

MINISTERIO DE SALUD PUBLICA. INSTITUTO SUPERIOR DE CIENCIAS MEDICAS.
SANTIAGO DE CUBA

Sobre la sensibilidad de las cepas clínicas de estafilococos al cloramfenicol y tetraciclina en la provincia de Santiago de Cuba

Por los Dres.:

EVGUENI PETROVICH PASHKOV,¹² LOIDA VAZQUEZ RIOS,¹³
VIVIAN MARTINEZ PENTON¹⁴ y ANA DOROVES MADRAZO¹⁵

Petrovich Pashkov, E. y otros. *Sobre la sensibilidad de las cepas clínicas de estafilococos al cloramfenicol y tetraciclina en la provincia de Santiago de Cuba*. Rev Cub Med 18: 1, 1979.

Se estudió la sensibilidad al cloramfenicol y la tetraciclina por parte de los estafilococos aislados durante los meses de enero y febrero de 1977 en los diferentes hospitales de la provincia de Santiago de Cuba, por el método de las diluciones dobles y por difusión. Casi un 100% de las cepas-estudio fueron resistentes al cloramfenicol por el método de diluciones, para el cual utilizamos caldo nutritivo y agar, respectivamente. En cuanto a las características que presentan frente a la tetraciclina encontramos un 37,6% de resistencia mediante este mismo método. En los antibiogramas realizados por difusión se encontró resistencia de 16% al cloramfenicol y 12,1% a la tetraciclina.

INTRODUCCION

La antibioticoterapia racional prevé la función de creación activa del médico que conoce los principios generales de quimioterapia. El principio más importante de la antibioticoterapia

razonable (parte de la quimioterapia) es saber las indicaciones correspondientes a ella. No se puede dejar de reconocer que a menudo tiene lugar el uso indiscriminado de los antibióticos, tanto más, cuanto que en Cuba son accesibles, relativamente baratos y en los hospitales se administran en forma gratuita.

El aislamiento oportuno y la identificación del germen patógeno con la prueba simultánea de su sensibilidad a los preparados antibacterianos es una de las condiciones necesarias de la elección del antibiótico óptimo y la elaboración de una táctica racional de la terapéutica etiológica.

Gran significación especial tiene la determinación de la sensibilidad de los

¹² Candidato a Doctor en Ciencias Médicas. Docente del Primer Instituto de Medicina de Moscú, URSS. Asesor del departamento de microbiología del Instituto Superior de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba.

¹³ Asistente del departamento de microbiología del Instituto Superior de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba.

¹⁴ Médico posgraduado. Responsable del Laboratorio de microbiología del Hospital Materno Norte. Santiago de Cuba.

¹⁵ Médico posgraduado. Responsable del Laboratorio de microbiología del Hospital Infantil Sur. Santiago de Cuba.

microbios, los cuales adquieren rápidamente la resistencia (estafilococos, enterobacterias, pseudomonas, etc.).

Estudiando la sensibilidad de los estafilococos a los antibióticos, nosotros prestamos atención al hecho de su elevada resistencia al cloramfenicol, lo que nos motivó a estudiar más detalladamente esta cuestión.

El cloramfenicol es un antibiótico con la acción antimicrobiana de amplio espectro. El mecanismo de su acción radica en la inhibición de la síntesis proteica en el estadio de trasmisión de los aminoácidos en los ribosomas.

El cloramfenicol se emplea por vías oral y parenteral. Existe la dependencia de la proporción directa entre el tamaño de la dosis y el contenido del antibiótico en la sangre. Por ejemplo, después de la administración por vía oral de 2 gramos, en el suero sanguíneo se hace al cabo de dos horas la concentración máxima de 15-20 mcg/cc. La concentración máxima de cloramfenicol después de aplicarlo parenteralmente oscila en dependencia de la dosis usada en los límites 3-10 mcg/cc. El cloramfenicol penetra a través de la barrera hemato-encefálica y se descubre en el líquido cefalorraquídeo en las concentraciones que corresponden a un 30%-50% de su nivel en la sangre.

La concentración media del cloramfenicol en la orina al aplicarse 1 gramo por vía oral oscila en los límites de 30 a 200 mcg/cc y al ser 2 gramos, de 100 a 400 mcg/cc.

In vitro, en las concentraciones de 1 a 10 mcg/cc de cloramfenicol se inhibe el crecimiento de la mayoría de las cepas de los microbios, incluso los estafilococos.¹ Los mismos autores citan los datos de que el porcentaje de estafilococos resistentes al cloramfenicol varía en los límites de 30% a 50%.

No hemos encontrado en la literatura médica referencias sobre estudios realizados en nuestro país acerca de la sensibilidad de los estafilococos al cloramfenicol—por los métodos cuantitativos— de uno de los principales gérmenes en la estructura causal de las enfermedades (puede provocar hasta 45 entidades nosológicas).

Por estas razones el objetivo de nuestra investigación será la determinación de la sensibilidad de los estafilococos al cloramfenicol—aislados desde el material clínico— y también comparar la significación de los métodos usados para este propósito. Investigamos también la sensibilidad de los estafilococos a otro antibiótico de amplio espectro, la tetraciclina.

MATERIAL Y METODO

En los ensayos fueron utilizadas cepas de estafilococos, aislados de pus, exudado faríngeo, exudado nasal, secreciones de heridas quirúrgicas, secreciones traqueobronquiales, etc., en los hospitales urbanos de Santiago de Cuba durante los meses de enero y febrero de 1977 (hospital materno norte, materno sur, infantil norte, infantil sur, "Ambrosio Grillo" y laboratorio provincial de higiene, epidemiología y microbiología).

La sensibilidad de las bacterias al cloramfenicol la hemos determinado por el método de las diluciones dobles: en caldo nutritivo 113 cepas y en agar nutritivo 102. Los resultados del método de antibiograma por difusión (discos de papel) fueron traídos desde los distintos hospitales de donde procedían las cepas. Este método se utilizó en 88 cepas.

La sensibilidad de los estafilococos a la tetraciclina la hemos determinado por el método de dilución doble en agar. Fueron probadas 115 cepas, y recibimos el resultado del método de los discos de papel con 66 cepas.

El método de los discos se hizo de la siguiente manera:

El cultivo puro de 18 a 24 horas se sembró sobre la placa de agar nutritivo y se le adicionaron los discos de papel en la superficie. Estos discos son de producción nacional (centro de producción "Carlos J. Finlay", La Habana). Los resultados se leyeron según la existencia de la zona de inhibición del crecimiento de los estafilococos alrededor

del disco. La falta de la zona de inhibición del crecimiento se interpretó como la resistencia de la cepa al antibiótico; mientras que la existencia de la zona, aunque fuera pequeña, se interpretó como cepa sensible; la siembra en agar se efectuó, en ocasiones, a partir de la colonia en medio sólido, y otras, a partir de caldo; es decir, que la cantidad de los microbios del inóculo no fue siempre igual.

El método de las diluciones dobles se realizó preparando las diluciones de cloramfenicol en tubos que contenían 2 cc de caldo. En cada tubo ya preparado con antibiótico diluido y en el tubo control (sin antibiótico) añadimos 0,2 cc de cultivo de estafilococos de 18 a 20 horas, diluido en 100 veces. La dosis de los gérmenes en el inóculo es aproximadamente 10^7 de las células vivas.

Los tubos ya preparados, se colocaron en la incubadora a 37 grados por un espacio de 18 a 24 horas. Los resultados se calcularon determinando la presencia de la zona de crecimiento de los microbios por la turbidez del tubo. El último tubo con el caldo transparente corresponde a la concentración mínima inhibitoria (MIC) del antibiótico.

Método de las diluciones dobles en el medio sólido

El principio de este método es el mismo que en el caldo nutritivo. Se prepararon las filas de las placas con agar con las diluciones del cloramfenicol. Al agar derretido en *Erlenmeyer*, se vertió

1 cc de caldo con la dilución correspondiente de antibiótico. Se tubo en cuenta efectuar este paso cuando la temperatura del agar estaba entre 50 y 60 grados centígrados.

El agar se mezcló bien con la dilución y se tiraron las placas. Para sembrar se utilizaron los dispositivos especiales (molde replicador), que nos permiten sembrar simultáneamente sobre la superficie de una placa 25 cepas. Los resultados se leen después de las 18-24 horas de incubación a 37 grados. Por la MIC del antibiótico se toma la que no da crecimiento sobre la placa de agar.

re.M.
ENERO-FEBRERO, 1979

RESULTADOS Y DISCUSION

Al principio hemos estudiado la sensibilidad de los estafilococos al cloramfenicol en los límites 50: 25: 12,5: ...

0, 1 mcg/cc. Pero resultó que casi todas las cepas eran resistentes a 50 mcg/cc. A partir de los datos obtenidos de 50 cepas, pasamos al ensayo de las concentraciones más altas: 1 000 microg/cc, 500: 250: 125: 62,5: 31,25, microgramos/cc. Los datos obtenidos de la sensibilidad de los estafilococos se presentan en el cuadro I. Fue establecido que la concentración mínima inhibitoria (MIC) obtenida con ayuda del método de diluciones dobles en caldo equivale a 31,25 mcg/cc para 3 cepas; 62,5 mcg/cc para 17 cepas; 125 mcg/cc para 18 cepas; 250 mcg/cc para 25 cepas; 500 mcg/cc para 40 cepas; y 1 000 mcg/cc para 2 cepas.

Tomando en cuenta que la diferencia de una dilución sola, prácticamente no tiene significación, ya que puede ser explicada por los defectos técnicos del ensayo, se puede considerar que los datos de estas dos modificaciones coinciden. Existen dos criterios sobre la significación de estas dos modificaciones. Unos consideran que con el método de dilución en agar se obtienen resultados más seguros.^{2,3} Este método se recomienda por el comité de expertos de la OMS como el más racional y exacto de los métodos cuantitativos.⁴ Los otros indican como más sensibles el de la dilución en caldo.

Los datos de sensibilidad de los estafilococos por el método de los discos (difusión) se obtuvieron de 88 cepas, de las cuales solamente 14 resultaron resistentes y 74 sensibles (cuadro II). De esta manera los resultados más contradictorios se observan al comparar los datos obtenidos por el método de dilución en sus dos modalidades de un lado, y por el método de difusión de otro lado.

Es posible que en los datos del método de difusión influyan más las condiciones del ensayo (grosor del agar, densidad de la zona microbiana, el compuesto del medio), conservación de los discos y el modo de leer los resulta

CUADRO I

DISTRIBUCION DE LAS CEPAS DE ESTAFILOCOCOS POR SU CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA AL CLORAMFENICOL POR LOS METODOS DE DILUCION EN CALDO Y EN AGAR

Método utilizado	Total de cepas	Concentración mínima					Inhibición en mcg/cc			
		1	500	250	125	62.5	31.25	25	12,5	6.25
Dilución en caldo	113	000	40	25	18	17	3	0	0	0
%	100	8,8	35,4	22,1	16	15	2,7	0	0	0
Dilución en agar	102	2	30	56	12	2	0	0	0	0
%	100	2	29,4	54,9	12	2	0	0	0	0

CUADRO II

DISTRIBUCION DE LAS CEPAS SENSIBLES Y RESISTENTES AL CLORAMFENICOL POR EL METODO DE DISCOS, DILUCION EN AGAR Y EN CALDO

Método	Total de cepas		Sensibles		Resistentes	
	No.	%	No.	%	No.	%
Método de discos	88	100	74	84	14	16
Dilución en caldo	113	100	0	0	113	100
Dilución en agar	102	100	0	0	102	100

CUADRO III

COMPARACION ENTRE LA DOSIS DE LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA Y LA SENSIBILIDAD O RESISTENCIA POR EL METODO DE DISCOS

No. de cepas	MIC Resistentes	Sensibles
1	250	250
2	500	250
3	250	500
4	62,5	500
5	125	500
6	62,5	500
7	62,5	500
8	250	500
9	125	500
10	62,5	500
11	250	1 000
12	500	1 000
13	62,5	1 000
14	250	1 000

dos (sin tener en cuenta el diámetro de la zona de inhibición).

La prueba de falta de exactitud se ve en el cuadro III. En éste se muestra la comparación de 14 cepas resistentes según el método de discos, y 14 cepas sensibles con sus respectivas concentraciones mínimas inhibitorias.

Podemos ver que el nivel de MIC de los estafilococos "sensibles" a menudo es mucho más elevado que el de los resistentes.

Los resultados de la sensibilidad de 115 cepas de los estafilococos a la tetraciclina, se exponen en el cuadro IV.

Está establecido que la MIC de la tetraciclina para 15 cepas equivale a 100 mcg/cc; para 8 cepas 50 mcg/cc; para 13 cepas 25 mcg/cc; para 7 cepas 12,5 mcg/cc; y para 72 cepas la MIC es menos de 12 mcg/cc.

CUADRO IV
DISTRIBUCION DE LAS CEPAS DE ESTAFILOCOCOS POR SU SENSIBILIDAD A LA TETRACICLINA
POR EL METODO DE DILUCION EN AGAR

Cantidad de cepas	Concentración mínima inhibitoria (mcg/cc)									
	100	50	25	12,5	6,25	3,125	1,56	0,78	0,39	0,2
115	15	8	13	7	3	6	2	14	42	5

CUADRO V
DISTRIBUCION DE LAS CEPAS SENSIBLES Y RESISTENTES A LA TETRACICLINA POR EL
METODO DE DISCOS Y DILUCION EN AGAR

	Total de cepas		Sensibles		Resistentes	
	No.	%	No.	%	No.	%
Método de discos	66	100	58	87,9	8	12,1
Método de dilución en agar	115	100	72	62,4	43	37,6

La mayoría de estas cepas es sensible a la MIC de 0,39 mcg/cc (42 cepas). Si consideramos que las cepas resistentes tienen MIC mayor a 10 mcg/cc^{1,2} podemos decir, que de 115 cepas estudiadas 43 cepas son resistentes, es decir, casi el 38%; y de 72 cepas que son las sensibles, un 62%. Por el método de discos teníamos en total los datos de 66 cepas, de las cuales 8 fueron resistentes (12,1%) y 56 sensibles (87,9%) (cuadro V).

El aumento de la resistencia a las drogas, como regla, está relacionado con la intensidad y el tiempo del empleo del antibiótico, con su correcta indicación, con la correspondencia a la especie del microbio. Sobre todo, ello se refiere a cuando el microbio se trata de un estafilococo, que provoca hasta 45 enfermedades. La investigación hecha demostró que, en la ciudad de Santiago de Cuba, circula una gran cantidad de cepas de estafilococos, para las cuales la MIC de cloramfenicol sobrepasa los límites de las concentraciones máximas que son alcanzadas en el organismo del enfermo.

La investigación realizada demostró también que se observaba resistencia de los estafilococos, en casi el 40% simultáneamente, a dos antibióticos: cloramfenicol y tetraciclina, en primer lugar, al cloramfenicol.

CONCLUSIONES

1. El 100% de las cepas de estafilococos aislados en enero y febrero de 1977 a partir de los enfermos de Santiago de Cuba, son resistentes al cloramfenicol.
2. La resistencia a la tetraciclina se presentó en el 37,6%.
3. Las cepas analizadas poseen resistencia a los dos antibióticos simultáneamente (37,6%).
4. La considerable resistencia al cloramfenicol y la tetraciclina impone la búsqueda de la dosis mínima inhibitoria para fundamentar el tratamiento adecuado.
5. Los datos del método de antibiograma por difusión en agar (discos) no se corresponde con los del antibiograma por dilución de los antibióticos cloramfenicol y tetraciclina.

1. La modificación del método de antibiograma por dilución en agar con el uso del molde replicador es simple, económico, accesible, fácil, cómodo y permite conocer simultáneamente la sensibilidad de 25 cepas.
2. Con el propósito de disminuir la propagación de las cepas resistentes debe excluirse en un período de tiempo la utilización del cloramfenicol para los estafilococos en la provincia de Santiago de Cuba.
3. Es oportuno investigar la sensibilidad de las cepas de estafilococos por el método de dilución en agar con ayuda del molde replicador en otras provincias, con la finalidad de observar la dinámica del cambio de la resistencia a los antibióticos.

SUMMARY

Petrovich Pashkov, E. et al. *On the sensitivity of clinical strains of staphylococci to chloramphenicol and tetracycline in the Santiago de Cuba province.* Rev Cub Med 18: 1, 1979.

The sensitivity of staphylococci strains isolated between January-February, 1977 in the different hospitals of the Santiago de Cuba province to chloramphenicol and tetracycline using the double dilution method and the diffusion method was studied. Almost a 100% of the strains under study were refractory to chloramphenicol according to the dilution method using nutritive bouillon and agar. A 37,6% resistance to tetracycline was found using the same method. A 16% resistance to chloramphenicol and a 12,1% resistance to tetracycline were found in the antibiograms obtained through the diffusion method.

RÉSUMÉ

Petrovich Pashkov, E. et al. *Sur la sensibilité des souches cliniques de staphylocoques au chloramphénicol et à la tétracycline, à la province de Santiago de Cuba.* Rev Cub Med 18: 1, 1979.

La sensibilité des staphylocoques au chloramphénicol et à la tétracycline est étudiée. Ils ont été isolés pendant les mois de janvier et février de l'année 1977 aux différents hôpitaux de la province de Santiago de Cuba, au moyen de la méthode des dilutions doubles et par diffusion. Près de 100% des souches étudiées ont été résistantes au chloramphénicol par la méthode des dilutions, pour laquelle on a utilisé bouillon nutritif et agar-agar, respectivement. Il y a eu 37,6% de résistance à la tétracycline au moyen de cette même méthode. Ils ont aussi présenté 16% de résistance au chloramphénicol et 12,1% de résistance à la tétracycline à partir des antibiogrammes réalisés par diffusion.

PESEME

Esraifl üeTpoBirq naaotoB, a jp.

0 wyBCTBHTEjn>HoCTz

KJnSHTieOKKX pOOTKOB 8CTa\$0JUIOKOKKOB Ha XJIOJXXfjeHZKOJI H —
TexpaiOHUIM B npOBHHUHH CaHTffftO na Kyóa. Rev Cu fe Med 18:
1, 1979

Efaao npoBejeHo HccjiejoBaHHe HyBCTBKTejrtHocTH Ha \$Jiopo(f>eHH KOJ5 CO OTOpOHU 9CTa\$0JUIOKOKKOB, BHJCJieHHIIX B WieHflJ HHBa pH i \$eBpa5w MecJdeB 1977 roja b pa3HHX rocmitajiHx npoBHH 1503 CaHTbHro js Kytia; BHjejeHHe óujio npoBejeHo c noMonrbs>- MeTOja jtBotaoro pacTBopeHas h MeToja pacmMefflW. no^ns — 100% HccjiejOBaHHia pocrkob óum ctoékhmh Ha xjiopo<|)opM npa UpKMCHeHHH pacTBOpCiffll, JJH ROTOpOr OHJI HCn0JIB30BaH HHTa TextsHfi OTBap h arap, cOOTBeTCTBeHHO. Hto Kacaercn xapan- TepecTHK, BCTaxanHi npOTHB TeTpaimtüHHa, HaMH óhjo oÓHapy- :ü8ho, nocpejctBOM Toro se caMoro MeToja, 37,6# ctoúkocth. B aHTHdHorpaMMax, upoBejehhx c noMonruo pacTBoperaiH óhjo- OÓHapyxeHO 16% ctoúrocth Ha xpopoternakoji h 12,1\$ Ha TeTpa UHftSHH.

BIBLIOGRAFIA

1. *Navashin, O. M.; Fomina, I. P.* Spravochnic po antibioticam. Moskva "Medicina" str. 150, 1974.
2. *Sobolev, V. R. et al.* Izuchenie Chuvstvitel- nosti stafiloccov, videlennij ot bolnij y obslugivayuchego personala, krazlichnlm antibioticam. Antibiotiqui No. 2 str. 162, 1971.
3. *Gause, G. F.* Sovremennie metodi opredile- nia chuvstvitelnosti y ij snachenie dlia ra- cionalnoi antibioticoterapii. Antibiotiqui, No. 10 str. 952, 1969.
4. *Ericsson, H.; Sherris, I.* Antibiotic sensitivity Testing. (Report of international collabora- tive study sponsored). WHO Geneva, p. 77, 1970.
5. *Lianza Yatij, E.; Moya Esterna, M.* Estudio de algunas características de los estafilococos patógenos aislados de heridas sépticas quirúrgicas, multirresistencia, resistencia a 10 microgramos de tetraciclina por mi de medio y fagotipificación. (Revista 16 de Abril, 15: 62, marzo-abril, 1976).