

16



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MÉXICO.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES.
ZARAGOZA

ESTUDIO COMPARATIVO DE CEFALOSPORINAS
INOVADORAS Y GENÉRICAS EN BASE A LA
SENSIBILIDAD BACTERICIDA y BACTEREOSTATICA
CONTRA CEPAS PRODUCTORAS DE
BETALACTAMASAS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO.

PRESENTA:

ESPINOZA CÓRDOVA DANIEL ERNESTO.

ASESOR: MTRO. JUAN FRANCISCO SÁNCHEZ RUIZ



298247

MÉXICO D.F. NOVIEMBRE 2001



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

AGRADECIMIENTOS.

“La ciencia se compone de errores, que a su vez son los pasos hacia la verdad.”

JULIO VERNE.

A MI PADRES.

Por su apoyo , dirección, comprensión, y amor en la vida, desde el principio del tiempo, y sus correcciones, jalones de oreja, que cuidaron mi camino que ahora empiezo a surcar solo ¡GRACIAS! por todo...y más.

A MI HERMANO.

El Ing. Leonardo Espinoza Córdova. (no lo creo todavía) que ha estado a mi lado en todo momento, brindándome su apoyo y comprensión, esperando estar juntos siempre.

A MIS ASESORES.

De quienes recibí apoyo, dirección, ayuda en el desarrollo de este trabajo y aporte de ideas en el proceso de formación de este futuro profesionista.

A MIS MAESTROS.

En especial a las maestras: QBP. Ma. Luisa Delgado Briceño y QFB. Araceli Garcia del Valle. Cuyas enseñanzas me guiaron en toda la carrera donde fueron mis tutoras académicas como personales. ¡gracias por su apoyo, y conocimientos en estos 5 años de mi vida y con esperanzas de recibir mas toda la vida que viene.

A MIS AMIGOS.

Los cuales por razones de espacio, y por temor a olvidar a alguno decido omitir sus nombres. ¡Gracias por su apoyo en los momentos difíciles, y sus palabras de apoyo cuando no existía una luz al final del tunel de la vida.¡

A LA FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES “ZARAGOZA” Y A LA U.N.A.M.

Que abrio sus puctas de sabiduría y conocimiento a un estudiante que no sabía química (en serio) y que ocupara los conocimientos recabados en estos años en servicio al ser humano con profesionalismo, etica, y seguridad.

.....¿QUIÉN DICE QUE DIOS NO ESCUCHA?

Hay frases que es común encontrar en escritos técnicos y científicos. Para facilitar la comprensión de dichos textos, es conveniente explicar su significado y su uso. Esta lista, que puede ser de gran ayuda al lector, se tomó de un genio desconocido, quien evidentemente leía demasiados artículos científicos sobre Física y Química.

- “Desde hace mucho tiempo se sabe...” No me he molestado en buscar la referencia.
- “Aun cuando no ha sido posible obtener respuestas definitivas a estas interrogantes...” Los experimentos no funcionaron, pero me imagino que a pesar de todo me darán publicidad.
- “Pureza extremadamente alta” Composición desconocida de la sustancia, excepto por la propaganda exagerada del proveedor.
- “Se escogieron tres de las muestras para el estudio detallado..” Los resultados en las demás no tenían sentido y, por consiguiente, se ignoraron.
- “Deformado accidentalmente durante el montaje” Accidentalmente se nos cayó al suelo.
- “Se muestran los resultados típicos...” Se muestran los resultados más favorables, para impresionar.
- “Presumiblemente con duraciones más largas...” No me tome el tiempo de averiguarlo.
- “Estos resultados serán reportados posteriormente...” Puede que vuelva a esto alguna vez.
- “Los valores más confiables de todos fueron los de BJ.” BJ. Fue mi alumno.
- “Se cree que ...” Creo que..
- “Generalmente se cree que..” *Un par de tipos piensan como yo que..*
- “Se puede argumentar que..” Tengo una respuesta tan buena para esta objeción que inmediatamente voy a replicar.
- “Es claro que se necesitará mucho trabajo adicional antes de obtener una mejor comprensión...” No lo entiendo.
- “Correcto dentro de un orden de magnitud.” Está mal.
- “Es de esperar que este trabajo estimule más trabajo en la materia..” Este trabajo no es muy bueno, pero tampoco lo es ninguno de los demás de este miserable tema.
- “Se agradece a HH. Por su ayuda con los experimentos y a RF. Por sus valiosas discusiones..” HH. Hizo los experimentos y RF. Me explicó lo que significaban los resultados.

GLOSARIO.

- **Aerobio.** Organismo que crece en presencia de O_2 . Puede ser facultativo u obligado.
- **Antimicrobiano.** Que es dañino para los microorganismos, ya sea matándolos o inhibiendo su crecimiento.
- **Antiséptico.** Agente que mata o inhibe el crecimiento, pero que no es dañino para los tejidos humanos.
- **Bactericida.** Capaz de matar bacterias.
- **Bacteriostático.** Capaz de inhibir el crecimiento bacteriano sin matar a las bacterias.
- **Colonia.** Población de células que crecen sobre un medio sólido, provenientes de una sola célula.
- **Cuenta de viables.** Medición de la concentración de células vivas en una población microbiana.
- **Cultivo.** Cepa o clase particular de un organismo que crece en un medio de laboratorio.
- **Estéril.** Libre de organismos vivos.
- **Esterilización.** Tratamiento que da como resultado la muerte de todos los organismos vivos en un material.
- **Fase de latencia.** Periodo después de la inoculación de una población, antes que se inicie el crecimiento.
- **Fase estacionaria.** Periodo durante el ciclo de desarrollo de una población en el cual se detiene el crecimiento.
- **Fase experimental.** Periodo durante el ciclo de crecimiento de una población que aumenta a velocidad exponencial.
- **Hemolisinas.** Toxinas bacterianas capaces de lisis células, incluyendo los glóbulos rojos.
- **In vitro.** En vidrio, en cultivo.
- **In vivo.** En el cuerpo, en un organismo vivo.
- **Infección.** Desarrollo de un organismo dentro de un cuerpo.
- **Inhibición.** Que se evita el desarrollo o función.
- **Mesófilo.** Organismo que vive en los límites de temperatura próximo a la de los animales de sangre caliente.
- **Patógeno.** Organismo capaz de causar daño a un huésped, al cual infecta.
- **Quimioterapia.** Tratamiento de una enfermedad infecciosa con sustancias químicas o antibióticos.
- **Termófilo.** Un organismo que vive a alta temperatura.

INDICE.

TITULO	PAGINA.
➤ INTRODUCCIÓN.	2
➤ FUNDAMENTACION TEORICA.	
➤ ANTECEDENTES	4
➤ POTENCIA MICROBIOLÓGICA DE LOS ANTIBIÓTICOS.	11
➤ MARCO TEORICO.	13
➤ RESISTENCIA BACTERIANA.	17
➤ CEFALOSPORINAS	19
➤ VALORACIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS.	24
➤ MORFOLOGÍA DE COCOS AEROBIOS.	26
➤ CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS.	29
➤ MEDICAMENTOS GENERICOS.	30
➤ PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	32
➤ DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	33
➤ DISEÑO ESTADÍSTICO.	34
➤ OBJETIVOS	35
➤ HIPÓTESIS.	35
➤ POBLACIÓN DE ESTUDIO.	36
➤ CRITERIOS DE ESTUDIO.	36
➤ VARIABLE	36
➤ TÉCNICAS DE TRABAJO.	37
➤ MATERIAL Y EQUIPO	37
➤ CRONOGRAMA.	40
➤ PROGRAMA DE TRABAJO.	41
➤ DIAGRAMA DE FLUJO.	42
➤ RESULTADOS.	43
➤ DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	78
➤ CONCLUSIONES	79
➤ SUGERENCIAS Y/O RECOMENDACIONES.	80
➤ ANEXO i	81
• PREPARACIÓN DE SOLUCIONES	
• METODOS DE SECADO	
• TÉCNICAS DE MICRODILUCION.	
• VALORACIÓN Y ODOMETRICA.	
➤ ANEXO ii	90
• TABLAS DE SENSIBILIDAD BACTERIANA.	
➤ ANEXO iii	93
• FOTOS DEL ESTUDIO.	
➤ BIBLIOGRAFÍA.	100

INTRODUCCIÓN.

Conforme nos aproximamos al tercer milenio, tecnologías emergentes transforman nuestro mundo, provocando cambios que repercuten en estructuras, procesos y resultados. Respecto a la salud: los profesionales responsables de su cuidado deben ser capaces de anticipar estos cambios mas que simplemente reaccionar ante ellos. Es indispensable contar con información confiable para establecer conclusiones validas. La figura profesional del químico clínico debe convertirse en inductor del cambio cultural del proceso diagnostico

El vocablo "antibiosis" fue probablemente usado por vez primera por Vuillemin en 1889 para describir lo que hoy consideramos " la supervivencia de los más aptos", en virtud de la cual una criatura destruye la vida de otra para conservar su propia existencia. Diez años después, Marshall Ward adoptó la palabra "antibiosis" para describir los antagonismos microbianos. En 1942 Walksman propuso el empleo del término "antibiótico" para definir aquellas sustancias químicas de origen microbiano dotadas de actividad antimicrobiana.

Al progresar la búsqueda de nuevos antibióticos, el sentido de esta denominación ha sido ampliando para incluir en ella no solamente las sustancias químicas de origen microbiano, sino aquellas procedentes de tejidos vegetales e incluso animales. En todo caso, la palabra "antibiótico", se halla en la actualidad firmemente establecida, no sólo en el pensamiento de los investigadores científicos de todo el mundo, sino también en la mentalidad popular, gracias a la formidable publicidad que estas sustancias han recibido en los últimos quince años.⁽¹⁶⁾

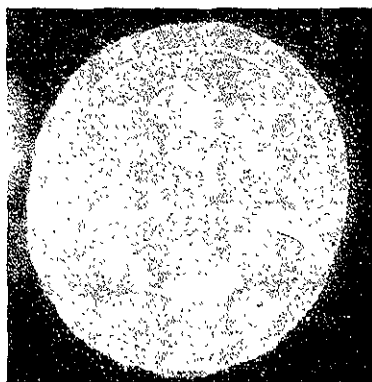
El papel primario de los laboratorios de análisis clínicos consiste en brindar información con la cual los médicos puedan diagnosticar y tratar enfermedades infecciosas. Si bien se presenta una enfermedad comunicable, la identificación del patógeno específico es de la máxima importancia para un epidemiólogo hospitalario o un trabajador de salud pública. La identificación de un microbio recuperado de un paciente a menudo beneficia al medico mediante la identificación definitiva de una enfermedad confusa, ayudando a la selección provisoria del tratamiento quimioterápico. Dentro del laboratorio de análisis clínicos el área de microbiología clínica es de vital importancia en él diagnóstico ante enfermedades infecciosas, la labor de esta área es dar al medico la información suficiente acerca del microorganismo causal de la enfermedad, así como de la posible ruta a seguir para combatirlo.

Existen dos métodos para realizar estudios in vitro. El primero utiliza discos impregnados con antibióticos (discos de Kirby Bauer) y correlaciona la sensibilidad o resistencia con zonas de inhibición del desarrollo alrededor del disco; el otro consiste en el análisis de antibióticos diluidos en caldo o agar, frente a siembras estandarizadas de microorganismos. El primero compara el tamaño del área de inhibición con la sensibilidad o resistencia a un antibiótico dado, y lo vincula con la concentración de la droga. El segundo (por dilución) determina con más precisión los valores, como concentración inhibitoria mínima (CIM). La CIM es la menor concentración de antibiótico que inhibe el desarrollo de una siembra estándar de microorganismos.

En base a estos datos el presente trabajo aborda la necesidad de conocer las sensibilidades y resistencias de diferentes microorganismos por medio de la adaptación de una microtécnica de dilución seriada en placas en donde observaremos posteriormente a la validación de equipo, un valor de referencia interno, que nos servirá de apoyo al adicionar nuevos antibióticos o alteraciones estructurales a los mismos, de donde obtendremos una relación de potencia entre una sal pura o de referencia, contra el antibiótico que hemos analizado.

De los resultados que se obtengan se expresaran en por ciento de inhibición, ya sea en microgramos por mililitro, dependiendo del patrón estudiado.

Conforme nos aproximamos al tercer milenio, tecnologías emergentes transforman nuestro mundo, provocando cambios que repercuten en estructuras, procesos y resultados. Respecto a la salud, fenómeno complejo de implicaciones multidisciplinarias, en el que inciden factores socioeconómicos. Políticos y culturales. Los profesionales responsables de su cuidado deben ser capaces de anticipar estos cambios mas que simplemente reaccionar ante ellos. La medicina actual es eminentemente sintomática y curativa, la del futuro será molecular y preventiva. El cambio ocurrirá además como resultado de factores científicos y tecnológicos en los que disciplinas innovadoras como la ingeniería genética biología molecular, biotecnología, informática, cibernética, jugaran un papel fundamental. Es indispensable contar con información confiable para establecer conclusiones validas. La figura profesional del químico clínico debe convertirse en inductor del cambio cultural del proceso diagnostico.



Staphylococcus aureus, en proceso de división (13).

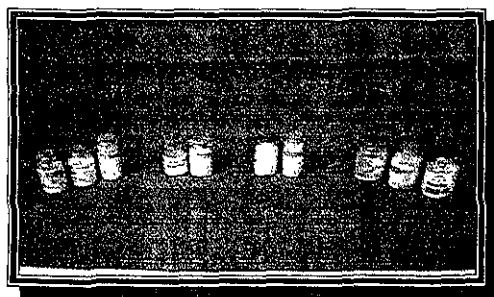
ANTECEDENTES.

La historia del siglo XX nos habla de los grandes descubrimientos hechos por el hombre, entre los que se encuentran los avances médicos, en este caso el descubrimiento de los antibióticos fue de vital importancia, comenzándose por el descubrimiento de la "penicilina" por Alexander Fleming en 1928, el cual observo que un moho contaminante (*Penicillium notatum*) dentro de un cultivo en placa de estafilococos, que producía una sustancia que causaba lisis en ellos y con ello su destrucción, el antibiótico descubierto por Fleming abrió en camino a la era antibiótica moderna, sin embargo este descubrimiento se empleo hasta una década mas tarde.

Sin embargo el uso de antimicrobianos por el hombre anteriormente ya se realizaba, tanto que desde 1912 Ehrlich y su bala mágica (el salvarsán) ya había sido inyectada a un humano con efectividad ante la espiroqueta de la sífilis.

En 1932 Domagk descubrió el Prontosil, que después tuvo como análogo la sulfonamida, posteriormente en 1939 Florey y Chang descubrieron la forma de obtener extractos puros y en buena cantidad de *Penicillium* para uso humano. Sin embargo la comercialización de los antibióticos hizo evidente el uso de pruebas para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana, antes de la 2ª. Guerra mundial la producción, y uso de penicilina era costosa e ilimitada, sin embargo pronto se necesito observar si en realidad la penicilina curaba al paciente de una infección, o bien si el agente causante de la misma ya era resistente al antibiótico.

Sin embargo durante y después de la 2ª. Guerra mundial, se descubrieron otros antibióticos, así como nuevos patrones de susceptibilidad de los microorganismos, así en 1943 Waksman descubrió la estreptomycin. Dubos la gramicidina, Duggar la aureomicina en 1944 y así con el transcurso del tiempo además de los antibióticos naturales se fueron creando antibióticos sintéticos a partir del estudio químico de los anteriores. Pero también el empleo de estas drogas mágicas no solo daban buenos resultados en su uso introductorio, sino con el paso del tiempo también daban cepas de bacterias resistentes a los mismos, con lo cual las pruebas de susceptibilidad fueron también tomando un mayor auge e importancia. ^(11, 12)



Ejemplos de cefalosporinas inyectables de primera a tercera generación.
Antibióticos estudiados en este proyecto.

PAUTAS DE LABORATORIO DE TRATAMIENTO CLINICO.

Durante muchos años, el objetivo de los microbiólogos ha sido realizar e informar las pruebas de laboratorio más rápidamente, en teoría, la identificación del aislamiento bacteriano y la determinación, el mismo día, de susceptibilidad antimicrobiana puede guiar mejor el uso clínico de los antibióticos, acortar el tiempo de hospitalización y mejorar el cuidado del paciente. El laboratorio puede, de hecho, influir en el uso de antibióticos mediante un informe rápido de los resultados de susceptibilidad, pero es mucho más difícil demostrar un efecto sobre el resultado de un proceso infeccioso o el tiempo de hospitalización.

Los microbiólogos pueden asistir a los clínicos de dos maneras. Primero, pueden evaluar las interacciones *in vitro* entre un microbio aislado y los agentes antimicrobianos que podrían ser apropiados para el tratamiento de una infección *in vivo*. Segundo su trabajo en el laboratorio puede brindar datos que ayuden al clínico a decidir si las dosis seleccionadas de un antibiótico son adecuadas.

Se han ideado varios tipos de pruebas de susceptibilidad (o sensibilidad) antimicrobiana. Las dos pruebas de referencia son las técnicas macroscópicas de dilución en caldo y en agar. Ambas fueron programadas para cuantificar; a mínima concentración del antibiótico que inhibe el crecimiento visible, *in vitro*, del microbio; concentración mínima inhibitoria (MIC). Las pautas para el tratamiento antibiótico están destinadas, por lo común, a la técnica de difusión en discos. (prueba de KIRBY-BAUER), en la que las interpretaciones clínicas derivan de las correlaciones con las pruebas de referencia. En años recientes, un número creciente de laboratorios ha utilizado, de manera rutinaria, un aprueba en caldo miniaturizada (prueba de micro dilución en caldo) o un sistema comercial automatizado. ⁽¹⁹⁾

Es importante destacar que las pruebas de susceptibilidad antibiótica pretenden ser una guía para el clínico, no una garantía de la eficacia del agente antimicrobiano. Un objetivo de los microbiólogos, ha sido, y debe continuar siendo la provisión de pruebas *in vitro* normatizadas que puedan ser reproducidas día tras día y laboratorio tras laboratorio. Sin reproductividad no hay bases científicas para el tratamiento. Pero en el esfuerzo por lograr la normatización es posible que la variabilidad de cada infección y cada paciente no sea considerada. Los factores que determinan el resultado de un proceso infeccioso son complejos, y en muchos casos, no son enfocados en las pruebas *in vitro*.

Los factores que determinan el resultado de un proceso infeccioso son complejos y, en muchos casos, no son enfocados, en las pruebas *in vitro*.

Los ejemplos que siguen pueden aclarar las evasivas de una correlación absoluta entre las infecciones del laboratorio y el resultado clínico. ⁽¹²⁾

pH. Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana son normatizadas a pH fisiológico (7.2-7.4), pero en el lugar de infecciones purulentas como meningitis bacteriana o abscesos. con frecuencia se desarrollan niveles de pH no fisiológicos. Algunos antibióticos como las

penicilinas y cefalosporinas, funcionan mejor en un medio más ácido y en realidad actuarán mejor en un exudado inflamatorio ácido que en el medio de cultivo de laboratorio. Por el contrario, los aminoglucósidos y macrólidos, como la eritromicina, son menos efectivos en medios ácidos que en el pH neutro. Aunque pueden lograrse concentraciones altas de aminoglucósidos en el tracto urinario, no tendrán desempeño óptimo si el pH de la orina es bajo.

Cationes. Con ciertas combinaciones de bacterias y antibióticos, más notablemente *Pseudomonas aeruginosa* y aminoglucósidos, la concentración de cationes divalente, en particular calcio y magnesio, tiene un efecto dramático sobre la susceptibilidad aparente *in vitro*. Puede lograrse un resultado que varíe de susceptible a resistente modificando la concentración de cationes. Los medios de caldo y agar tienen gran variación en la concentración de cationes divalentes. Por convención, las pruebas se realizan bajo condiciones fisiológicas.

INOCULO. Para algunas combinaciones de bacterias y antibióticos, el inóculo es de gran importancia para la determinación de la susceptibilidad *in vitro*. La inactivación enzimática de los antibióticos β -lactámicos, como las penicilinas y las cefalosporinas, es un mecanismo importante de resistencia bacteriana. Estas enzimas siempre están expresadas en algunas bacterias, pero pueden ser inducidas por la presencia del antibiótico.

FARMACOLOGÍA CLÍNICA. La penetración de los antibióticos en el sitio de la infección es otra variable importante que no puede considerarse *in vitro*. Es posible lograr altas concentraciones antimicrobianas en lugares donde son excretados del organismo, en general orina o bilis. En contraposición, puede haber concentraciones bajas en relación con las séricas en los tejidos, líquido prostático, hueso o LCR. La ineficacia de muchos antibióticos, como, los aminoglucósidos, en el tratamiento de infecciones por *Legionella*, pesar de su excelente actividad *in vitro*, tal vez sea causada por la pobre penetración de estos antibióticos en los macrófagos donde crecen las bacterias.

Considerando todos los factores que influyen en el resultado de una infección, es imperativo que el laboratorio brinde a los médicos el registro de indicios del antibiótico para guiarlos en la selección del tratamiento antibiótico. Estudios clínicos bien programados han demostrado una correlación del resultado con la adecuación del tratamiento. Por lo tanto, los médicos deben correlacionar los resultados de las pruebas de susceptibilidad antibiótica y la experiencia clínica al seleccionar el régimen terapéutico para pacientes con infecciones similares.

Las pruebas de la actividad inhibitoria de los antibióticos son proyectadas para bacterias que crecen bien después de incubación nocturna en aire atmosférico y que tienen susceptibilidades impredecibles.

Las bacterias exigentes, que crecen más lentamente o necesitan suplementos nutricionales o atmosféricos, deben ser estudiadas con una prueba de dilución solo si un cuidadoso control de las cepas bacterianas demuestra la ausencia de efectos inhibidores en las interacciones.

La prueba de difusión en discos puede ser modificada para tales microorganismos si el procedimiento ha sido convalidado por comparación con las pruebas de referencia u la experiencia clínica.

No obstante, existe un potencial definido para malinterpretar los resultados cuantitativos si el médico no sabe como usarlos y el laboratorio no le brinda suficientes pautas para la interpretación. Durante mucho tiempo, la prueba de difusión en discos ha sido un registro de indicios exitoso, y aun es la más común de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana ofrecida en laboratorios hospitalarios. La elección del método depende de las necesidades locales y de los recursos disponibles.

NORMATIZACION.

En las ultimas décadas, el mayor progreso en las pautas de laboratorio para las pruebas de susceptibilidad, provino del desarrollo de procedimientos normatizados que han sido ampliamente adoptados. Es en extremo importante adherir a los protocolos recomendados si se desea obtener resultados reproducibles. El NCCLS publica normas para estas y otras pruebas sobre la base de continuidad. Es importante que los procedimientos revisados y las recomendaciones actuales sean promulgados con rapidez en todos los laboratorios clínicos.

Las siguientes son algunas de las facetas más importantes de las pruebas de susceptibilidad que han sido normatizadas.

MEDIO DE CULTIVO.

El caldo de Mueller-Hinton y al agar han sido seleccionados para las pruebas de los aislamientos bacterianos aerobios y anaerobios facultativos. Esta formulación es la aproximación más cercana a los criterios para un medio reproducible. Contiene infusión de carne deshidratada, digestión ácida de caseína y almidón de maíz. La mayor parte de los patógenos crecen satisfactoriamente y el medio tiene efecto inhibidor mínimo sobre las sulfonamidas, la trimetoprima y la tetraciclina.

pH.

El pH del medio debe estar entre 7.2 y 6.4 a temperatura ambiente. El pH de los medios en caldo puede controlarse directamente con un electrodo de pH.

CONCENTRACIÓN DE CATIONES.

La concentración de cationes divalentes como calcio y magnesio afecta los resultados de susceptibilidad cuando se estudian ciertas combinaciones de especies bacterianas y antibióticos. Cuando los microorganismos crecen en medios deficientes en cationes, aumenta la permeabilidad celular a los antibióticos aminoglucósidos.

CONTROL DE TEMPERATURA

Se requiere control termostático en varias de las etapas de una prueba microbiológica. Al cultivar un microorganismo, al preparar el inoculo y durante la inhibición en una prueba de

placa, es necesario un control cerrado de la temperatura durante la incubación en una prueba turbidimétrica y puede realizarse con aire circulante o agua.

ESPECTROFOTOMETRO.

El espectrofotómetro es el aparato que se emplea para medir la concentración de una solución con base a la cantidad de luz que esta absorba, siendo este rayo de luz de una longitud de honda específica. Se fundamenta en la ley de Lambert y Beer, la cual indica que la cantidad de luz absorbida por una solución coloreada, cuando se ilumina con luz de longitud de onda conveniente, es directamente proporcional a la concentración del componente coloreado. Este aparato esta compuesto por varias partes que son: una fuente de luz, un dispositivo de monocromía o monocromador, un porta muestras, un detector, un amplificador y aparatos de medición o registro.

Medir la absorbancia dentro de una banda de frecuencia bastante estrecha, requiere de un espectrofotómetro, en el cual la longitud de onda de la fuente luminosa pueda variarse o restringirse por el uso de un filtro a 580 nm para la preparación del inóculo en la densidad requerida con un filtro a 530 nm para leer la absorbancia en la prueba turbidimétrica. Para este último propósito, el instrumento puede adaptarse para los tubos en que se realice la incubación; se acepta una celda de acceso modificada con un drenado que facilite el cambio rápido del contenido, de preferencia, una celda fija de fluido continuo para análisis continuos. Ajustar el instrumento en absorbancia cero con un blanco, caldo no inoculado preparado como se especifique para el antibiótico particular, incluyendo la misma cantidad de solución de prueba y formaldehído indicado en cada muestra.

MATERIAL PARA LA PRUEBA TURBIDIMETRICA. (23)

Para esta prueba, usar tubos de vidrio o plástico de 16 x 125 mm o 18 x 150 mm que sean relativamente uniformes en longitud, diámetro y grosor, con la superficie libre de manchas y raspaduras. Los tubos que se utilicen en el espectrofotómetro deberán ser iguales y sin manchas o raspaduras. Debe limpiarse cuidadosamente, removiendo todo residuo de antibiótico y rastros de solución limpiadora y esterilizados antes de su uso subsecuente.

UNIDADES Y SUSTANCIAS DE REFERENCIA.

La potencia de los antibióticos se designa en unidades o ug de actividad. En cada caso, la unidad o microgramo de actividad antibiótica, se establece y define por el patrón primero designado para ese antibiótico. El patrón de trabajo correspondiente, se calibra comparativamente con el patrón primario y para propósitos de certificación, es obligatoria la determinación de potencia del antibiótico con el patrón de trabajo correspondiente. (considerar la relación de unidades y microgramos de actividad a unidades internacionales)

El concepto de ug de actividad se origina cuando la preparación antibiótica seleccionada como patrón de referencia, consta en su totalidad de una sola entidad química y por lo tanto se le asigna una potencia de 1000 ug/mg. En algunas ocasiones como resultado del desarrollo de fabricación y métodos de purificación para antibióticos particulares, estos pueden llegar a contener más de 1000 ug de actividad por mg; es cuando conviene que esos productos tengan una actividad equivalente a determinado número de ug del patrón de

referencia original. En muchas ocasiones sin embargo, los ug de actividad son numéricamente, equivalentes a los ug en peso, de la sustancia pura.

Existen algunas situaciones complicadas por ejemplo, cuando un antibiótico existe como la base libre y en forma de sal, y los ug de actividad se han definido en términos de una de tales formas; cuando la sustancia antibiótica consta de un gran número de componentes que tiene una similitud química, pero con diferente actividad antibiótica; o cuando las potencias de una familia de antibióticos se expresan en términos de un patrón de referencia, con relación a un solo miembro el cual, sin embargo puede por si mismo, ser heterogéneo. En estos casos, los ug de actividad definida en términos de un patrón primario es equivalente a una unidad. El ug de actividad no debe corresponder necesariamente al ug (en peso) de la sustancia antibiótica.

MICROORGANISMOS DE PRUEBA.

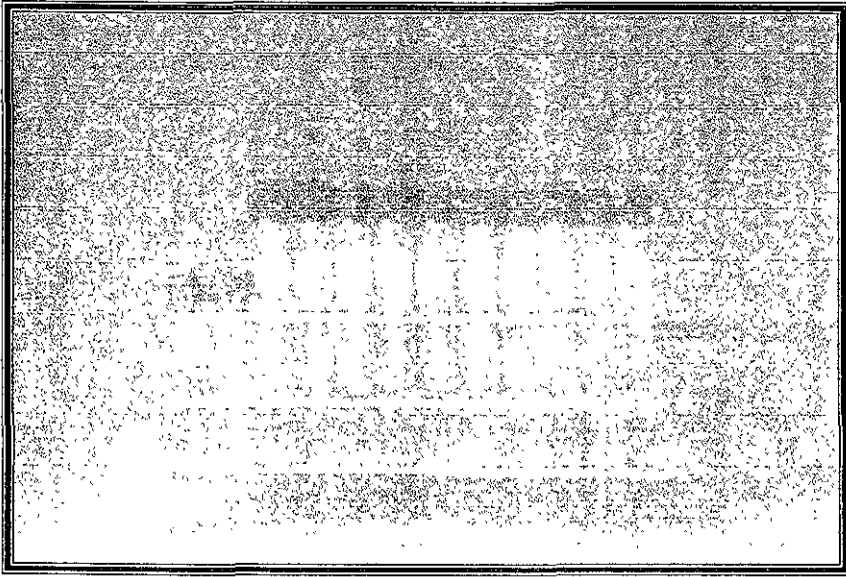
Los organismos de prueba para cada antibiótico están enlistados a continuación, con el número de identidad de "American Type Culture Collection", así como el mantenimiento del cultivo en los medios adecuados y periodos de incubación. Hacer resiembras semanales. Para *K. pneumoniae*, usar un cultivo no encapsulado.

• <i>Staphylococcus aureus</i>	6538 Po29737
• <i>Micrococcus luteus</i> .	9341
• <i>Staphylococcus epidermidis</i> .	12228
• <i>Sacharomyces cerevisiae</i> .	9763
• <i>Bordetella bronchiseptica</i> .	4617
• <i>Bacillus subtilis</i> .	633
• <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	10031
• <i>Escherichia coli</i>	10536
• <i>Streptococcus faecium</i> .	10541
• <i>Microsporium gypseum</i> .	4683
• <i>Pseudomona aureginosa</i> .	25619
• <i>Mycobacterium smegatis</i>	607

Las pruebas microbiológicas tienen una marcada aceptación en precisión y confianza a través del diseño de experimentos adecuados.

La prueba recomendada es la de una dilución, con una curva de referencia, para esta prueba preparar una curva de referencia con 5 o más diluciones de la preparación de referencia, procurando que quede incluida una que corresponda a la concentración de referencia y una sola dilución de la concentración media de la muestra.

Las determinaciones microbiológicas de potencia están sujetas a variables inter-pruebas, de tal manera que se requieren 2 o más pruebas independientes para una estimación real de la potencia de una muestra. Empezar con soluciones concentradas preparadas individualmente y diluciones de prueba de la referencia y de la muestra, repetir la prueba de la muestra en un día diferente. Si la potencia estimada de la segunda prueba difiere significativamente de la primera por el cálculo del error estándar, realizar una o más pruebas adicionales. El resultado combinado de una serie de pequeñas pruebas independientes, desarrolladas en diferentes días, da una estimación más real de la potencia, que la obtenida en una sola ocasión, con el mismo número de placas o tubos.^(1,3,5)



Prueba de dilución en caldo para determinación de concentraciones bactericidas de antibióticos cefalosporínicos.

POTENCIA MICROBIOLOGÍA DE ANTIBIÓTICOS.

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD:

Las pruebas de laboratorio para determinar la sensibilidad a los antibióticos se encuentran indicadas en las circunstancias siguientes: 1) Cuando el microorganismo aislado es resistente a los medicamentos antimicrobianos (Ej. Bacterias entéricas Gram negativas). 2) Cuando un proceso infeccioso es grave y parece ser mortal a menos que sea tratado de manera específica (Ej. Meningitis, septicemia). 3) En ciertas infecciones en las cuales la erradicación de los organismos infecciosos requiere el uso de medicamentos que sean rápidamente bactericidas y no solo bacteriostáticos (Ej. Endocarditis infecciosa). 4) Cuando las bacterias han desarrollado resistencia a los antimicrobianos en su forma sola para obtener posibles tratamientos al combinarlos.

El uso de antibióticos indiscriminadamente puede acarrear una serie de complicaciones tanto al paciente como a los médicos y personal del área de la salud que combaten contra los agentes infecciosos, estos peligros pueden ser:

1. Sensibilización diseminada de la población con aparición de hipersensibilidad, anafilaxis, erupciones, fiebre, trastornos sanguíneos, hepatitis colestática y, quizá, enfermedades de tejido conjuntivo.
2. Cambios en la flora normal del cuerpo, con enfermedad resultante por "súper infección" debida a crecimiento excesivo de organismos resistentes al medicamento.
3. Enmascaramiento de infecciones graves sin erradicarlas. Por ejemplo: las manifestaciones clínicas de un absceso pueden ser suprimidas mientras continúa el proceso infeccioso.
4. Toxicidad farmacológica directa (Ej. Granulocitopenia o trombocitopenia con cefalosporinas y penicilinas, y lesión renal o del nervio auditivo por antibióticos aminoglucósidos).
5. Desarrollo de resistencia medicamentosa en poblaciones microbianas, primordialmente a través de la eliminación de microorganismos sensibles a los medicamentos por medios saturados de antibióticos (Ej. Hospitales) y su sustitución por microorganismos resistentes a los mismos.

El aislamiento de un agente infeccioso a partir de un paciente con frecuencia no es suficiente para establecer la terapia adecuada. Muchas bacterias y algunos hongos presentan resistencia a los agentes antimicrobianos y algunos virus han desarrollado resistencia a los agentes antivirales más nuevos. Los patrones de resistencia cambian de forma constante. No importa cuan rápidamente se introducen los nuevos agentes terapéuticos, los microbios parecen estar dispuestos a sobrepasarlos. Incluso entre los neumococos, que por décadas han permanecido invariablemente susceptibles a niveles de penicilina G menores de 0.04 U/mL, han aparecido cepas que han desarrollado resistencia a esta droga.

Como no puede predecirse la susceptibilidad de las bacterias, hongos y virus a los agentes antimicrobianos, con frecuencia es necesario estudiar la sensibilidad individual de cada agente a estas drogas, pudiéndose elegir entonces el agente apropiado (el más activo contra el patógeno, el menos tóxico para el huésped, con las características farmacológicas apropiadas y además económico), que proporciona mayores posibilidades de una evolución favorable.

Por supuesto, el resultado terapéutico final depende de muchas otras variables. La enfermedad subyacente y condición clínica del paciente, la aplicación de procedimientos de drenaje y desbridación indicados, las propiedades farmacológicas del agente microbiano, la administración de otros agentes terapéuticos adicionales y otros factores ejercerán una fuerte influencia sobre el desenlace final. ⁽⁸⁾

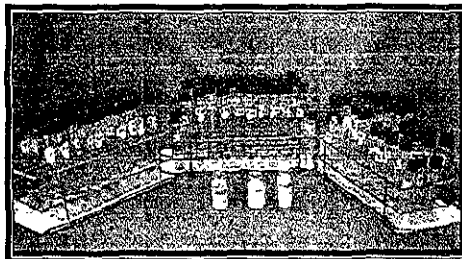
Los microbiólogos solo pueden recomendar agentes terapéuticos sobre la base de sus actividades in vitro. El clínico debe tomar la decisión final, teniendo en cuenta su conocimiento sobre todos los factores pertinentes, los cuales analizaremos individualmente más adelante. En ocasiones un agente antimicrobiano que muestra poca actividad in vitro contra un microorganismo es empleado en un paciente con buenos resultados; la inversa también es posible. Un concepto importante sobre el que es necesario insistir es que no se pueden realizar pruebas de sensibilidad in vitro con cultivos mixtos, solo los cultivos puros proporcionarían resultados válidos.

La potencia de los antibióticos se determinan comparando la dosis a la cual se inhibe el crecimiento de un microorganismo adecuado y susceptible con la dosis de la preparación del antibiótico de referencia en las mismas condiciones de trabajo. ⁽²⁴⁾

Una reducción en la actividad microbiana puede revelar cambios no demostrables por métodos químicos. Los métodos microbiológicos, generalmente utilizan un patrón de referencia para resolver dudas con respecto a una pérdida de actividad.

Siendo de mayor importancia la identificación del agente patógeno específico a partir de una muestra clínica del paciente y que tratamiento quimioterapéutico debe seguir ante el mismo.

El tratamiento quimioterapéutico a seguir nos habla del uso de un agente antimicrobiano contra un patógeno específico, siendo en este caso empleados los "antibióticos".



PRUEBA DE DILUCIÓN EN CALDO (CMB, CMI)

MARCO TEORICO.

Alexander Fleming, con la observación de aquel hongo intruso en un cultivo de estafilococos, marco un hito en la historia de la medicina. Aquella espora de *Penicillium notatum*, con acción inhibitoria en el crecimiento del microbio, bajo la perspicaz observación de un talento creador, puso en marcha una nueva y trascendental conquista farmacológica. El hallazgo de una sustancia capaz de combatir múltiples procesos nosológicos es el eslabón primero de fecundas investigaciones que han proporcionado a la humanidad un singular instrumento defensivo. Desde entonces, la vida del hombre se prolonga sustancialmente y esta circunstancia imprime profundas modificaciones sociales, económicas, con avances técnicos imprevisibles.

El nombre de Fleming y su breve exaltación en este trabajo esencialmente práctico, lo asociamos al de Florey y Chain, cuya investigación complementaria abrió el camino de la adaptación clínica y la vigorosa industrialización de la penicilina.

ANTIBIOTICOS Y QUIMIOTERAPEUTICOS. ⁽¹⁵⁾

DEFINICIÓN.

Un antibiótico es una sustancia orgánica producida por microorganismos que es capaz de actuar sobre otros microorganismos inhibiendo su crecimiento o destruyéndolos, con las siguientes condiciones:

- Especificidad: el espectro de acción de un antibiótico consiste en su acción bactericida frente a un grupo determinado y limitado de microorganismos, ya que el antibiótico actúa en un lugar determinado de la bacteria que es específico de cada antibiótico.
- Elevada potencia biológica: que sea activo a pequeñas concentraciones, se expresa como CMI, concentración mínima inhibitoria (mínima concentración de antibiótico capaz de inhibir el crecimiento bacteriano).
- Toxicidad selectiva: la toxicidad del antibiótico en las células del organismo tiene que ser mínima, pero deben destruir las bacterias patógenas aunque estén dentro del organismo (a diferencia de los desinfectantes y antisépticos).

CLASIFICACION.

a) Por su origen.

- Biológicos: producidos por microorganismos (penicilina).
- Sintéticos: producidos por síntesis química (sulfamidas, quimioterapeúticos).
- Semisintéticos: sobre una base orgánica se mejora sintéticamente (tetraciclina).

b) Por el espectro de acción.

- De amplio espectro: actúan sobre numerosas especies bacterianas, como el cloranfenicol y tetraciclinas.
- De espectro menos amplio: actúan sobre un número limitado de especies, como penicilinas o macrólidos.
- De espectro corto: *comportamiento eficaz en pocas especies, como las polimixinas.*

c) Por su forma de acción.

- Bacteriostáticos: bloquean el desarrollo y multiplicación de las bacterias, pero no las lisan, por ello su efecto es reversible.
- Bactericidas: provocan la muerte bacteriana, con lo que son irreversibles.

d) Por el mecanismo de acción.

- Pueden actuar en la síntesis de la pared (penicilina), en la membrana citoplasmática (polimixina), en la síntesis proteica, etc.

ANTIBIÓTICOS QUE INHIBEN LA SÍNTESIS DE LA PARED CELULAR. ^(13,14)

La pared celular es el elemento protector de la integridad de la bacteria, ya que sin esta la bacteria estallaría por su elevada presión osmótica.

Los antibióticos que inhiben las síntesis de la pared necesitan que la bacteria se halle en crecimiento activo. Generalmente son bactericidas y requieren que el medio sea iso o hipotónico. Suelen ser más activos frente a Gram. + y son poco tóxicos.

β -Lactámicos: Inhiben la síntesis de la pared celular en su última fase, interfiriéndose la transpeptidación. Se unen a las proteínas fijadoras de penicilinas de la membrana celular y la unión de lugar a la inhibición de la síntesis proteica y a la pérdida de un inhibidor de la enzima responsable de la lisis celular. Las bacterias que poseen autolisinas son lisadas por los β -lactámicos, mientras que las que no las tienen producen formas alargadas en presencia de estos fármacos.

Bacitracina: inhibe las hidrólisis o desfosforilación del lípido pirofosfato y no se puede usar en el transporte del N-acetilmurámico-Pentapéptico a través de la membrana citoplasmática.

Vancomicina: impide la transferencia del sodio metil-pentapéptido unido al lípido portador al aceptor en la pared celular.

Fosfomicina: interfiere la condensación del Uridil-Difosfato-N-acetil-glucosamina con el pentapéptido para formar Uridil-Difosfato-N-acetil-murámico.

Cicloserina: inhibe la L-alanina racemosa, por lo que impide la formación del dipéptido de alanina, componente del pentapéptido.

ANTIBIÓTICOS QUE ALTERAN LA MEMBRANA CITOPASMÁTICA.

La membrana citoplasmática actúa como barrera de permeabilidad selectiva,, y las sustancias que actúan sobre ella producen cambios en la permeabilidad, permitiendo la salida de K^+ y macromoléculas y causando un efecto lítico.

Polixinas: se comportan como detergentes cationicos, desorganizando la membrana y aumentando su permeabilidad, lo que lleva a la muerte bacteriana. Las bacterias más susceptibles son las Gram. -, por su mayor cantidad de lípidos en su membrana.

Polienos: (nistatina, anfotericina B. Se emplean en infecciones por hongos. Alteran la estructura de la membrana y forman poros hidofilicos, modificándose la permeabilidad normal de la estructura.

ANTIBIÓTICOS QUE INHIBEN LA SÍNTESIS PROTEICA.

Su finalidad consiste en formar proteínas anómalas o no funcionales para el correcto desarrollo de la bacteria o impedir su síntesis.

Amino glucósidos: (estreptomocina, amikacina), actúan uniéndose de forma irreversible a un receptor proteico de la fracción 30S del ribosoma, lo que causa el bloqueo de la síntesis proteica e interfieren en la unión del ARNt al codón del locus A, lo que provoca proteínas anómalas.

Tetraciclinas: Se unen a la fracción 30S y bloquean la fijación del aminoacil-ARNt en el lugar A.

Cloranfenicol y Lincosamidas: se unen a la fracción 50S inhibiendo la transpeptidación.

Macrolidos; (eritromicina) actúan sobre los ribosomas 50S impidiendo la translocación. Del mismo modo actúan la espectinomocina y el ácido fusídico.

Sulfamidas: PAS y Sulfonas: son análogos del ácido paraminobenzoico y compiten con él para formar ácido fólico, con lo que forman análogos no funcionales de éste. Tienen efecto bacteriostático.

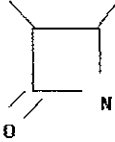
Diaminopirimidinas, Trimetoprim y Pirimetaminas: inhiben la formación de ácido fólico. También son bacteriostáticos.

Cotrimoxazol: bactericida, bloquea dos pasos de esta cadena.

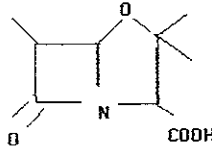
Novobiocina: Interfiere en la síntesis del ADN por inhibición de la ADN girasa.

Rifampicina: Afecta la transcripción inhibiendo la ARN polimerasa.

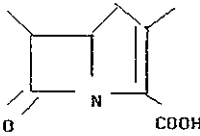
CLASIFICACION DE ANTIBACTERIANOS BETALACTAMICOS.⁽³¹⁾



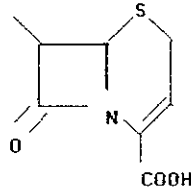
ESTRUCTURA COMUN
ANILLO BETALACTAMICO.



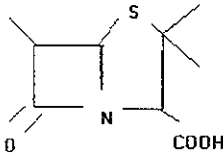
3. OXAPENAM.
ACIDO CLAVULANICO.



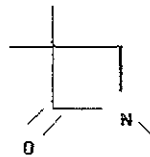
1. CARBAPENEM.
IMIPENEM.



4. CEFEM.
CEFALOSPORINAS.



2. PENAM
PENICILINAS.



5. MONOBACTAM.
AZTREONAM.

RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS.

Si un antibiótico no cumple con su función o no es eficaz frente a un microorganismo determinado, este sobrevive y se dice que es resistente al antibiótico en cuestión. A continuación, señalamos algunas de las vías, a través de las cuales, un microorganismo es o se hace resistente.

Nos referimos a antecedentes históricos del descubrimiento de los antibióticos y la consecutiva aparición del fenómeno de resistencia a estos agentes terapéuticos. Bases moleculares de la resistencia sus consecuencias socioeconómicas y la preocupación mundial por la amplitud creciente de la resistencia. La vigilancia institucional de fenómenos y la coordinación nacional e internacional como base al conocimiento epidemiológico. Los programas nacionales e internacionales de vigilancia RESISNET, APUAMEX, APVA Y WHONET. La estandarización de técnicas y el control de calidad en las pruebas de resistencia como fundamento esencial en el conocimiento del problema. La calidad de los antibióticos empleados en las pruebas y la indispensable inclusión de cepas de referencia. Las normas de la NCCLS.

Una cepa bacteriana es resistente a los antibióticos cuando necesita para inhibirse concentraciones de fármacos superiores a la concentración que el antibiótico puede alcanzar en el lugar de la infección.

RESISTENCIA BACTERIANA.

1) Tipos de resistencia.

- **NATURAL:** Aparece en las bacterias de una forma preestablecida, como la resistencia de las entero bacterias a la penicilina G.
- **ADQUIRIDA:** Se debe a modificaciones de la carga genética puede ser cromosómica o extracromosómica.

Cromosómica. Debida a una mutación de los genes que controlan la sensibilidad a los antibióticos. Es rara, espontánea, persistente y transmisible por la herencia. Se suele presentar en aquellos tejidos con pocas defensas: vías urinarias, superficies mucosas, tejido pulmonar.

Extracromosómica: Plasmídica o infecciosa. Codificada por plásmidos que se replican de forma autónoma y pasan de una bacteria a otra por transducción o conjugación

2) Mecanismos de resistencia:

- Por modificación enzimática: por hidrólisis o detoxificación, Las β -Lactamasas son enzimas hidrolíticas que destruyen el anillo β -lactámico inactivando estos antibióticos. También hay enzimas inactivantes que intervienen en la resistencia a amino glucósidos y cloranfenicol, por su toxicidad.
- Por alteraciones en la permeabilidad: ante tetraciclinas, fosfomicina, amino glucósidos y β -Lactámicos.
- Por cambios en los lugares donde actúan los antibióticos: por ejemplo: modificando la estructura de los ribosomas.
- Por modificación de los sistemas enzimáticos de la bacteria.

β -LACTAMASAS

Ciertos microorganismos producen B-lactamasas que escinde al anillo B-lactámico de la penicilina para formar ácido penicilánico inactivo. El ejemplo más común podría ser una cepa B-lactamasa de *Staphylococcus aureus* (productora de penicilinas). Muchos bacilos Gram negativos también producen B-lactamasa.

TRANSMISIÓN DE LA RESISTENCIA A LAS DROGAS.

En determinados casos, el material genético del DNA y RNA se puede transferir de una célula bacteriana a otra, denominándose factores "R" a los agentes extracromosómicos, de modo que si un microorganismo resistente transfiere sus factores "R" a otro susceptible, este se haría resistente. La transferencia se puede producir a través de los mecanismos siguientes:

TRANSFORMACIÓN.

La célula bacteriana se rompe y el material es absorbido por un microorganismo viable.

TRANSDUCCIÓN.

Tiene lugar cuando los bacteriófagos lisan las células bacterianas, toman el material y lo pasan de célula a célula.

CONJUGACIÓN.

Consiste en un contacto o unión directa entre células, con paso de material genético de célula a célula por medio de un puente o "pilis" citoplasmático.

PRINCIPALES ANTIMICROBIANOS.

β -LACTÁMICOS El anillo β -Lactámico determina muchas de las propiedades. Son poco tóxicos porque interfieren en la síntesis de la pared celular, siendo los fenómenos nocivos de tipo anafiláctico. La resistencia a estos fármacos se adquiere por la producción de β -lactamasas.

PENICILINAS Según su estructura química se clasifican en ocho grupos.

- 1) Bencilpenicilina o penicilina G.
- 2) Fenoxi-alkil-penicilinas.
- 3) Penicilinas antiestafilococicas.
- 4) Amino-bencilpenicilinas.
- 5) Ureidopenicilinas.
- 6) Carboxipenicilinas.
- 7) Amidinopenicilinas.
- 8) Metoxipenicilinas.

CEFALOSPORINAS.

Semisintéticos. EL mecanismo de acción y resistencia es el general para β -Lactámicos, pero en resistencia puede aparecer hidrólisis o impermeabilización, impidiendo que el antibiótico llegue a su lugar de acción.

Se describen fenómenos de tolerancia, solo inhiben el crecimiento bacteriano, por lo que son bacteriostáticos. Tienen gran actividad frente a cocos aerobios (excepto entero coco) como *S.aureus* y *S. Epidermidis*. También ante Gram. negativas como *E. coli*, *Salmonela*, *Proteus*, y *Shigella*. El cefaclor presenta actividad frente a *Haemophilus influenzae*.

INESTABLES METABOLICAMENTE. (cefalotina). Metabolizadas y pierden actividad. Por vía intravenosa, ya que intramuscular son muy dolorosas. *Ácido-Labiles.*

ESTABLES METABOLICAMENTE. (cefazolina) ácido – labiles.

ORALES. (cefaclor, cefadroxil) no son ácido – labiles. Tienen una CMI más baja, por lo que son más eficaces.

GENERALIDADES DE CEFALOSPORINAS. (29)

El auge terapéutico de la penicilina promovió la pesquisa mundial de hongos productores de sustancias dotadas de propiedades farmacológicas similares. En 1945, en pleno ascenso de la era antibiótica, el profesor Brotzu demostró con simples recursos, que un hongo aislado de una descarga cloacal de la costa de Cerdeña, proporcionaba fermentaciones aptas para inhibir bacterias. Su modesto estudio, efectuado con precarios medios, interesó a un funcionario británico, Blyth Brook, quien llevo la iniciativa a Florey, coautor de la industrialización de la penicilina.

Esta contingencia feliz conectó una observación sagaz con un talento creador, síntesis precursora de una nueva y trascendente conquista terapéutica.

La investigación proporcionó inicialmente dos compuestos de uso parenteral: La cefalotina (1962) y la cefaloridina (1964) para continuar después con nuevos derivados activos por vía oral como la cefalexina (1967), cefradina (1970), cefapirina (1972), que ofrecieron ventajas de administración para el tratamiento de infecciones de menor cuantía. Pero la manipulación del núcleo amino-cefalosporánico agregando o suprimiendo compuestos, modificó la farmacocinética o logro mayor actividad antibacteriana o mayor resistencia a las betalactamasas.

La posición 3 del núcleo otorga características farmacodinámicas mientras que la posición 7 promueve, con los cambios, nuevas condiciones antibacterianas del preparado. Se agrega todavía la variante de la configuración "Syn" que le otorga mejor y más completa actividad antibacteriana.

La década de los 70's fue promisoria para la investigación de las cefalosporinas, con el descubrimiento de numerosas cefalosporinas aplicadas de inmediato en la clínica, como fueron cefazolina (1972), cefoxitin (1972), cefuroxima (1978). Pero hay numerosas cefalosporinas más, algunas todavía en el banco de pruebas experimental o clínico con posibilidades inmediatas o mediatas de empleo terapéutico.

Esta irrupción de drogas cefalosporínicas en continuo ascenso exige una clasificación para su mejor manejo clínico. Se han dividido, según la secuencia histórica, en cefalosporinas de primera, segunda, tercera y cuarta generación, según ciertas similitudes farmacocinéticas en cuanto a estabilidad o acciones antibacterianas comunes y/o según su administración por vía oral o parenteral. No obstante, en el momento actual, se le otorga mayor importancia a la capacidad de resistir o no a las betalactamasas de los microorganismos, de modo que esta cualidad condiciona en gran parte la clasificación adaptada por O' Callaghan. Para nuestra intención clínica podemos decir que las cefalosporinas nuevas: Cefuroxima, cefamandole, cefoxitin, cefotaxima y cefsulodin, ceftazidima, cefoprazoma, ceftriaxona, monolactam, son resistentes a las betalactamasas y que en general se caracterizan por una mejor penetración a través de las paredes de los bacilos gramnegativos.

CEFALOTINA. $C_{16}H_{15}N_2NaO_6S_2$ PM 418.

Cefalosporina de primera generación, es activa contra estafilococo y otros microorganismos grampositivos pero es poco efectiva contra gramnegativas. Más activa que la cefazolina frente a *S.aureus* productor de penicilinas.

Punto de corte: gérmenes sensibles CIM ≤ 8 mg/L, resistentes CIM ≥ 32 mg/L.

NUEVAS CEFALOSPORINAS (2ª Y 3ª GENERACIÓN)

Estas cefalosporinas tienen la propiedad de resistir a las betalactamasas elaboradas por los bacilos gramnegativos cuyo ataque a las antiguas cefalosporinas las hacia inefectivas en determinados procesos clínicos. Porque esta cualidad es de inestimable valor terapéutico ha servido para diferenciarlas del antiguo grupo. Se destaca que el número de enzimas capaces de hidrolizar el núcleo betalactámico es importante y merece la clasificación realizada por Richmond, pero se descubren otras cada año con lo cual aumentarían los obstáculos para una correcta evaluación. Se describe por separado cada una de las más importantes cefalosporinas de este grupo.

CEFOTAXIMA. Cefalosporina de 3ª generación. $C_{16}H_{16}N_5NaO_7S_2$ PM 477.

Nueva adquisición de la industria farmacéutica, esta cefalosporina se caracteriza por la presencia de un grupo metoximinico con una posición denominada químicamente "Syn". Esta configuración le otorga acciones terapéuticas especiales por mayor resistencia a las betalactamasas y mayor actividad contra bacterias, cualidad demostrable por descenso de la concentración inhibitoria mínima. La posición química del grupo adicionado es determinante de su eficacia puesto que su posición ANTI resulta mucho menos efectiva.

CIM parecida a la de cefazolina frente a *Staphylococcus ssp.* Punto de corte: gérmenes sensibles CIM ≤ 8 mg/L, resistentes CIM ≥ 64 mg/L.

CEFTAZIDIMA. Cefalosporina de 3ª generación. $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2 \cdot 5H_2O$ PM. 636.

Es una nueva cefalosporina descubierta por el grupo de investigadores de Glaxo (Inglaterra) como resultado de una línea de trabajo destinada al hallazgo de un antibiótico activo contra infecciones severas, incluyendo *Pseudomona aeruginosa*. Es un derivado de la cefalosporina C, muy soluble en agua, con capacidad para resistir las betalactamasas de microorganismos gramnegativos. Tiene buena penetración en la célula bacteriana y buenas propiedades farmacocinéticas.

Punto de corte: gérmenes sensibles CIM ≤ 8 mg/L, resistentes CIM ≥ 32 mg/L.

CEFTRIAXONA. Cefalosporina de 3ª generación. $C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3$ PM. 598.

Es una cefalosporina de la 3ª generación, producida por Roche, con el nombre de Rocephin y que fue descubierta en 1978 por Reiner y col. La mayor actividad esta centrada contra enterobacterias. *Haemophilus influenzae* y contra *Neisseria*, tanto aquella que provoca la infección gonococia como la meningítica. No es activa contra el enterococo. Contra *Pseudomonas* muestra una actividad discreta por cuanto la mitad de las cepas probadas son sensibles. Tiene escasas influencia contra *Bacteroides* y *Clostridium*.

Punto de corte: gérmenes sensibles CIM \leq 8 mg/L, resistentes CIM \geq 64 mg/L.

ESPECTRO ANTIMICROBIANO DE LAS CEFALOSPORINAS (CIM mg/L)

	Grupo I Cefazolina.	Grupo II a Cefamandol.	Grupo II b Cefotaxima.	Grupo III Ceftazidima.	Grupo IV Cefoxitina.
<i>S. aureus</i> (productor de β - lactamasas)	1	1	2	8	2

El incremento de la incidencia en problemas relacionados con la presencia de *S.aureus*. productor de β -lactamasas se ha vuelto importante hoy en día, por lo que son necesarios estudios que esten encaminados a disponer de más y mejor información de existencia a los antibióticos recomendados.

Con la nueva información, la estrategia más adecuada sera utilizar un antibiótico con más potencia y ello no significa que sea de amplio espectro, sino administrarlo a las dosis adecuadas con el intervalo de dosis correspondientes y por un periodo de tiempo más corto.

CLASIFICACION DE CEFALOSPORINAS (29)

GRUPO	ACTIVIDAD PREDOMINANTE	AGENTE	GENERACIÓN.	VIA DE ADMINISTRACIÓN.		
I	Cocos grampositivos.	Cefalotina	1 ^a	Im-iv.		
		Cefazolina.	1 ^a	Im-iv		
		Cefapirina.	1 ^a	Im-iv		
		Cefalexina.	1 ^a	Oral.		
		Cefradina.	1 ^a	Im-iv-oral.		
		Cefadroxilo.	1 ^a	Oral.		
II	Microorganismos gramnegativos. a) Adquiridos en la comunidad. b) Cepas multiresistentes adquiridas en el hospital.	Cefaclor.	2 ^a	Oral.		
		Cefpodoxima.	3 ^a	Oral.		
		Cefamandol.	2 ^a	Im-iv		
		Cefuroxima.	2 ^a	Im-iv-oral		
		Cefonicid.	2 ^a	Im-iv		
		Cefixima.	3 ^a	Oral		
		Ceftibuten.	3 ^a	Oral		
		Cefotaxima.	3^a	Im-iv		
		Ceftizoxima.	3 ^a	Im-iv		
		Ceftriaxona.	3^a	Im-iv		
		III	<i>P. aeruginosa.</i>	Ceftazidima.	3^a	Im-iv
		IV	<i>B. fragilis.</i>	Cefoxitina.	2 ^a	Im-iv
Monoalactam.	3 ^a			Im-iv		
Cefmetazol.	2 ^a			Im-iv		
Cefotetan.	2 ^a			Im-iv		

Nota: En este estudio se utilizaron las cefalosporinas marcadas en obscuro.

VALORACION DE LOS ANTIBIOTICOS.⁽¹³⁾

1. POTENCIA MICROBIOLOGÍA DE ANTIBIÓTICOS.

La potencia de los antibióticos se determinan comparando la dosis a la cual se inhibe el crecimiento de un microorganismo adecuado y susceptible con la dosis de la preparación del antibiótico de referencia en las mismas condiciones de trabajo.

Una reducción en la actividad microbiana puede revelar cambios no demostrables por métodos químicos. Los métodos microbiológicos, generalmente utilizan un patrón de referencia para resolver dudas con respecto a una pérdida de actividad.

Se emplean 2 métodos generales, el cilindro placa o de "placa" y el turbidimétrico o de "tubo". El primero se basa en la difusión del antibiótico contenido en un cilindro vertical o disco de papel filtro, a través de una capa de agar solidificado en una caja petri, en una extensión tal, que el crecimiento del microorganismo agregado se detenga en una área circular o "zona" alrededor del cilindro que contiene la solución del antibiótico. El método turbidimétrico se basa en la inhibición del crecimiento de un cultivo microbiano en una solución uniforme del antibiótico, en un medio fluido que favorece su desarrollo rápido en ausencia del antibiótico.

DILUCIÓN. Consiste en obtener diluciones dobles y progresivas de un antibiótico (1, 2, 4, 8, 16, etc., ug/ml) Los agentes antimicrobianos se preparan en soluciones concentradas en un diluyente y luego se diluyen en caldo hasta obtener las concentraciones apropiadas. Se determina la Concentración Mínima Inhibitoria, (CMI) como la menor concentración del antibiótico capaz de inhibir el crecimiento bacteriano. Debe notarse que al agregar la suspensión bacteriana se diluirá tanto la concentración bacteriana como la del antimicrobiano, esto debe tenerse en cuenta al preparar el inóculo y las diluciones del agente antimicrobiano.

Sobre *medio líquido* con diluciones progresivas del antibiótico en los tubos y se añade una cantidad fija de bacterias. Cuando el antibiótico inhibe el crecimiento. Desaparece la turbidez de toda la masa líquida del medio de cultivo. La dilución del antibiótico correspondiente al primer tubo en el que no existe crecimiento es la CMI, A partir de los tubos donde no hay crecimiento se puede hallar la CMB o concentración mínima letal, que no solo inhibe el crecimiento de las bacterias, sino que también las destruye. Se detecta resembrando sobre medios y observando el desarrollo o no de colonias.

En medio sólido, las bacterias desarrolladas forman colonias, Las zonas en las que no aparezcan estas indican que el antibiótico ha inhibido el crecimiento. La ventaja es que en una misma placa se pueden sembrar varias bacterias.

Las CIM y las CMB de un agente antimicrobiano pueden ser determinadas para cualquier bacteria que desarrolle en un medio liquido. La temperatura óptima para estas pruebas es 35 °C, ya que los *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilcilina sólo presentan esta resistencia a 35 °C o menos.

Un tubo de caldo se mantiene sin inocular como control negativo de crecimiento. Luego de la incubación adecuada (usualmente de un día para otro) se observa la turbidez de los tubos que indicará desarrollo bacteriano. El microorganismo crecerá en el tubo control y en todos los otros que no contengan suficiente agente antimicrobiano como para inhibir el desarrollo.

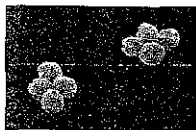
La adaptación de la prueba de dilución en caldo a policubetas para microdilución ha hecho posible para muchos laboratorios la determinación de rutina de las CIM. Aunque unos pocos centros grandes preparan aún sus propias policubetas para las pruebas de microdilución con el doble propósito de ahorrar dinero y permitir una mayor flexibilidad en cuanto a los agentes antimicrobianos probados.

COCOS AEROBIOS.

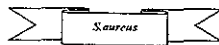
GENERO *STAPHYLOCOCCUS*.

Los microorganismo correspondientes a cocos aerobios o anaerobios facultativos, pertenecen a un amplio grupo de microorganismos con características metabólicas, bioquímicas y genéticas mas o menos distintas aunque taxonomicamente se estudian de forma conjunta debido a que dichos grupos de microorganismos presentan una morfología idéntica tipo cocoidea y necesitan de la presencia de medios aerobios. En ciertas ocasiones crecen mejor en ambientes microaerófilicos e inclusive anaerobios. Se va a caracterizar además por presentar un comportamiento diferente a la tinción de Gram, que según esta sea, nos encontraremos con los siguientes tipos:

- 1) Cocos Gram +
 - *Staphylococcus*.
 - *Streptococcus*.



- 2) Cocos Gram -
 - *Neisseria*.
 - *Branhamella*.



CONCEPTO Y CARACTERES DEL GENERO *STAPHYLOCOCCUS*. (24,17)

De acuerdo con la última edición del Manual del Bergey's, en la sección XIV van a encontrarse cocos Gram+ aerobios y anaerobios facultativos que se clasifica dentro de tres familias: la familia *Micrococaceae*, la familia *Streptococaceae* y familia *Peptococaceae*. La primera incluye los géneros *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Stomatococcus* y *Planococcus*, siendo *Staphylococcus* fundamentalmente el que presenta mayor interés clínico.

Así pues. El genero *Staphylococcus* corresponde a cocos gram + inmóviles, aerobios y anaerobios facultativos, no formadores de esporas y de tamaño entre 0.5 y 2 micrómetros, Se agrupan en forma de racimos, producen catalasa en su metabolismo y degradan por fermentación azúcares. Crecen bien en medios generales y son bastante resistentes a muchos agentes externos, de ahí su amplia distribución en la naturaleza. Es frecuente que formen parte de la flora normal de las mucosas y de la piel e, incluso, en procesos infecciosos, tales como intoxicaciones alimentarias, heridas y en general en distintos procesos patógenos.

Dentro del género *Staphylococcus*, se pueden distinguir las siguientes especies:

- *Staphylococcus aureus*.
- *Staphylococcus epidermidis*.
- *Staphylococcus saprophyticus*.

S. aureus es una de las especies más patógenas, un agente etiológico de muchas infecciones. También es conocido como estafilococo dorado por el pigmento no difusible de color amarillo que forma. Bioquímicamente produce coagulasa y fermenta el manitol. En su pared celular se han encontrado en torno a 30 antígenos distintos, siendo los más importantes el polisacárido A, formado por ácidos teicoicos y polímeros de fosfato de ribitol, que inducen a la formación de anticuerpos. También se encuentra la proteína A que forma parte de la pared celular de la bacteria y actúa como un potente agente antigénico.

Debido a estos componentes y otros que forman parte de la pared celular de *S. aureus* presentan diferentes caracteres antigénicos, que se subdividen en tipos, hecho que es utilizado para la tipificación de sueros.

ACCION PATÓGENA E INTERES CLINICO. (29)

El efecto patógeno de *S. aureus* para el hombre dependerá de:

- Antígenos presentes en la pared celular (polisacárido A, proteína A y otras proteínas con carácter antigénico).
- Toxinas (hemolisinas, toxina exfoliativa y enterotoxina).
- Fermentos (coagulasa, fibrinolisinasa o estafiloquinasa y penicilinasas).

Con respecto a los antígenos de superficie, es decir, que se encuentran en la pared celular, nos encontramos sobre todo con los polisacáridos A y proteína A, que presentan propiedades antifagocitarias e inducen a la liberación de factores quimiotácticos que intervienen en la formación de estructuras piógenas, muy características en las lesiones producidas por *Staphylococcus*.

Las lesiones más importantes van a corresponder a hemolisinas, cuya composición es proteica y que en general lisan con facilidad los eritrocitos además de tener efectos tóxicos sobre otras células como por ejemplo los macrófagos y leucocitos. Debido a esta propiedad estas exotoxinas son conocidas también como citotóxicas. Son en general muy sensibles al calor. Se conocen un total de cuatro, que son:

- Hemolisina Alfa. De naturaleza fosfolipídica y responsable de los fenómenos de hemólisis alrededor de las colonias en medios de agar sangre o chocolate.
- Hemolisina Beta. Compuesta por una esfingomielinasa, responsable de los procesos de hemólisis parcial en glóbulos rojos de carnero a 37 °C.
- Hemolisina Gamma y Delta: intervienen en lesiones y heridas, pero tienen poca importancia patógena. No producen hemólisis.

Dentro de las toxinas, además de las hemolisinas, nos encontramos otras, como la toxina exfoliativa, que es una exotoxina proteica causante de eritemas en piel, si pueden resultar graves. Otras toxinas van a corresponder a las leucocidinas, que van a afectar fundamentalmente a los leucocitos polimorfonucleares y macrófagos, destruyéndolos, proporcionando una gran resistencia a la bacteria. Por último, nos encontramos con las enterotoxinas, que son responsables de casos de intoxicaciones alimentarias y cuadros de enterocolitis. Este tipo de toxinas son exotoxinas de carácter proteínico, capaces de anular la acción del jugo gástrico, uniéndose posteriormente a los receptores nerviosos del tubo digestivo y actuando de esta manera sobre el centro del vómito, lo que originará numerosas náuseas y vómitos, y en mucha menor proporción diarreas. Existen distintas enterotoxinas. Las más conocidas son las del tipo A, B y D que pertenecen a cepas de *S. aureus*, responsables de intoxicaciones alimentarias en los dos primeros casos, y enterocolitis, en el último.

Con respecto a los fermentos, la coagulasa es uno de los más importantes. Esta es capaz de activar la protrombina lo que va a acelerar el paso del fibrógeno a fibrina, coagulando de esta forma el plasma sanguíneo. Así pues, la coagulasa va a intervenir en la formación de coágulos, facilitando procesos sépticos. Otro fermentos son las fibrinolisin, que tienen un gran efecto proteolítico, siendo capaces de romper los coágulos de fibrina transformando el plasminógeno en plasmina o fibrinolisisina, es decir, ejercen un efecto completamente opuesto al de la coagulasa. Las penicilinas son otro tipo de fermentos o enzimas de carácter β -Lactamasa que van a romper el anillo β -lactámico de las penicilinas, creando resistencias frente a estos antibióticos.

En función de la mayor o menor presencia de estos factores de virulencia, *S. aureus* puede ser o no altamente patógeno para el hombre, de cualquier manera, *S. aureus* es frecuente encontrarla en la mucosa nasal, en la piel (sobre todo en las manos), o en la flora bacteriana normal de la persona san. También puede afectar el hombre de forma patógena directa o indirectamente. Si es de forma directa, dicha acción patógena dependerá del tipo y cantidad de toxinas, enzimas y antígenos de superficie que formen, pudiendo estar relacionada con muchos procesos supurativos y de necrosación, si es de forma indirecta, afectará al tubo digestivo por la acción de la enterotoxina.

- Si afecta a la piel y mucosas pueden ser frecuentes procesos inflamatorios, forúnculos, infecciones en heridas y quemaduras, procesos supurativos y piógenos, etc.
- Si afecta de forma generalizada al organismo, es frecuente la formación de coágulos o trombos intravenosos debido a la acción de la coagulasa, lo que puede facilitar septicemia o formar microémbolos, que son formas graves y raras. Otros casos más o menos graves son artritis, pleuritis, endocarditis, ostiomelitis o meningitis, que son más frecuentes en individuos debilitados.

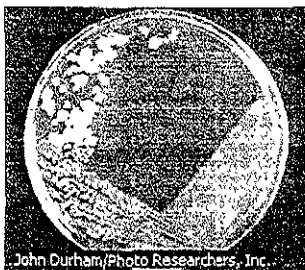
- Si afecta al aparato digestivo, se producen cuadros de intoxicación alimentaria debido a la acción de la enterotoxina, que crece muy bien en alimentos ricos en hidratos de carbono, como por ejemplo, las cremas y muchos productos de pastelería. Esta gastroenteritis se va a caracterizar porque no se presentará fiebre (es la toxina y no la bacteria la que desencadena el cuadro clínico), grandes náuseas y vómitos seguidos de diarreas, con una duración aproximada de 1 a 2 días.

No suele ser grave, salvo en niños y ancianos, y se transmite a través de portadores asintomático de *S. aureus* que manipulen los alimentos o cuando las condiciones de conservación no son las adecuadas, o sobre todo en épocas veraniegas, donde el aumento de temperatura facilita el crecimiento de *S. aureus*.

CARACTERES BIOQUIMICOS.

Los estafilococos presentan un poder fermentativo alto, degradan muchos azúcares, como glucosa, sacarosa, fructosa, manosa, etc. Esta actividad fermentativa origina ácidos, como por ejemplo, el ácido láctico, hecho que es detectado mediante la presencia de indicadores de pH para poder comprobar esta fermentación.

Con respecto al metabolismo proteico, los estafilococos no producen indol, si licuan la gelatina (gelatinasa +) y no licuan el suero coagulado aunque existen ciertas especies que lo podrían romper, en estos casos, son catalasa positivos, lo que les va a diferenciar de *Streptococcus*, reducen los nitratos a nitritos, crecen muy bien a 37 °C dando colonias relativamente grandes que pueden ser aplanadas y lisas y es frecuente apreciar fenómenos de alfa y beta – hemólisis en medios de agar sangre o agar chocolate, son oxidasa negativo y en general todos ellos responden a cocos Gram +.



Crecimiento de *Staphylococcus aureus* (13)

MEDICAMENTOS GENERICOS INTERCAMBIABLES: UNA NUEVA REALIDAD DEL MERCADO DE MEDICAMENTOS. MITOS Y REALIDADES. ⁽²¹⁾

Existe mucha confusión con relación a qué es un medicamento genérico intercambiable. En pocas palabras, un genérico intercambiable G.I. es un medicamento que tiene la misma sustancia activa que el innovador (el primero que salió al mercado), la misma forma farmacéutica, y ha pasado una serie de pruebas iguales en todo el mundo que lo certifican como farmacológicamente bioequivalente o idéntico al innovador con la misma eficacia y perfil de efectos secundarios y que se proporciona a los pacientes a un menor precio, siendo su diferencia con los llamados similares, que estos últimos no están certificados y por tanto su eficacia y tolerabilidad pueden o no ser iguales a los innovadores. Por supuesto que para poder lanzar al mercado un medicamento G.I., ya debe haber finalizado el plazo de validez de la patente del medicamento innovador.

En 1991, la Organización Mundial de la Salud recomendó al Gobierno de México, la implantación de un programa de medicamentos G.I. y, tras la aparición de una primera relación de medicamentos susceptibles de incorporarse al catalogo de G.I. y pruebas a que deberán someterse, se publicó posteriormente el catalogo de medicamentos G.I. los terceros autorizados para realizar pruebas de inter cambiabilidad, requisitos, forma de prescribirlos, etc. , ampliándose cada vez mas el catalogo, ante el vencimiento de las patentes de los medicamentos innovadores.

El principal problema que hemos detectado, aparte del rechazo de los médicos, es que existe mucha desinformación y mitos en torno a los G.I. a todos los niveles.

El primer mito existente es que no es posible tener medicamentos tan eficaces y seguros como los innovadores, pero mucho mas baratos, mito que se desvanece cuando se conocen las elevadas cifras que los laboratorios innovadores de medicamentos invierten en investigación, desarrollo, promoción y publicidad, ventas, etc.. Y que repercuten sobre el precio del medicamento. A titulo de ejemplo, baste saber que en 1998 solo en Estados Unidos de Norteamérica, se gastaron 1 billón de dólares en hacer publicidad directa de los productos farmacéuticos de prescripción.

Otro mito es, que la materia prima con la que se fabrican los G.I. tiene que ser de mala calidad, y los que esto comentan no saben que, en muchas ocasiones, dicha materia prima se obtiene de los mismos proveedores y hasta del propio laboratorio innovador.

Al principio comentábamos que los medicamentos G.I. por el simple hecho de estar certificados, son distintos a los similares, marcando la diferencia que los G.I. tienen que someterse a estudios de bioequivalencia en voluntarios sanos consistentes en administrar tanto el medicamento innovador como el que busca el certificado G.I. a un grupo de voluntarios y extraerles sangre y analizarla para ver como se absorben y que concentraciones alcanzan en el organismo y si son comparables (vil equivalentes) ambos medicamentos, lo que permitiría otorgarle el certificado de G.I. Estos estudios se hacen por terceros autorizados, ajenos a los laboratorios productores, utilizando técnicas y equipos específicos y en ocasiones sofisticados, de acuerdo lo establecido en la correspondiente norma, muy similar a las existentes en otros países.

Resumiendo, podemos afirmar que la igualdad en el principal activo, así como en la cantidad del mismo, no garantizan igualdad en eficacia ni en tolerabilidad, únicas que son aseguradas por el estudio en voluntarios sanos, anteriormente mencionado.

También es un mito la creencia de que los llamados laboratorios internacionales de investigación o fabricantes de, medicamentos innovadores, no fabrican ni comercializan G.I. No más lejano a la realidad, ya que estos laboratorios, por otra parte muy conocidos, bien directamente o a través de filiales venden medicamentos G.I. en cantidades tan elevadas que, por ejemplo en los Estados Unidos de Norteamérica se vendieron en 1997, seis mil quinientos millones de dólares de los mismos, lo que supuso al 49% del volumen total de unidades vencidas.

Un mito frecuentemente difundido es que los medicamentos G.I. se fabrican en instalaciones que no ofrecen garantías, mientras que la verdad es, que se fabrican en laboratorios farmacéuticos provistos de equipo y tecnología de punta, que cumplen con los requisitos que exigen las leyes mexicanas y normas internacionales de fabricación, con un continuo control de proceso y de calidad, en mejora continua y con personal altamente capacitado y experimentado.

Otro de los mitos propagados, es que los medicamentos G.I. no ofrecen ventaja alguna.

Realmente son muchas las ventajas que tienen, a los pacientes les permiten adquirir, su receta "completa" y que los grupos económicamente mas desfavorecidos tengan acceso a productos de calidad. A los médicos de permiten poder hacer análisis, radiografías, etc. , (con los recursos ahorrados en la compra de los medicamentos) para llegar a un mejor diagnóstico, así como que sus pacientes terminen sus tratamientos. Para el farmacéutico, la ventaja estriba en que pueden contribuir a la salud de nuestro pueblo ofreciendo medicamentos con precios accesibles, y para el país, ahorrando divisas e incrementando la investigación farmacológica en centros oficiales y privados.

Finalmente, cuando a un paciente le recetan un medicamento G.I. y observe que el envase, aspecto físico del medicamento, color y quizás el sabor, son distintos los del medicamento que habitualmente toma, debe tener la confianza de que si en la caja tiene el logo G.I. ese producto este certificado y es igual al de la marca por lo que su eficacia terapéutica y su tolerancia van a ser las mismas y deben tener siempre presente que si en la caja no esta el logo G.I. ese producto no es intercambiable.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

No podemos negar que el asombro por el progreso científico y tecnológico parece convertirse en una sucesión cotidiana de aportaciones que transforman todo. La ciencia y la técnica semejan estar en el centro del protagonismo humano y, sin embargo, si somos estrictamente justos, nada aportan los descubrimientos de estos campos si no trascienden mediante una difusión precisa y amplia que posibilite auténticos cambios en las conductas. un genérico intercambiable G.I. es un medicamento que tiene la misma sustancia activa que el innovador (el primero que salió al mercado), la misma forma farmacéutica, y ha pasado una serie de pruebas iguales en todo el mundo que lo certifican como farmacológicamente bioequivalente o idéntico al innovador con la misma eficacia y perfil de efectos secundarios y que se proporciona a los pacientes a un menor precio

Los antibióticos atacan las funciones celulares específicas de las bacterias, destruyen sus membranas celulares o impiden que pueda leerse el material genético. Pero a menudo no se consigue esto, porque las bacterias han encontrado la forma de sustraerse el efecto mortal de los antibióticos. El resultado ha sido la aparición de cepas resistentes, esto puede ocurrir incluso cuando la bacteria no ha tenido contacto alguno con esos antibióticos.

La actividad antimicrobiana se mide in vitro para determinar la potencia de un agente antibacteriano en solución, su concentración en los líquidos del cuerpo o en los tejidos, y la sensibilidad de un microorganismo dado a concentraciones conocidas del medicamento.

Las pruebas de dilución en caldo son fastidiosas y se emplean poco. Sin embargo, el advenimiento de series preparadas de diluciones de caldo para numerosos medicamentos diferentes, en placas para microtitulación, ha incrementado y simplificado mucho este método. La ventaja de las pruebas de microtitulación con diluciones de caldo consiste en permitir el informe de un resultado cuantitativo, que indique la cantidad necesaria de un medicamento dado para inhibir o matar los microorganismos probados.

Utilizando un microorganismo estándar apropiado de prueba y una muestra conocida de medicamento par la comparación, pueden emplearse estos métodos en la muestra como la sensibilidad del microorganismo.

Con objeto de simplificar las pruebas de susceptibilidad, es necesario limitar el número de agentes que se prueban habitualmente. En general, las pruebas habituales deberían incluir sólo un representante de cada grupo de agentes antimicrobianos con actividad in vitro estrechamente relacionada. Las pruebas deberían limitarse a aquellos agentes que se utilizan de ordinario en el laboratorio donde se realizan las pruebas y que resultan apropiados para su uso en la terapéutica del patógeno específico sometido a prueba.

Con la nueva información, la estrategia más adecuada podría ser utilizar un antibiótico con mas potencia y ello no significa que sea costoso, con muchas ventajas para los pacientes a los cuales les permite adquirir, su receta "completa" y que los grupos económicamente mas desfavorecidos tengan acceso a productos de calidad.

Para el farmacéutico, la ventaja estriba en que pueden contribuir a la salud de nuestro pueblo ofreciendo medicamentos con precios accesibles, y de calidad comprobada.

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN. (22, 25)

La investigación es un proceso que requiere una cuidadosa consideración de sus objetivos, con base en el marco de referencia y de su diseño, de acuerdo con los recursos de que se dispone.

El tipo de investigación que se elige en función de los objetivos que se pretenden alcanzar, de los recursos de que se dispone y del tipo específico de problema que se quiere abordar.

1.- De acuerdo con el periodo en que se capta la información, el estudio es:

PROSPECTIVO. El estudio en el que toda la información se recogerá, de acuerdo con los criterios del investigador y para los fines específicos de la investigación, después de la planeación de ésta

2.- De acuerdo con la evolución del fenómeno estudiado, es estudio es:

LONGITUDINAL. Estudio en que se mide en varias ocasiones la o las variables involucradas, implica el seguimiento, para estudiar la evolución de las unidades en el tiempo; por esto se entiende la comparación de los valores de la , o las variables de cada unidad en las diferentes ocasiones.

3.- De acuerdo con la comparación de las poblaciones, es estudio es:

COMPARATIVO. Estudio en el cual existen dos o más poblaciones y donde se quieren comparar algunas variables para contrastar una o varias hipótesis centrales.

4.- De acuerdo con la inferencia del investigador en el fenómeno que se analiza, el estudio es:

EXPERIMENTAL. Estudio en el que el investigador modifica a voluntad una o algunas variables como causa dentro de una relación de causa a efecto.

DISEÑO ESTADÍSTICO.

MÉTODOS ESTADÍSTICOS PARA ESTIMACIÓN DE POTENCIA MICROBIOLÓGICA DE ANTIBIÓTICOS POR EL MÉTODO TURBIDIMÉTRICO.

La estimación de la potencia de una sustancia con actividad antibiótica utilizando el método turbidimétrico puede llevarse a cabo mediante los siguientes procedimientos.

- a) Procedimiento analítico en el cálculo de la respuesta a la concentración alta y a la concentración baja.
- b) Procedimiento analítico basado en análisis de regresión entre la respuesta y el logaritmo de la concentración.

El procedimiento puede incluir 1 o mas más muestras. Cada muestra se prepara por triplicado (3 tubos), a la concentración estimativa del punto central de la curva de calibración generadas por dilución independiente a partir de una solución concentrada, en función de su contenido en el producto.

La estimación de la potencia de las muestras se basa en la interpolación analítica de la concentración de éstas, considerando el promedio de la respuesta de las muestras. El cálculo de la potencia de la muestra debe considerarse válido si existe una dependencia entre la respuesta con el logaritmo de la concentración, además de que dicha dependencia sea de tipo lineal. El primer supuesto (dependencia), puede ser investigado mediante el análisis de la varianza del modelo de regresión lineal simple o con la construcción del intervalo de confianza para la pendiente. El segundo supuesto (linealidad) puede ser investigado mediante una prueba de falta de ajuste al modelo lineal o mediante el valor de coeficiente de determinación. También es conveniente establecer un valor máximo permisible respecto a la variación del sistema de medición (curva de calibración) y de la respuesta de las muestras, empleando el coeficiente de variación.

OBJETIVOS.

- Determinar las concentraciones mínimas inhibitorias y bactericidas de las diferentes cepas en relación a los diferentes cefalosporinas estudiadas.
- Identificar los antibióticos genéricos que se comportan de manera similar a uno innovador.
- Desarrollar un protocolo de estudio de filtro ó prueba rápida de determinación de equivalencia bactericida.
- Aplicar los conocimientos obtenidos en el desarrollo de una técnica de control de calidad en antibióticos betalactamicos.
- Desarrollar una técnica de trabajo con posibilidad de ajuste a micro técnica.
- Obtener un estudio de comportamiento bactericida de cefalosporinas genéricas e innovadoras en función de su potencia bactericida.

HIPÓTESIS.

Dadas las aperturas comerciales en el ámbito de la salud publica, podemos suponer que no debe existir diferencia significativa (menor o igual al 5% de diferencia) entre una antibiótico comercial y uno similar o genérico intercambiable en base a sus potencias microbiológicas de CMI y CMB.

POBLACIÓN DE ESTUDIO.

La población que se va a analizar son las unidades formadoras de colonias que sobrevivan a la exposición de un agente quimioterapéutico (antibiótico CEFALOSPORINICO) que serán colonias de 24 horas de incubación de la cepa de *S.aureus* ATCC 6538 que deberán ser previamente identificadas por su morfología colonial y bioquímica nutricional.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

- Se utilizarán resiembras de 24 horas de la cepa de *S. aureus*, ATCC 6538.
- Cefalosporinas comerciales y genéricas con fecha de caducidad vigente al menos por un año más.
- Lecturas de los tubos y las cajas dentro de las 18-24 horas de incubación.
- Utilización de equipo estéril por calor húmedo.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

- Resiembras menores de 18 horas, ó mayores de 24 horas de la cepa de *S. aureus*, ATCC 6538.
- Cefalosporinas comerciales y genéricas sin fecha de caducidad vigente.
- Lecturas de los tubos y las cajas fuera de las 18-24 horas de incubación.
- La no utilización de equipo estéril.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.

- Crecimientos mayores a 24 Hrs.
- Cefalosporinas en forma farmacéutica diferente a la inyectable.
- Antibióticos caducados o en empaque abierto.

VARIABLE.

Serán las concentraciones de los antibióticos que sean trabajados que pueden tomar valores mayores a 0.1 mg/dL. Que nos indicaran las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y las bactericidas (CMB)

TECNICAS DE TRABAJO. (16, 19, 26, 28,)

Adaptación de MGA 0100 Potencia microbiologica de antibióticos, para cefalosporinas de 1ª a 3ª generación genéricas y comerciales y usando el *S.aureus*. como productor de β -Lactamasas.

Método turbidimetrico.

Este método se realiza en un medio de cultivo liquido inoculadoi con el microorganismo de prueba al que se le agregan concentraciones crecientes del antibiótico. Después que transcurre el periodo de incubación se determina la turbidez producida por el crecimiento microbiano que dependera del efecto del antibiótico.

Material.

Todo el material debe estar limpio y perfectamente anjuagado con agua destilada para eliminar cualquier residuo que pueda afectar el crecimiento del microorganismo de prueba. El material de vidrio para el mantenimiento, manejo, transferencia y desarrollo de los microorganismos, debe esterilizarse por calor húmedo a 121C por 15 minutos.

MATERIAL Y EQUIPO.

- Tubo de vidrio de 16 mm X 125 mm ó 18 mm X 150 mm con tapones de plastico resistentes a la esterilización.
- Cajas petri de 10 cm. de diámetro marca Kimax o Pirex.
- Micropipeta
- Puntas para micropipeta esterilizables.
- Equipo de filtración millipore para jeringa.
- Jeringas esteriles de 1,3,5,10y 20 ml.
- Agua bidestilada estéril.
- Solución salina fisiológica estéril.
- Colorímetro fotoeléctrico 530-580nm.
- Dextran al 5% v/v.
- Formaldchído al 12%.
- Agar Mueller-Hinton.
- Cloruro de Bario.
- Cepa de *S. aureus*. ATCC.
- Incubador a 37C.

MEDIO DE CULTIVO.

Peptona	6.0 g/L.
Digerido pancreático de caseína.	4.0 g/L
Extracto de levadura.	3.0 g/L
Extracto de carne.	1.5 g/L
Dextrosa.	1.0 g/L
Agar	15.0 g/L
Agua destilada	1.0 L.

NOTA: Este medio con agar es para preparar los tubos de cultivo inclinado para la suspensión del inóculo y la siembra en placa. Los tubos de medio líquido, para realizar el ensayo de potencia no llevan agar.

METODO PARA LA PREPARACIÓN DEL MICROORGANISMO DE PRUEBA (INOCULO).**METODO NÚMERO 1.**

Preparación de la suspensión. Se preparan tubos con el medio de cultivo en posición inclinada se ponen a prueba de esterilidad por 24 horas y se inoculan con la cepa de *Staphylococcus aureus*, se incuban a 32C-35C por 24 horas. Se cosecha el crecimiento con 3 mL. de solución estéril. Los volúmenes pueden cambiar dependiendo del crecimiento obtenido.

DESARROLLO DE LA TÉCNICA.

1. Ajuste de la suspensión. Determinar en la suspensión original la dilución que permita obtener en un fotolorímetro y a una longitud de onda de 580 nm un 25% de transmitancia \pm 2%. Esta suspensión se puede mantener en refrigeración durante 1 semana.

2. Se detiene el crecimiento bacteriano, adicionando a cada tubo 0.5 ml de una solución de formaldehído al 12%. Nota el formaldehído tiene una pureza del 38% al 40%. Nota este reactivo es para el ajuste del blanco y el ajuste al 25%.

3. A 5 ml. de medio de cultivo líquido se le adicionan 0.1 ml. de la suspensión de estafilococos del paso anterior.

4. Realizar diluciones del antibiótico a estudiar de la siguiente manera : pesar X mg del antibiótico y disolverla en X ml de agua destilada estéril, filtrar con un filtro millipore y colocar el filtrado en un tubo estéril.

5. Adicionar 0.1ml de la concentración del antibiótico al tubo con el medio de cultivo y la suspensión del microorganismo. Cada tubo lleva una diferente concentración de antibiótico.
6. El ensayo se realiza por triplicado y se incuba a 32°C- 35°C.
7. Después de la incubación se determina el valor de la transmitancia para cada tubo en un fotómetro a una longitud de onda de 580 nm. Ajustando al 100% de transmitancia con un blanco del medio de cultivo sin inocular y 0.5ml de formaldehído al 12 %.
8. Determinar la CIM.
9. Sembrar los tubos en agar sólido e incubar a 32-35°C. Durante 18-24 horas.
10. Determinar las UFC/ml. para identificar la CMB.

CRONOGRAMA

ACTIVIDAD.	SESION I	SESION II	SESION III	SESION IV	SESION V	SESION VI	SESION VII	SESION VIII	SESION IX	SESION X	SESION XI	SESION XII	SESION XIII	SESION XIV	SESION XV	SESION XVI	SESION XVII	SESION XVIII	SESION XIX	SESION XX	SESION XXI	SESION XXII
Iny.	■																					
Biología	■																					
Preparación de medios de cultivo	■		■		■		■		■		■		■		■		■		■		■	
Dilución de súper tubo		■		■		■		■		■		■		■		■		■		■		■
Sembra de Stock bacteriano	■		■		■		■		■		■		■		■		■		■		■	
Ajuste de súper tubo		■		■		■		■		■		■		■		■		■		■		■
Examinación de material	■		■		■		■		■		■		■		■		■		■		■	
Inoculación de series		■		■		■		■		■		■		■		■		■		■		■
Célula 1		■		■		■		■		■		■		■		■		■		■		■
Célula 2			■	■		■		■		■		■		■		■		■		■		■
Célula 1					■	■		■		■		■		■		■		■		■		■
Célula 2							■	■		■		■		■		■		■		■		■
Célula 3									■	■		■		■		■		■		■		■
Célula 1											■	■		■		■		■		■		■
Célula 2												■	■		■		■		■		■	■
Célula 3													■	■		■		■		■		■
Célula 1															■	■		■		■		■
Célula 2																■	■		■		■	■
Análisis de resultados			■		■		■		■		■		■		■		■		■		■	■
Celulas																						■

PROCEDIMIENTO GENERAL.

Nº TUBO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11 C-	12 C+
MEDIO mL	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
M.O. μ L	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0	100
ANTIBIÓTICO μ L	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0
Concentración μ g/mL	DEPENDERA DEL RANGO DE SENSIBILIDAD DEL ANTIBIOTICO.											
Volumen total (mL)	5.2	5.2	5.2	5.2	5.2	5.2	5.2	5.2	5.2	5.2	5.2	5.2



18-24 horas de incubación a 35 °C



LEER TURBIDEZ VISUAL Y % DE TRANSMITANCIA.
(CIM)

SEMBRAR 0.1 mL de tubo transparente en agar i. ó Agar Mueller-Hinton.
Resicmbra con asa de platino calibrada cada uno de los tubos .



18-24 horas de incubación a 35°C



Leer cultivos en UFC/mL.
(CMB)

RESULTADOS.

TABLAS DE RESULTADOS.

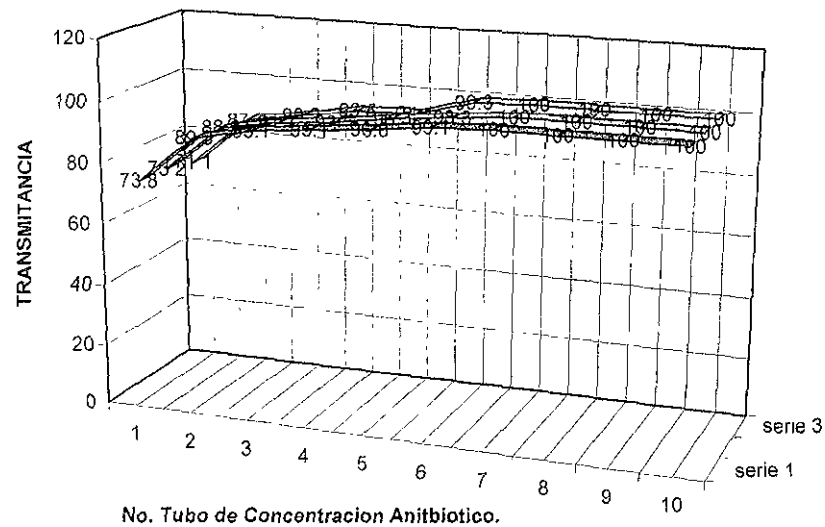
BIOTICO:	FORTUM		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFTAZIDIMA			Serie:	1
RBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL	% de TRANSMITANCIA.	UFC/mL
2	450 ug/mL	6.59 ug/mL	73.8	250
2	460 ug/mL	6.74 ug/mL	89.3	200
2	470 ug/mL	6.88 ug/mL	93.1	133
2	480 ug/mL	7.03 ug/mL	95.1	100
2	490 ug/mL	7.18 ug/mL	96.8	30
2	500 ug/mL	7.32 ug/mL	99.1	< 30
1	510 ug/mL	7.47 ug/mL	100	0
1	520 ug/mL	7.62 ug/mL	100	0
1	530 ug/mL	7.76 ug/mL	100	0
1	540 ug/mL	7.91 ug/mL	100	0
3	Control Positivo.		14.3	1.20×10^6
1	Control Negativo.		100	0

BIOTICO:	FORTUM.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFTAZIDIMA			Serie:	2
RBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL	% de TRANSMITANCIA.	UFC/mL
2	450 ug/mL	6.59 ug/mL	73.2	222
2	460 ug/mL	6.74 ug/mL	88.5	196
2	470 ug/mL	6.88 ug/mL	91.7	116
2	480 ug/mL	7.03 ug/mL	93.5	96
2	490 ug/mL	7.18 ug/mL	96.3	30
2	500 ug/mL	7.32 ug/mL	98.3	< 30
1	510 ug/mL	7.47 ug/mL	100	0
1	520 ug/mL	7.62 ug/mL	100	0
1	530 ug/mL	7.76 ug/mL	100	0
1	540 ug/mL	7.91 ug/mL	100	0
3	Control Positivo		14.3	1.20×10^6
1	Control Negativo.		100	0

BIOTICO:	FORTUM.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
	FAMILIA: CEFTAZIDIMA		Serie:	3
RBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/mL
2	450 ug/mL	6.59 ug/mL	71.1	233
2	460 ug/mL	6.74 ug/mL	87.2	180
2	470 ug/mL	6.88 ug/mL	90.3	100
2	480 ug/mL	7.03 ug/mL	93.5	98
2	490 ug/mL	7.18 ug/mL	94.1	< 30
2	500 ug/mL	7.32 ug/mL	99.3	< 30
1	510 ug/mL	7.47 ug/mL	100	0
1	520 ug/mL	7.62 ug/mL	100	0
1	530 ug/mL	7.76 ug/mL	100	0
1	540 ug/mL	7.91 ug/mL	100	0
3	Control Positivo.		14.3	1.20X10 ⁶
1	Control Negativo.		100	0

C.M.B.	480.0 ug/mL
C.M.I.	510.0 ug/mL

FORTUM



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
■ serie 1	73.8	89.3	93.1	95.1	96.8	99.1	100	100	100	100
▨ serie 2	73.2	88.5	91.7	93.5	96.3	98.3	100	100	100	100
◻ serie 3	71.1	87.2	90.3	93.5	94.1	99.3	100	100	100	100

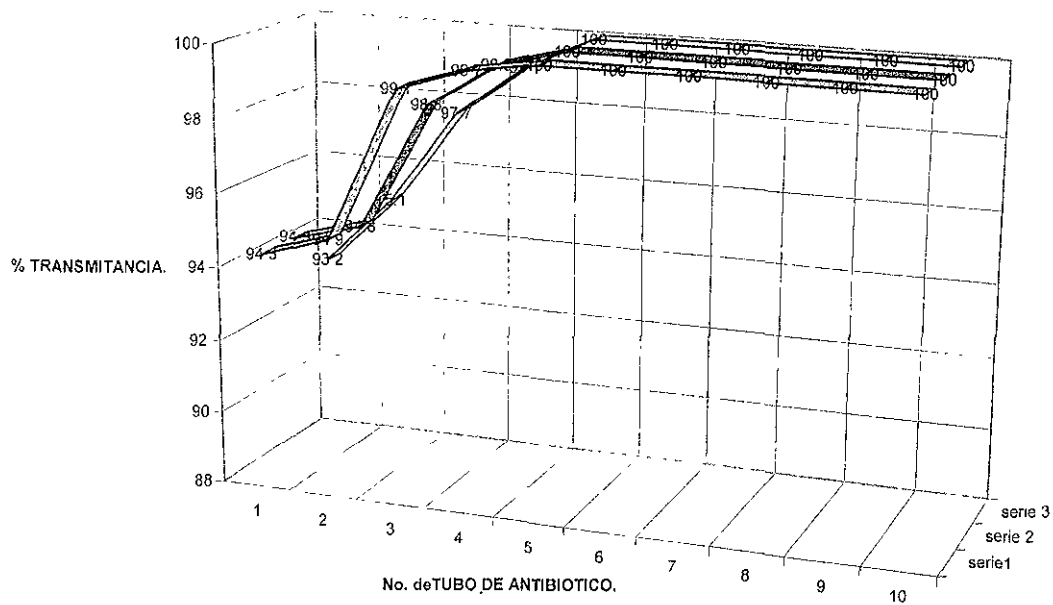
BIOTICO:	TAXIFUR.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFTAZIDIMAS			Serie:	1
URBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/mL
2	450 ug/ml	6.59 ug/mL	94.3	98
2	460 ug/mL	6.74 ug/mL	94.9	63
2	470 ug/mL	6.88 ug/mL	99.1	53
2	480 ug/mL	7.03 ug/mL	99.7	32
2	490 ug/mL	7.18 ug/mL	100	0
1	500 ug/mL	7.32 ug/mL	100	0
1	510 ug/mL	7.47 ug/mL	100	0
1	520 ug/mL	7.62 ug/mL	100	0
1	530 ug/mL	7.76 ug/mL	100	0
1	540 ug/mL	7.91 ug/mL	100	0
3	Control Positivo.		14.3	1.2×10^6
1	Control Negativo.		100	0

BIOTICO:	TAXIFUR.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFTAZIDIMAS			Serie:	2
URBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/mL
2	450 ug/mL	6.59 ug/mL	94.3	80
2	460 ug/mL	6.74 ug/mL	94.8	50
2	470 ug/mL	6.88 ug/mL	98.3	43
2	480 ug/mL	7.03 ug/mL	99.5	< 30
2	490 ug/mL	7.18 ug/mL	100	< 30
1	500 ug/mL	7.32 ug/mL	100	0
1	510 ug/mL	7.47 ug/mL	100	0
1	520 ug/mL	7.62 ug/mL	100	0
1	530 ug/mL	7.76 ug/mL	100	0
1	540 ug/mL	7.91 ug/mL	100	0
3	Control Positivo.		14.3	1.2×10^6
1	Control Negativo.		100	0

TBIOTICO:	TAXIFUR.	MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538	
FAMILIA: CEFTAZIDIMAS		Serie:	3	
TURBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL	% de TRANSMITANCIA.	UFC/mL
2	450 ug/mL	6.69 ug/mL	93.2	73
2	460 ug/mL	6.74 ug/mL	95.1	48
2	470 ug/mL	6.88 ug/mL	97.7	32
2	480 ug/mL	7.03 ug/mL	99.1	< 30
2	490 ug/mL	7.18 ug/mL	100	< 30
1	500 ug/mL	7.32 ug/mL	100	0
1	510 ug/mL	7.47 ug/mL	100	0
1	520 ug/mL	7.62 ug/mL	100	0
1	530 ug/mL	7.76 ug/mL	100	0
1	540 ug/mL	7.91 ug/mL	100	0
3	Control Positivo.		14.3	1.2×10^5
1	Control Negativo.		100	0

C.M.B.	450 ug/ml
C.M.I.	500 ug/ml.

TAXIFUR



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
□ serie 1	94.3	94.9	99.1	99.7	100	100	100	100	100	100
■ serie 2	94.3	94.8	98.3	99.5	100	100	100	100	100	100
▣ serie 3	93.2	95.1	97.7	99.1	100	100	100	100	100	100

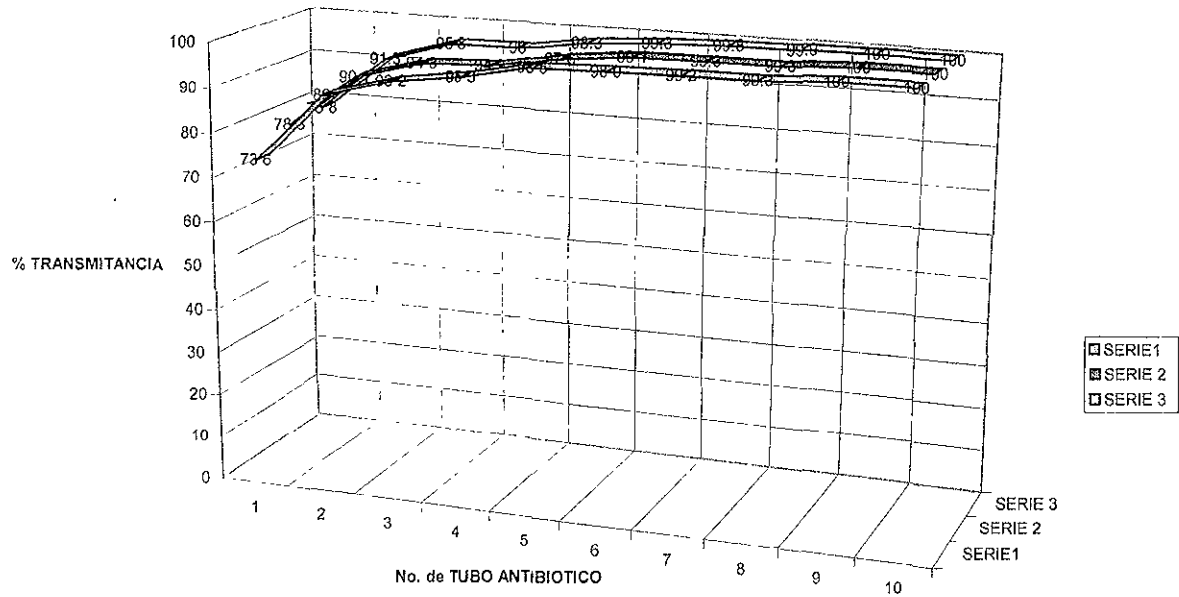
ANTIBIOTICO:		CEFTAZIDIMA G.I.	MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFTAZIDIMAS			Serie:	1
TURBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
2	450 ug/mL	6.59 ug/mL	73.6	> 300
2	460 ug/mL	6.74 ug/mL	89	249
2	470 ug/mL	6.88 ug/mL	93.2	120
2	480 ug/mL	7.03 ug/mL	95.3	87
2	490 ug/mL	7.18 ug/mL	98.5	53
2	500 ug/mL	7.32 ug/mL	98.9	33
2	510 ug/mL	7.47 ug/mL	99.2	< 30
1	520 ug/mL	7.62 ug/mL	99.3	< 30
1	530 ug/mL	7.76 ug/mL	100	0
1	540 ug/mL	7.91 ug/mL	100	0
3	Control Positivo.		14.3	1.2x10 ⁶
1	Control Negativo.		100	0

ANTIBIOTICO:		CEFTAZIDIMA G.I.	MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFTAZIDIMAS			Serie:	2
TURBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
2	450 ug/mL	6.59 ug/mL	78.3	> 300
2	460 ug/mL	6.74 ug/mL	90.1	238
2	470 ug/mL	6.88 ug/mL	94.3	138
2	480 ug/mL	7.03 ug/mL	94.9	100
2	490 ug/mL	7.18 ug/mL	97.6	98
2	500 ug/mL	7.32 ug/mL	99.1	43
2	510 ug/mL	7.47 ug/mL	99.3	40
1	520 ug/mL	7.62 ug/mL	99.3	< 30
1	530 ug/mL	7.76 ug/mL	100	< 30
1	540 ug/mL	7.91 ug/mL	100	< 30
3	Control Positivo.		14.3	1.2x10 ⁶
1	Control Negativo.		100	0

ANTIBIOTICO:	CEFTAZIDIMA G.I.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFTAZIDIMAS			Serie:	3
TURBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
2	450 ug/mL	6.59 ug/mL	78.8	> 300
2	460 ug/mL	6.74 ug/mL	91.3	250
2	470 ug/mL	6.88 ug/mL	95.8	139
2	480 ug/mL	7.03 ug/mL	96	98
2	490 ug/mL	7.18 ug/mL	98.3	38
2	500 ug/mL	7.32 ug/mL	99.3	< 30
2	510 ug/mL	7.47 ug/mL	99.8	< 30
1	520 ug/mL	7.62 ug/mL	99.9	< 30
1	530 ug/mL	7.76 ug/mL	100	< 30
1	540 ug/mL	7.91 ug/mL	100	< 30
3	Control Positivo.		14.3	1.2×10^6
1	Control Negativo.		100	0

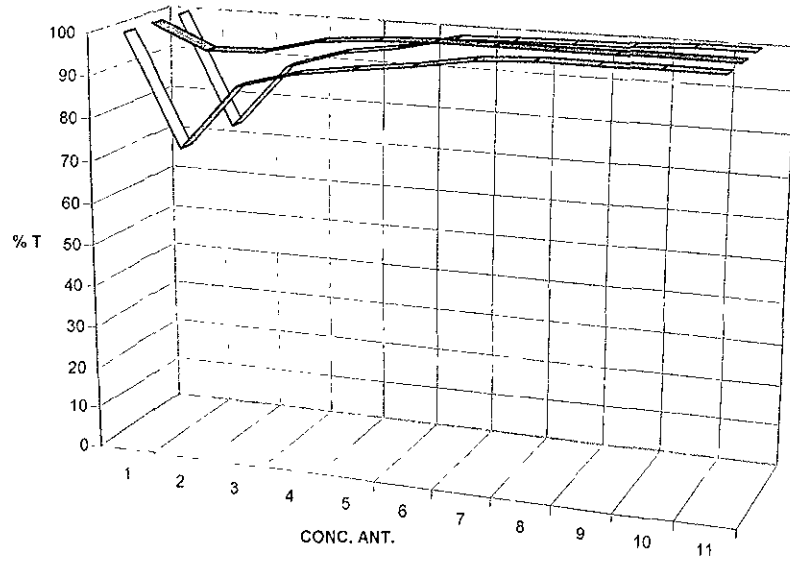
C.M.B.	470 ug/ml
C.M.I.	520 ug/ml

CEFTAZIDIMA



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
□ SERIE 1	73.6	89	93.2	95.3	98.5	98.9	99.2	99.3	100	100
▣ SERIE 2	78.3	90.1	94.3	94.9	97.6	99.1	99.3	99.3	100	100
▤ SERIE 3	78.8	91.3	95.8	96	98.3	99.3	99.8	99.9	100	100

CEFTAZIDIMA



FORTUM
 TAXIFUR
 CEFTAZIDIMA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
□ FORTUM	100	73.8	89.3	93.1	95.1	96.8	99.1	100	100	100	100
□ TAXIFUR	100	94.3	94.8	98.3	99.5	100	100	100	100	100	100
□ CEFTAZIDIMA	100	73.6	89	93.2	95.3	98.5	98.9	99.2	99.3	100	100

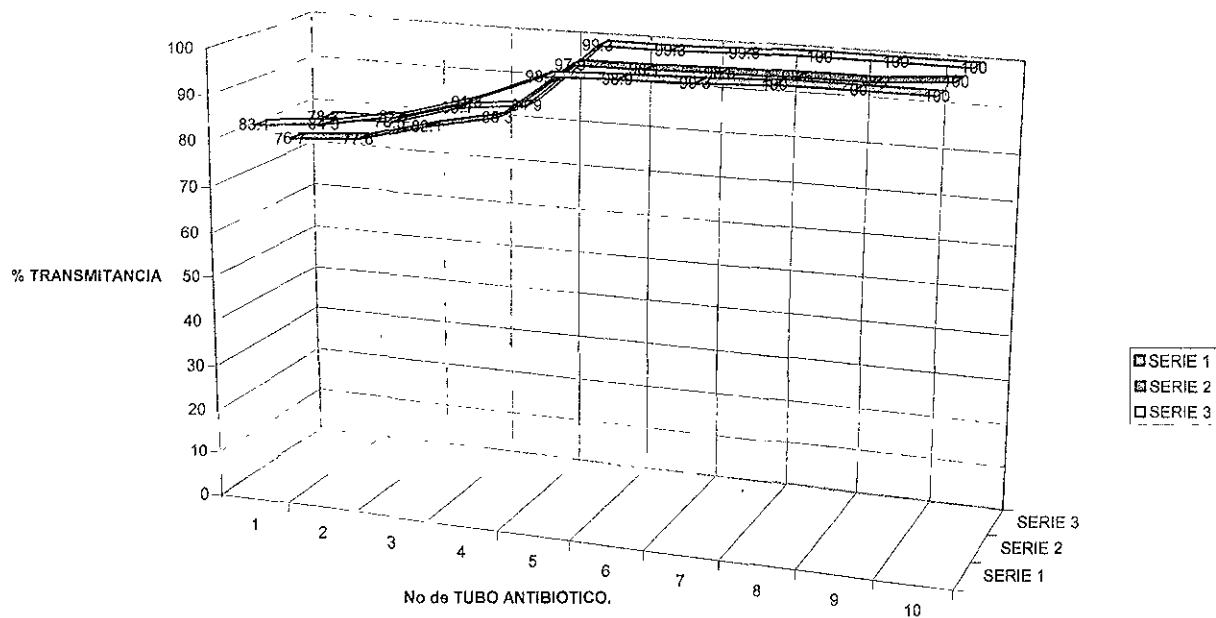
ANTIBIÓTICO:	CLAFORAN.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
	FAMILIA: CEFOTAXIMA		Serie:	1
REPETICIONES	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
2	40 ug/ml	0.72 ug/ml	83.1	> 300
2	44 ug/ml	0.80 ug/ml	84.3	> 300
1	48 ug/ml	0.87 ug/ml	87.2	207
1	52 ug/ml	0.94 ug/ml	91.8	187
1	56 ug/ml	1.02 ug/ml	98.3	100
1	60 ug/ml	1.09 ug/ml	98.9	98
1	64 ug/ml	1.16 ug/ml	99.3	45
1	68 ug/ml	1.23 ug/ml	100	< 30
1	72 ug/ml	1.31 ug/ml	100	< 30
1	76 ug/ml	1.38 ug/ml	100	< 30
3	Control Positivo.		14.3	1.2X10 ⁵
1	Control Negativo.		100	0

ANTIBIÓTICO:	CLAROFAN.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
	FAMILIA: CEFOTAXIMA		Serie	2
REPETICIONES	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
2	40 ug/ml	0.72 ug/ml	76.7	> 300
2	44 ug/ml	0.80 ug/ml	77.8	> 300
1	48 ug/ml	0.87 ug/ml	82.1	191
1	52 ug/ml	0.94 ug/ml	85.3	183
1	56 ug/ml	1.02 ug/ml	97.9	85
1	60 ug/ml	1.09 ug/ml	98.1	73
1	64 ug/ml	1.16 ug/ml	98.5	71
1	68 ug/ml	1.23 ug/ml	98.6	66
1	72 ug/ml	1.31 ug/ml	98.7	53
1	76 ug/ml	1.38 ug/ml	100	< 30
3	Control Positivo.		14.3	1.2X10 ⁶
1	Control Negativo		100	0

ANTIBIOTICO.	CLAFORAN.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFOTAXIMA			Serie:	3
REPETICIONES.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
2	40 ug/mL	0.72 ug/mL	78.3	> 300
2	44 ug/mL	0.80 ug/mL	78.5	> 300
1	48 ug/mL	0.87 ug/mL	83.1	250
1	52 ug/mL	0.94 ug/mL	84.9	201
1	56 ug/mL	1.02 ug/mL	99.3	93
1	60 ug/mL	1.09 ug/mL	99.3	83
1	64 ug/mL	1.16 ug/mL	99.8	< 30
1	68 ug/mL	1.23 ug/mL	100	< 30
1	72 ug/mL	1.31 ug/mL	100	< 30
1	76 ug/mL	1.38 ug/mL	100	< 30
3	Control Positivo.		14.3	1.2×10^6
1	Control Negativo.		100	0

C.M.B.	56 ug/ml
C.M.I.	48 ug/ml

CLAFORAN.



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
□ SERIE 1	83.1	84.3	87.2	91.8	98.3	98.9	99.3	100	100	100
▣ SERIE 2	76.7	77.8	82.1	85.3	97.9	98.1	98.5	98.6	98.7	100
□ SERIE 3	78.3	78.5	83.1	84.9	99.3	99.3	99.8	100	100	100

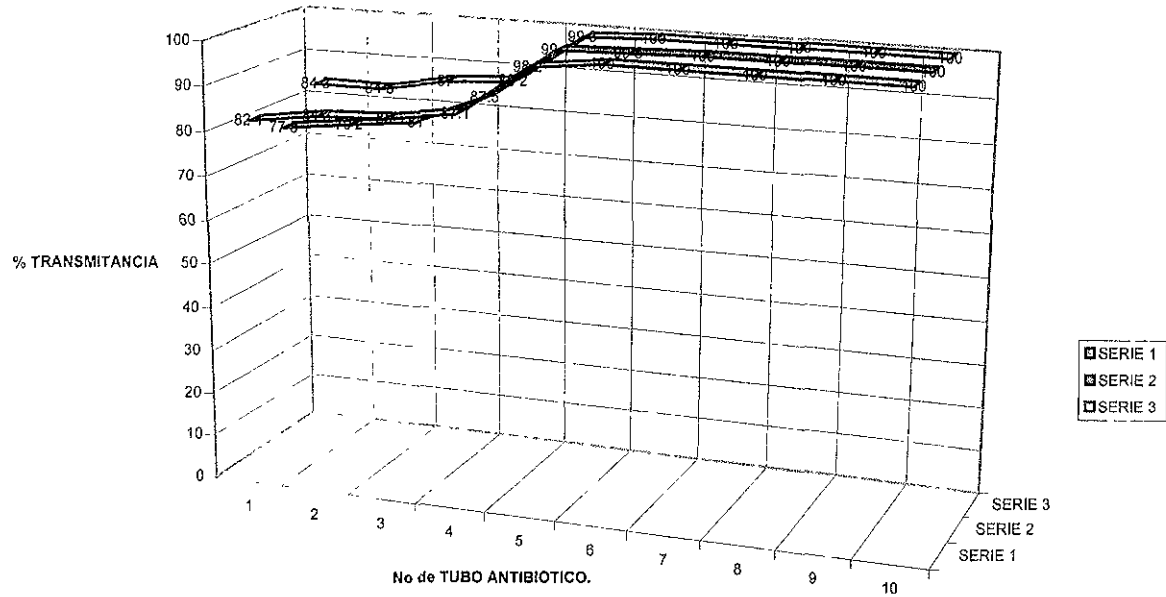
ANTIBIOTICO:	TAPORIN.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFOTAXIMA			Serie:	1
TURBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
2	40 ug/ml	0.72 ug/ml	82.1	> 300
2	44 ug/ml	0.80 ug/ml	84.3	> 300
2	48 ug/ml	0.87 ug/ml	85	> 300
2	52 ug/ml	0.94 ug/ml	87.1	> 300
1	56 ug/ml	1.02 ug/ml	98.2	281
1	60 ug/ml	1.09 ug/ml	100	150
1	64 ug/ml	1.16 ug/ml	100	90
1	68 ug/ml	1.23 ug/ml	100	45
1	72 ug/ml	1.31 ug/ml	100	40
1	76 ug/ml	1.38 ug/ml	100	40
3	Control Positivo.		13.2	2.0×10^6
1	Control Negativo.		100	0

ANTIBIOTICO:	TAPORIN.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFOTAXIMA			Serie:	2
TURBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
2	40 ug/ml	0.72 ug/ml	77.3	> 300
2	44 ug/ml	0.80 ug/ml	79.2	> 300
2	48 ug/ml	0.87 ug/ml	81	> 300
2	52 ug/ml	0.94 ug/ml	87.5	235
1	56 ug/ml	1.02 ug/ml	99.1	101
1	60 ug/ml	1.09 ug/ml	99.5	85
1	64 ug/ml	1.16 ug/ml	100	33
1	68 ug/ml	1.23 ug/ml	100	< 30
1	72 ug/ml	1.31 ug/ml	100	< 30
1	76 ug/ml	1.38 ug/ml	100	< 30
3	Control Positivo.		13.2	2.0×10^6
1	Control Negativo.		100	0

BIOTICO:	TAPORIN.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFOTAXIMA			Serie:	3
RBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
2	40 ug/mL	0.72 ug/mL	84.3	> 300
2	44 ug/mL	0.80 ug/mL	84.3	> 300
2	48 ug/mL	0.87 ug/mL	87	>300
2	52 ug/mL	0.94 ug/mL	88.2	> 300
1	56 ug/mL	1.02 ug/mL	99.3	298
1	60 ug/mL	1.09 ug/mL	100	170
1	64 ug/mL	1.16 ug/mL	100	100
1	68 ug/mL	1.23 ug/mL	100	68
1	72 ug/mL	1.31 ug/mL	100	55
1	76 ug/mL	1.38 ug/mL	100	43
3	Control Positivo.		13.2	2.0×10^6
1	Control Negativo.		100	0

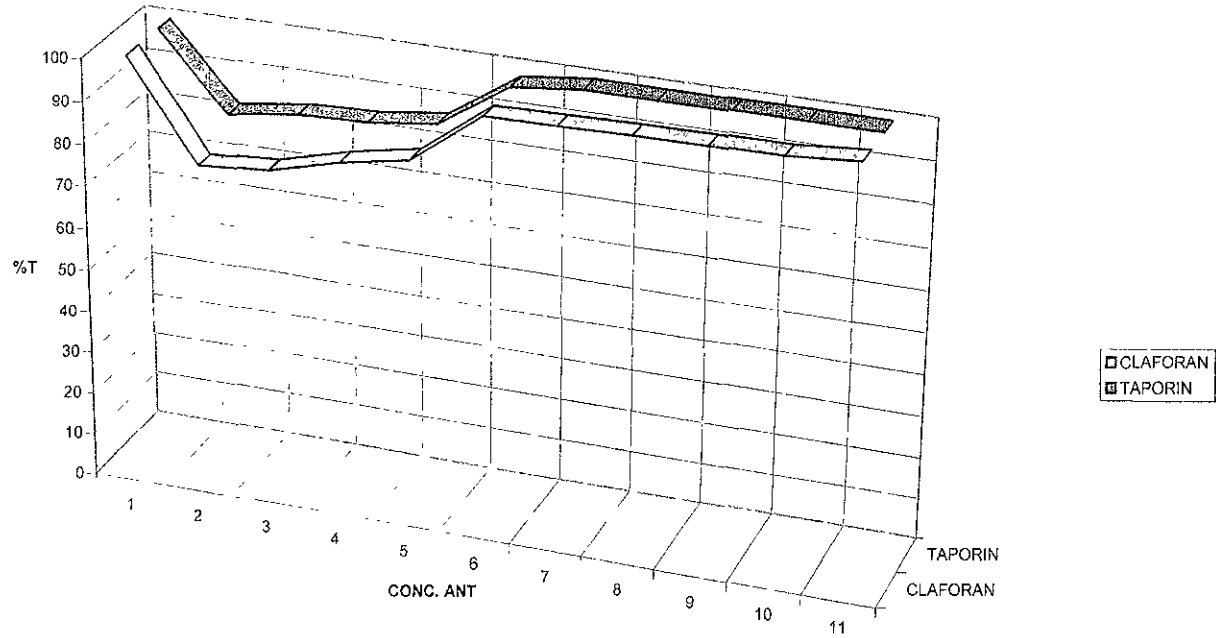
C.M.B.	60.0 ug/ml
C.M.I.	56.0 ug/ml

TAPORIN



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
□ SERIE 1	82.1	84.3	85	87.1	98.2	100	100	100	100	100
▣ SERIE 2	77.3	79.2	81	87.5	99.1	99.5	100	100	100	100
□ SERIE 3	84.3	84.3	87	88.2	99.3	100	100	100	100	100

CEFOTAXIMA



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
□ CLAFORAN	100	76.7	77.8	82.1	85.3	97.9	98.1	98.5	98.6	98.7	100
▨ TAPORIN	100	82.1	84.3	85	87.1	98.2	100	100	100	100	100

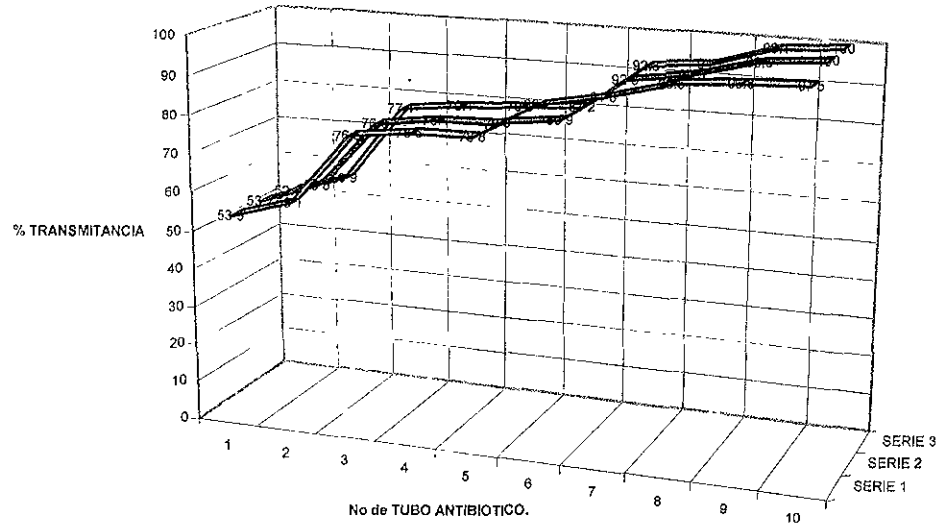
ANTIBIÓTICO:	ROCEPHIN.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFTRIAXONA.			Serie:	1
TURBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
2	44 ug/ml	1.005 ug/ml	53.5	> 300
2	48 ug/ml	1.01 ug/ml	58.1	> 300
2	52 ug/ml	1.18 ug/ml	76.5	> 300
2	56 ug/ml	1.28 ug/ml	78.5	> 300
1	60 ug/ml	1.37 ug/ml	78.8	> 300
1	64 ug/ml	1.46 ug/ml	88.2	> 300
1	68 ug/ml	1.55 ug/ml	91.3	250
1	72 ug/ml	1.64 ug/ml	95.5	225
1	76 ug/ml	1.73 ug/ml	96.8	190
1	80 ug/ml	1.83 ug/ml	97.5	130
3	Control Positivo.		12.1	2.75x10 ⁶
1	Control Negativo.		100	0

ANTIBIÓTICO:	ROCEPHIN.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFTRIAXONA.			Serie:	2
TURBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
2	44 ug/ml	1.005 ug/ml	53.2	> 300
2	48 ug/ml	1.01 ug/ml	58.8	> 300
2	52 ug/ml	1.18 ug/ml	76.3	> 300
2	56 ug/ml	1.28 ug/ml	78.4	> 300
1	60 ug/ml	1.37 ug/ml	78.9	> 300
1	64 ug/ml	1.46 ug/ml	80.9	> 300
1	68 ug/ml	1.55 ug/ml	92.3	283
1	72 ug/ml	1.64 ug/ml	94.5	240
1	76 ug/ml	1.73 ug/ml	98.6	153
1	80 ug/ml	1.83 ug/ml	100	99
3	Control Positivo.		12.1	2.75x10 ⁶
1	Control Negativo.		100	0

ANTIBIOTICO:	ROCEPHIN.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFTRIAXONA.			Serie:	3
TRIBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
2	44 ug/mL	1.005 ug/mL	52.1	> 300
2	48 ug/mL	1.01 ug/mL	56.9	> 300
2	52 ug/mL	1.18 ug/mL	77.1	>300
2	56 ug/mL	1.28 ug/mL	79.1	> 300
1	60 ug/mL	1.37 ug/mL	79.9	> 300
1	64 ug/mL	1.46 ug/mL	81.2	>300
1	68 ug/mL	1.55 ug/mL	92.8	275
1	72 ug/mL	1.64 ug/mL	94.1	241
1	76 ug/mL	1.73 ug/mL	99.1	100
1	80 ug/mL	1.83 ug/mL	100	81
3	Control Positivo.		12.1	2.75×10^6
1	Control Negativo.		100	0

C.M.B.	68.0 ug/ml
C.M.I.	68.0 ug/ml

ROCEPHIN



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
□ SERIE 1	53.5	58.1	76.5	78.5	78.8	88.2	91.3	95.5	96.8	97.5
■ SERIE 2	53.2	58.8	76.3	78.4	78.8	80.9	92.3	94.5	98.6	100
□ SERIE 3	52.1	58.9	77.1	79.1	79.9	81.2	92.8	94.1	99.1	100

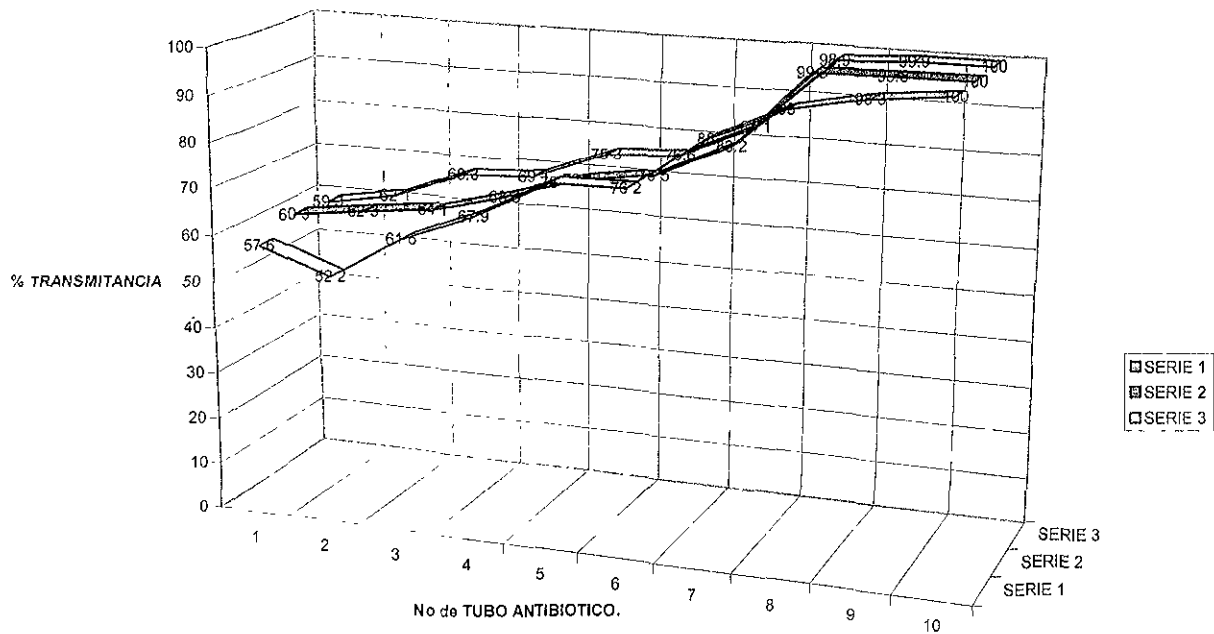
ÓTICO:		TACEX G.I.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFTRIAXONA.				Serie:	1
BIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml	
3	44 ug/mL	1 005 ug/mL	57.6	> 300	
3	48 ug/mL	1.01 ug/mL	52.2	> 300	
3	52 ug/mL	1.18 ug/mL	61.6	> 300	
2	56 ug/mL	1.28 ug/mL	67.9	> 300	
2	60 ug/mL	1.37 ug/mL	76	> 300	
2	64 ug/mL	1.46 ug/mL	76.2	> 300	
	2	68 ug/mL	1.55 ug/mL	88	295
1/	72 ug/mL	1.64 ug/mL	95	199	
1	76 ug/mL	1.73 ug/mL	98.3	188	
1	80 ug/mL	1.83 ug/mL	100	83	
3	Control Positivo.		12.1	2.75×10^6	
1	Control Negativo.		100	0	

ÓTICO:		TACEX G.I.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFTRIAXONA.				Serie:	2
BIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml	
3	44 ug/mL	1.005 ug/mL	60.3	> 300	
3	48 ug/mL	1.01 ug/mL	62.3	> 300	
3	52 ug/mL	1.18 ug/mL	64.1	> 300	
2	56 ug/mL	1.28 ug/mL	68.3	> 300	
2	60 ug/mL	1.37 ug/mL	73.1	> 300	
2	64 ug/mL	1.46 ug/mL	75.5	> 300	
2	68 ug/mL	1.55 ug/mL	83.2	290	
f	72 ug/mL	1.64 ug/mL	99.3	200	
l	76 ug/mL	1.73 ug/mL	99.8	210	
l	80 ug/mL	1.83 ug/mL	100	88	
3	Control Positivo.		12.1	2.75×10^6	
l	Control Negativo.		100	0	

OTICO:	TACEX G.I.	MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538	
	FAMILIA: CEFTRIAXONA.	Serie:	3	
DEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
	44 ug/mL	1.005 ug/ml	59.3	> 300
	48 ug/mL	1.01 ug/mL	62.1	> 300
	52 ug/mL	1.18 ug/mL	68.3	>300
	56 ug/mL	1.28 ug/mL	69.1	> 300
	60 ug/mL	1.37 ug/mL	75.3	> 300
	64 ug/mL	1.46 ug/mL	76.6	>300
	68 ug/mL	1.55 ug/mL	84.1	290
	72 ug/mL	1.64 ug/mL	98.9	230
	76 ug/mL	1.73 ug/mL	99.9	190
	80 ug/mL	1.83 ug/mL	100	78
	Control Positivo.		12.1	2.75×10^6
	Control Negativo.		100	0

C.M.B.	72.0 ug/ml
C.M.J.	72.0 ug/ml

TACEX



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
□ SERIE 1	57.6	52.2	61.6	67.9	76	76.2	88	95	98.3	100
▣ SERIE 2	60.3	62.3	64.1	68.3	73.1	75.5	83.2	99.3	99.8	100
□ SERIE 3	59.3	62.1	68.3	69.1	75.3	76.6	84.1	98.9	99.9	100

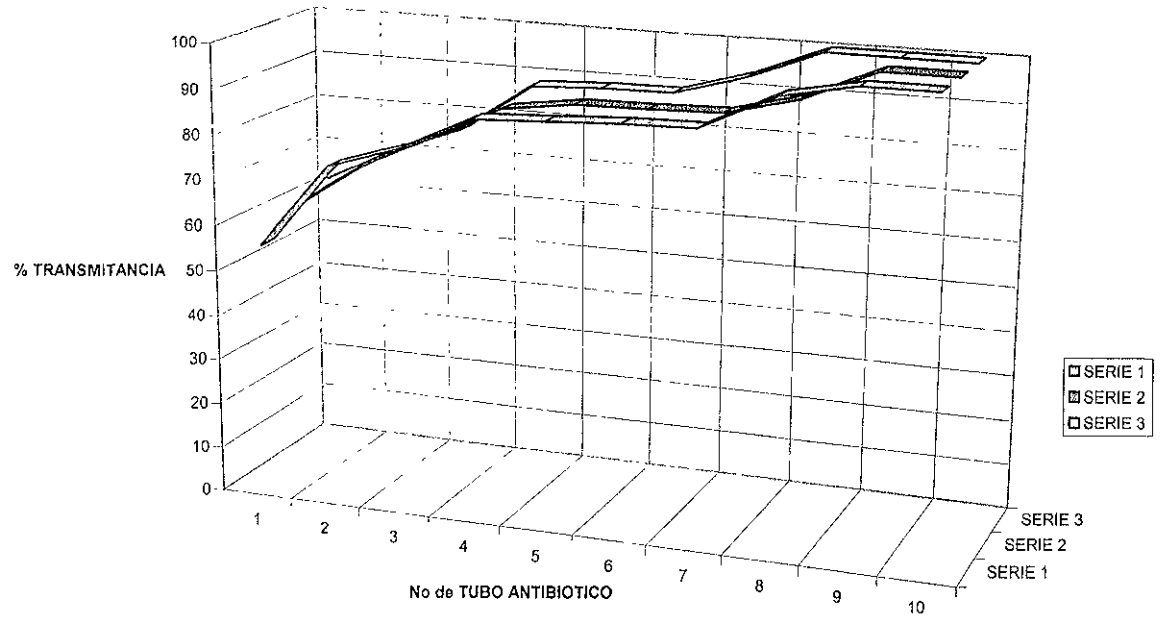
TIPO:	TERBAC.	MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538	
FAMILIA: CEFTRIAXONA.		Serie:	1	
BIDEX.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
2	44 ug/ml	1.005 ug/mL	55.4	> 300
2	48 ug/mL	1.01 ug/mL	74.3	> 300
2	52 ug/mL	1.18 ug/mL	79.3	280
2	56 ug/mL	1.28 ug/mL	87	270
1	60 ug/mL	1.37 ug/mL	88.9	250
1	64 ug/mL	1.46 ug/mL	88.6	232
1	68 ug/mL	1.55 ug/mL	87.8	207
1	72 ug/mL	1.64 ug/mL	96.8	191
1	76 ug/mL	1.73 ug/mL	100	180
1	80 ug/mL	1.83 ug/mL	100	75
3	Control Positivo.		12.1	2.75×10^6
1	Control Negativo.		100	0

TIPO:	TERBAC.	MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538	
FAMILIA: CEFTRIAXONA.		Serie:	2	
BIDEX.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
2	44 ug/mL	1.005 ug/mL	60.3	> 300
2	48 ug/mL	1.01 ug/mL	70.9	> 300
2	52 ug/mL	1.18 ug/mL	78.3	290
2	56 ug/mL	1.28 ug/mL	86.1	280
1	60 ug/mL	1.37 ug/mL	88.3	235
1	64 ug/mL	1.46 ug/mL	88.5	201
1	68 ug/mL	1.55 ug/mL	88.9	183
1	72 ug/mL	1.64 ug/mL	93.1	177
1	76 ug/mL	1.73 ug/mL	100	132
1	80 ug/mL	1.83 ug/mL	100	80
3	Control Positivo.		12.1	2.75×10^6
1	Control Negativo.		100	0

BIÓTICO:	TERBAC.	MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538	
	FAMILIA: CEFTRIAXONA	Serie:	3	
BIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
2	44 ug/mL	1.005 ug/mL	63	> 300
2	48 ug/mL	1.01 ug/mL	71	> 300
2	52 ug/mL	1.18 ug/mL	77.1	>300
2	56 ug/mL	1.28 ug/mL	88.2	275
1	60 ug/mL	1.37 ug/mL	89.1	251
1	64 ug/mL	1.46 ug/mL	88.9	233
1	68 ug/mL	1.55 ug/mL	93.7	201
1	72 ug/mL	1.64 ug/mL	100	157
1	76 ug/mL	1.73 ug/mL	100	140
1	80 ug/mL	1.83 ug/mL	100	79
3	Control Positivo.		12.1	2.75×10^6
1	Control Negativo.		100	0

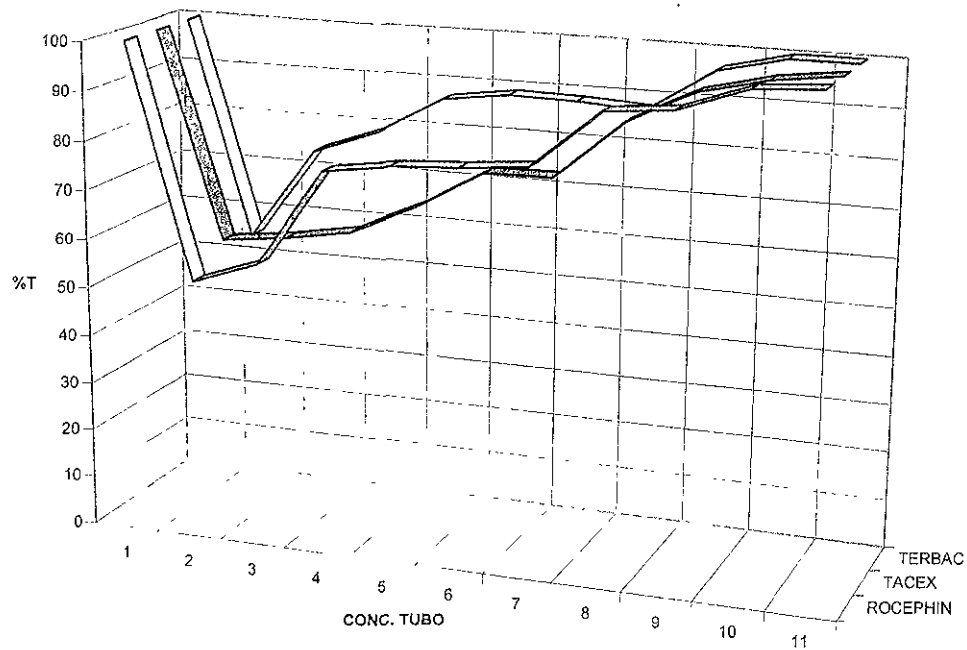
C.M.B.	56.0 ug/ml
C.M.I.	60.0 ug/ml

TERBAC



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
□ SERIE 1	55.4	74.3	79.3	87	87.8	88.6	88.9	96.8	100	100
□ SERIE 2	60.3	70.9	78.3	86.1	88.3	88.5	88.9	93.1	100	100
□ SERIE 3	63	71	77.1	86.2	86.9	89.1	93.7	100	100	100

CEFTRIAXONA



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
□ ROCEPHIN	100	52.1	56.9	77.1	79.1	79.9	81.2	92.8	94.1	99.1	100
□ TACEX	100	57.6	59.2	61.6	67.9	76	76.2	88	95	98.3	100
□ TERBAC	100	55.4	74.3	79.3	87	88.9	88.6	87.8	96.8	100	100

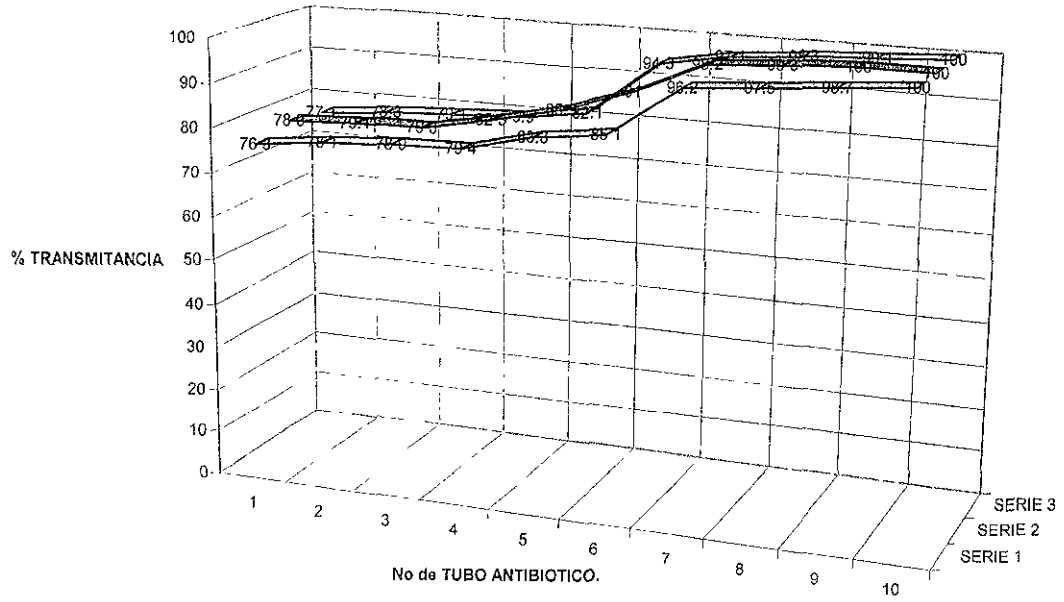
BIOTICO:	KEFLIN.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFALOTINA.			Serie:	1
RBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
3	11 ug/mL	0.2254 ug/mL	76.3	> 300
3	12 ug/mL	0.2458 ug/mL	78.1	> 300
3	13 ug/mL	0.2663 ug/mL	78.9	> 300
3	14 ug/mL	0.2868 ug/mL	79.4	> 300
3	15 ug/mL	0.3073 ug/mL	83.3	200
3	16 ug/mL	0.3278 ug/mL	85.1	125
2	17 ug/mL	0.3483 ug/mL	96.2	69
2	18 ug/mL	0.3689 ug/mL	97.5	58
1	19 ug/mL	0.3893 ug/mL	98.7	43
1	20 ug/mL	0.4098 ug/mL	100	0
3	Control Positivo.		13.6	1.37×10^6
1	Control Negativo.		100	0

BIOTICO:	KEFLIN.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFALOTINA.			Serie:	2
RBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA	UFC/ml
3	11 ug/mL	0.2254 ug/mL	78.3	> 300
3	12 ug/mL	0.2458 ug/mL	79.1	> 300
3	13 ug/mL	0.2663 ug/mL	79.3	> 300
3	14 ug/mL	0.2868 ug/mL	82.3	> 300
3	15 ug/mL	0.3073 ug/mL	85.9	250
3	16 ug/mL	0.3278 ug/mL	91	180
2	17 ug/mL	0.3483 ug/mL	98.2	83
2	18 ug/mL	0.3689 ug/mL	99.3	34
1	19 ug/mL	0.3893 ug/mL	100	0
1	20 ug/mL	0.4098 ug/mL	100	0
3	Control Positivo.		13.6	1.37×10^6
1	Control Negativo.		100	0

ANTIBIOTICO:	KEFLIN.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
	FAMILIA: CEFALOTINA.		Serie:	3
URBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
3	11 ug/mL	0.2254 ug/mL	77.1	> 300
3	12 ug/mL	0.2458 ug/mL	78.3	> 300
3	13 ug/mL	0.2663 ug/mL	79.1	> 300
3	14 ug/mL	0.2868 ug/mL	79.9	> 300
3	15 ug/mL	0.3073 ug/mL	82.1	215
3	16 ug/mL	0.3278 ug/mL	94.3	130
2	17 ug/mL	0.3483 ug/mL	97.1	70
2	18 ug/mL	0.3689 ug/mL	98.3	60
1	19 ug/mL	0.3893 ug/mL	99.1	53
1	20 ug/mL	0.4098 ug/mL	100	0
3	Control Positivo.		13.6	1.37×10^6
1	Control Negativo.		100	0

C.M.B.	16.0 ug/ml
C.M.I.	19.0 ug/ml

KEFIN



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
□ SERIE 1	76.3	78.1	78.9	79.4	83.3	85.1	96.2	97.5	98.7	100
■ SERIE 2	78.3	79.1	79.3	82.3	85.9	91	98.2	99.3	100	100
○ SERIE 3	77.1	78.3	79.1	79.9	82.1	94.3	97.1	98.3	99.1	100

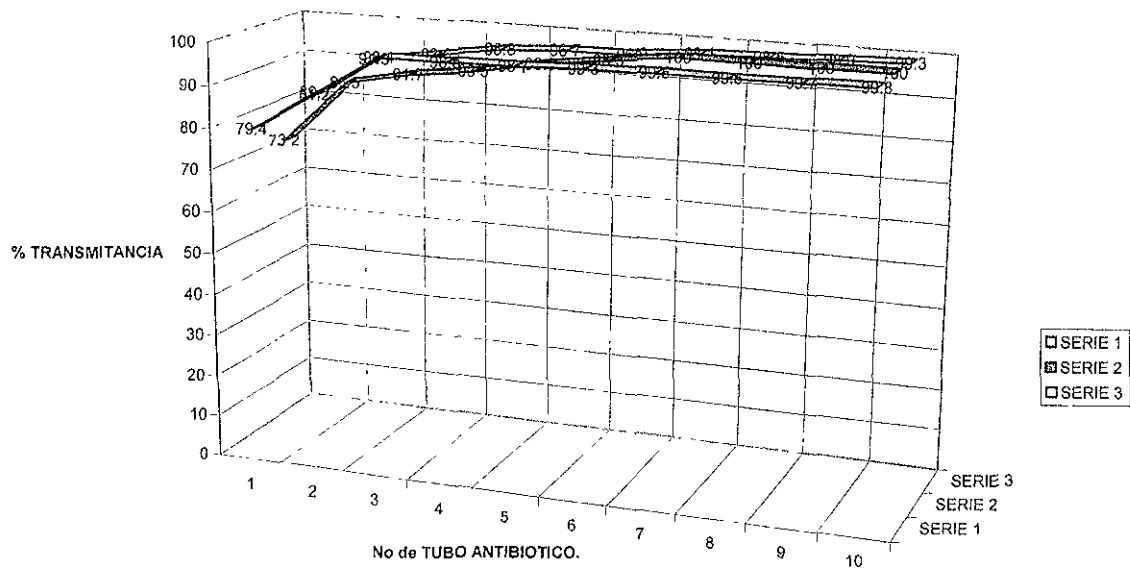
ANTIBIOTICO:		CEFALOTINA.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFALOTINA.				Serie:	1
TURBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml	
3	11 ug/mL	0.2254 ug/mL	79.4	> 300	
2	12 ug/mL	0.2458 ug/mL	89.1	110	
2	13 ug/mL	0.2663 ug/mL	98.4	80	
1	14 ug/mL	0.2868 ug/mL	98.5	70	
1	15 ug/mL	0.3073 ug/mL	98.7	50	
1	16 ug/mL	0.3278 ug/mL	99.3	< 30	
1	17 ug/mL	0.3483 ug/mL	99.5	< 30	
1	18 ug/mL	0.3689 ug/mL	99.5	< 30	
1	19 ug/mL	0.3893 ug/mL	99.7	< 30	
1	20 ug/mL	0.4098 ug/mL	99.8	0	
3	Control Positivo.		13.6	1.37×10^6	
1	Control Negativo.		100	0	

ANTIBIOTICO:		CEFALOTINA.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
FAMILIA: CEFALOTINA.				Serie:	2
TURBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml	
3	11 ug/mL	0.2254 ug/mL	73.2	222	
2	12 ug/mL	0.2458 ug/mL	88.5	196	
2	13 ug/mL	0.2663 ug/mL	91.7	116	
1	14 ug/mL	0.2868 ug/mL	93.5	96	
1	15 ug/mL	0.3073 ug/mL	96.3	30	
1	16 ug/mL	0.3278 ug/mL	98.3	< 30	
1	17 ug/mL	0.3483 ug/mL	100	0	
1	18 ug/mL	0.3689 ug/mL	100	0	
1	19 ug/mL	0.3893 ug/mL	100	0	
1	20 ug/mL	0.4098 ug/mL	100	0	
3	Control Positivo.		13.6	1.37×10^5	
1	Control Negativo.		100	0	

ANTIBIOTICO:	CEFALOTINA.		MICROORGANISMO:	S.aureus ATCC 6538
	FAMILIA: CEFALOTINA.		Serie:	3
URBIDEZ.	CONCENTRACION ANTIBIOTICO.	CONCENTRACION REAL.	% de TRANSMITANCIA.	UFC/ml
3	11 ug/ml	0.2254 ug/mL	81.2	> 300
2	12 ug/mL	0.2458 ug/mL	91.3	150
2	13 ug/mL	0.2663 ug/mL	93.6	93
1	14 ug/mL	0.2868 ug/mL	95.8	85
1	15 ug/mL	0.3073 ug/mL	96.7	< 30
1	16 ug/mL	0.3278 ug/mL	96.9	< 30
1	17 ug/mL	0.3483 ug/mL	98.1	< 30
1	18 ug/mL	0.3689 ug/mL	98.5	< 30
1	19 ug/mL	0.3893 ug/mL	98.9	< 30
1	20 ug/mL	0.4098 ug/mL	99.3	< 30
3	Control Positivo.		13.6	1.37×10^6
1	Control Negativo.		100	0

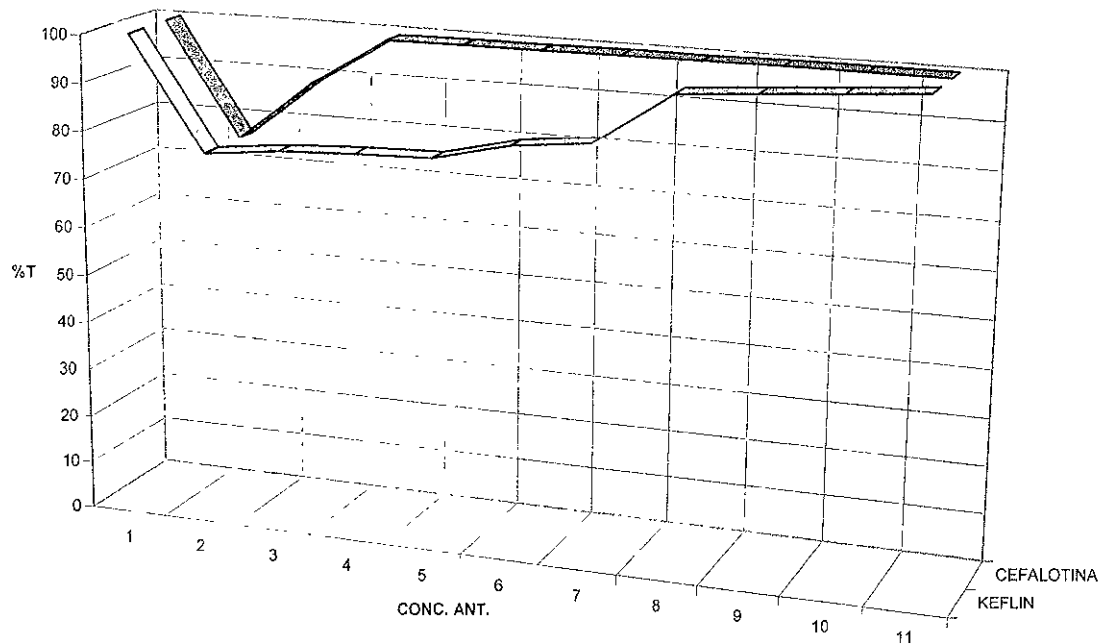
C.M.B.	12.0 ug/ml
C.M.I.	14.0 ug/ml

CEFALOTINA



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
□ SERIE 1	79.4	89.1	98.4	98.5	98.7	99.3	99.5	99.5	99.7	99.8
■ SERIE 2	73.2	88.5	91.7	93.5	96.3	98.3	100	100	100	100
○ SERIE 3	81.2	91.3	93.6	95.8	96.7	96.9	98.1	98.5	98.9	99.3

CEFALOTINA



□ KEFLIN
 ▤ CEFALOTINA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
□ KEFLIN	100	76.3	78.1	78.9	79.4	83.3	85.1	96.2	97.5	98.7	100
▤ CEFALOTINA	100	76.4	89.2	99.3	99.5	99.6	99.8	99.8	100	100	100

DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

Familia: CEFALOTINA.

RELACION DE ANTIBIÓTICOS.

 R^2

CEFALOTINA G.I./ KEFLIN.	0.586
--------------------------	-------

Familia: CEFTRIAXONA.

RELACION DE ANTIBIÓTICOS.

 R^2

TERBAC / TACEX.	0.873
TERBAC / ROCEPHIN.	0.954
TACEX / ROCEPHIN.	0.893

Familia: CEFOTAXIMA.

RELACION DE ANTIBIÓTICOS.

 R^2

CLAFORAN / TAPORIN G.I.	0.935
-------------------------	-------

Familia. CEFTAZIDIMA.

RELACION DE ANTIBIÓTICOS.

 R^2

CEFTAZIDIMA G.I. / TAXIFUR.	0.902
TAXIFUR / FORTUM	0.332
CEFTAZIDIMA G.I. / FORTUM.	0.351

Se realizaron estudios comparativos entre los diferentes medicamentos de las diferentes familias en donde se encontraron diferencias significativas en el caso de la CEFALOTINA y el KEFLIN. Y el comportamiento de la CEFTAZIDIMA G.I. en comparación con sus marcas comerciales como el FORTUM y el TAXIFUR.

Los análisis estadísticos primarios se llevaron a cabo según el principio de la intención a tratar si existe una correlación entre la concentración del antibiótico (en estos casos se analizaron en forma de logaritmo natural) y su correspondiente transmitancia, de igual manera se analizo la correlación de las mismas curvas linearizadas contra otros medicamentos de la misma familia.

Para el análisis estadístico, los datos se organizaron en una base de datos, en donde se vació la información recibida, de las corridas experimentales realizadas por triplicado, para el análisis de resultados, se utilizo el programa informatico SPSS (versión 10, SPSS Inc Chicago .ILL.)

Los análisis multivariados incluyeron la prueba de la X^2 , con el factor de correlación y la prueba exacta de Fischer para la comparación de las variables categóricas. Para evaluar la asociación de los diferentes patrones de resistencia a fármacos con los resultados del tratamiento.

Por consiguiente, se presenta el coeficiente de correlación R^2 y los intervalos de confianza del 95%, donde se aceptó como buena asociación de datos con una $R^2 > 0.80$, desechándose las correlaciones menores de 0.80 (R^2).

CONCLUSIONES.

En base a los coeficientes de correlación entre los diferentes antibióticos, se generan las siguientes conclusiones en base a las observaciones realizadas:

El presente ensayo ha revelado diferencias significativas de grupo en las CEFTAZIDIMAS y la CEFALOTINA

1. FAMILIA CEFALOTINA.

El antibiótico CEFALOTINA GI. Tiene diferencias significativas en comparación con el antibiótico innovador KEFLIN, por lo que no es recomendable para su intercambio en el uso terapéutico, se obtuvo una respuesta mas favorable de la CEFALOTINA GI. en fusión de sus concentraciones bactericidas y bacteriostáticas.

2. FAMILIA CEFTRIAXONA.

Los antibióticos TACEX , TERBAC y ROCEPHIN. De los cuales el primero es el genérico se comportan de manera similar, por lo que no tiene una diferencia significativa entre ellos, por lo que si se recomienda el intercambio de los antibióticos en el uso terapéutico.

3. FAMILIA CEFOTAXIMA.

El antibiótico genérico TAPORIN GI. Se comporta de manera similar con la marca innovadora. CLAFORAN. Por lo que si es valido su intercambio terapéutico sin afectar el tratamiento del paciente.

4. FAMILIA CEFTAZIDIMA.

En este caso los medicamentos se comportaron de distintas maneras en donde solo se acepta el intercambio entre la CEFTAZIDIMA GI. y el TAXIFUR. De los demás análisis se desechan las interacciones entre el TAXIFUR con FORTUM y La asociación entre la CEFTAZIDIMA GI, y el FORTUM. Se concluye que en este caso se sigue recomendando el uso del antibiótico innovador que es el TAXIFUR, que presento una menor concentración bactericida y bacteriostática.

Todas las respuestas observadas de las concentraciones tanto bactericida como bacteriostática de los medicamentos analizados en este estudio quedan bajo de sus dosis máximas, por lo que si se pueden recomendar en el uso terapéutico, los medicamentos genéricos que resultaron aprobados para su intercambio terapéutico.

Los patógenos grampositivos originan gran parte de las infecciones nosocomiales y de las adquiridas en la comunidad. Pocos aspectos llaman la atención como el problema creciente de la resistencia a múltiples fármacos entre los grampositivos, que en conjunto representan dos terceras partes de las bacteremias nosocomiales, además de otro tipo de infecciones.

Las evidencias disponibles indican que los resultados de las corridas de los diferentes antibióticos cefalosporínicos, se comportan de manera similar en función de sus transmitancias. A su vez se concluye que la prueba turbidimétrica no es concluyente en función de la detección de potencia bactericida. Ya que se encontraron crecimientos positivos a concentraciones cercanas a la CMI, con transmitancias cercanas al 100%. Por lo que se sugiere el desarrollo de la técnica completa con los cultivos y cálculo de CMB.

SUGERENCIAS Y/O RECOMENDACIONES.

El objetivo de estas investigaciones fue el establecer respuestas concluyentes acerca de la confiabilidad de los medicamentos genéricos y su acción bactericida en la terapéutica.

Los hallazgos del presente estudio, demuestra que como tratamiento terapéutico los medicamentos genéricos si cumplen con su propósito antibacteriano. Pudimos comprobar la eficacia de su potencia bactericida en comparación con marcas comerciales en donde se incluyó al antibiótico innovador en cuatro familias de cefalosporinas inyectables.

En resumen, tiende a ser claro el papel que tienen los medicamentos genéricos en la nueva terapéutica de todo el mundo.

Los resultados obtenidos marcan tendencias en el uso de los medicamentos genéricos, que pueden ayudar a los profesionales clínicos o de laboratorio, para la orientación en dar recomendaciones de suplementación terapéutica a pacientes de escasos recursos económicos. Porque las implicaciones económicas de una infección mal tratada pueden ser devastadoras. Sin importar si se requiere una internación hospitalaria.

Se puede concluir con certeza que los medicamentos genéricos analizados en este estudio cumplen con su propósito en función de su potencia bactericida ya que han pasado una serie de pruebas iguales que lo certifican como farmacológicamente bioequivalente o idéntico al innovador con la misma eficacia. Y que se proporciona a los pacientes a un menor precio.

En el rubro de las sugerencias se indica que la técnica realizada es factible desarrollarla en el marco de la micro escala guardando las medidas de seguridad de equipo, material y sobre todo espacio de trabajo. Ya que los volúmenes utilizados son propensos a sufrir contaminaciones por el medio ambiente. Por lo que en el anexo de este estudio se presenta la técnica adaptada a la micro escala.

Finalmente, cuando a un paciente le receten un medicamento GI y observe que el envase, aspecto físico, color, etc.. son distintos a los del medicamento que habitualmente toma, debe tener la confianza de que es un producto certificado es igual en su eficacia terapéutica.

ANEXO

i

REPARACION DE SOLUCIONES DE ANTIBIOTICOS PARA EL ESTUDIO DE SENSIBILIDAD BACTERIANA.

Antibiótico.	Secado	Solvente Inicial	Diluyente	Concentración	Almacenamiento en refrigeración	Diluyente Final	Dosis media activada En ug o U/ml.	Factor de Dilución
ANFOTERICINA B	1	----	DIMETIL SULFOXIDO	1mg	Usar el mismo día	10	1 0ug	1 25
AMPICILINA	NO	---	AGUA DESTILADA	0 l	1 semana		1.0 ug	1 25
BACITRACINA ZINC	1	---	HCl 0 01N	100 ug	Usar mismo día	1	1 0 ug	1 25
BLEOMICINA	4	---	0 1M pH 7 0	2U	2 semanas	16	0.04u	2 0
CARBENICILINA	NO	---	pH 6 0 1%	1 mg	2 semanas	1	20 0ug	1 25
DACTINOMICINA	1	10,000 ug/mL EN ALCOHOL METILICO	0 1M pH 8 0	1mg	3 meses	13	1 0ug	1 41
DICLOXACILINA	NO	---	pH 6 0 1%	1 mg	7 días	1	5 0ug	1 25
ERITROMICINA	1	10,000 ug/mL EN ALCOHOL METILICO	0 1M pH 8 0	1 mg	14 días	3	1 0 mg	1 25
GENTAMICINA	2	---	0 1M pH 8 0	1 mg	1 mes	3	1 0 ug	1 25
GRISEOFULVINA	NO	---	DIMETILFORMIDAO	1 mg	3 meses	3	5 0 ug	1 25
KANAMICINA B	NO	---	0 1M pH 8 0	1mg	1 mes	3	1 0ug	1 25
MITOMICINA	NO	---	pH 6 0 1%	1 mg	14 días	1	1 0ug	1 25
NEOMICINA	1	---	0 1M pH 8 0	1 mg	2 semanas	3	1 0ug	1 25
NISTATINA	3	---	DIMETILFORMIDA	1mg	usar mismo día	6	20 0u	1 25
PENICILINA G	NO	---	1% pH 6 0	1000u	4 días	1	1 0u	1 25
POLIMIXINA B	1	AGUA DESTILADA	10% pH 6 0	10,000 u	2 semanas	6	10 0u	1 25
AMIKACINA	NO	----	AGUA DESTILADA	1 mg	2 semanas	agua destilada	10 0	0 12
CLORAMFENICOL	NO	ALCOHOL ETILICO 10000 ug/mL.	AGUA DESTILADA	1 mg	1 mes	agua destilada	2 50	1 25
ESTREPTOMICINA	1	---	AGUA DESTILADA	1mg	1 mes	Agua destilada	30 0	1 12
GRAMICIDINA	1	----	ALCOHOL ETILICO	1mg	1 mes	alcohol etilico	0 40	1 12
KANAMICINA	NO	---	AGUA DESTILADA	1mg	1 mes	agua destilada	10 0	1 12
ROLITETRACICLINA	1	---	AGUA DESTILADA	1mg	1 día	agua destilada	0 240	1 12
TETRACICLINA	NO	----	HCl 0 1 N	1 mg	1 día	agua destilada	0 240	1 12
RIFAMPICINA	1	----	ALCOHOL METILICO	1 mg	1 día	1	5 0ug	1 25

Fuente: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. ⁽¹²⁾

SOLUCIONES REGULADORAS Y OTRAS SOLUCIONES. ⁽¹⁹⁾

Preparar como se indica o por otros medios adecuados, las soluciones reguladoras de fosfato de potasio requeridas para la prueba de antibióticos. Las soluciones reguladoras se designan con los números que corresponden a los empleados en las regulaciones de Food and Drug Administration. Las soluciones se esterilizan después de su preparación y el pH específico de cada una, es el que se debe tener después de la esterilización, el cual se ajusta con solución 18N de ácido fosfórico o solución 10N de hidróxido de potasio.

• SOLUCIÓN 1

Al 1% pH 6.0

Disolver 2.0 g de fosfato dibásico de potasio y 8.0 g de fosfato monobásico de potasio en 1000 mL de agua destilada. Ajustar el pH a 6.0 +/- 0.05.

• SOLUCIÓN 2

0.1 M pH 8.0

Disolver 16.73 g de fosfato dibásico de potasio y 0.523 g de fosfato monobásico de potasio en 1000 mL de agua destilada. Ajustar el pH a 8.0 +/- 0.1.

• SOLUCIÓN 3

10%, pH 6.0

Disolver 20.0 g de fosfato dibásico de potasio y 80.0 g de fosfato monobásico de potasio en 1000 mL de agua destilada. Ajustar el pH a 6.0 +/- 0.05.

• SOLUCIÓN 4

0.2M, pH 10.5

Disolver 35.0 g de fosfato dibásico de potasio en 1000mL de agua destilada y añadir 2 mL de hidróxido de potasio 10N. Ajustar el pH con solución 18 N de ácido fosfórico o con solución 10 N de hidróxido de potasio a 10.5 +/- 0.1

• SOLUCIÓN 5

0.1 M pH 7.0

Disolver 13.6 g de fosfato dibásico de potasio y 4.0 g de fosfato monobásico en 1000 mL de agua destilada. Ajustar el pH con solución 18 N de ácido fosfórico o con solución 10 N de hidróxido de potasio a 7.0 +/- 0.2.

MÉTODOS DE SECADO PARA ANTIBIOTICOS. (19)

Método 1

Secar a una temperatura de 60°C y a una presión de 5 mm de Hg por 3 horas., colocar en un desecador con gel de sílice o pentóxido de fósforo.

Método 2

Proceder como el método 1, excepto que hay que secar la muestra a 110°C a una presión de 5 mm de Hg o menos , durante 3 horas.

Método 3

Proceder como el método 1, excepto que ha que secar la muestra a 40°C a una presión de 5 mm de Hg o menos, durante 2 horas.

Método 4

Proceder como en el método 1, excepto que hay que secar la muestra a 25°C a una presión de 5 mm de Hg o menos, durante 4 horas.

Las pruebas microbiológicas tienen una marcada aceptación en precisión y confianza a través del diseño de experimentos adecuados.

La prueba recomendada es la de una dilución, con una curva de referencia, para esta prueba preparar una curva de referencia con 5 o más diluciones de la preparación de referencia, procurando que quede incluida una que corresponda a la concentración de referencia y una sola dilución de la concentración media de la muestra,

Las determinaciones microbiológicas de potencia están sujetas a variables inter-pruebas, de tal manera que se requieren 2 o más pruebas independientes para una estimación real de la potencia de una muestra. Empezar con soluciones concentradas preparadas individualmente y diluciones de prueba de la referencia y de la muestra, repetir la prueba de la muestra en un día diferente, Si la potencia estimada de la segunda prueba difiere significativamente de la primera por el calculo del error estándar, realizar una o más pruebas adicionales. El resultado combinado de una serie de pequeñas pruebas independientes, desarrolladas en diferentes días, da una estimación más real de la potencia, que la obtenida en una sola ocasión, con el mismo número de placas o tubos.

PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD EN CALDO DE MICRODILUCIÓN. (26, 28)

La prueba de micro dilución es una adaptación de la prueba macroscópica de referencia. Puede probarse con facilidad gran número de aislamientos contra múltiples drogas, de modo que el procedimiento está bien adaptado al uso de rutina. Esta prueba suministra más información cuantitativa, que puede ser muy útil en ciertas circunstancias, que la prueba de difusión en discos.

PRINCIPIO.

El principio de micro dilución es el mismo que para la prueba macroscópica. Los aislamientos bacterianos son expuestos a una serie de diluciones de cada agente antimicrobiano, después de lo cual se determina la concentración de la droga que inhibe el crecimiento mediante inspección visual.

MEDIOS Y REACTIVOS.

- Caldo nutriente (se recomienda caldo digestivo de caseína-soja)
- 0.5 estándar de McFarland para ajustar la turbidez del inóculo.
- Fondo blanco con líneas negras para comparar la turbidez del inóculo con un estándar 0.5 de McFarland.
- Placas de micro titulación liofilizadas o congeladas que contengan antibióticos en caldo de Mueller-Hinton suplementado con cationes.
- Inoculadores de puntas múltiples; ansas de alambre o puntas de plástico descartables.
- Espejo de lectura y plantilla para la visualización de los puntos finales. Puede hacerse análisis fluorométrico o fotométrico si se demuestra equivalente a la inspección visual.

PREPARACION DEL INOCULO.

Deben seleccionarse por lo menos cinco o seis colonias de apariencia similar, se ajusta la turbidez del caldo de cultivo con crecimiento activo a la densidad de 0.5 estándar de McFarland. También puede producir resultados satisfactorios un método directo, en el cual las bacterias de una placa incubada durante la noche se ajustan directamente. El grado de dilución del inóculo dependerá del sistema, porque los dispositivos de inoculación dispensan varios volúmenes de fluido. Cada receptáculo debe contener aproximadamente 5×10^5 UFC/mL.

INOCULACION DE LAS PLACAS.

Se inoculara la suspensión bacteriana en cada receptáculo de la microplaca dentro de los 15 minutos de ajustada la densidad del inóculo. Un receptáculo debe contener bacterias son antibiótico (crecimiento de control) y otro, sólo caldo (control de esterilidad). Si el volumen del inóculo excede el 10% del volumen del receptáculo, debe calcularse el efecto de la dilución sobre el agente antimicrobiano. Para evitar el secado, se sellan las placas en una bolsa plástica, con cinta o con una tapa hermética. Debe inocularse una porción de una placa de agar nutriente, como agar-sangre, para detectar contaminación.

INCUBACION.

Se incuban las placas a 35°C en un incubador de aire forzado durante 16 a 20 horas. No deben colocarse más de 4 placas por estante para mantener una temperatura de incubación uniforme.

INTERPRETACION.

La MIC es la menor concentración de un antibiótico que inhibe el crecimiento de un aislamiento. Puede determinarse mediante la visualización de las placas, sin ayuda instrumental, comparando el crecimiento en los receptáculos que contienen antibiótico con el control. Un espejo visor, con el que puede verse el fondo de los micro tubos, facilita la observación. Es útil el uso de una plantilla con el detalle de contenido de cada receptáculo.

Se consultan los lineamientos para la interpretación de los resultados de la MIC como susceptibles, moderadamente susceptibles o resistentes.

Se examina la pureza de las placas y se repite la prueba si hay contaminación.

DETERMINACION DE LA CONCENTRACION BACTERICIDA MINIMA. (13)

La concentración bactericida mínima (MBC) de un antibiótico es la concentración de antibiótico que destruye, por lo menos 99.9% de un inóculo bacteriano normatizado. Las indicaciones para la prueba son pocas.

Se requiere gran cuidado para la interpretación de los resultados.

Unos pocos antibióticos inhiben el crecimiento bacteriano sin destruir a los microorganismos, pero la mayor parte de los antibióticos modernos ejercen actividad letal. La concentración de la droga que inhibe el crecimiento está muy próxima a la concentración que produce la muerte de las bacterias (dentro de 1 a 2 diluciones dobles). En algunas situaciones, existe gran diferencia entre la concentración inhibidora y la letal. La tolerancia ha sido definida operacionalmente como una diferencia entre la concentración inhibidora o la letal. La tolerancia ha sido definida como una diferencia que está, por lo menos, 32 veces duplicada.

MATERIALES Y REACTIVOS.

- Caldo de Mueller-Hinton para la realización de la prueba MIC.
- Estándar de turbidez de McFarland 1.0 y 0.5.
- Tubos de vidrio de borosilicato lavados con ácido escrupulosamente limpios.
- Mezclador vórtex.
- Micro pipeta Eppendorf o similar.
- Placas de agar sangre nutriente, como agar sangre, para subcultivar el caldo.

PREPARACION DEL INOCULO.

Sé subcultiva el microorganismo de prueba y el control de calidad en medio apropiado (por lo general placa de agar sangre) y se incuba durante la noche a 35°C.

Se inocula un tubo que contenga 3 mL de caldo de Mueller-Hinton. con cinco o más colonias de la placa y se ajusta la turbidez al tubo #1 estándar de McFarland (aproximadamente 105 UFC/mL)

Transferir 0.1 mL del caldo con las bacterias en 10 mL de caldo de Mueller-Hinton, incubar en un baño de agua con agitador o equivalente a 35°C hasta turbiedad estándar (5 o 6 h. para bacterias de crecimiento rápido). Los microorganismos de control deben inocularse en 3 mL de caldo e incubarse sin agitación hasta turbiedad patrón. De esta manera la bacteria está en fase exponencial de crecimiento.

Preparar diluciones seriadas al doble del antibiótico en 2 mL de caldo de Mueller-Hinton. Usar tubos de vidrio borosilicato lavados con ácido.

Se prepara 0.1 mL del inóculo diluido con una pipeta Eppendorf o similar en tubos que contengan diluciones seriadas de antibiótico. Se inserta la punta debajo de la superficie del caldo, evitando cualquier contacto con las paredes del tubo. Se enjuaga la punta 5 veces. Puede usarse la misma punta si se inoculan los tubos desde la menor concentración de antibiótico a la mayor. La medida del inóculo final es de aproximadamente 2.5×10^5 UFC/mL.

Se incuban los tubos durante 20 horas a 35°C

CUANTIFICACION DEL INOCULO.

Realizar cuatro diluciones seriadas de 1:2 de la dilución final del inóculo (aproximadamente 5×10^6 UFC/ mL) en caldo de Mueller-Hinton (concentración final de 5×10^2 UFC/mL)

Colocar, por duplicado, 0.1 mL en la superficie de una placa de agar sangre. esparcir el inóculo de forma pareja con una varilla curva de vidrio, estéril.

Incubar las placas a 35°C durante la noche.

DETERMINACION DE LA MIC.

Después de la incubación nocturna, se determina la MIC de las cepas del control de calidad mediante inspección visual de los tubos.

Mezclar los tubos sin crecimiento durante 15 segundos para suspender cualquier bacteria que hubiese podido adherirse a las paredes del tubo. Reincubar los tubos durante 4 horas adicionales.

Determinar la MIC de la cepa por inspección visual de los tubos.

SUBCULTIVO PARA LA DETERMINACION DE LA MBC.

Después de las cuatro horas adicionales de incubación, se centrifugan nuevamente los tubos con el aislamiento del paciente que se observan claramente claros. Se extienden 0.1 mL de cada tubo sobre la superficie de las placas de agar sangre secas, con varillas dobladas de vidrio, estériles.

Se incuban las placas durante la noche (o más tiempo para los microorganismo de crecimiento lento) a 35°C.

DETERMINACION DE LA MBC.

Se cuentan las colonias bacterianas en cada placa de subcultivo MBC.

Se determina el número de colonias en el inóculo original, contando una dilución de un subcultivo cuantitativo que produce entre 20 y 200 colonias después de incubadas por el mismo período que los subcultivos MBC. Con práctica en la preparación del inóculo, sólo la dilución punto final estimada necesita subcultivarse por duplicada en agar.

La MBC es la concentración mínima de antibiótico que produce una destrucción del 99.9 % . Por ejemplo; si la cuarta placa del inóculo contiene 45 colonias, el inóculo real era de 4.5×10^5 UFC/mL (45 colonias/0.1 mL X 3 diluciones seriadas de 10 en 10 = $45 \times 10 \times 10^3 = 45 \times 10^4 = 4.5 \times 10^5$). Una reducción de tres log 10 (destrucción del 99.9 %) debe resultar en una concentración de 4.5×10^2 UFC/ mL. El subcultivo de 0.1 mL de ese tubo debe producir 45 colonias en la placa de subcultivo. Por lo tanto, cualquier concentración de antibiótico que produce menos de 45 colonias después de ser subcultivada es considerada bactericida. Si reapareciera crecimiento bacteriano en concentraciones de antibiótico mayores que la aparente para el punto final MBC, puede notarse la presencia del efecto paradójico.

La definición más común de 'tolerancia' es una discrepancia entre la MIC y la MBC de, por lo menos, cinco diluciones dobles. Deben tomarse recaudos para minimizar la posibilidad de que artificios de laboratorio produzcan la apariencia de tolerancia.

VALORACION YODOMETRICA DE ANTIBIÓTICOS BETALACTAMICOS. (19)

Se basa en la inactivación de las penicilinas por rompimiento hidrolítico del anillo betalactamico. El producto resultante es ácido peniciloico el cual consume yodo.

Para el análisis se prepara un blanco y una muestra, esta es inactivada con hidróxido de sodio, a ambos (blanco y muestra) se añade un exceso de solución valorada de yodo. El yodo no consumido se titula con tiosulfato de sodio y la diferencia en los volúmenes de solución de yodo consumido se relaciona al contenido de penicilinas de la parte alícuota que se midió.

TITULACION.

A 2 mL de la solución de referencia y de la muestra, añadir 2 mL disolución 1N de hidróxido de sodio, mezclar mediante agitación y dejar reposar durante 15 minutos. Adicionar a cada uno de los matraces 2.0 mL de solución 1.2 N de ácido clorhídrico y 10 mL de solución 0.1N de yodo, inmediatamente colocar el tapón y dejar reposar durante 15 minutos. Titular con solución 0.01N de tiosulfato de sodio. Para visualizar el punto final adicionar una gota de pasta de almidón yodurado y continuar la titulación hasta que el color azul desaparezca.

DETERMINACION DEL BLANCO.

Adicionar a un matraz que contenga 2.0 mL de la solución de referencia, 10 mL de solución 0.01N de yodo. Si la solución contiene amoxicilina o ampicilina, inmediatamente adicionar 0.1mL de solución 1.2 N de ácido clorhídrico y titular de inmediato con solución 0.01N de tiosulfato de sodio. Para visualizar el punto final añadir una gota de almidón yodurado y continuar la titulación hasta la desaparición del color azul. De manera similar, tratar un matraz que contenga 2.0 mL de la solución de la muestra preparada.

CALCULOS.

Calcular los microgramos o unidades equivalentes a cada mL de solución 0.01N de tiosulfato de sodio consumido por la solución de referencia mediante la formula $(2CP/(B-1))$; en donde C es la concentración en mg por mL de la referencia, P es la potencia en microgramos o unidades por mg de la solución. de referencia, B es el volumen en mL de la solución 0.01N de tiosulfato de sodio consumido en la determinación del blanco., l es el volumen en mililitros de solución 0.01N de tiosulfato de sodio consumido en la titulación e inactivación.

Calcular la potencia de la muestra que se esta valorando mediante la formula dada en la monografía individual.

ANEXO

ii

MICROORGANISMOS GRAM POSITIVOS. (14, 30)

MICROORGANISMOS	SENSIBILIDAD.
<u>Streptococcus grupo A</u>	Penicilina natural, eritromicina, lincomicina.
<u>Streptococcus viridians.</u>	Penicilina y estreptomicina, vancomicina, gentamicina, ampicilina.
<u>Streptococcus microaerofílico.</u>	Penicilina natural, eritromicina clindamicina, metronidazol.
<u>Streptococcus faecalis.</u>	Penicilina y estreptomicina, gentamicina, ampicilina, vancomicina.
<u>Streptococcus pneumoniae.</u>	Penicilina natural, ceftriaxona, vancomicina.
<u>Staphylococcus aureus.</u>	Penicilina natural (sensible), oxacilina, dicloxacilina (resistente)
<u>Staphylococcus epidermidis.</u>	Oxacilina, dicloxacilina, cefalosporinas, vancomicina.
<u>C. tetani y otros.</u>	Penicilina natural
<u>Listeria monocytogenes.</u>	Ampicilina, cloranfenicol, tetraciclina.
<u>C. diphtheriae.</u>	Penicilina natural.
<u>Richettsia.</u>	Tetraciclina, cloranfenicol.

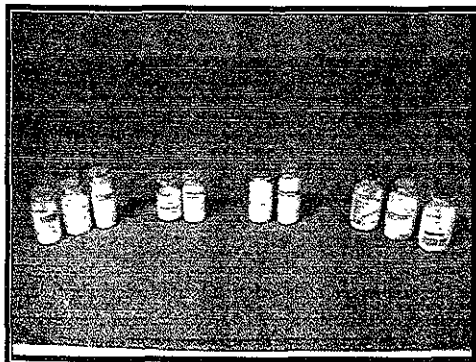
MICROORGANISMOS GRAM NEGATIVOS.

MICROORGANISMO	SENSIBILIDAD
<i>E. coli.</i>	Tmp-Smz, nitrofuranos, ampicilina, quilonas. Gentamicina, amikacina. cefotaxima.
<i>Klebsiella sp.</i>	Gentamicina, amikacina, aztreonam, ceftriaxona.
<i>Enterobacter sp.</i>	Gentamicina, amikacina, ceftriaxona, carbapenem.
<i>P. mirabilis</i>	ampicilina, cloranfenicol, carbenicilina.
<i>Proteus indol +</i>	Carbenicilina, gentamicina, amikacina.
<i>Pseudomas aureginosa</i>	Gentamicina, amikacina, ureidopenicilinas, carbenicilina, ceftazidima.
<i>Salmonella sp.</i>	Cloranfenicol, ampicilina, Tmp-Smz, gentamicina, amikacina.
<i>Shigella.</i>	Ampicilina, Tmp-Smz, cloranfenicol.
<i>H. inflkuenzae.</i>	Amoxicilina, ampicilina, cloranfenicol, cefuroxima.
<i>Bacteroides sp.</i>	Penicilina natural, cloranfenicol, clindamicina, carbepenem
<i>B. anthracis.</i>	Sulfadiazina, Tmp-Smz.
<i>B. pertusis</i>	Eritromicina, ampicilina, cloranfenicol.
<i>Brucella sp.</i>	Tetraciclina y/o estreptomycinina.
<i>F. tularensis</i>	Tetraciclina y/o estreptomycinina.
<i>S. pneuminiaie</i>	Amoxicilina, eritromicina, roxitromicina, azitromicina.
<i>Y. enterocolitica</i>	Tetraciclina y/o estreptomycinina.
<i>Meningococo.</i>	Penicilina natural.
<i>Gonococo.</i>	Penicilina natural, espectinomycinina, ampicilina, tetraciclina, ceftriaxona, quinolas.
<i>Anaerobios</i>	Penicilina natural, cloranfenicol, clindamicina, cefoxitina, rifampicina, metronidazol.
<i>Acinetobacter</i>	Gentamicina, amikacina, cefotaxima, ceftriaxona.
<i>Chlamydia pneumoniae.</i>	Tetraciclina, roxitromycinina, eritromicina.
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Azitromycinina.
<i>Gardenella vaginalis.</i>	Roxitromycinina, eritromicina, metronidazol, clindamicina, ampicilina.
<i>Samonella typhi.</i>	Cloranfenicol, ampicilina. Tmp-Smz, nitrofuranos, qionolonas

ANEXO

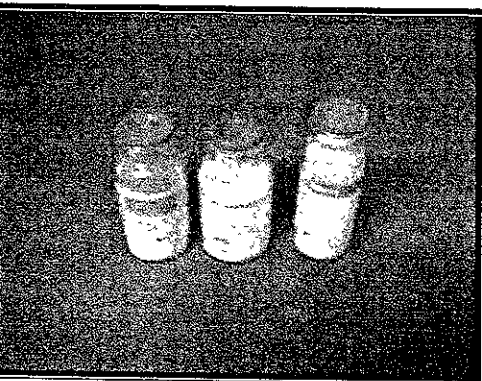
iii

FOTOS DE LOS ESTUDIOS.

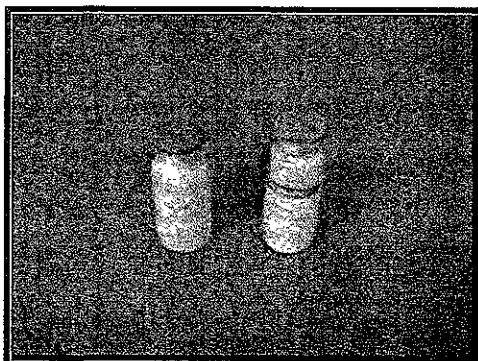


ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS POR FAMILIAS:

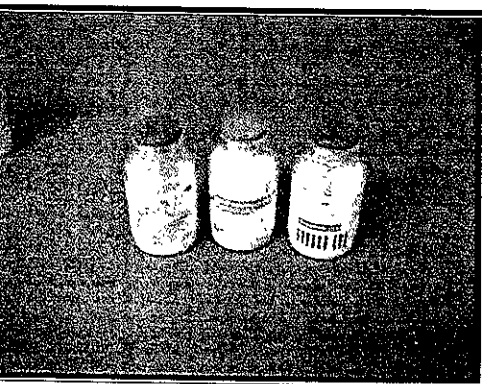
1. CEFTRIAXONA.
2. CEFALOTINA
3. CEFOTAXIMA
4. CEFTAZIDIMA.



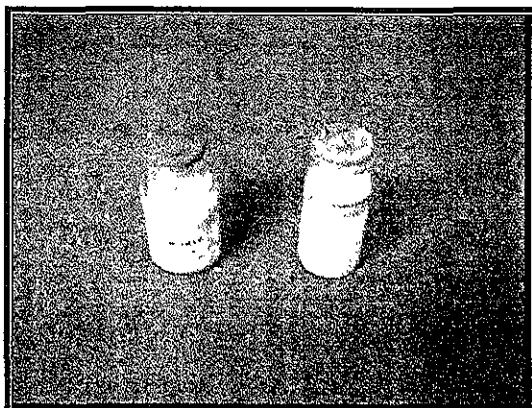
FAMILIA: CEFTRIAXONA.



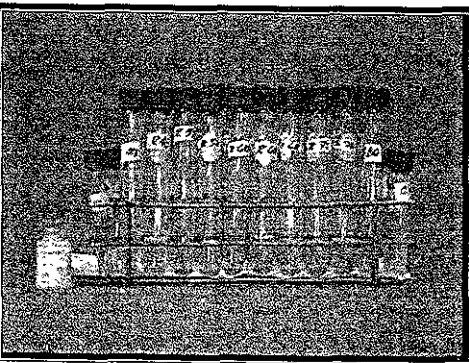
FAMILIA: CEFOTAXIMA.



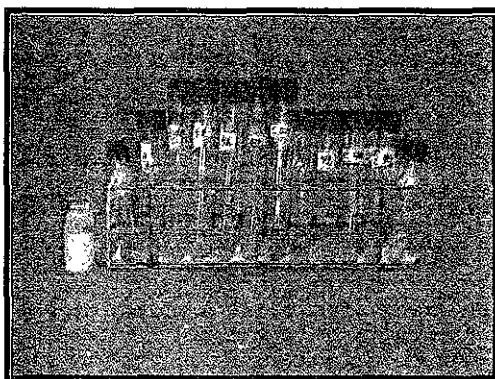
FAMILIA: CEFTAZIDIMA.



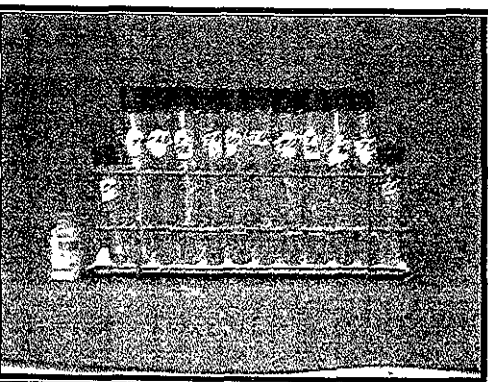
FAMILIA: CEFALOTINA



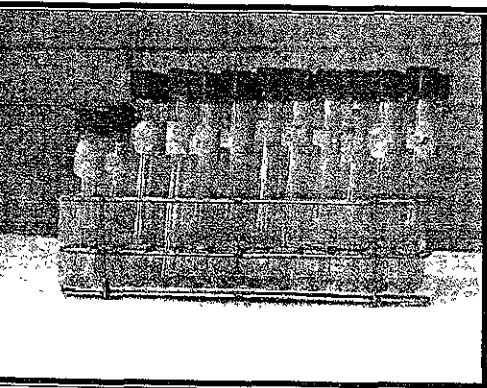
FAMILIA: CEFTRIAXONA.
ANTIBIÓTICO: ROCEPHIN.



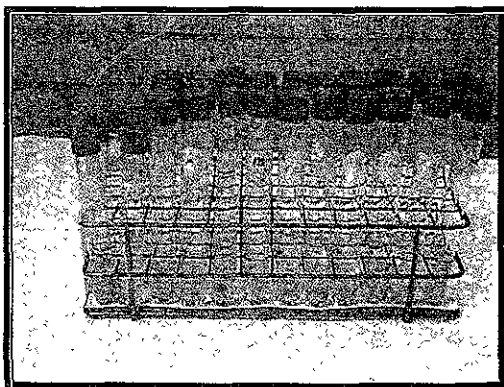
FAMILIA: CEFTRIAXONA.
ANTIBIÓTICO: TACEX.



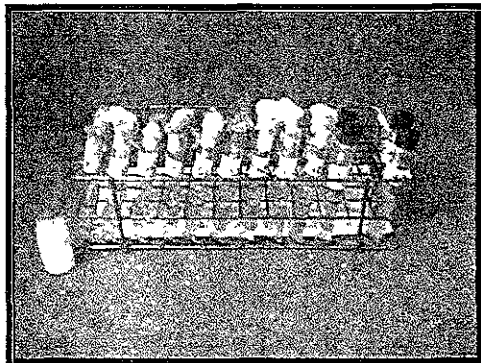
FAMILIA: CEFTRIAXONA.
ANTIBIÓTICO: TERBAC.



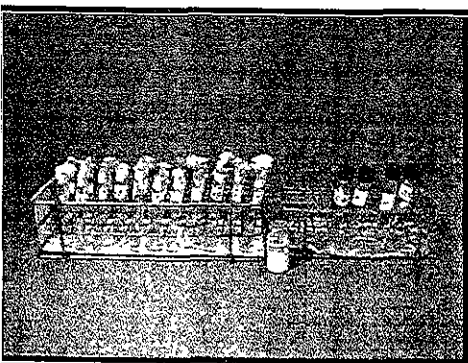
**FAMILIA: CEFALOTINA.
ANTIBIÓTICO: CEFALOTINA G.I.**



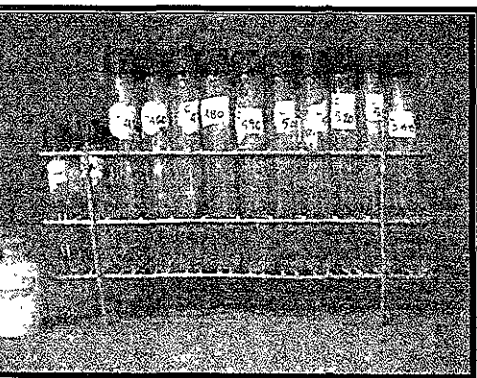
**FAMILIA: CEFALOTINA.
ANTIBIÓTICO: KEFLIN.**



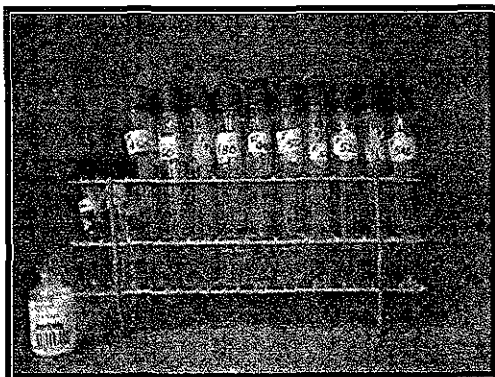
**FAMILIA: CEFOTAXIMA.
ANTIBIÓTICO: CLAFORAN**



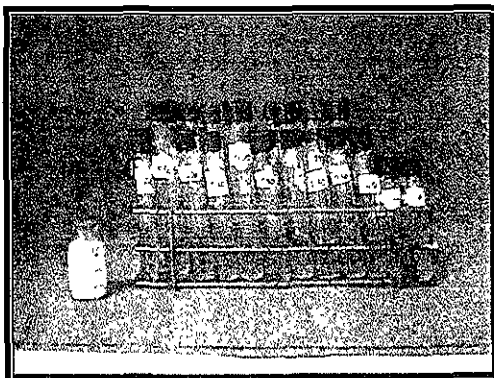
**FAMILIA: CEFOTAXIMA
ANTIBIÓTICO: TAPORIN**



**FAMILIA: CEFTAZIDIMA.
ANTIBIÓTICO: CEFTAZIDIMA G.I.**



**FAMILIA: CEFTAZIDIMA
ANTIBIÓTICO: FORTUM.**



**FAMILIA: CEFTAZIDIMA.
ANTIBIÓTICO: TAXIFUR.**

ARTICULOS

1. Blanche F., Cameron B, Bernard FX, Maton L. Manse B. Ferrero L. Y cols. Differential behaviors of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* type II DNA topoisomerases. *Antimicrob Agents Chemother* 1996, 40, 2714- 2730
2. Blondeau J. Nuevos enfoques en la evaluación de la flora bacteriana. *Mundo médico* (15) 8, pag. 42-50.
3. Gaynes R. The impact of antimicrobial use on the emergence of antimicrobial – resistant bacteria in hospitals. *Infect Dis Clin North Am.* 1997 Dec. 11: 757-765.
4. Gupta K, Scholes D, Stamm WE: Increasing prevalence of antimicrobial resistance among uropathogens causing acute uncomplicated cystitis in women. *JAMA* 1999, 281: 736-738
5. Hattori, Noriaki, Nakajima, Motano, Yajitate Iceiko Method and kit for testing microbial drug sensitivity, and method and kit for measuring minimum inhibiting concentration for microorganism. US Patents April 20. 1999.
6. Horsburgh CR. El problema de la resistencia a multiples fármacos. *JAMA* 2001;9:2 78-82
7. Izraelevitz David, Cochand Karen S. Automated system and method for estimating antibiotic effectiveness from drugs diffusion tests. US Patents May. 13. 1997.
8. Nelson, Wilford H Antibiotic susceptibility test. US Patents November 12. 1996
9. Ollar, Robert A. Felder, Mitche N S. Method for Automatically Testing the antibiotic sensitivity & a praffinophilic microorganism. US Patents March. 10. 1998.
10. Physicians Desk reference 53ava. Ed. Montvale (NJ) Medical Economics Company, 1999 pp 643-1199, 1850, 2185, 2417, 2603, 2618, 3178.
11. Studer Jr. Jhon Eugene. Disposable antibiotic susceptibility test package. US Patents May. 23.1998
12. Thompson, Kenneth S. Thompson Susan A. Method and apparatus for performing 3-dimensional antibiotic susceptibility tests. US Patents November 14. 1995.

BIBLIOGRAFIA

13. Bailey Scott.: Diagnostico microbiológico Cap. 8 pag: 149-170
edit. Medica panamericana. México 1994.
14. Bergey.: Manual of determinative bacteriology 9th. Edition.
15. Bergoglio R M.: Antibióticos 4^a.
pag:17-43 edit. Médica Panamerica 1986.
16. Cappucino/Sherman.: Microbiology a laboratory manual. 4th. edition. U.S.A. 1995
pag: 263-264 329-351
17. Conte J.E.: Manual de antibioticos y enfermedades infecciosas. pag: 126-137
Edit. Interamericana España 1985.
18. Delmar's.: Therapeutic Class Drug Guide for nurses. Edit Stratto G.R., Woods A.L..
USA 1992 pag: 6-106
19. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 7a Edición
Edit. SSA. México 1997.
20. Kagan M.B. y col.: Tratamiento con antimicrobianos. Nueva Editorial
Interamericana México 1989 Pág.: 3-15, 19-33.
21. Memorias del XXXIII Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas. AFM 2000
pág. 37
22. Mendez Ramírez R.: El protocolo de investigación. Edit. Trillas. México 1985
23. MENSE PUEGO.et al.: Guía de terapéutica antimicrobiana 3° ed. Ediciones
Científicas y técnicas S.A. pag: 2-78. Argentina 1988
24. Moat A.G. :Microbial physiology 3 edition. Edit: Prentice -hall.
25. Namakforoosh.: Metodología de la investigación. pag: 61-86, 97-103
Edit. Limusa Noriega. 6°de. México 1992
26. National Committee for Clinical Laboratory Standarts: Methods for dilution
antimicrobial susceptibility for bacteria that grow aerobically., Publication M&-A.
Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standarts. 1985.
27. Reeves D.S.: Phillips I. Laboratory methods in antimicrobial chemotherapy.
Ed. Churchill Livingstone . USA 1978. pag: 3-40.
28. Schoenknecht FD. Sabath LD, Thornsberry C.: Susceptibility test; Special Test
Editors; Lancette EH. Balows A, et al. Manual of clinical Microbiology 4° Ed.
Washington DC, American Society for microbiology USA. 1985. pag; 1000-1004.
29. Villar V. P.: Quimioterapia y sus bases actuales, Fundamentos bioquimicos y
microbiológicos.. edit: Aguilar Madrid 1961 pag: 243-253.
30. Welch H.: A guide to antibiotic therapy. pag 14-30 Medical Encyclopedia USA 1995
pag; 6-69
31. Welch H.: Principios y practica de la terapia antibiótica. Edit: Salvat. España 1993.
pag: 42-73