

9.
24

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



FALLA DE ORIGEN

ESTUDIO COMPARATIVO DE SUSCEPTIBILIDAD BACTERIANA " In vitro " DE DOSCIENTAS CEPAS AISLADAS DE UROCULTIVO A NORFLOXACINA Y AC. NALIDIXICO POR LOS METODOS DE CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA (CIM) Y DIFUSION DE DISCO.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A

Patricia Rafaela Navarro Medina

Asesor: Q.F.B. Ma. del Socorro Pulido G.

Guadalajara, Jal.

1990



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.

I N D I C E

	Pág.
1. INTRODUCCION	1
2. GENERALIDADES.	3
2.1 Terminología	3
2.2 Características generales de infecciones del - tracto urinario.	5
2.3 Epidemiología de infección en vías urinarias - (IVU).	8
2.4 Bacteriuria en niños	10
2.5 Bacteriuria en adultos	10
2.6 Bacteriuria en ancianos.	11
2.7 Bacteriuria en pacientes con otras condiciones	11
2.8 Importancia clínica y selección del antimicro- biano.	12
2.9 Factores que influyen sobre el diámetro de la- zona de inhibición	14
2.10 Factores que tienen influencia sobre la concen- tración inhibitoria mínima (CIM)	16
2.11 Características generales de Norfloxacin. . .	16
2.12 Características generales del Acido nalidixico	19
3 MATERIAL Y METODOS	23

	Pág.
3.1 Susceptibilidad por disco	23
3.2 Concentración inhibitoria mínima (CIM)	25
4. RESULTADOS Y CONCLUSIONES.	28
4.1 Resultados	29
4.2 Discusión.	47
4.3 Conclusión	49
5. BIBLIOGRAFIA	50

CAPITULO 1

INTRODUCCION

El término infección del sistema urinario denota una amplia variedad de entidades patológicas en las cuales el común denominador es la presencia de un número significativamente elevado de microorganismos en cualquier porción del tracto urinario, por lo que podemos encontrar desde una bacteriuria (sintomática o no) hasta infecciones tales como uretritis, prostatitis, cistitis, pielonefritis, abscesos intrarrenales, etc. (1,2).

Generalmente las infecciones no complicadas del aparato urinario bajo, se resuelven sin secuelas con el tratamiento; en tanto que las del aparato urinario alto deben diagnosticarse oportunamente, ya que se presenta el riesgo de una lesión renal permanente (3).

Para tratar este tipo de infecciones es necesario el uso de antimicrobianos (substancias químicas que inhiben el crecimiento de muchas especies bacterianas) (4), por lo que éstos han ocupado una parte muy importante dentro de la terapéutica moderna.

Un problema frecuente es la incorrecta selección del fármaco para el tratamiento de infección urinaria y el inadecuado control o seguimiento de la enfermedad. Estos factores condicionan la recurrencia, reinfección y selección-

de cepas bacterianas mutantes y multirresistentes, sobre todo Enterobacterias (3).

Por lo que la dosis del fármaco utilizado debe ser suficiente para producir la muerte de los microorganismos y las concentraciones del mismo en el plasma y los tejidos debe ser inferior a los niveles tóxicos para las células humanas, si esto puede lograrse, el germen es sensible al antibiótico. Por otra parte, si la concentración requerida para inhibir o matar el microorganismo es mayor que la que puede lograrse sin riesgos, ni efectos dañinos, se establece que la bacteria es resistente al antibiótico (4).

La resistencia bacteriana a los agentes terapéuticos es el principal obstáculo para un uso exitoso, por lo que se ha planteado la necesidad de buscar nuevas drogas que ayuden a solucionar este problema.

El presente estudio "in vitro" se realizó para investigar la eficacia de norfloxacin (antimicrobiano del grupo de las quinolonas) contra 200 cepas aisladas por urocultivo en comparación con el Ac. nalidixico del cual ya se ha demostrado su eficacia en el arsenal terapéutico en infección de vías urinarias (IVU), mediante los métodos de susceptibilidad por disco y concentración inhibitoria mínima (CIM).

CAPITULO 2

GENERALIDADES

2.1 TERMINOLOGIA.

Bacteriuria es un término que significa bacterias presentes en orina. Bacteriuria significativa es un concepto utilizado cuando la cuenta de bacterias exceden el número considerado usualmente como contaminación de la uretra anterior (por ejemplo: $<10^5$ bacterias/ml); las infecciones activas del sistema urinario se caracterizan por dar cuentas bacterianas superiores a 100,000 bacterias/ml. Bacteriuria asintomática es aquella bacteriuria en la que el paciente no cursa con sintomatología o molestias (2,6).

La infección urinaria puede ser aguda o recurrente (recaídas o reinfecciones); recaída implica recurrencia de la infección con el mismo organismo y reinfección es la presencia de un organismo diferente al que originó la infección, en ambos casos posterior al tratamiento específico (6).

Los microorganismos pueden localizarse sólo en orina (bacteriuria) o haber señales de involucración de algún sitio, por ejemplo: uretritis (uretra), prostatitis (próstata), cistitis (vejiga) y pielonefritis (riñón). Por lo que cualquier porción del tracto urinario se encuentra en peligro de ser infectada (2,5).

Cistitis es un síndrome en el que se observa disuria, urgencia y frecuencia para orinar y ocasionalmente hiperestesia suprapúbica; sin embargo, estos síntomas deben diferenciarse de una uretritis causada por N. gonorrhoeae u otros gérmenes (6).

En la infección aguda del sistema urinario bajo encontramos sensación repentina mas o menos gradual de quemadura durante la micción, con expulsión ocasional de orina con aspecto turbio, fétida o de color oscuro y malestar en la porción baja del abdomen (2).

En IVU alta aguda se presenta sintomatología sistémica tales como dolor de cabeza, malestar, vómitos, escalofríos, fiebre, dolor en ángulo costovertebral e hiperestesia y dolor abdominal. La falta de sintomatología del aparato urinario alto no excluye la invasión bacteriana de la misma (2).

En la infección urinaria crónica, encontramos que un microorganismo puede persistir meses o años con recaídas a pesar del tratamiento. Hay episodios recurrentes con afectación de la parte alta del sistema urinario, ausencia de signos o síntomas, bacteriuria persistente asintomática y alteración de la función renal con retención nitrogenada, anemia, hipertensión, uremia y acidosis (2).

La prostatitis se caracteriza por dolor perineal, lumbosacro y disuria con poliuria, pudiendo ser aguda o crónica. Sin embargo, la prostatitis aguda comúnmente evolucio-

na hacía un padecimiento crónico y la manipulación excesiva de la próstata (tacto rectal) da lugar a síntomas de -- agudización (2).

En la pielonefritis aguda la clínica se describe por dolor en el costado o hiperestesia y fiebre asociada generalmente con disuria, urgencia y frecuencia para orinar. -. Sin embargo estos síntomas se pueden presentar en ausencia de una infección como sería el caso de los cálculos renales, neoplasias, obstrucción, etc.

La pielonefritis crónica ha sido difícil de definir -- ya que los autores no se ponen de acuerdo en un cuadro clínico específico. Algunos lo refieren como un cambio patológico en el riñón debido solamente a una infección, sin embargo, alteraciones patológicas idénticas fueron encontradas en otras entidades tales como obstrucción crónica del tracto urinario, nefropatías, hipocalcemia y enfermedades vasculares.

Los abscesos intrarrenales pueden resultar de una bacteremia o por complicación de una pielonefritis severa (6).

2.2 CARACTERISTICAS GENERALES DE INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO.

Las infecciones bacterianas en vías urinarias son una de las enfermedades más frecuentes y comunes para ambos sexos y en cualquier edad, condicionando un problema epide--

miológico.

El tratamiento apropiado requiere del conocimiento de la cantidad y especies de bacterias que ocasionan la IVU.- Se utilizan los métodos cuantitativos o semicuantitativos en el estudio bacteriológico; pero también se puede evaluar por seguimiento clínico y control de la terapia.

La orina secretada por los riñones normales es estéril hasta que llega a la uretra distal, las bacterias pueden penetrar al sistema urinario por diseminación hematogéna (bacteremia por estafilococos) o por vía ascendente, -- que es el tipo más frecuente, en donde las bacterias provenientes de la flora fecal del perineo, del vestíbulo vaginal o por instrumentación, se introducen por la uretra distal desplazándose hacia arriba hasta llegar a vejiga, uréteres o pelvis renal (2,3,5).

La mayoría de las infecciones urinarias son causadas por aerobios de la flora fecal, especialmente E. coli, Enterobacter sp., Klebsiella sp., Pseudomonas sp. y Proteus sp.

Virtualmente cualquier organismo que se introduce en el aparato urinario puede producir una infección. Esta infección activa en vías urinarias generalmente dará un conteo $\geq 10^5$ bacterias/ml (bacteriuria significativa). Si se encuentra un número de esta magnitud en dos muestras consecutivas de orina y si la bacteria es del mismo tipo, existe la certeza de un 90 a 95% que la persona presente una infección urinaria activa.

En contraste, cuando sólo existe contaminación de genitales externo, hay cuenta de $\leq 10^3$ bacterias/ml de orina.

Estos microorganismos encuentran en la orina residual o remanente un medio excelente de cultivo en el que se desarrollan "in vitro" dando por resultado un número alto en infecciones establecidas sin tratamiento.

Las pruebas de susceptibilidad "in vitro" miden la capacidad de un antibiótico para inhibir el desarrollo bacteriano. Estos exámenes se pueden realizar por procedimientos de difusión y dilución.

En los procedimientos de difusión, el antibiótico se impregna en discos de papel que se colocan sobre la superficie de una placa de agar sembrada de manera uniforme con los gérmenes. El fármaco difunde desde el disco y alrededor de éste se forma un gradiente de concentración del antibiótico que inhibe el desarrollo de los microorganismos susceptibles. La susceptibilidad se juzga por la simple observación de la presencia de una zona de inhibición, ausencia de la misma o por medición del diámetro de esta zona. Este método es llamado susceptibilidad por disco o Kirby - Bauer.

En los procedimientos por dilución, se realizan diluciones del antibiótico en caldo o en agar que después se inocula con el organismo en estudio. La susceptibilidad se establece en función de la concentración menor del antibiótico que evita el desarrollo de las bacterias después de -

incubar durante la noche, es decir, determina la concentración inhibitoria mínima (CIM).

2.3 EPIDEMIOLOGIA DE INFECCION EN VIAS URINARIAS (IVU).

Existe una diferencia entre la flora bacteriana de la orina en pacientes con un episodio inicial de IVU comparado con la de algunos con recurrencias o IVU frecuentes.

E. coli es el microorganismo infectante más frecuente en las infecciones agudas a diferencia de procesos crónicos, especialmente cuando hay estructuras anormales (uropatía obstructiva, anomalías congénitas, vejiga neurogénica, alteraciones que afectan la función de la vejiga y fistulas comunicantes al tracto urinario) causadas con relativa frecuencia por Proteus, Pseudomonas, Klebsiella, Enterobacter, estafilococos y enterococos (6).

La bacteriuria significativa puede encontrarse como invasión microbiana en alguno de los tejidos del aparato urinario o puede resultar de una multiplicación bacteriana en la orina sin invasión de tejidos.

La uretritis es causa importante de morbilidad, pero es más importante como una fuente de infección hacia los riñones; el agente causal más común es E. coli, Staphylococcus aureus ocasionalmente causa cistitis, S. epidermidis rara vez produce infección. Especies de Cándida pueden encontrarse en IVU particularmente en diabéticos no contro-

ladoso pacientes con catéteres urinarios que han recibido terapia antimicrobiana prolongada.

Estafilococo coagulasa positivo invade generalmente - por vía hematógena, resultando en abscesos perinefríticos - o intrarrenales.

El adenovirus (tipo II) se le ha responsabilizado como agente causal en cistitis hemorrágica en pacientes pediátricos, especialmente varones.

La prostatitis bacteriana crónica es una enfermedad - poco común en los hombres, difícil de curar y a menudo responsable de recaídas en IVU. Es ocasionada generalmente -- por bacilos gram-negativos, encontrándose E. coli en un - 80% de los pacientes. La mayor parte restante son causadas por Klebsiella sp, Proteus mirabilis, Pseudomonas sp y Enterobacter sp. Las bacterias gram-positivas con excepción - ocasional del enterococo, aparentemente no causan prostatitis.

En la pielonefritis aguda se encuentra E. coli como - agente etiológico en un 90%, también se presentan otras -- bacterias entéricas tales como Klebsiella sp, Enterobacter sp, Proteus sp y Enterococos. La incidencia de E. coli como agente etiológico decrece en la pielonefritis crónica, - más sin embargo, permanece como el agente más común.

Las infecciones mixtas pueden ocurrir cuando hay obstrucción en el sistema urinario o por el uso inadecuado de catéteres (2,5,6).

2.4 BACTERIURIA EN NIÑOS.

La prevalencia de bacteriuria en lactantes es alrededor del 1% y es mucho más común en los varones, manteniéndose paralela con el número de obstrucciones por anomalías del sistema urinario en los niños y la bacteremia es frecuente (2,6).

Durante la edad preescolar, las IVU son más comunes en las niñas que en los niños debido a la contaminación del vestíbulo con la flora fecal y lo corto de la uretra. Cuando la infección se presenta en los niños es asociada frecuentemente con serias anomalías congénitas. En los escolares se ha encontrado que sólo el 0.05% de los niños presentan bacteriuria, mientras que por lo menos en 2% de las niñas hay bacterias en sus muestras de orina. Las chicas caucásicas tienden a presentar reinfecciones frecuentemente contrastando con las de piel oscura que es menor (2,6).

2.5 BACTERIURIA EN ADULTOS.

Las IVU son mucho más comunes en mujeres que en los hombres, ya que éstas tienen la uretra más corta y una mayor probabilidad de contaminación. Los sitios más comunes de infección en la mujer son la uretra y vejiga. La prevalencia de bacteriuria en jóvenes no embarazadas es alrededor del 1-3%. Un número mayor del 10 al 20% de la población

femenina cursa con IVU alguna vez en su vida. Existe cierta correlación de IVU con la actividad sexual en las mujeres al igual que con la paridad (2,6).

La predominancia de bacteriuria en varones es menor (0.1% ó menos), aunque a través de los años tiende a aumentar un poco. Los hombres con bacteriuria frecuente presentan anomalías anatómicas en vías urinarias.

2.6 BACTERIURIA EN ANCIANOS.

Menos de un 10% en hombres y alrededor del 20% en mujeres mayores de 65 años presentan bacteriuria. En ambos sexos las IVU aumentan substancialmente, posiblemente esta elevación en ancianos varones incluya uropatías obstructivas de la próstata y en las ancianas por un mal vaciamiento vesical debido a prolapsos; en las mujeres dementes por incontinencia fecal en la región del perineo; en ambos sexos por enfermedades neuromusculares y el incremento en la instrumentación y cateterismo de vejiga (6).

2.7 BACTERIURIA EN PACIENTES CON OTRAS CONDICIONES.

Diversos estudios reportan una alta prevalencia de bacteriuria en pacientes hospitalizados comparada con enfermos no hospitalizados. Una simple cateterización urinaria provoca IVU aproximadamente en 1% de personas ambulatorias.

rias, mientras que en pacientes hospitalizados la infección ocurre alrededor de un 10%.

En mujeres embarazadas de un nivel económico bajo, presentan una alta prevalencia de bacteriuria.

Algunas enfermedades han sido relacionadas con incremento frecuentes en IVU, por ejemplo: diabetes. Un alto predominio de bacteriuria en diabéticos puede también deberse a la frecuente cateterización vesical (6).

2.8 IMPORTANCIA CLINICA Y SELECCION DEL ANTIMICROBIANO.

Antes de prescribir un fármaco lo ideal es identificar el germen causal mediante urocultivo; sin embargo, en gran número de casos, el médico no puede esperar los resultados del laboratorio para iniciar tratamiento adecuado y se debe escoger un antibiótico de acuerdo al sitio de IVU y probable agente etiológico (3).

Existe mucha controversia sobre cómo debe ser administrado el antibiótico. Considerar administrarlo cuando hay evidencia real de infección urinaria, pues los síntomas no son una indicación confiable de infección; además los efectos colaterales, costo e inconveniencia de diferentes regímenes terapéuticos deben ser valorados.

La infección del aparato urinario probablemente sirve como un marcador para enfermedades debilitantes, lo cual a su tiempo contribuye a la mortalidad. La terapia intensiva

antimicrobiana puede dejar un injustificado agobio económico o abuso de fármacos tóxicos, en ese caso puede hacer más daño que beneficio, sobre todo en pacientes de edad avanzada.

Ordinariamente es necesario tratar todos los pacientes sintomáticos sin distinción de edad. Algunos pacientes tienen tal frecuencia de episodios sintomáticos (otros recaídas o reinfección) que están crónicamente incapacitados. En estos enfermos puede ser necesario administrar una terapia prolongada o profilaxis para prevenir síntomas recurrentes.

En insuficiencia renal es posible que el riñón no pueda concentrar un agente antimicrobiano en la orina y difícilmente puede erradicarse la bacteriuria, esto puede ser un factor importante en la eficacia del tratamiento. La desaparición de la bacteriuria está relacionada con la sensibilidad del microorganismo a la concentración alcanzada en orina del antibiótico.

Los agentes terapéuticos difieren en sus propiedades físicas, químicas y farmacológicas, espectros antibacterianos y mecanismos de acción.

Para que un antimicrobiano sea efectivo debe lograr - ante todo acceso a los sitios afectados y acción sobre la célula bacteriana o dentro de ella. Una vez que el fármaco ha llegado al sitio, debe ejercer un efecto nocivo para la bacteria. Cada clase de antibiótico tiene su propio meca--

nismo de acción y la resistencia natural o adquirida puede ser explicada en términos de diferencias en estos mecanismos.

La selección de un agente apropiado ha llegado a ser complejo por el creciente número de fármacos, cada uno con su espectro característico y propiedades tóxicas. A pesar de esto, algunos agentes son satisfactorios e idealmente - el fármaco seleccionado tendrá que ser de espectro limitado (3,4,6).

2.9 FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE EL DIAMETRO DE LA ZONA DE INHIBICION.

Algunos factores nos pueden alterar los resultados obtenidos por el método de disco, entre ellos están:

- Composición del medio: La presencia de algunas sustancias en el medio de cultivo puede influir sobre el tamaño de las zonas de inhibición, el aspecto de éstas o ambas.
- Las enzimas bacterianas: El tamaño de la zona de inhibición puede depender de la cantidad de enzima y de la velocidad con que ésta aparece en el medio.
- Concentración de bacterias del material que se siembra: La cantidad que se siembra debe ser siempre la misma en todas las pruebas para poder obtener resultados adecuados.

dos:

- La cantidad de antibiótico contenido en el disco: El contenido se refiere simplemente a la cantidad absoluta del antibiótico en el disco, debe ser tal que produzca zonas de inhibición de tamaño moderado contra cepas de bacterias susceptibles o que sea muy pequeña contra microorganismos resistentes.
- La difusibilidad del antibiótico: Algunos fármacos no difunden con facilidad desde el disco hacia el cultivo, por esta razón el diámetro de la área de inhibición es extraordinariamente pequeña, aún cuando los gérmenes que se estudien sean susceptibles.
- Modo de acción y estabilidad: La presencia de "colonias satélites" se pueden deber al desarrollo de bacterias resistentes al mecanismo de acción o a que el antibiótico no es estable.
- Procedimientos de laboratorio: La técnica influye sobre los resultados obtenidos, por ejemplo: adicionar sangre al medio, espesor del agar, método de siembra, secado, difusión del antibiótico, etc.

Limitaciones del procedimiento:

- El método es válido sólo para patógenos de desarrollo rápido, pues con gérmenes de reproducción lenta en condiciones equivalentes, se obtienen diámetros mayores. (9).

2.10. FACTORES QUE TIENEN INFLUENCIA SOBRE LA CONCENTRACION INHIBITORIA MINIMA (CIM).

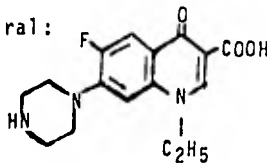
Algunos de los factores que condicionan variación en los procedimientos de disco son también válidos en los métodos de dilución.

La presencia en el medio de cultivo de sustancias antagonistas de los antimicrobianos, estabilidad de éstos, - magnitud de producción de enzimas bacterianas capaces de - alterar la actividad del antibiótico, cantidad de material para inóculo y otros factores propios de los procedimientos de dilución son capaces de afectar la CIM (9).

2.11 CARACTERISTICAS GENERALES DE NORFLOXACINA.

La norfloxacin es un nuevo ácido orgánico con acción antibacteriana utilizado en problemas de vías urinarias. - Su nombre químico es: ácido 1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-7-(1-piperacil)-3 quinolincarboxílico.

Su fórmula estructural:



Aspecto físico: Polvo cristalino de color blanco o - amarillo claro.

Constantes de disociación ácido-básico: Los valores - pK_1 y pK_2 a $25^\circ C$ son de 6.4 y 8.75, respectivamente.

Fotosensibilidad: El color de norfloxaciná cambi6 de blanco o amarillo claro a café al cabo de 30 días (ocho horas diarias) de exposición a la luz solar directa. No se observ6 ningún cambio de color en las muestras del fármaco conservadas en la obscuridad y temperatura ambiente.

La norfloxaciná está relacionada estructuralmente con los Ac. naladfxico, oxolfnicos y pipemídico, pero su fórmula tiene algunas diferencias importantes. El átomo de fluor agregado al carbono 6 le proporciona una mayor actividad contra las bacterias pat6genas aer6bicas Gramnegativas y Grampositivas (que incluyen: E. coli, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Proteus, Citrobacter, Salmonella y Estafilococos); el radical piperazina en posición 7 le confiere actividad contra las Pseudomonas. Como consecuencia, en comparación con otros fármacos, este antimicrobiano es más potente y tiene un espectro de actividad "in vitro" más amplio.

A este derivado estructuralmente único del ácido quinolincárxico se le atribuyen a nivel molecular 3 acciones específicas en cepas de E. coli:

- 1.- Inhibición de la reacción de superenrollado del ADN, que depende del trifosfato de adenosina (ATP) y es catalizado por el ADN girasa.
- 2.- Inhibición de la relajación del ADN superenrollado inducida por la ADN girasa en ausencia del ATP.
- 3.- Inducción del rompimiento del AND de doble filamento.

En conjunto estas acciones ocasionan filamentación, lisis de las células bacterianas y encogimiento del citosol.

Por su particular mecanismo, la norfloxacin a inhibir la duplicación del ADN bacteriano, impide la reproducción de los plásmidos que con creciente frecuencia son portadores de los factores de resistencia (factores R) a las penicilinas, cefalosporinas, y aminoglucósidos. Así este antibiótico evita la diseminación de la resistencia bacteriana mediada por los plásmidos; por lo que una ventaja de la norfloxacin sobre otros agentes antimicrobianos es la muy escasa frecuencia con que aparecen mutantes resistentes a ella "in vitro", además de que no pueden transmitir dicha resistencia a otras células bacterianas.

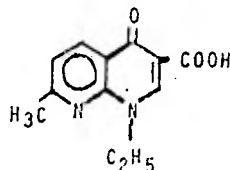
La norfloxacin se absorbe rápidamente por vía oral con una dosis de 400 mg. alcanzando una concentración en el suero de 1.4 mg/lit en una hora y en orina mantiene sus concentraciones bactericidas durante más de 12 horas. Presenta un mínimo de efectos colaterales y baja frecuencia de reacciones clínicas adversas.

En resumen, por su acción farmacológica, su eficacia y su tolerabilidad, la norfloxacin representa una alternativa terapéutica lógica en las infecciones comunes o difíciles de tratar del sistema urinario.

2.12 CARACTERISTICAS GENERALES DEL ACIDO NALIDIXICO.

El Ac. nalidixico es un antibacteriano de espectro reducido. Es bacteriostático o bactericida dependiendo de la concentración. Su nombre químico es: 1-etil-1, 4-dihidro-7-metil-4-oxo-1,8-naftiridina-3-Ac. carboxílico.

Su estructura química es:



Ya que el Ac. nalidixico alcanza bajas concentraciones en suero y se concentra en orina, es indicado solamente en tratamiento de infección de vías urinarias.

Absorción: Por vía oral, se absorbe rápida y casi totalmente en la porción gastrointestinal. La absorción puede retardarse tomando antiácidos o por la ingestión concomitante de alimentos.

Distribución: En el organismo parte del Ac. nalidixico se convierte en un ácido hidronalidixico activo y ambos se excretan por la orina, lográndose así concentraciones muy altas en orina (100-500 mcg/ml); las concentraciones en suero son bajas (20-50 mcg/ml). Rastros de la droga atraviesan placenta y no penetra al líquido prostático.

Vida media: Plasmática es normalmente de 1.1 a 2.5 horas, pero en insuficiencia renal puede ser mayor de 21 Hrs. En orina es de 6 horas.

Excreción: Renal del 2-3% se excreta sin metabolizar,

el 13% como metabolito activo y más del 80% en metabolito-inactivo, rápida y casi totalmente se excreta en 24 horas, la droga activa no se acumula en pacientes con función renal anormal, pero los metabolitos inactivos pueden ser tóxicos. En heces: 4 a 5% (no absorbidos). Se excreta también en la leche materna y en diálisis el efecto no es conocido.

Mecanismo de acción: Algunos estudios sugieren que el Ac. nalidixico inhibe la síntesis bacteriana del ADN, posiblemente por interferencia con el ADN de polimerización.

Efectos colaterales o adversos, incidencia más frecuente: visión reducida o borrosa, cambio en el color de la visión, visión doble, halos alrededor de la luz, náuseas, vómito y diarrea. Incidencia rara: orina ámbar u obscura, evacuación clara, dolor severo en el estómago, ojos y piel amarillentos.

Pueden presentarse reacciones alérgicas ocasionales como: urticaria, eosinofilia, fiebre y erupción en la piel y en menos casos vértigo, somnolencia, fotosensibilidad, colestasis, trombocitopenia, leucopenia y anemia hemolítica.

Actividad antimicrobiana: El Ac. nalidixico es más activo en organismos Gramnegativos tales como E. coli, Enterobacter, Klebsiella, todos los Proteus, Serratia, Salmonella y Shigella. No todas las especies o cepas de una se-

rie en particular pueden ser susceptibles al antimicrobiano. Brucella sp puede ser o no sensible; pero las Pseudomonas son resistentes. Todas las bacterias Grampositivas son resistentes al Ac. nalidixico. Este antibiótico puede suprimir el desarrollo de Cándida albicans en concentraciones obtenidas en orina, después de dosis normales del fármaco.

Las mutaciones cromosomales cuando indican resistencia al Ac. nalidixico ocurren espontáneamente y con bastante frecuencia durante el tratamiento. Algunos investigadores consideran que la dosis mínima es la razón mayor para que la resistencia "in vivo" sea un problema en tratamientos de infecciones en el sistema urinario. Se dice que con dosis inferiores y con pacientes muy jóvenes o muy viejos (en quienes la absorción y la excreción del antimicrobiano puede ser menor), las concentraciones urinarias son menores y ayudan a la selección de mutantes resistentes. Otras investigaciones con bacterias Gramnegativas susceptibles, indican que cuando la concentración bactericida para las cepas es excedida, el efecto bactericida del agente se reduce y resulta ser relativamente bacteriostático. Esto se explica por el mecanismo de acción del Ac. nalidixico.

Dosis y modos de administración: En adultos se recomienda: oral un gramo cada 6 Hr. por una o dos semanas. En tratamiento prolongado: oral 500 mg cada 6 Hr. Dosis de 6-g. diarios han sido utilizados en infecciones urinarias -

severas.

En niños: La dosis es de 50 mg/Kg de peso corporal - por día administrándolo en 4 dosis. En infantes prematuros y niños menores de 3 meses su uso no es recomendado, al -- igual que en mujeres gestantes.

CAPITULO 3

MATERIAL Y METODOS

El material y los reactivos utilizados para la investigación y realización de esta tesis, así como las 200 cepas aisladas de urocultivos y los antimicrobianos Ac. nalidixico y norfloxacin, fueron aportados por el laboratorio de análisis clínicos del Hospital "Angel Leño" de la Universidad Autónoma de Guadalajara y por el Laboratorio Merck Sharp Dohme, respectivamente.

Los métodos utilizados para este estudio fueron para determinar susceptibilidad por método estandarizado de disco (MKB) y concentración inhibitoria mínima (CIM).

3.1 SUSCEPTIBILIDAD POR DISCO:

Método de sensibilidad antimicrobiana por difusión en disco estandarizado por la FDA (Food and Drug Administration de los Estados Unidos de América). Procedimiento:

- Preparación del medio: Se licúa y prepara el agar de Müller-Hinton (según patrones establecidos por la casa distribuidora); se deja a una temperatura de 45-50°C y se vierte en cajas Petri, quedando un espesor de 4 mm aproximadamente.
- Preparación del material para la siembra: Se utiliza --

cultivo puro de germen patógeno, con una asa de platino se toma de 1 a 2 colonias aisladas similares y se transfieren a un tubo con 5 ml de caldo tripticasa soya. Este tubo sembrado se incuba a 37°C de 2 - 8 horas hasta obtener una suspensión entre 10^4 - 10^5 bacterias/ml (comparándolo con el nefelómetro).

- Siembra: Se satura un hisopo con la suspensión bacteriana, eliminando el exceso comprimiendo el mismo contra la pared del tubo, rotándolo por encima del nivel del líquido.

La suspensión bacteriana se siembra en 3 direcciones diferentes de manera homogénea sobre la superficie del agar pasando el hisopo sobre ésta. Se dejan secar las placas durante 15 a 30 minutos.

- Colocación del disco: Los discos de papel secante e impregnados con el antibiótico, se acomodan sobre el agar sembrado y seco, oprimiéndolos suavemente con una pinza estéril y colocándolos a una distancia tal que entre uno y otro disco no se lleguen a superponer las zonas de inhibición respectivas.

Se meten a incubar las placas durante 18 - 24 horas bajo condiciones aeróbicas y a una temperatura de 37°C.

- Lectura: El diámetro en milímetros (mm) de las zonas de inhibición se lee después de la incubación de las placas.

La cantidad de antibiótico contenido en los discos --

fueron norfloxacin 10 mcg y Ac. nalidixico 30 mcg.

3.2 CONCENTRACION INHIBITORIA MINIMA (CIM):

Método de sensibilidad antimicrobiana por dilución en caldo. Procedimiento:

- Preparación del lote: Para norfloxacin se tomó 0.05 g. de la sal 100% activa para diluirla en 100 ml de NaOH 0.1N, obteniéndose una concentración de 500 mcg/ml. Para el Ac. nalidixico se tomó 0.02 g. de la sal activa, para disolverse en 100 ml de agua bidestilada estéril, obteniéndose una concentración de 500 mcg/ml.
- Preparación del medio: Se prepararon dos concentraciones diferentes del caldo Müller-Hinton (según indicaciones de la casa distribuidora). De los 11 tubos usados para las diluciones, el tubo 1 contenía caldo Müller-Hinton a doble concentración; de los tubos 2 al 11 contenían caldo Müller-Hinton a concentración simple.
- Preparación de diluciones:
Para norfloxacin se colocaron 11 tubos con caldo Müller-Hinton, los tres primeros contenían 1.8 ml y del 4 al 11, 1 ml respectivamente. Del lote preparado para este estudio se tomó 0.2 ml y se pasó al tubo 1 (agitándose suavemente).
De éste se tomó nuevamente 0.2 ml y se pasaron al tubo 2

y lo mismo para el tubo 3, de éste agitando suavemente - se tomó 1.0 ml para pasarlo al 4, se agita, se toma 1.0- ml y se pasa al siguiente y así sucesivamente hasta el - tubo 10. Quedando de la siguiente manera:

Tubo	Dilución	Concentración (mcg/ml)
1	1:10	50.0
2	1:10	5.0
3	1:10	0.5
4	1:2	0.25
5	1:2	0.125
6	1:2	0.0625
7	1:2	0.0312
8	1:2	0.0156
9	1:2	0.0078
10	1:2	0.0039

Para Ac. nalidixico, se colocaron 11 tubos conteniendo - 1.0 ml de caldo Müller-Hinton. Al tubo 1 se le agregó - 1.0 ml del stock, agitándose perfectamente, de la dilu-- ción del tubo 1 se tomó 1.0 ml y se pasó al 2 y así suce-- sivamente, quedando:

Tubo	Dilución	Concentración (mcg/ml)
1	1:2	100.0

Tubo	Dilución	Concentración (mcg/ml)
2	1:2	50.0
3	1:2	25.0
4	1:2	12.5
5	1:2	6.25
6	1:2	3.12
7	1:2	1.56
8	1:2	0.78
9	1:2	0.39
10	1:2	0.19

En ambos antibióticos el tubo 11 se utilizó como testigo (a éste sólo se le agregó el inóculo de suspensión bacteriana).

- Inoculación: A todos los tubos ya con su dilución correspondiente se les inoculó 0.1 ml de una concentración de 10^5 bacterias/ml de caldo tripticasa soya (previamente preparada y diluida de un cultivo incubado durante la noche). Los tubos agitados e inoculados se incubaron a 37°C por 24 horas.
- Lectura: Después de 24 horas se procede a la lectura, - la concentración mínima inhibitoria corresponde a la cantidad menor de antibiótico que inhibe la formación de desarrollo bacteriano macroscópico o ausencia de turbidez en el tubo.

CAPITULO 4
RESULTADOS Y CONCLUSIONES

BACTERIAS AISLADAS DE UROCULTIVOS
(TABLA #1)

BACTERIA	#	%
<i>Escherichia coli</i>	147	73.5
<i>Proteus mirabilis</i>	15	7.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	3.5
<i>Klebsiella sp</i>	5	2.5
<i>Enterobacter sp</i>	5	2.5
<i>Providencia rettgeri</i>	5	2.5
<i>Proteus sp</i>	3	1.5
<i>Streptococcus faecalis</i>	3	1.5
<i>Proteus vulgaris</i>	2	1.0
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	2	1.0
<i>Citrobacter freundii</i>	2	1.0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	1.0
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	0.5
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	0.5
TOTAL:	200 cepas	100.0%

4.1 RESULTADOS.

Los resultados de susceptibilidad bacteriana "in vitro" obtenidos en el laboratorio por los métodos de concentración inhibitoria mínima (CIM) y por el método de difusión de disco impregnado, son los siguientes:

#	CEPA	NORFLOXACINA		AC. NALIDIXICO	
		CIM (mcg)	HALO DE INHIBICION (mm)	CIM (mcg)	HALO DE INHIBICION (mm)
1	E. coli	0.062	30	0.39	24
2	E. coli	0.5	22	3.12	21
3	E. coli	0.5	27	1.5	23
4	E. coli	0.5	20	3.12	23
5	E. coli	0.062	27	1.5	19
6	E. coli	0.062	24	3.1	20
7	E. coli	0.062	23	1.56	16
8	E. coli	0.062	26	3.12	18
9	E. coli	0.062	20	6.25	16
10	E. coli	0.062	22	3.12	18
11	E. coli	0.062	21	3.12	17
12	E. coli	0.5	20	100	0
13	E. coli	0.062	25	3.12	23
14	E. coli	0.062	23	3.12	18
15	E. coli	0.062	25	1.56	23
16	E. coli	0.062	17	3.12	18

#	CEPA	NORFLOXACINA		AC. HALIDIXICO	
		CIM (mcg)	HALO DE INHIBICION (mm)	CIM (mcg)	HALO DE INHIBICION (mm)
17	E. coli	0.5	17	6.25	20
18	E. coli	0.5	24	1.56	22
19	E. coli	0.5	27	25	25
20	E. coli	0.5	30	100	0
21	E. coli	0.062	23	1.56	20
22	E. coli	0.062	20	3.12	21
23	E. coli	0.062	17	3.12	20
24	E. coli	0.062	24	3.12	19
25	E. coli	0.062	19	3.12	15
26	E. coli	0.062	25	6.25	16
27	E. coli	0.062	27	3.12	18
28	E. coli	0.062	26	0.78	24
29	E. coli	0.062	25	3.12	24
30	E. coli	0.062	27	3.12	19
31	E. coli	0.062	28	3.12	20
32	E. coli	0.062	32	1.56	25
33	E. coli	0.062	28	1.56	23
34	E. coli	0.5	19	100	0
35	E. coli	0.062	32	3.12	24
36	E. coli	0.062	25	3.12	20
37	E. coli	0.062	25	3.12	23
38	E. coli	0.5	24	1.56	23
39	E. coli	0.5	25	3.12	19

#	CEPA	NORFLOXACINA		AC. NALIDIXICO	
		CIM (mcg)	HALO DE INHIBICION (mm)	CIM (mcg)	HALO DE INHIBICION (mm)
40	E. coli	0.5	24	12.5	10
41	E. coli	0.062	29	1.56	24
42	E. coli	0.062	26	1.56	24
43	E. coli	0.062	28	1.56	22
44	E. coli	0.5	24	100	0
45	E. coli	0.062	31	1.56	23
46	E. coli	0.062	31	3.12	22
47	E. coli	0.062	28	1.56	24
48	E. coli	0.062	32	3.12	24
49	E. coli	0.062	28	1.56	24
50	E. coli	0.062	30	1.56	22
51	E. coli	0.062	25	3.12	20
52	E. coli	0.015	28	3.12	22
53	E. coli	0.125	24	100	0
54	E. coli	0.062	29	3.12	22
55	E. coli	0.031	34	1.56	23
56	E. coli	0.031	30	3.12	22
57	E. coli	0.062	37	6.25	16
58	E. coli	0.031	28	1.56	24
59	E. coli	0.062	24	1.56	23
60	E. coli	0.062	24	1.56	22
61	E. coli	0.062	22	3.12	22
62	E. coli	0.031	24	1.56	23

#	CEPA	NORFLOXACINA		AC. NALIDIXICO	
		CIM (mcg)	HALO DE INHIBICION (mm)	CIM (mcg)	HALO DE INHIBICION (mm)
63	E. coli	0.015	30	1.56	21
64	E. coli	0.031	28	3.12	23
65	E. coli	0.25	23	100	0
66	E. coli	0.031	35	1.56	23
67	E. coli	0.062	23	3.12	18
68	E. coli	0.062	23	3.12	19
69	E. coli	0.125	24	3.12	21
70	E. coli	0.031	30	1.56	22
71	E. coli	0.062	26	1.56	22
72	E. coli	0.062	25	1.56	21
73	E. coli	0.125	26	3.12	21
74	E. coli	0.031	25	1.56	21
75	E. coli	0.125	24	1.56	22
76	E. coli	0.062	24	6.25	20
77	E. coli	0.062	21	3.12	18
78	E. coli	0.062	30	6.25	20
79	E. coli	0.062	24	3.12	19
80	E. coli	0.062	23	6.25	20
81	E. coli	0.062	23	6.25	18
82	E. coli	0.031	31	1.56	21
83	E. coli	0.125	21	3.12	19
84	E. coli	0.062	24	3.12	20
85	E. coli	0.062	23	1.56	21

#	CEPA	NORFLOXACINA		AC. NALIDIXICO	
		CIM (mcg)	HALO DE INHIBICION (mm)	CIM (mcg)	HALO DE INHIBICION (mm)
26	E. coli	0.031	25	3.12	18
87	E. coli	0.062	23	3.12	19
88	E. coli	0.031	27	3.12	20
89	E. coli	0.062	23	3.12	20
90	E. coli	0.031	31	1.56	24
91	E. coli	0.031	32	3.12	22
92	E. coli	0.125	32	12.5	13
93	E. coli	0.031	30	3.12	17
94	E. coli	0.031	28	3.12	22
95	E. coli	0.125	28	3.12	21
96	E. coli	0.031	25	1.56	23
97	E. coli	0.5	20	100	0
98	E. coli	0.125	25	3.12	20
99	E. coli	0.062	28	3.12	21
100	E. coli	0.062	29	3.12	21
101	E. coli	0.062	29	3.12	21
102	E. coli	0.062	29	3.12	21
103	E. coli	0.062	24	3.12	21
104	E. coli	0.062	24	3.12	20
105	E. coli	0.031	26	3.12	23
106	P. rettgeri	0.25	26	100	0
107	P. mirabilis	0.031	30	100	0
108	P. mirabilis	0.031	31	3.12	17

#	CEPA	NORFLOXACINA		AC. NALIDIXICO	
		CIM (mcg)	HALO DE INHIBICION (mm)	CIM (mcg)	HALO DE INHIBICION (mm)
109	<i>E. coli</i>	0.062	21	100	0
110	<i>E. coli</i>	0.031	30	1.56	25
111	<i>E. coli</i>	0.25	27	3.12	21
112	<i>E. coli</i>	0.5	24	25	14
113	<i>E. coli</i>	0.5	23	100	0
114	<i>P. vulgaris</i>	0.5	23	100	0
115	<i>P. mirabilis</i>	0.125	20	6.25	23
116	<i>P. mirabilis</i>	0.062	26	6.25	14
117	<i>P. vulgaris</i>	0.062	31	6.25	15
118	<i>E. coli</i>	0.062	17	100	0
119	<i>E. coli</i>	0.125	20	100	0
120	<i>E. coli</i>	0.062	25	100	0
121	<i>P. rettgeri</i>	0.5	22	100	0
122	<i>P. rettgeri</i>	0.5	25	100	0
123	<i>E. coli</i>	0.125	24	6.25	22
124	<i>E. coli</i>	0.062	25	25	10
125	<i>E. coli</i>	0.125	25	3.12	19
126	<i>P. rettgeri</i>	0.25	26	100	0
127	<i>P. aeruginosa</i>	0.5	25	100	0
128	<i>E. coli</i>	0.062	20	12.5	19
129	<i>E. coli</i>	0.125	20	6.25	16
130	<i>P. mirabilis</i>	0.062	30	100	0
131	<i>P. mirabilis</i>	0.062	26	3.12	18

#	CEPA	NORFLOXACINA		AC. NALIDIXICO	
		CIM (mcg)	HALO DE INHIBICION (mm)	CIM (mcg)	HALO DE INHIBICION (mm)
132	<i>E. coli</i>	0.062	20	6.25	20
133	<i>P. mirabilis</i>	0.062	24	3.12	13
134	<i>E. coli</i>	0.125	25	6.25	17
135	<i>E. coli</i>	0.062	18	3.12	19
136	<i>E. coli</i>	0.062	23	3.12	18
137	<i>E. coli</i>	0.062	28	1.56	19
138	<i>E. coli</i>	0.062	17	6.25	12
139	<i>E. coli</i>	0.062	24	6.25	22
140	<i>C. freundii</i>	0.25	32	100	0
141	<i>C. freundii</i>	0.5	24	100	0
142	<i>S. faecalis</i>	5.0	19	100	0
143	<i>P. mirabilis</i>	0.062	29	25	19
144	<i>P. mirabilis</i>	0.062	28	6.25	19
145	<i>E. coli</i>	0.062	23	6.25	16
146	<i>P. mirabilis</i>	0.031	29	6.25	20
147	<i>K. pneumoniae</i>	0.5	26	100	0
148	<i>K. pneumoniae</i>	0.125	25	6.25	18
149	<i>K. pneumoniae</i>	0.5	19	25	18
150	<i>K. pneumoniae</i>	0.5	14	100	0
151	<i>K. pneumoniae</i>	0.5	15	100	0
152	<i>Klebsiella sp</i>	0.062	23	3.12	17
153	<i>Klebsiella sp</i>	0.062	23	1.56	19
154	<i>E. coli</i>	0.062	27	6.25	18

#	CEPA	NORFLOXACINA		AC. NALIDIXICO	
		CIM (mcg)	HALO DE INHIBICION (mm)	CIM (mcg)	HALO DE INHIBICION (mm)
155	E. coli	0.062	22	3.12	18
156	P. mirabilis	0.062	26	6.25	17
157	P. mirabilis	0.062	29	3.12	24
158	K. oxytoca	0.001	19	1.56	15
159	P. mirabilis	0.062	22	1.56	21
160	K. oxytoca	0.062	17	1.56	21
161	Klebsiella sp	0.125	18	3.12	15
162	Klebsiella sp	0.125	16	6.25	15
163	E. coli	0.062	23	1.56	13
164	E. coli	0.062	26	1.56	18
165	E. coli	0.062	26	6.25	18
166	Proteus sp	0.062	20	3.12	15
167	Proteus sp	0.125	23	100	0
168	Enterobacter sp	0.5	16	100	0
169	Enterobacter sp	0.5	16	100	0
170	Enterobacter sp	0.5	14	100	0
171	E. cloacae	0.031	20	3.12	17
172	S. faecalis	5.0	13	100	0
173	E. coli	0.062	17	0.78	20
174	E. coli	0.062	24	3.12	17
175	E. coli	0.031	17	3.12	17
176	E. coli	0.062	24	3.12	17
177	E. coli	0.062	19	3.12	17

#	CEPA	NORFLOXACINA		AC. NALIDIXICO	
		CIM (mcg)	HALO DE INHIBICION (mm)	CIM (mcg)	HALO DE INHIBICION (mm)
178	E. coli	0.031	28	1.56	19
179	E. coli	0.062	24	1.56	19
180	E. coli	0.031	16	1.56	18
181	Proteus sp	0.031	18	6.25	16
182	E. coli	0.125	14	3.12	16
183	E. coli	0.062	17	1.56	17
184	E. coli	0.062	20	1.56	17
185	E. coli	0.5	15	1.56	16
186	E. coli	0.062	18	1.56	15
187	E. coli	0.062	17	1.56	14
188	E. agglomerans	0.25	23	1.56	23
189	Enterobacter sp	0.125	20	6.25	20
190	P. mirabilis	0.5	20	100	0
191	P. rettgeri	0.5	20	100	0
192	S. faecalis	5.0	18	3.12	25
193	Klebsiella sp	0.031	23	1.56	18
194	P. mirabilis	0.031	23	6.25	16
195	E. coli	0.031	24	0.78	16
196	K. pneumoniae	0.5	14	50	11
197	P. aeruginosa	0.5	23	100	0
198	E. coli	0.125	20	6.25	17
199	Enterobacter sp	0.25	18	25	16
200	Klebsiella sp	0.5	17	50	19

TABLA #2 COMPARACION DE CIMs. (mcg)

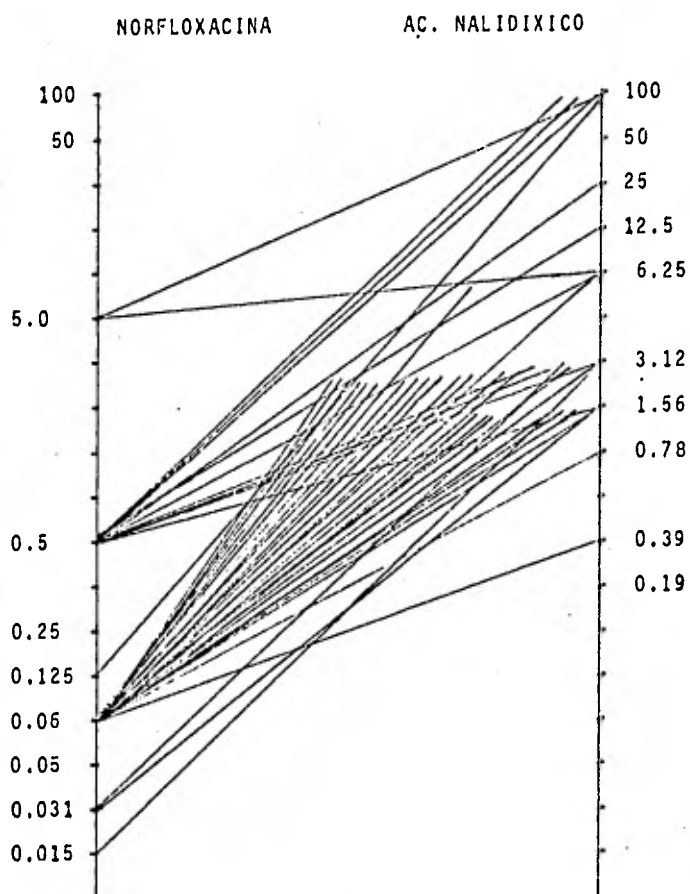
CEPAS DE E. COLI

TABLA #3 COMPARACION DE CIMs. (mcg)

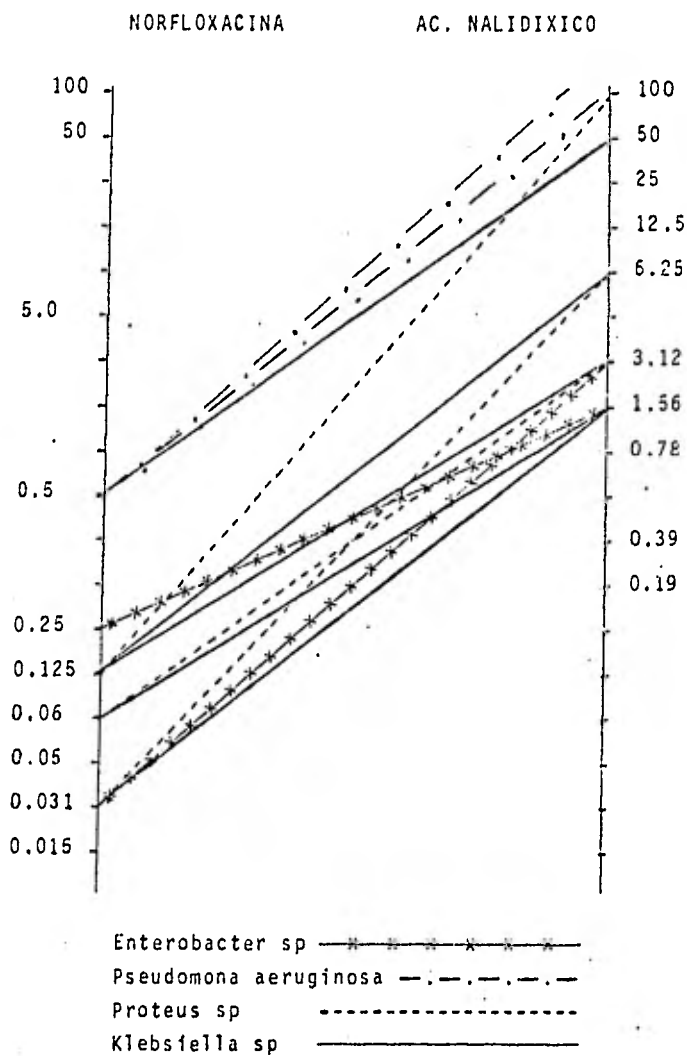


TABLA #4 COMPARACION DE HALOS DE INHIBICION (mm)

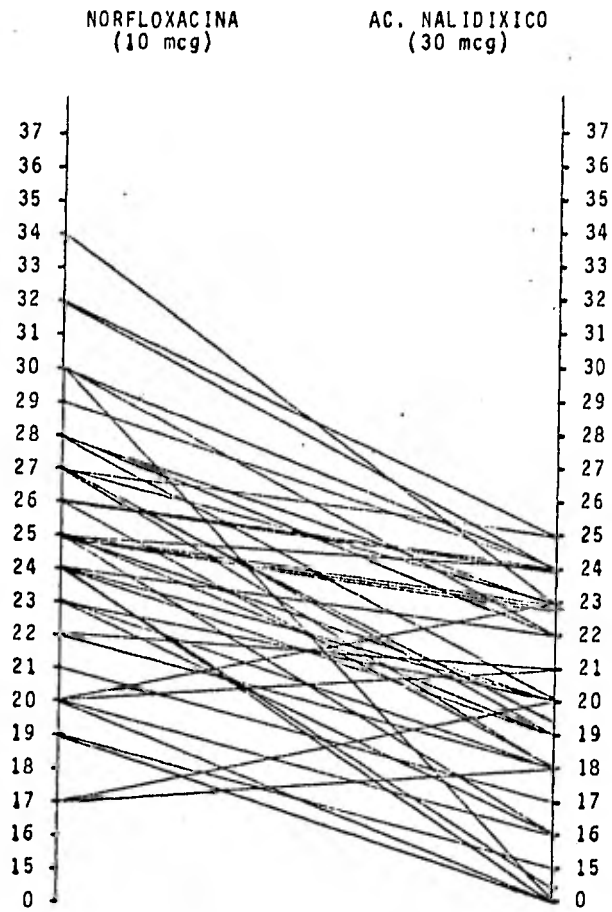
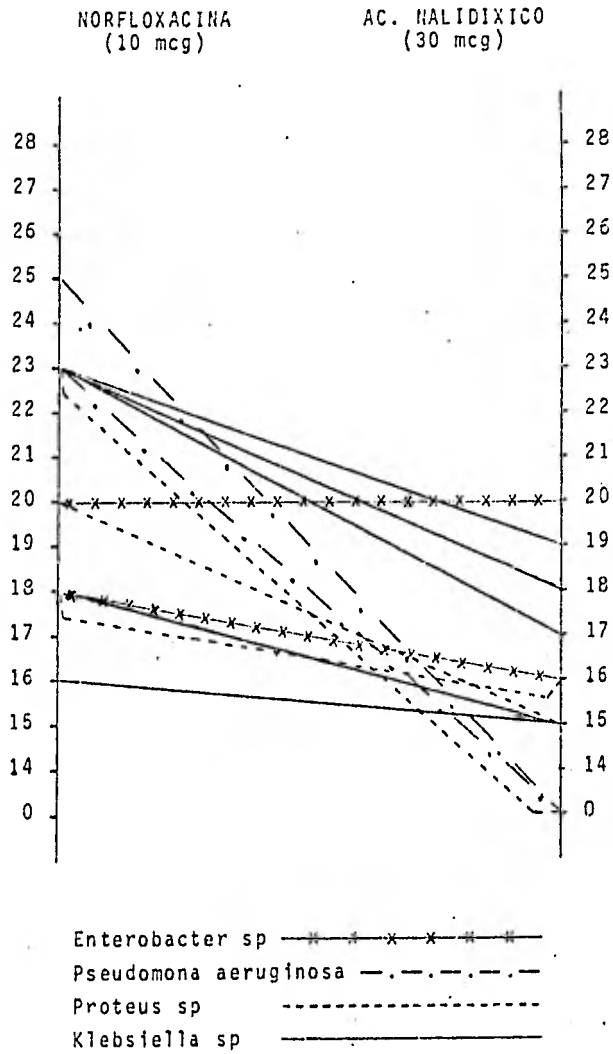
CEPAS DE E. COLI

TABLA #5 COMPARACION DE HALOS DE INHIBICION (mm)



COMPARACION EN PORCENTAJES DE SUSCEPTIBILIDAD POR
EL METODO DE DIFUSION DE DISCO IMPREGNADO (mm),
EN LAS 200 CEPAS OBTENIDAS DE UROCULTIVOS

TABLA #6

BACTERIA	% DE AISLAMIENTO	% DE SUSCEPTIBILIDAD	
		Norfloxacina	Ac. Nalidfxico
E. coli	73.5	92	80
Proteus sp	10.0	100	55
Klebsiella sp	7.0	71	21
Enterobacter sp	3.5	57	29
P. rettgeri	2.5	100	0
S. faecalis	1.5	66	33
C. freundii	1.0	100	0
P. aeruginosa	1.0	100	0

CONCENTRACION INHIBITORIA MINIMA DE LOS ANTIBIOTICOS
EN CONTRA DE LAS CEPAS AISLADAS

(Estudio Comparativo)

TABLA #7

BACTERIA	No.	ANTIBIOTICO	RANGO	CIM _{50%}	CIM _{90%}
E. coli	147	Norfloxacin	0.015 - 5	0.062	0.5
		Ac. nalidixico	0.390 - >100	3.125	25.0
P. mirabilis	15	Norfloxacin	0.031 - 0.25	0.062	0.125
		Ac. nalidixico	1.562 - >100	6.25	100.0
K. pneumoniae	7	Norfloxacin	0.062 - 0.5	0.5	0.5
		Ac. nalidixico	1.562 - >100	50	100.0
Klebsiella sp	5	Norfloxacin	0.031 - 0.5	0.125	0.5
		Ac. nalidixico	1.562 - 50	3.125	50
Enterobacter sp	5	Norfloxacin	0.125 - 5	0.5	5.0
		Ac. nalidixico	3.125 - 100	25	100
P. rettgeri	5	Norfloxacin	0.25 - 5	0.5	5.0
		Ac. nalidixico	100 - >100	100	>100
Proteus sp	3	Norfloxacin	0.031 - 0.125	0.062	0.125
		Ac. nalidixico	3.125 - 100	6.25	100

CONCENTRACION INHIBITORIA MINIMA DE LOS ANTIBIOTICOS
EN CONTRA DE LAS CEPAS AISLADAS
(Estudio Comparativo)

TABLA #7

BACTERIA	No.	ANTIBIOTICO	RANGO	CIM _{50%}	CIM _{90%}
S. faecalis	3	Norfloxacin	5	5	5
		Ac. nalidixico	100 - >100	100	>100
P. vulgaris	2	Norfloxacin	0.031 - 5	0.031	5
		Ac. nalidixico	6.25 - 100	6.25	100
P. aeruginosa	2	Norfloxacin	5	5	5
		Ac. nalidixico	100 - >100	100	>100
C. freundii	2	Norfloxacin	0.25 - 50	0.25	50
		Ac. nalidixico	100	100	100
K. oxytoca	2	Norfloxacin	<0.001 - 0.062	<0.001	0.062
		Ac. nalidixico	1.562	1.562	1.562
E. cloacae	1	Norfloxacin	0.031	0.031	0.031
		Ac. nalidixico	3.125	3.125	3.125
E. agglomerans	1	Norfloxacin	0.25	0.25	0.25
		Ac. nalidixico	1.562	1.562	1.562

ACTIVIDAD DE NDRFLOXACINA CONTRA BACILOS GRAM NEGATIVOS

TABLA #8

BACTERIA	No. DE CEPAS	PORCENTAJE ACUMULATIVO DE SUSCEPTIBILIDAD (mcg/ml)									
		0.001	0.015	0.031	0.050	0.062	0.125	0.25	0.5	5	50
E. coli	147		1:36	16.32	42.17	76.87	87.07	88.43	97.95	100	
P. mirabilis	15			26.66		86.66	93.33	100.			
P. pneumoniae	7					14.28	28.57		42.85	100	
Klebsiella sp	5			20.00		40.00	80.00		100.		
Enterobacter sp	5						20.00	40.00	60.00	100	
P. rettgeri	5							40.00	80.00	100	
Proteus sp	3			33.33		66.66	100.				
S. faecalis	3									100	
P. vulgaris	2			50.00						100	
P. aeruginosa	2									100	
C. freundii	2							50.00			100
K. oxytoca	2	50.00				100.					
E. cloacae	1			100.							
E. agglomerans	1							100.			
T O T A L	200	0.5	1.5	16.5	35.5	67.5	78.0	82.0	91.0	99.5	100

ACTIVIDAD DE AC. NALIDIXICO CONTRA BACILOS GRAM NEGATIVOS

TABLA #9

BACTERIA	NO.DE CEPAS	PORCENTAJE ACUMULATIVO DE SUSCEPTIBILIDAD (mcg/ml)									
		0.390	0.781	1.562	3.125	6.25	12.5	25	50	100	>100
E. coli	147	0.68	0.72	3.33	73.51	87.75	89.79	91.38		97.27	100
P. mirabilis	15			6.66	33.33	73.33		80.00		93.33	100
K. pneumoniae	7			14.28		28.57		42.85	57.14	100	
Klebsiella sp	5			20.	60.	80.			100-		
Enterobacter sp	5				20.	40.		60.		100	
P. rettgeri	5									80	100
Proteus sp	3				33.33	66.66				100	
S. faecalis	3									66.66	100
P. vulgaris	2					50				100	
P. aeruginosa	2									50	100
C. freundii	2									100	
K. oxytoca	2			100.							
E. cloacae	1				100.						
E. agglomerans	1			100.							
T O T A L	200	0.5	2	27.5	63.	77.5	79	82	83	96	100

4.2 DISCUSION.

En la Tabla 1 se muestran todas las bacterias y el porcentaje en que fueron obtenidas de los urocultivos, encontrándose la E. coli en un 73.5% siguiéndole Klebsiella sp., Enterobacter sp y Proteus sp con aproximadamente el 20.5% y por último el grupo formado por las cepas Streptococcus faecalis, Citrobacter freundii y Pseudomonas aeruginosa sumando alrededor del 3.5%, quedando Providencia rettgeri con 2.5%.

En las Tablas 2 y 3 se compara la diferencia en los resultados de la CIM₅ (expresada en términos de mcg/ml) entre los antibióticos Ac. nalidíxico y norfloxacina, ante las cepas de E. coli, Enterobacter sp, Pseudomonas aeruginosa, Proteus sp y Klebsiella sp.

Observándose de una manera muy notable que el antibiótico norfloxacina tiene un alto grado de superioridad en relación al Ac. nalidíxico; sobre todo en su acción reflejada en las especies de Pseudomonas, acción conferida por el radical piperazina.

Los discos estandarizados de norfloxacina presentan un rango de inhibición en milímetros (mm) de ≈ 12 para la resistencia y ≈ 17 para susceptibilidad y el parámetro tomado para el Ac. nalidíxico es de ≈ 14 para resistencia y ≈ 19 para susceptibilidad.

Tomándose en cuenta que el término resistencia significa improbable que el germen responda al tratamiento y el vocablo susceptibilidad denota que el microorganismo es --

susceptible a la dosis ordinaria del antibiótico.

En las Tablas 4 y 5 el objetivo es efectuar una comparación de los halos de inhibición entre los dos fármacos - en estudio.

El resultado de esta gráfica también muestra una mayor acción bactericida de la norfloxacin (disco de 10 mcg) sobre el Ac. nalidixico (disco de 30 mcg).

La Tabla 6 muestra el estudio realizado de comparación en porcentajes de susceptibilidad entre los 2 fármacos por el método de difusión en disco, hallándose que para Proteus sp, P. rettgeri, C. freundii y P. aeruginosa la susceptibilidad a norfloxacin fue de 100%, siguiéndole -- E. coli con un 92% en comparación con el Ac. nalidixico - donde P. rettgeri, C. freundii y P. aeruginosa fue de CERO%.

En la Tabla 7 podemos observar los rangos de la CIM_{50} y CIM_{90} , en lo que deducimos que el fármaco con mayor actividad en contra de microorganismos Gram negativos es la -- norfloxacin.

En las Tablas 8 y 9 se analiza a los antimicrobianos en su porcentaje acumulativo de susceptibilidad en donde - la mayoría de las bacterias con la norfloxacin se inhibieron a una concentración de 5.0 mcg/ml, excepto C. freundii (0.5%) que fue de 50 mcg/ml; en contraste con el Ac. nalidixico donde K. oxytoca y E. agglomerans se inhibieron a - 1.562 mcg/ml, E. cloacae en 3.125 mcg/ml y el resto de microorganismos sólo se inhibieron a una concentración • 100

mcg/ml.

4.3 CONCLUSION.

Las pruebas de susceptibilidad "in vitro" miden la capacidad de un antibiótico para inhibir el desarrollo bacteriano (4).

El presente estudio se realizó para comparar la susceptibilidad o resistencia a los fármacos Ac. nalidixico y norfloxacin, comprobando la importancia de conocer el comportamiento de estos agentes "in vitro"; ya que en la actualidad por diversos factores se están seleccionando muchas bacterias multirresistentes que condicionan la recurrencia, reinfección y desarrollo de cepas a pesar de la antibiototerapia.

Dicha hipótesis se llevó a cabo mediante los métodos de dilución en caldo (CIM) y difusión en disco (estandarizado por la FDA), dando por resultado en los 2 sistemas -- que la norfloxacin es significativamente superior al Ac. nalidixico en su acción deletérea sobre los microorganismos que afectan comúnmente el tracto urinario.

La problemática que trae consigo el incremento de cepas mutantes y por lo tanto un tratamiento ineficaz ha obligado la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos como la norfloxacin.

CAPITULO 5

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Calderón J.E., Infecciones en vías urinarias. Conceptos clínicos de infectología. Octava edición, México, Francisco Méndez Cervantes, 1983, Pág. 263-275.
- 2.- Krupp M.A., Chatton M.J., Infecciones del sistema urinario. Diagnóstico clínico y tratamiento. Décima octava edición, México, Editorial Manual Moderno, 1983. - Pág. 561-565.
- 3.- Zonana F.E., Medina R.J.A. Investigación clínica sobre la eficacia y seguridad de la norfloxacin en el tratamiento de infecciones del tracto urinario. Investigación Médica Internacional. Vol. 12: 64-66, 1985.
- 4.- Goodman A.G., Goodman L.S., T.W. Rall, Murad F. Agentes antimicrobianos. Las bases farmacológicas de la terapéutica. México, Editorial Médica Panamericana, - 1986, Pág. 1020-1023, 1059-1061.
- 5.- Bryant M.C., Los antibióticos. Antibióticos y su control mediante el laboratorio. Primera edición, México, Editorial El Manual Moderno, 1976, Pág. 9-13.
- 6.- Barry A.L., Smith P.B., Turck M., Gavan T.L., Labora-

tory Diagnosis of urinary tract infections. Cumulative techniques and procedures in clinical microbiology. American society for microbiology, Washington, D.C.,- Cumitech 2.

- 7.- Mendell G.L., Douglas R.G., Bennert J.E., Urinary tract infections. Principles and practice of infections diseases. Segunda edición, U.S.A., Editorial A. Willey Medical Publication, 1985, Pág. 426-438.
- 8.- Datos de los archivos clínicos del Laboratorio Merck-Sharp & Dohme (MSD).
- 9.- King A., Warren C., Shannon K., Philips I.K., "In Vitro" antibacterial activity of norfloxacin (MK 0366). Antimicrobial agents and chemotherapy. Vol. 21:604-607, 1982.
- 10.- By authority of the United States Pharmacopeial Convention, Inc., Nalidixic acid (systemic). Drug information for the health care provider. 50 edición, --- U.S.A., Editorial USP DI, 1985, Pág. 842-843.
- 11.- Wilk W.E., Preston O.A. et. al, Pruebas de laboratorio para determinar la susceptibilidad de las bacterias a los antibióticos, teoría y práctica. Lilly Research Laboratories, Indianapolis, Indiana, U.S.A.
- 12.- Haase D., Urias B., Harding G., Ronald A. Comparative

"in vitro" activity of norfloxacin against urinary - tract pathogens. Eur. J. Clin. Microbiol. Vol. 2(3) : 235-241, 1983.

13.- Sáenz A.C., González I.G.N., Estudio "in vitro" sobre la susceptibilidad a norfloxacin y ácido nalidixico- de 200 cepas bacterianas. Investigación Médica Internacional. Vol. 12 (4): 56-63, 1985.

14.- Boppana V.K., Swanson B.N., Determination of norfloxacin a new nalidixic acid analog in human serum and - urine by high-performance liquid chromatography. Anti microbial agents and chemotherapy. Vol. 21(5):808-810. 1982.