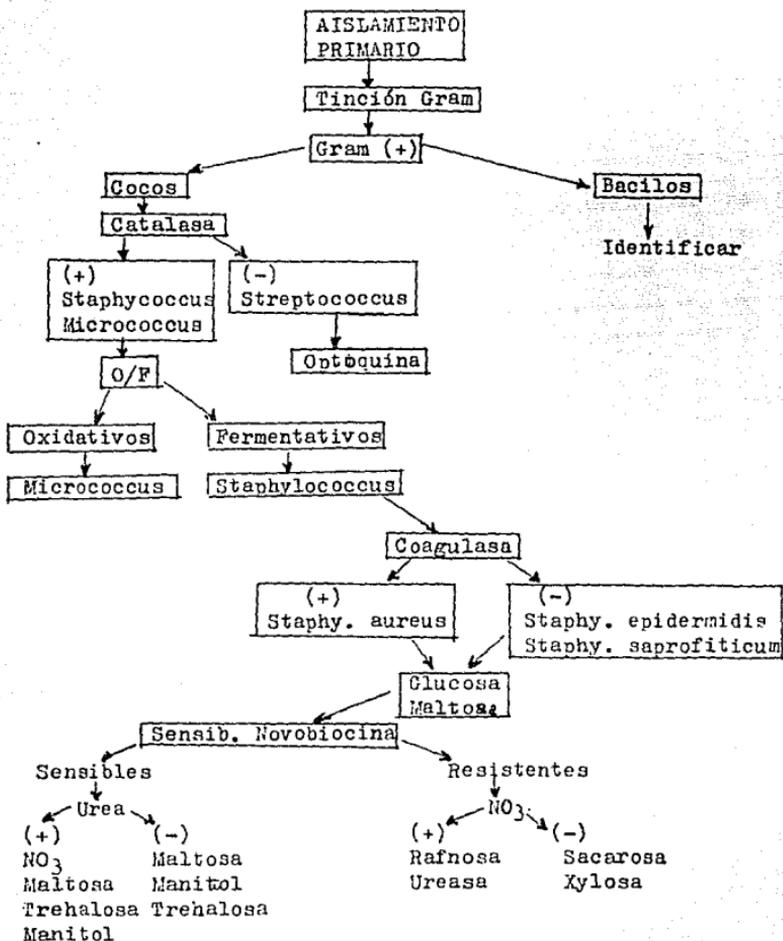
Esquema 3. Diagrama de trabajo empleado para el aislamiento de microorganismos patógenos apartir de muestras de Coprocultivos.



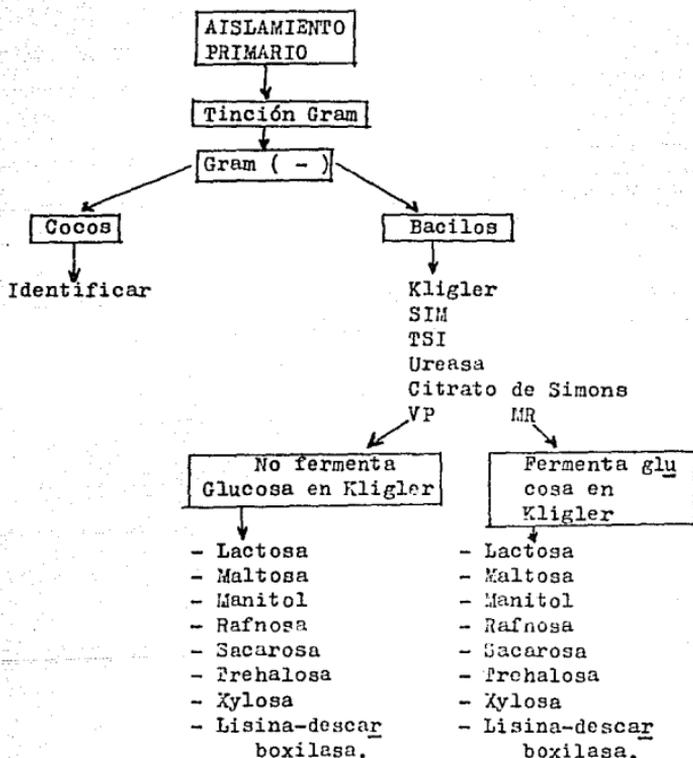
Tomado de: Manual de Procedimientos-Laboratorio Clínico del Instituto Mexicano del Seguro Social.

NOTA; Cuando se trata de una muestra de niño deberá además sembrarse en gelosa sangre y se hace la identificación de los gérmenes que se desarrollen. Para éste caso, las muestras trabajadas fueron de pacientes adultos.

Esquema 4. Diagrama de trabajo empleado para la identificación de los microorganismos aislados de muestras de Exudados Faríngeos y pruebas metabólicas que ayudan a su clasificación.



Esquema 5. Diagrama de trabajo empleado para la identificación de microorganismos aislados de muestras de Urocultivos y Coprocultivos.



B. Caracterización Bioquímica de las Cepas Aisladas.

Las cepas procedentes de exudados faríngeos, urocultivos y coprocultivos, que con ayuda de la morfología colonial o tinción de Gram y la bioquímica primaria, resultaron patógenos de acuerdo al tipo de muestra, se purificaron para con ellos realizar lo siguiente:

- A las cepas de exudados faríngeos crecidas en agar 110 que después de la prueba de O/P resultaron ser fermentativos se le realizaron las siguientes pruebas: Sensibilidad a la novobiocina, ureasa, nitratos; y utilización de carbohidratos: Maltosa, Trehalosa, Manosa, Rafnosa, Sacarosa, y Xylosa.

- A las cepas de Urocultivos y Coprocultivos que fermentaron la glucosa en el medio de Kligler, se le realizaron las siguientes pruebas: Lactosa, Lisina descarboxilasa, Maltosa, Manitol, Rafnosa, Sacarosa, Trehalosa y Xylosa.

Las lecturas se hacen después del tiempo indicado y se identifican según las tablas 1 y 2.

C. Desarrollo de la técnica de Kirby-Bauer para las cepas aisladas de las diferentes muestras trabajadas.

El método in Vitro, seleccionado para conocer el comportamiento de los microorganismos ante los antimicrobianos establecidos, fué el de difusión en agar (Bauer, Kirby, Sherris y Turk). Este método se puso en práctica primero con

Tabla 1. Pruebas de diferenciación de Staphylococcus aureus de otras especies.

	Staphy. aureus	Staphy. epidermidis	Staphy. saprofiticum
Crecimiento en condiciones anaeróbicas.	+	w	w
Oxidasa	-	-	-
O/F	F	F	F
Carbohidrato, ácido de:			
Glucosa	+	+	+
Lactosa	+	d	d
Maltosa	+	+	+
Manitol	+	d	d
Manitol (aeróbico)	+	-	-
Sacarosa	+	+	+
Xylosa	-	-	-
Reducción de Nitratos	+	d	d
Ureasa	+	d	d
Coagulasa	+	-	-

w = Reacción retardada y débil

d = Del 16-18% de aislamientos son positivos

F = Fermentativo

Tomado de: Cowan & Steel's, Manual for the Identification of Medical Bacteria. 2. Edition. Cambridge University p.

Tabla 2. Identificación Bioquímica de los microorganismos Gramnegativos aislados.

	E. coli	Klebsiella spp	P. vulgaris	P. mirabilis	P. morгани	P. rettgeri	Ps. aeruginosa
Matilidad	d	-	+	+	+	+	+
Oxidasa	NP	NP	NP	NP	NP	NP	+
Pigmento	NP	-	-	-	-	-	+ ^b
Catalasa	+	NP	NP	NP	NP	NP	NP
Malonato	-	NP	-	-	-	-	NP
Gas Glucosa	+	+	+	+	+	-	NP
Formación de ác.							
Lactosa	+	+	-	-	-	-	-
Maltosa	+	+	+	-	-	-	-
Manitol	+	+	-	-	-	+	+
Rhamnosa	d	+	-	-	-	d	NP
Sacarosa	d	+	+	(+)	-	d	-
Trehalosa	+	+	(+)	+	d	d	NP
Xylosa	d	+	d	+	-	d	+
VP	NP	+	-	d ^a	-	-	NP
Red. de NO ₃ a Nitritos	NP	NP	NP	NP	NP	NP	+
Indol	+	+	+	-	+	+	NP
Ureasa	-	+	+	+	+	+	+
H ₂ S en TSI	-	-	+	+	-	-	NP
Hidrólisis de la arginina	d	-	-	-	-	-	+
Lisina descarboxilasa	+	+	-	-	-	-	-

a = Más aislamientos son positivos a 22°C que a 37°C

b = Píocianina

d = 16-18% de aislamientos positivos

NP = No Prueba

() = Reacción lenta en pruebas de crecimiento lento.

Tomado de: Cowan & Steel's. Manual for the Identification of Medical Bacteria.

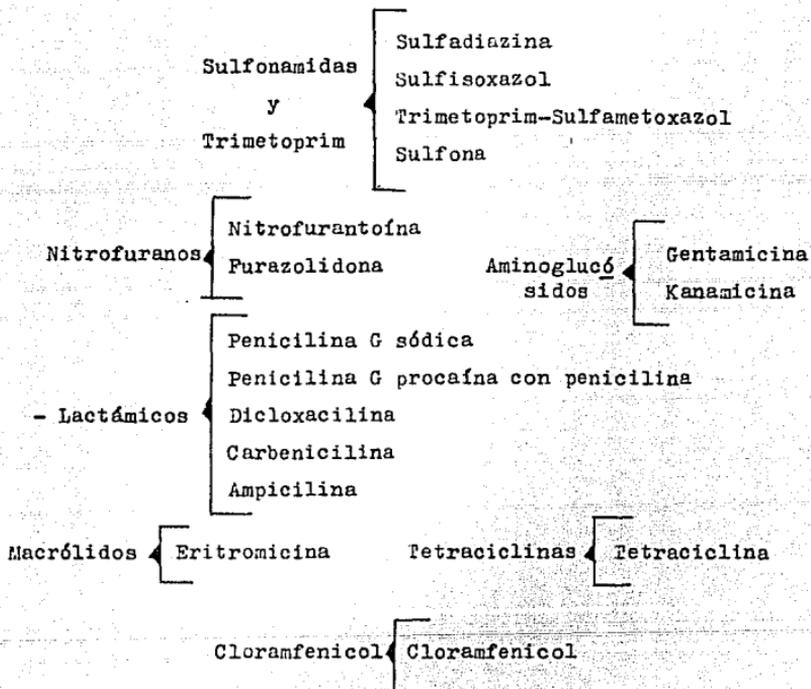
las cepas control, antes de trabajar las muestras clínicas aisladas.

- Los antimicrobianos usados fueron: Amikacina, Ampicilina, Carbenicilina, Cefamandol, Cefotaxima, Cefalexima, Cloramfenicol, Colistina, Lincomicina, AC. Nalidíxico, Dicloxacilina, Kanamicina, Penicilina G, Estreptomina, Tetraciclina, Tobramicina y Trimetoprim-Sulfametoxazol. Algunos de estos antimicrobianos se encuentran incluidos dentro del cuadro básico de medicamentos del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), los cuales se presentan en el cuadro 2.

- Una vez identificados los microorganismos, se procede a realizar la prueba (ver anexo 1).

- La interpretación de los diámetros de las zonas de inhibición de las cepas se hace en base al Cuadro 3; las cepas control se interpretan conforme a la tabla 3, y deberán ser tabulados según las categorías de susceptibles, intermedios o resistentes.

Cuadro 2. Antimicrobianos incluidos dentro del cuadro básico de medicamentos del Instituto Mexicano del Seguro Social.



R E S U L T A D O S

1. PROPORCION DE AISLAMIENTO

Del total de las muestras trabajadas, los porcentajes de aislamiento se encuentran enmarcados en el Cuadro 4.

2. SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Los datos sobre la susceptibilidad a los antimicrobianos de las cepas caracterizadas como patógenas aisladas a partir de muestras de Exudados Faríngeos, Coprocultivos y Urocultivos se disponen respectivamente en las Tablas 4, 5 y 6; y anexando a cada tabla una lista de las medias aritméticas (\bar{X}) de los diámetros resultantes de cada cepa probada.

- Los diámetros obtenidos para cada antimicrobiano de las cepas aisladas se encuentran resumidos en la tabla 7 junto con la desviación estándar para cada antimicrobiano.

- En el Cuadro 5 se reportan los porcentajes de identificación de microorganismos patógenos para las muestras de exudados vaginales.

3. CONTROL DE CALIDAD

La prueba con las cepas control de Staphylococcus aureus ATCC 25323, Escherichea coli ATCC 25922 y Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 se realizaron diariamente antes de correr las pruebas para las cepas aisladas y antes de probar un nuevo lote de agar M-H. Los diámetros obtenidos se encuentran en las tablas antes mencionadas

- Los diámetros obtenidos utilizando el método del uni disco y el multidisco para las cepas control se enlistan en la tabla 3, y los diámetros establecidos para estas cepas según reportes de la F. D. A.

Cuadro 3. Normas de interpretación de las zonas y correlación con la concentración aproximada, según reportes de la FDA.

Agente Antimicrobiano	Cont. del Disco	Diámetro de zona (milímetro entero más cercano)			Correlatos aprox. de CIM	
		Resis- tentes	Inter- medios	Suscep- tibles	Resis.	Suscp.
Amikacina ^a	30 ug	14	15-16	17	32	16
Ampicilina ¹	10 ug	11	12-13	14	32	8
Ampicilina ²	10 ug	20	21-28	29	-	0.2
Carbencilina ³	100 ug	17	18-22	23	32	16
Carbencilina ⁴	100 ug	13	14-16	17	250	125
Cefoxitina	30 ug	14	15-17	18	32	10
Cefalotina	30	14	15-17	18	32	10
Cloramfencol	30	12	13-17	18	25	2.5
Clindamicina	2 ug	14	15-16	17	2	1
Eritromicina	15	13	14-17	18	8	2
Gentamicina	10 ug	12	13-14	15	8	4
Kanamicina	30	13	14-17	18	25	6
Meticilina ⁵	5 ug	9	10-13	14	-	3
Ac. Nalidixico ^b	30 ug	13	14-18	19	32	12
Neomicina	30	12	13-16	17	-	-
Penicilina G ⁶	10 U	20	21-28	29	-	0.1
Estreptomcina	10 ug	11	12-14	15	-	-
Tertraciclina	30 ug	14	15-18	19	12	4
Trimetoprim-S	23.7 ug	10	11-15	16	8/152	2/38
Tobramicina	10	12	13-14	15	8	4

Nota: Los correlatos aproximados de CIM se expresan en ug/ml

Tabla 3. Diámetros de zonas de inhibición producidos con las cepas control utilizando unidiscos y el multidisco ; y los diámetros establecidos para las cepas control.

Antimicrobiano	Contenido del disco	Diámetro de zona (mm) de control con Unidisco	Diámetro de zona (mm) de control con Multidisco	Diámetro de zona (mm) de control de exactitud establecidos promedio.*
Staphylococcus aureus ATCC 25923				
Ampicilina	10 ug	31	19	25.8 - 33.2
Cefoxitina	30 ug	26	+	23.8 - 27.2
Cefalotina ¹	30 ug	27	25	27.0 - 35.0
Cloramfenicol ¹	30 ug	23	0	20.2 - 24.8
Clindamicina ¹	2 ug	25	19	24.0 - 28.0
Eritromicina ¹	15 ug	26	24	23.3 - 28.7
Gentamicina ¹	10 ug	24	23	20.3 - 25.7
Kanamicina ¹	30 ug	22	23	20.2 - 24.8
Meticilina ¹	5 ug	20	-	17.8 - 21.2
Neomicina	30 ug		-	19.3 - 24.7
Nitrofurantoina	300 ug	23	-	20.0 - 24.0
Penicilina G ¹	10 ug	35	+	27.8 - 35.2
Streptomycin	10 ug	20	17	15.3 - 20.7
Tetraciclina ¹	30 ug	24	21	20.5 - 26.5
Trimetoprim-S	23.7 ug	31	+	25.0 - 31.0

Continua

Continuación de la tabla 3.

Antimicrobiano	Contenido del disco	Diámetro de zona (mm) de control con Unidisco	Diámetro de zona (mm) de control con Multidisco	Diámetro de zona (mm) de control de exactitud establecidos promedio*
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922				
Ampicilina ¹	10 ug	17	0	25.8-19.2
Carbenicilina	100 ug	26	+	25.0 - 28.0
Cefoxitina ¹	30 ug	24.5	+	23.8 - 27.2
Cefalotina ¹	30 ug	19.5	19	18.8 - 22.2
Cloramfenicol ¹	30 ug	25	+	22.0 - 26.0
Eritromicina	15 ug	10.5	-	9.0 - 13.0
Gentamicina ¹	10 ug	20.5	25	20.2 - 24.8
Kanamicina ¹	30 ug	19.5	-	18.3 - 23.7
Ac. sulidixico ^{1,2}	30 ug	26.5	29	23.0 - 28.0
Neomicina	30 ug	20	-	18.0 - 22.0
Nitrofurantoina	300 ug	22	-	21.0 - 26.0
Estreptomicina	10 ug	17	-	13.3 - 18.7
Tetraciclina ¹	30 ug	20	12	19.2 - 23.8
Trimetoprim-S	23.7 ug	28	+	25.3 - 30.7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853				
Amikacina ¹	30 ug	20.5	19	18.0 - 26.0
Carbenicilina ¹	100 ug	24.5	+	20.0 - 24.0
Gentamicina ¹	10 ug	17	12	16.0 - 21.0
Tobramicina ¹	10 ug	21	-	19.0 - 25.0

Descripción de la tabla 3.

1. Antimicrobianos para prueba de susceptibilidad que deben emplearse de rutina (antimicrobianos de primer orden).
 2. Microorganismos de infecciones urinarias.
- + Diámetros no determinados debido a no observarse con exactitud la inhibición producida ya que la cer canía de cada uno de los antimicrobianos impide su lectura.
 - Promedio de la FDA
 - Antimicrobianos no incluidos en el multidosco.

Cuadro 4. Porcentajes de aislamientos de los tipos de muestras trabajadas.

Tipo de Muestra	No. de Muestras Trabajadas.	C E P A S					Microorganismos no clasificados.*
		S. aureus coag. (+)	Proteus	E. coli Enteropatógena al poli B	Klebsiella spp	Ps. aeruginosa	
Exudados Faríngeos.	25	15/25	0/25	0/25	0/25	0/25	10/25
Copro - cultivo	33	0/33	6/33	4/33	2/33	3/33	18/33
Urocultivos	20	0/20	7/20	5/20	2/20	1/20	5/20
TOTAL	78	15	13	9	4	4	33
‰ de							
Aislamiento	100%	19.23%	16.66%	11.5%	5.12%	5.12%	42.3%

- * Incluyen microorganismos no patógenos, los cuales no son de importancia en este estudio, ya que sólo a las cepas patógenas se les practica la prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos.

tabla.4 diámetros de inhibición obtenidos de cepas de staphylococcus aureus por la técnica de kirby-bauer datos reportados en milímetros

Antimicrobiano	Número de Cepa															c.c.	
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV		
Ampicilina	12 11	11 11	11 12	11 10	11 11	12 11	12 14	12 11	11 11	13 14	14 12	11 11	11 13	12 15	12 12	31	
Cefotaxina	24 23	22 20	24 21	23 20	22 20	27 25	29 28	24 25	30 28	22 23	28 27	28 24	27 29	23 28	22 23	28	
Cefalotina	22 22	23 22	21 22	20 20	22 23	24 24	23 22	24 23	22 22	24 24	23 24	22 22	22 22	27 28	23 23	27	
Clarafenicol	25 27	27 28	28 28	27 28	28 28	28 28	31 32	30 29	30 29	28 28	27 28	28 28	28 27	30 30	28 28	23	
Clindamicina	23 24	23 24	24 20	25 25	25 23	28 23	25 24	28 28	24 22	28 28	24 28	28 28	30 30	28 25	28 24	28	
Eritromicina	10 9	24 25	11 11	25 20	9 11	28 20	25 20	28 28	25 24	28 27	28 27	28 25	28 27	25 28	28 28	28	
Gentamicina	22 22	23 22	23 23	22 23	24 24	23 27	22 27	24 24	20 21	23 21	23 24	23 19	21 22	28 29	22 23	21 23	24
Kanamicina	21 22	20 21	22 22	21 22	23 21	21 20	21 20	21 22	22 21	22 24	21 21	22 20	22 24	23 22	22 23	22	
Metecilina	20 22	24 25	21 23	19 19	31 34	24 29	20 20	23 22	21 22	22 19	25 20	24 23	29 28	21 21	19 23	20	
Neomicina	21 22	21 23	20 24	20 24	21 24	20 22	26 24	24 25	28 23	24 24	24 24	24 24	24 21	22 22	21 21	21	
Nitrofurantoina	28 23	23 20	23 24	23 25	24 23	22 23	22 22	22 22	24 23	24 24	24 24	26 23	24 31	22 23	23 24	23	
Penicilina G.	12 13	9 9	14 14	12 13	9 14	18 14	14 16	16 15	15 13	17 16	14 14	14 16	16 14	14 16	13 15	14 15	38
Estreptomicina	17 17	21 23	19 18	18 15	20 22	15 18	17 18	18 15	19 15	17 18	16 17	15 14	15 16	17 18	15 20	20	
Tetraciclina	9 9	8 7	9 10	24 23	8 8	12 11	9 9	25 25	25 24	28 24	25 24	24 23	24 26	8 8	22 22	24	
Trimetoprim-S	30 27	29 28	30 29	29 30	31 29	31 30	30 31	30 29	31 32	31 29	31 30	31 27	32 33	28 28	27 29	31	

Medias aritmetica obtenidas de cepas de
staphylococcus aureus por la técnica de kirby-bauer
 datos reportados en milímetros

Antimicrobiano	Número de Cepa															\bar{x}	
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV		
Ampicilina	11.5	11	11.5	10.5	11	11.5	13	11.5	11	13.5	13	11	12	13.5	12		11.8
Cefoxitina	23.5	21	22.5	21.5	21	28	28.5	24.5	29	22.5	28	28	28	23.5	22.5		24.4
Cefalotina	22	22.5	21.5	20	22.5	24	22.5	23.5	22	24	23.5	22	22	20.5	23		22.7
Cloramfenicol	28	27.5	27	27.5	27	28	31.5	29.5	29.5	28.5	27.5	27	28.5	30	28		27.9
Clindamicina	23.5	23.5	22	24	24	25.5	24.5	25.5	23	28	24.5	25.5	30	25	25		24.7
Eritromicina	9.5	24.5	11	23.5	10	23.5	23.5	28	24.5	28.5	26.5	25.5	27.5	28	25.5		23.2
Gentamicina	22	22.5	23.5	22	24	22	21.5	24.5	20.5	23.5	21	21.5	26.5	22.5	22		22.5
Kanamicina	21.5	20.5	22	21.5	22	20.5	20.5	21.5	21.5	23	21	21	23.5	22	22		22.8
Meticilina	21	29.5	22	19	32.5	28.5	20	22.5	21.5	20.5	22.5	23.5	28.5	21	21		22.3
Neomicina	21.5	22	22	22	22.5	21	25	24.5	24.5	24.5	24	23	21	22	21		22.5
Nitrofurantoina	24	21.5	23.5	24	23.5	22.5	22	22	23.5	24	24.5	23.5	30.5	22.5	23.5		23.3
Penicilina G	12.5	9	14	12.5	11.5	14.5	14.5	13.5	14	18.5	14	15	15	14	14.5		13.9
Estreptomicina	17	22	18.5	15.5	21	15.5	17.5	18.5	17	17.5	18.5	14.5	16.5	15.5	19		17.1
Trimetoprim-S	28.5	27.5	29.5	29.5	30	30.5	30.5	29.5	31.5	30	30.5	29	32.5	28	28		29.7
Tetraciclina	9	7.5	9.5	23.5	8	11.5	9	25	24.5	25	24.5	23.5	26.5	8	22		17.1

Lista de antimicrobianos que aparecen en las siguientes tablas.

1. Ampicilina
2. Carbenicilina
3. Cefoxitina
4. Cefalotina
5. Cloramfenicol
6. Eritromicina
7. Gentamicina
8. Kanamicina
9. Acido Nalidixico
10. Neomicina
11. Nitrofurantoina
12. Estreptomicina
13. Tetraciclina
14. Trimetoprim-Sulfametoxazol
15. Amikacina
16. Tobramicina

tabla. 5 Diámetros de inhibición obtenidos de cepas de coprocultivos por la técnica de kirby-bauer datos reportados en milímetros

CEPA	ANTIMICROBIANO															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
<i>E. coli</i>	19 19	18 20	34 33	30 30	13 12	22 23	22 23	22 21	20 20	26 25	18 20	21 21	30 29	34 33		
<i>E. coli</i>	0 0	0 0	31 32	31 29	9 10	23 20	21 21	21 20	19 20	24 24	7 7	16 16	0 0	35 35		
<i>E. coli</i>	0 0	0 0	32 32	28 30	9 10	22 23	22 21	21 22	18 20	23 23	0 0	18 16	0 0	34 33		
<i>Klebsiella</i>	0 0	0 0	32 32	27 28	0 0	23 22	22 23	24 24	20 20	24 25	12 12	0 0	27 26	31 31		
<i>Klebsiella</i>	0 0	0 0	10 11	14 14	0 0	17 15	10 9	23 24	14 14	0 0	11 11	8 9	0 0	24 25		
<i>p. morgani</i>	0 0	17 22	32 33	31 31	0 0	23 22	0 0	19 20	9 8	18 17	0 0	0 0	0 0	36 36		
<i>p. morgani</i>	0 0	19 20	31 31	25 25	0 0	23 23	0 0	19 19	10 11	15 15	0 0	0 0	0 0	36 35		
<i>p. morgani</i>	0 0	20 20	29 30	25 24	0 0	22 23	0 0	20 19	11 10	15 15	0 0	0 0	0 0	34 35		
<i>ps. aeruginosa</i>		0					10 10									
<i>ps. aeruginosa</i>		0					10 12									
<i>E. coli</i>	0 0	0 0	31 32	28 29	11 9	21 20	22 22	22 22	19 18	22 24	0 0	17 16	0 0	33 34		
<i>p. morgani</i>	0 0	16 16	30 31	0 0	0 0	0 0	22 21	0 0	27 27	11 10	11 15	0 0	0 0	0 0		
<i>p. morgani</i>	0 0	17 17	31 32	0 0	0 0	0 0	21 22	0 0	27 26	10 10	14 18	0 0	0 0	0 0		
<i>p. morgani</i>	0 0	21 18	30 33	0 0	0 0	0 0	21 20	0 0	27 27	10 11	15 12	0 0	0 0	0 0		
<i>ps. aeruginosa</i>		0					8 10									
<i>cc.ps. auroginosa</i>		24 25													20 21	22 20

Medias aritméticas obtenidas de cepas de coprocultivos por la técnica de Kirby-bauer
datos reportados milímetros

CEPA	ANTIMICROBIANO																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
<i>E. coli</i>	19	19	33.5	30	12.5	22.5	22.5	21.5	19.5	22.5	19	21	29.5	33.5			
<i>E. coli</i>	0	0	31.5	30	9.5	21.5	21	21	19.5	24	7	16	0	35			
<i>E. coli</i>	0	0	32	29	9.5	22.5	21.5	21.5	19	23	0	17	0	33.5			
<i>Klebsiella</i>	0	0	32	27.5	0	22.5	22.5	24	20	24.5	12	0	26.5	31			
<i>Klebsiella</i>	0	0	10.5	14	0	18	9.5	23.5	14	0	11	8.5	0	24.5			
<i>p. morgani</i>	0	19.5	32.5	31	0	22.5	0	19.5	8.5	17.5	0	0	0	35.5			
<i>p. morgani</i>	0	19.5	31	23	0	23	0	19	10.5	15	0	0	0	35.5			
<i>p. morgani</i>	0	20	29.5	24.5	0	22.5	0	19.5	10.5	15	0	0	0	34.5			
<i>ps. aeruginosa</i>		0					10										
<i>ps. aeruginosa</i>		0					11										
<i>E. coli</i>	0	0	31.5	28.5	10	20.5	22	22	18.5	23	0	16.5	0	33.5			
<i>p. morgani</i>	0	16	30.5	0	0	0	21.5	0	27	10.5	13	0	0	0			
<i>p. morgani</i>	0	17	31.5	0	0	0	21.5	0	26.5	10	14.5	0	0	0			
<i>p. morgani</i>	0	19.5	31.5	0	0	0	20.5	0	27	10.5	13.5	0	0	0			
<i>ps. aeruginosa</i>		0					9										
\bar{x}	0	10.8	31.5	20.3	3.4	16.1	15.7	15.9	18.3	18	7.5	6.5	0	24.7			
<i>cc.ps. auroginosa</i>		24.5					17								20.5	21	

tabla.6 Diámetros de inhibición obtenidos de cepas de urocultivos por la técnica de kirby-bauer datos reportados en milímetros

CEPA	ANTIMICROBIANO															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
<i>P. mirabilis</i>	20	20	36	18	24	0	22	20	22	19	11	16	0	26		
<i>P. mirabilis</i>	17	11	36	16	23	0	20	21	22	19	13	17	0	27		
<i>P. mirabilis</i>	0	0	37	19	22	0	22	22	20	19	13	0	0	25		
<i>Klebsiella</i>	0	11	32	17	0	0	0	0	26	9	19	10	16	0		
<i>Klebsiella</i>	0	19	36	12	22	0	0	0	24	11	19	10	18	0		
<i>P. vulgaris</i>	0	0	37	12	27	0	23	24	26	25	13	20	11	27		
<i>P. rettgeri</i>	0	0	36	0	0	0	16	0	28	11	11	10	11	0		
<i>P. morgani</i>	0	0	37	23	26	0	21	21	27	24	19	18	15	27		
<i>E. coli</i>	0	0	24	22	0	8	0	0	26	9	21	13	0	0		
<i>E. coli</i>	0	0	25	24	0	0	0	0	26	7	23	8	0	0		
<i>E. coli</i>	0	0	27	25	29	11	20	8	32	0	22	0	0	20		
<i>E. coli</i>	15	15	29	24	27	0	22	21	30	18	23	18	16	24		
<i>E. coli</i>	0	0	29	23	0	9	20	0	31	0	21	0	0	18		
<i>Ps. aeruginosa</i>	0	0	12	0	0	0	10	0	0	10	0	0	0	0		
<i>P. morgani</i>	0	0	24	19	24	0	20	19	18	19	22	17	14	20		
<i>cc. E. coli</i>	18	27	24	19	25	10	20	19	26	19	22	18	18	27		
	18	25	25	20	25	11	21	20	27	21	22	16	22	29		

Medias aritméticas obtenidas de cepas de urocultivos por la técnica de kirby-bauer datos reportados en milímetros

CEPAS	ANTIMICROBIANO																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
<i>P. mirabilis</i>	20.5	20	30.5	18	23.5	0	22	20.5	22	19	12	16	0	25.5			
<i>P. mirabilis</i>	19	11.5	30	15.5	23	0	21	21	21.5	19.5	13.5	16.5	0	26			
<i>P. mirabilis</i>	0	0	30.5	18.5	22	0	23.5	22	20	19.5	13.5	0	0	25.5			
<i>Klebsiella</i>	0	10.5	32.5	18	0	0	0	0	22	9	19.5	10.5	16.5	0			
<i>Klebsiella</i>	0	18	35	13.5	22.5	0	0	0	22	10	18.5	10.5	17	0			
<i>P. vulgaris</i>	0	0	30	12	29.5	0	23.5	24	26	25	13	20	10.5	27.5			
<i>P. rettgeri</i>	0	0	30	0	0	0	14	0	28.5	11.5	10	10.5	11	0			
<i>P. morgani</i>	0	0	30.5	23	26.5	0	21	20.5	27	24	20	17.5	17	27			
<i>E. coli</i>	0	0	24	21	0	7.5	0	0	26.5	9	21.5	13.5	0	0			
<i>E. coli</i>	0	0	25.5	23.5	0	0	0	0	26.5	7.5	23	8	0	0			
<i>E. coli</i>	0	0	28.5	25	28.5	11.5	20.5	8	31	0	22	0	0	20			
<i>E. coli</i>	14.5	12.5	28.5	24	26	0	22.5	21	29.5	17.5	22.5	19	14	25			
<i>E. coli</i>	0	0	29	23	0	9	20.5	0	31	0	22.5	0	0	20			
<i>Ps. aeruginosa</i>	0	0	11.5	0	0	0	11	0	0	9	0	0	0	0			
<i>P. morgani</i>	0	0	23.5	19	24.5	0	20.5	19.5	18.5	18.5	21.5	16.5	14	20.5			
\bar{x}	0	4.8	30.3	16.9	14.8	0	14.6	10.4	23.4	13.2	16.8	10.5	6.6	14.4			
<i>c.c. E. coli</i>	17	26	24.5	19.5	25	10.5	20.5	19.5	26.5	20	22	17	20	28			

Tabla 7. Diámetros obtenidos de las cepas aisladas. Los valores mostrados son un promedio de 15 valores para cepas de Staphylococcus aureus, 12 para enterobacterias y 4 para Pseudomonas aeruginosa.

Agente Antimicrobiano.	Cont. del Disco	Diámetro de zona (mm) obtenidos para <u>St. aureus</u> .		Diámetro de zona (mm) para enterobacterias.		Diámetro de zona (mm) para <u>Ps. aeruginosa</u>	
		X	D.E.	X	D.E.	X	D.E.
Amikacina ^a	30 ug					10.9	0.83
Ampicilina ¹	10 ug			0	0		
Ampicilina ²	10 ug	11.8	0.97				
Carbenicilina ³	100 ug			10.8	9.6		
Carbenicilina ⁴	100 ug					0	0
Cefoxitina	30 ug	24.4	2.68	31.5	1.03		
Cefalotina	30 ug	22.7	0.83	20.3	13.2		
Cloramfenicol	30 ug	27.9	1.58	3.4	5.16		
Clindamicina	2 ug	24.7	7.28				
Eritromicina	15 ug	23.2	5.7	16.1	10.3		
Gentamicina	10 ug	22.5	1.06	15.7	8.81	10.5	0.95
Kanamicina	30 ug	21.6	0.87	15.9	9.7		
Meticilina ⁵	5 ug	22.3	1.76				
Ac. Nalidixico ^b	30 ug			18.3	6.29		
Neomicina	30 ug	22.5	1.27	18.0	6.15		
Nitrofurantoina	300 ug	23.3	0.80	7.5	7.4		
Penicilina G	10 ug	13.9	1.14				
Estreptomicina	10 ug	17.1	1.57	6.5	8.58		
Tetraciclina	30 ug	17.1	8.04	0	0		
Trimetoprim-S	23.7 ug	29.7	1.05	24.7	15.9		
Tobramicina ^c	10 ug					9.5	1.03

Tabla 7. Descripción de la tabla.

1. Cuando se prueban microorganismos entéricos gramnegativos y enterococos.
2. Cuando se prueban cepas de Staphylococcus aureus.
3. Cuando se prueban especies de proteus y Escherichia coli.
4. Cuando se prueban Pseudomonas aeruginosa.
- 5 y 6. Cuando se prueban Staphylococcus.
 - a. Tamaño de zona obtenido para prueba de Pseudomonas aeruginosa.
 - b. Los datos de susceptibilidad para ácido nalidíxico y nitrofurantoina se aplican a microorganismos aislados de infecciones de vías urinarias.
 - c. Tamaño de zona obtenidos para prueba de Pseudomonas aeruginosa.

\bar{X} = Media Aritmética

D. E. = Desviación Estándar

Cuadro 5. Porcentaje de microorganismos patógenos observados a partir de muestras de Exudados Vaginales durante el periodo de Octubre de 1986 a Octubre de 1987.

Microorganismo Identificado	Número de Identificaciones	% de Identificación
N. gonorrhoeae	1, 829	34.98%
H.vaginalis	963	18.42%
C. albicans	679	12.98%
No Clasificados	1, 757	33.60%
T O T A L	5, 228	39.98%

4 . D I S C U S I O N

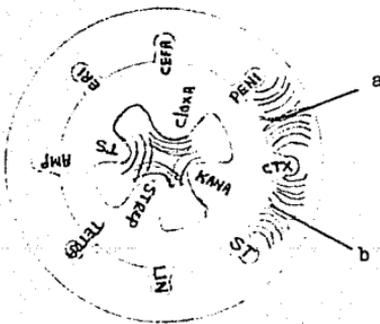
- Analizando la tabla 3 podemos percatarnos de la efectividad que presenta la utilización del unidisco ante el multidisco ya que en este último no podemos apreciar la susceptibilidad de todos los antimicrobianos, debido a la cercanía entre uno y otro antibiótico; lo cual ocasiona una interacción que es muy significativa al interpretar las zonas de inhibición producidas. Esta distribución de los unidiscos es un hecho de mucha importancia en esta técnica ya que para obtener resultados más confiables es recomendable no usar más de 4-5 antimicrobianos por caja para que la difusión y el halo de inhibición de uno y otro no influya al hacer la lectura.

Por otro lado la misma metodología que se emplea en la realización del antibiograma en el Hospital General de Zona No. 1 de Cuernavaca Morelos origina en cada uno de los pasos errores que conducen a la interpretación errónea de los halos por este método (del multidisco). Como por ejemplo los siguientes.

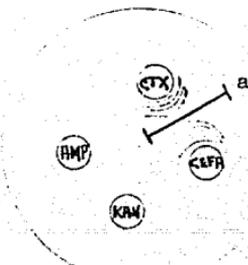
1. En muchas ocasiones no se trabaja con el agar M-H para antibiogramas.
2. No se trabaja con cepas control en las pruebas.
3. No hay uniformidad en el grosor del agar (que debe ser de unos 4 mm).
4. No trabajar con cultivos puros.

5. No se lleva a cabo una suspensión para su posterior ajuste turbidimétrico del microorganismo.
6. La inoculación de la muestra se realiza con asa de platino y no con hisopo estéril.
7. No descongelar los antimicrobianos unas dos horas antes de realizar la prueba.
8. Colocar el multidisco en una sola caja, esto es, se colocan 12 antimicrobianos en ella; lo cual representa un número excesivo.

A continuación se muestra una representación gráfica de la ineficiencia del multidisco y la ventaja del unidisco.



a,b = Difusión de uno y otro antimicrobiano, que al difundir, debido a su cercanía forman una línea de contraposición.



a = La Difusión debido a la distancia y número de antimicrobianos no permite que se contrapongan.

- Comparando los diámetros establecido (Cuadro 3) con los obtenidos para las cepas aisladas (Tabla 7), tenemos que para cepas de Staphylococcus aureus existe una marcada resistencia al grupo de las penicilinas, en donde podemos mencionar que estas cepas resistentes a este grupo de antimicrobianos son capaces de elaborar la enzima β -lactamasa, la cual hidroliza el anillo β -lactámico de las penicilinas con lo que se origina la resistencia para éstos; no así para las otras familias de antimicrobianos en donde se observa una susceptibilidad muy notoria de acuerdo a los diámetros de inhibición obtenidos. Esto resulta confiable si tomamos en cuenta los valores de desviación estándar cuyo bajo valor nos indican un bajo porcentaje de error, esto exceptuando los valores de Tetraciclina y Eritromicina.

- Con respecto a las cepas de enterobacterias podemos notar una marcada resistencia a la Tetraciclina y Ampicilina, en contraste con la buena susceptibilidad ante las Cefalosporinas (Cefoxitina y Cefalotina), Gentamicina y Trimetoprim - Sulfametoxazol. Los resultados restantes debido a clasificarse como intermedios y por otro lado las desviaciones elevadas de estos diámetros, sugiere que estos datos sean tomados como tentativos hasta un nuevo evaluo por cualquier método de dilución.

- De los antimicrobianos útiles para infecciones urinarias el ac. nalidixico presenta una susceptibilidad intermedia mientras que con la Nitrofurantoina la resistencia se pone de manifiesto.

- Algo muy notorio es la resistencia que se observa en las cepas de Pseudomonas aeruginosa a los aminoglucósidos, tan usuales en el tratamiento de éstas. Los diámetros reportados indican resistencia a la Tobramicina, Gentamicina, Kanamicina y Amikacina.

Estos datos de resistencia principalmente a enterobacterias y Pseudomonas aeruginosa resultan aun más dramáticos si tomamos en cuenta que las concentraciones que alcanzan a nivel plasmático y tisular los antimicrobianos propuestos para estos microorganismos son muy bajas.

- Como podemos observar la resistencia a estos tres grupos de microorganismos es muy significativa si tomamos en cuenta que tanto para las cepas de Staphylococcus aureus, para enterobacterias y Pseudomonas aeruginosa; los antimicrobianos que resultaron resistentes representan y suelen ser los antimicrobianos de elección, por ser los establecidos como de primer orden en el tratamiento de estos agentes patógenos.

- Con respecto a las muestras de exudados vaginales, estas no se tomaron debido a la falta de medios de cultivos necesarios y recursos para su identificación. Por otro lado en el Hospital General de Zona No. 1 de Cuernavaca Morelos las pacientes que requieren dicho estudio sólo se realiza por observación directa (a los pocos minutos de tomada la muestra) y en frotis.

CONCLUSIONES

1. La proporción de microorganismos que se aislaron en el Hospital General de Zona No. 1 de Cuernavaca Morelos en el periodo de Diciembre de 1986 a Mayo de 1987 a partir de las muestras trabajadas, se observa según los porcentajes de aislamientos, que la proporción de Staphylococcus aureus es muy elevada si tomamos en cuenta el número de muestras trabajadas de exudados faríngeos; con respecto a las enterobacterias aisladas, se observa la misma situación ya que al sumar los porcentajes de cada una de ellas hacen un total muy significativo comparado con el total de muestras tomadas.

Esto sugiere que la proporción de aislamientos de microorganismos patógenos es bastante elevada en dicho Hospital para las muestra trabajadas.

2. Para un mejor análisis en este tipo de pruebas de sensibilidad antimicrobiana, y con el fin de obtener resultados más exactos, se sugiere trabajar por el método del uni disco que por la técnica tradicional del multidisco, según los resultados obtenidos.

3. Para el caso de microorganismos aislados a partir de muestras de exudados faríngeos y enterobacterias es más conveniente la utilización de los Aminoglucósidos y Cefalosporinas por las zonas producidas y por su baja desviación que presentan en la prueba, según resultados obtenidos.

4. Existe una marcada resistencia para las Pseudomonas aeruginosa en la zona que comprende en el Hospital General de Zona de Cuernavaca Morelos ante los antimicrobianos de elección especificados para este microorganismo, lo cual nos demuestra la importancia de este microorganismo en las infecciones intrahospitalarias.

5. La técnica, aun cuando sólo ubica a los microorganismos como resistentes, intermedios o susceptibles (método cualitativo) es bastante bueno y confiable siempre y cuando se tenga un buen control durante la metodología. Para el caso de investigaciones epidemiológicas es más recomendable que cada laboratorio obtenga sus propios parámetros de susceptibilidad (evaluadas periódicamente) mediante cualquier método de dilución para poder establecer para cada antimicrobiano un diámetro de zona mínima para organismos susceptibles y un diámetro de zona máxima para organismos resistentes.

6. A la par de los avances en las investigaciones farmacéuticas en el área de los antimicrobianos y su empleo terapéutico, se ha puesto de manifiesto la capacidad de adaptación de los microorganismos ante los nuevos productos. Por todo esto y los reportes acumulados se concluye que el uso constante de antimicrobianos trae consigo, inevitablemente y en mayor o menor grado, la resistencia bacteriana. La magnitud del problema se verá influenciada, por la racionalidad en la prescripción de antimicrobianos, Para ello ésta prueba de

sensibilidad resultará una *gufa* importante siempre y cuando se realice como prueba perfectamente estandarizada y los resultados se interpreten con suficiente criterio.

R E S U M E N

La resistencia que presentan ciertos microorganismos frente a los antimicrobianos comunmente empleados en la terapia de una enfermedad infecciosa, fué la razón principal por la que dicho estudio se llevó acabo. El cual se realizó en el Hospital General de Zona No. 1 de Cuernavaca Morelos.

Al manifestarse dicha resistencia, es conveniente la evaluación continua de nuevos productos para conocer los parámetros de susceptibilidad frente a las cepas originalmente resistentes. Para ello se puso en práctica el método de difusión a partir de un disco (método de Kirby-Bauer), el cual ha sido aceptado por la FDA y aceptado como estándar por el NCCLS.

Para llevar a cabo dicho estudio, se trabajaron muestras clínicas de Exudados Faríngeos, Coprocultivos y Urocultivos; aislándose los siguientes microorganismos patógenos:

- Staphylococcus aerus 19.23 %
- Proteus 16.66 %
- Escherichea coli 11.5 %
- Klebsiella spp. 5.12 %
- Pseudomonas aeruginosa 5.12 %
- Microorganismos no clasificados 42.3 %

Dicho aislamiento se realizó a partir de Diciembre de 1986 a Mayo de 1987.

Una vez identificado al microorganismo se procedió a realizar la prueba bajo los lineamientos que la técnica específica (anexo 1), además para mayor reproducibilidad de la

prueba, se trabajó con las siguientes cepas control:

- Staphylococcus aerus ATCC 25923
- Escherichea coli ATCC 25922
- Pseudomona aeruginos ATCC 27853

Los resultados obtenidos nos indican que existe una marcada resistencia de las cepas de staphylococcus aerus frente al grupo de las penicilinas, no así para las demás familias de antimicrobianos como las Cefalosporinas y Aminoglucósidos, que presentan una marcada susceptibilidad.

Con respecto a las cepas de enterobacterias se nota una marcada resistencia a la Tetraciclina y Ampicilina, en contraste con la buena susceptibilidad ante las Cefalosporinas, Gentamicina y Trimetoprim-Sulfametoxazol.

Algo muy notorio fué la resistencia que presentan las Pseudomonas aeruginosa frente a los antimicrobianos propuestos para estos microorganismos, como la Amikacina, Carbenicilina, Gentamicina y Tobramicina.

Por otro lado, el estudio comparativo realizado con el unidisco y el multidisco para las cepas control, nos indican una mayor eficiencia del unidisco frente al multidisco.

Este problema sobre la resistencia bacteriana se vera influenciada por la racionalidad en la disificación de los antimicrobianos. Para ello ésta prueba de susceptibilidad será una guía importante, siempre y cuando se realice como prueba perfectamente estandarizada y los resultados sean interpretados con suficiente criterio.

B I B L I O G R A F I A

1. ABRAHAM I. BRAUDE. (1984) Microbiología Clínica, 4a. Edición, Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina.
2. ANDERSON, T. G. (1975). Standardized Methods of Antimicrobial Susceptibility testing in: Quality Control in Microbiology. J. E. Prier, J. t. Bartol, J. D. H. Freedman (ed). University Park Press. P. 81 - 86.
3. BARRY, A. L., M. B. COYLE, C. TORNSBERRY, E. H. GERLACH, and R. W. HAWKINSON. (1979) "Methods of measuring zones of inhibition with the Bauer-Kirby disk susceptibility test". J. Clin. Microbiol. 10 : 885 - 889.
4. BARRY, A. L., L. J. JOICE, A. P. ADAMS, and E. J. BENNER. (1973) "Rapid determination of antimicrobial susceptibility of urgent clinical situations". Am. J. Clin. Pathol. 59 : 693 - 699.
5. BAUER, A. W., W. M. M. KIRBY, J. C. SHERRIS, and M. TURCK. (1966) "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method". Am. J. Clin. Pathol. 45 : 493 - 496.
6. BLAZEVIC. D. J., KOEPCKE, H., MATSEN J. M. (1972) "Quality control testing with the disk antibiotic susceptibility test of Bauer-Kirby

Sherris-Turck". American Journal of Clinical Pathology. 57 : 592 - 597.

7. COWAN & STEB'S. (1974) Manual for the Identification of Medical Bacteria, 2a. Edition, Ed. Cambridge University Press, Great Britain.
8. DRA. SILVIA GIONO. Departamento de Microbiología Escuela Nacional de Ciencias Biológicas Instituto Politécnico Nacional. (1982) "Conservación y Mantenimiento de Microorganismos". Biogénica. 14 : 379 - 382.
9. DRA. SILVIA GIONO. Departamento de Microbiología Escuela Nacional de Ciencias Biológicas Instituto Politécnico Nacional. (1983) "Prueba de Bauer-Kirby para sensibilidad a los antimicrobianos". Infectología. 7 : 325-330.
10. FEDERAL REGISTER. (1972) "Rules and regulations antibiotic susceptibility disks". Fed. Register. 37 : 20525 - 20529.
11. GODMAN L. S. and GILMAN, ALFRED. (1979) Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 5a. Edición, Ed. Interamericana, México D. F.
12. I. DAGUET y Y. CHABRET. (1977) Exámenes de Laboratorio. Técnicas de Bacteriología III. Serología Bacteriana. Antibióticos en Bacteriología Médica. 1a. Edición, Ed. Jims, España.

13. MATSEN, J. M. : y BARRY A. L. : Susceptibility testing: Diffusion test procedures. p. 418-427. En E. H. Lennette, E. H. Spaulding y J. P. Trauant (Ed) Manual of Clinical Microbiology. 2a. ed. American Society for Microbiology Washinton D. C. pp. 418 -427, 1974.
14. National Committe for Clinical Laboratory Standards. 1970. Performance standard for antimicrobic disk susceptibility test.
15. National Committe for Clinical Laboratory Standard. 1979 Performance standard for antimicrobic disk suscentibility test. Approved Standar, ASM-2 (2nd edition). National Commi tte for Clinical Laboratory Standard, Villanova, Pa.
16. POLLACK, H. M., B. H. MINSHEW, M. A. KENNY, and F. D. SCHOENKNECHT. (1978) "The effect of diffe rent lots of Mueller-Hinton agar the in- terpretation of the gentamicin suscepti- bility of pseudomona aeruginosa". Anti - microbiol Agents Chemother. 14 : 360 - 367.
17. RELLER? L. B., F. D. SCHOENKNECHT, M. A. KENNY, and J. C. CHERRIS. (1974) "Antibiotic susceptibili ty testy of Pseudomona aeruginosa: selec tion of a control stain and criteria for magnesium and calcium content in media". J. Infect. Dis. 130 : 454 - 463.

18. THORNSBERRY, C., T. L. GAVAN, and E. H. GERLACH. (1977)
"Cumetech 6, new developments in antimicrobial agents susceptibility testin. Co
rdinating ed., J. C. Sherris. American
Society for Microbiology, Washinton D.C.
19. UNITED STATES DEPARTMENT OF HEALTH, EDUCATION and WELFARE
FOOD and DRUG ADMINISTRATION. (1972).
Antibiotic Susceptibility disks. Federal Register 37 : 20525.
20. VOLK & WHEELER. (1980) Basic Microbiology, 4a. Edition,
Ed. J. B. LIPPINCOTT COMPANY, United States of American.
21. WAYNE W. DANIEL. Bioestadística. Bases para el análisis de las ciencias de la salud. 3a. edición, ed. Limusa, México (1982).
22. WICK, W. E., D. A. PRESTON, L. C. HAWLEY and R. S. GRIFFITH. Pruebas de laboratorio para determinar la susceptibilidad de las bacterias a los antibióticos. Teoría y Práctica. Lilly Research Laboratories Indianapolis, Indiana, U.S.A.

Anexo 1

Inoculación de Placas de Prueba.

Método Estándar⁵. Con una aguja o asa de inocular se tocan cada una de cuatro o cinco colonias bien aisladas del mismo tipo morfológico y se inocula en 4 o 5 ml de medio de caldo de soya caseína. Los cultivos de caldo se dejan incubar a 35°C hasta que aparece una turbidez ligeramente visible (generalmente 2 a 5 horas). La turbidez de cultivos de caldo en crecimiento activo se ajusta con solución fisiológica o caldo para obtener una turbidez visualmente comparable al tubo No. 0.5 del nefelómetro de MacFarland. La suspensión de inóculo no debe dejarse reposar más de 15 a 20 minutos antes de inocular las placas.

Para inocular el medio de agar, se sumerge un hisopo de algodón estéril sobre un aplicador de madera en la suspensión estandarizada y el exceso de caldo se elimina presionando y rotando el hisopo firmemente contra el interior del tubo por encima del nivel del líquido. Luego el hisopo se pasa en franjas uniformes en tres direcciones sobre la superficie de la placa de agar para obtener un inóculo uniforme. Se vuelve a pasar por el borde del agar el hisopo de algodón por última vez, y se deja secar la placa 3 a 5 minutos, pero no más de 15 minutos, antes de aplicar los discos. El inóculo debe dar crecimiento confluyente o casi confluyente.

A los 15 minutos después de inocular las placas, se aplican discos impregnados de antimicrobiano a la superficie de las placas inoculadas con dispensador mecánico o a mano, con

pinzas esterilizadas. Todos los discos deben presionarse suavemente sobre el agar con la pinza o aguja para inocular, para asegurar contacto total con la superficie del agar. La disposición espacial de los discos debe ser tal que no estén a menos de 15 mm de los bordes de la placa, y lo bastante separados entre sí para impedir la superposición de zonas de inhibición. Generalmente esto limita el número de discos que pueden colocarse sobre una misma placa a 12 a 13 sobre 150 mm de superficie, y sólo 4 o 5 en 100 mm de placa. A los 15 minutos de aplicar los discos las placas se invierten y se colocan en un incubador a 35°C. Cualquier demora mayor antes de la incubación permite excesiva difusión previa del antimicrobiano. La incubación en ambiente de mayor CO₂ debe evitarse porque el CO₂ altera el pH superficial lo suficiente para afectar la actividad de algunos de los antimicrobianos.

Lectura e Interpretación.

Para llevar a cabo la medición de los diámetros de inhibición, éstos se miden hasta el milímetro entero más cercano con calibres, reglas o una matriz preparada especialmente. El dispositivo de medición se mantiene sobre el reverso de la caja de Petri, iluminado con luz refleja contra un fondo negro no reflejante³. El punto terminal para todos los sistemas de lectura es la inhibición total del crecimiento, sin tener en cuenta las colonias diminutas que pueden detectarse sólo con una observación muy minuciosa o con luz transmitida o amplificadores mecánicos.

En situaciones clínicamente urgentes pueden obtenerse lecturas preliminares a menudo en 5 o 6 horas después de la inoculación, pero las placas deben siempre reincubarse, no omitiendo el informe definitivo hasta que hayan pasado de 16 a 18 horas¹⁰.

Los diámetros de zonas para antimicrobianos individuales se traducen a las categorías de susceptibles, intermedios o resistentes con referencia a una tabla interpretativa. Las interpretaciones para los antimicrobianos son aquellas actualmente recomendadas por la Food and Drug Administration¹⁷ o por el National Committee for Clinical Laboratory Standards.

Procedimiento para realizar la prueba.

1. Con una asa se tocan 4 ó 5 colonias aisladas del mismo tipo morfológico y se inocula en el tubo con caldo de soya caseína.
2. Incubar a 35°C hasta que aparezca una leve turbidez (2 a 5 horas).
3. Ajustar la turbidez tomando como referencia el tubo 0.5 del nefelómetro de MacFarland.
4. Sembrar el microorganismo en placa de Mueller-Hinton usando un hisopo.
 - a. Humedecer el hisopo con la suspensión bacteriana, quitando el exceso del caldo presionándolo y girándolo sobre la pared interna del tubo por arriba del nivel del caldo.

- b. Sembrar la placa en tres direcciones para obtener un sembrado uniforme.
 - c. Pasar el hisopo sobre el reborde de la caja de Petri y el agar.
5. Dejar reposar la placa 3 a 5 minutos, para que se seque el inóculo.
 6. Colocar los sensidiscos.
 - a. Los discos deben ser distribuidos uniformemente de tal manera que se pueda prevenir una sobreposición de las zonas de inhibición y separados del borde de la caja 15 mm.
 7. Invertir la caja de Petri e incubar a 35°C durante 18 horas.
 8. Medir los halos de inhibición con vernier, regla o plantilla por el fondo de la caja.

Anexo 2

Para el cálculo de la media aritmética del halo de inhibición y las desviaciones estándar, éstas se obtuvieron de la siguiente manera (tomando como ejemplo la cefalotina):

- a) Agrupar los datos obtenidos a partir de las lecturas de los halos de inhibición (para cefalotina en este caso), dados por los Staphylococcus aureus estudiados.

Se obtuvieron 30 lecturas para cada antimicrobiano, en el caso de la cefalotina los halos de inhibición varían de 20.0 mm a 27.0 mm (se obtienen 30 lecturas ya que se sometieron a esta prueba las 15 cepas de Staphylococcus aureus y por duplicado).

No. de Muestras	Halo de Inhibición (mm)
1/15	20.0
0/15	20.5
0/15	21.0
1/15	21.5
4/15	22.0
3/15	22.5
1/15	23.0
2/15	23.5
2/15	24.0
0/15	24.5
0/15	25.0
0/15	25.5
0/15	26.0
1/15	26.5
0/15	27.0

15 muestras

b) Establecer una tabla de frecuencia y calcular la media aritmética.

Clase	Limites inf - sup	F	f	\bar{F}	\bar{f}	X_i	FX_i
1	20.0-21.0	1	0.06	1	0.06	20.5	20.5
2	21.5-22.5	8	0.53	9	0.60	22.0	176.0
3	23.0-24.0	5	0.33	14	0.93	23.5	117.5
4	24.5-25.5	0	0	0	0	25.0	0
5	26.0-27.0	1	0.06	15	1	26.5	26.5

= 340.5

$$\bar{X} = (\text{media aritmética}) = \frac{FX_i}{\text{No. total de datos}} = \frac{340.5}{15} = 22.7$$

Por lo tanto el valor de la media aritmética para el caso de la cefalotina es de 22.7

Para calcular el valor de la desviación estándar para este caso tenemos:

$$s^2 = \frac{(X_i - \bar{X})^2}{n - 1} = \text{Desviación estándar}$$

Donde:

X_i = Diámetros de inhibición obtenidos de las 15 cepas de Staphylococcus aureus para el caso de la cefalotina.

\bar{X} = Media calculada

n = Número total de datos

$$(X_i - \bar{X})^2 = 8.27$$

$$n - 1 = 12$$

$$s^2 = 8.27/12 = 0.89$$

$$s = 0.83$$

Por lo tanto el valor de la desviación estándar para este caso es de 0.83 y con una media aritmética de 22.7.

De igual forma se procedió con los demás antimicrobianos.