

Prueba rápida de sensibilidad a antibióticos*

II. Comparación con la modificación de Bass

DRA. VIRGINIA UMAÑA **

DR. BERNAL FERNÁNDEZ***

Las diversas pruebas rápidas para determinar sensibilidad a antibióticos que han sido propuestas (3, 4, 6, 7) emplean sustancias que sufren cambios de color como consecuencia de la actividad metabólica de las bacterias. Dicha actividad se hace sentir (a través de cambios de óxido-reducción en el medio) mucho antes de que el crecimiento bacteriano se haga perceptible a simple vista. De ahí su ventaja sobre el método usual lento.

En una publicación anterior (8) describimos y evaluamos nuestra modificación al método rápido de Jackson *et al.* (5) para determinar antibiosis por reducción de la hemoglobina de la sangre que se incorpora al medio de cultivo.

Dado que Bass *et al.* (1, 2) habían evaluado y modificado el método original de Jackson antes citado, nuestra modificación se justifica sólo si alguno de los objetivos perseguidos han sido alcanzados: hacer el método más sencillo y obtener lecturas más nítidas, sin disminuir con ello el grado de confianza en los resultados. En el presente trabajo se demuestra que nuestros objetivos fueron logrados.

MATERIAL Y METODOS

Los materiales empleados así como nuestra modificación al método de Jackson *et al.* ya han sido descritos (8). El método rápido según la modificación de Bass *et al.* (2) emplea Agar con Soya y Trypticase conteniendo un 20% de sangre humana para la capa inferior del plato, y Caldo con Soya Trypticase conteniendo 1.5% de agar, para la capa superior.

RESULTADOS Y DISCUSION

Después de hacer un número de pruebas de sensibilidad a antibióticos empleando la modificación de Bass *et al.* (2) decidimos analizar algunos de los factores que podrían contribuir a hacer más factible dicha prueba para el uso

* Este trabajo es parte de la tesis presentada por el autor principal para completar los requisitos para optar al título de Licenciada en Microbiología y Química Clínica en La Universidad de Costa Rica y fue realizado en el Departamento de Microbiología de dicha Universidad.

** Dirección actual: Universidad de Duke, Durham, N. C., U.S.A.

*** Departamento de Microbiología, Universidad de C. R.

en el laboratorio clínico. Dentro de ellos vimos que tanto el método original de Jackson *et al.* (5) como la modificación descrita por Bass emplean dos medios de cultivo diferentes para la prueba rápida, uno para la capa inferior y otro para la superior. Creímos que sería conveniente el uso de un medio más sencillo, que empleara los mismos componentes en ambas capas de agar.

La capa superior de agar sirve de vehículo para la distribución uniforme y crecimiento del inóculo, y la capa inferior sirve tanto de reserva de nutrimentos como de indicador de óxido-reducción. Nos pareció conveniente, entonces, reducir el volumen de la capa superior de 10 ml. que emplea Bass a 4 ml., con lo cual logramos disminuir su espesor y poner el inóculo bacteriano más próximo a la capa inferior, en la cual se manifiestan los cambios de redox como consecuencia de la respiración bacteriana. Creímos que este cambio se traduciría tanto en la aparición más temprana de las zonas de inhibición como en una mejor definición de ellas. Sin embargo, tropezamos con la dificultad de que era difícil recubrir totalmente la superficie de la capa inferior con un volumen de 4 ml. de agar al 1.5%. Redujimos entonces la concentración de agar en la capa superior a 0.75%, logrando así un medio mucho menos viscoso que permitía cubrir bien la totalidad de la capa inferior. La nitidez de las zonas mejoró no sólo en la lectura temprana sino que la superioridad sobre el método de Bass se destacó aún más en la lectura final a las 24 horas, puesto que en nuestro método las zonas de inhibición se conservaron nítidas mas no así en la modificación de Bass.

Además, encontramos otra ventaja no prevista: en los casos en que se empleó pus como inóculo, éste se mezcló fácilmente con los 4 ml. de agar al 0.75%, mientras fue difícil hacer lo mismo cuando usamos 10 ml. de agar al 1.5%, dada la viscosidad de los materiales.

Siendo que resulta fácil obtener sangre humana vencida (de los bancos de sangre) para realizar esta prueba, decidimos incorporar el uso de este material a nuestra modificación del método original de Jackson ya citado.

En los cuadros 1 y 2 se presentan los resultados obtenidos por el método rápido de Bass *et al.* así como por el nuestro y se comparan con los del método lento llevado a cabo en paralelo. Nuestra modificación empleando el Medio de Soya y Trypticase se usó con las primeras 50 cepas bacterianas (Cuadro 1) y las otras 66 cepas fueron usadas para evaluar nuestra modificación a base del Medio de Infusión Cerebro y Corazón (Cuadro 2). Vistos los resultados de ambos cuadros podemos concluir en que no hay diferencias significativas en la concordancia de resultados obtenidos con la modificación de Bass o con la nuestra al compararlas con el método usual lento. Siendo lo anterior así, logramos nuestro objetivo de obtener un método rápido que fuera sencillo y de lecturas más nítidas.

R E S U M E N

Nuestra modificación al método rápido por reducción de hemoglobina de Jackson *et al.* para determinar la sensibilidad de bacterias a antibióticos fue comparada en cuanto a diferencias de técnica con la de Bass *et al.* Se encontró que ambas modificaciones no diferían significativamente entre sí en cuanto al grado

de concordancia con los resultados obtenidos por el método usual lento. Por tanto, logramos nuestro objetivo de diseñar un método rápido más sencillo y que permite lecturas más nítidas que los existentes.

CUADRO N° 1

CONCORDANCIA DE RESULTADOS DEL METODO RAPIDO DE BASS ET AL. Y NUESTRA MODIFICACION QUE EMPLEA EL MEDIO DE SOYA Y TRIPTICASE, CUANDO SE LES COMPARA CON EL METODO USUAL LENTO*

Incubación (Horas)	Total de resultados** Método lento	RESULTADOS CONCORDANTES			
		Método rápido Nuestro		Método rápido de Bass <i>et al.</i>	
		Nº	%	Nº	%
3 a 6	600	530	88	541	90
24	600	581	97	558	93

* Se usaron 50 cepas bacterianas y 6 antibióticos a 2 concentraciones cada uno.
 ** Total = 50 cepas x 6 antibióticos x 2 concentraciones de cada antibiótico.

CUADRO N° 2

CONCORDANCIA DE RESULTADOS DEL METODO RAPIDO DE BASS ET AL. Y NUESTRA MODIFICACION QUE EMPLEA EL MEDIO DE INFUSION CEREBRO Y CORAZON, CUANDO SE LES COMPARA CON EL METODO USUAL LENTO*

Incubación (Horas)	Total de resultados** Método lento	RESULTADOS CONCORDANTES			
		Método rápido Nuestro		Método rápido de Bass <i>et al.</i>	
		Nº	%	Nº	%
3 a 6	792	676	85	686	87
24	792	721	91	729	92

* Se usaron 66 cepas bacterianas y 6 antibióticos a 2 concentraciones cada uno.
 ** Total de resultados = 66 cepas x 6 antibióticos x 2 concentraciones de cada antibiótico.

SUMMARY

Our modification of a rapid (hemoglobin reduction) method for antibiotic susceptibility determination as described by Jackson *et al.* was compared with that of Bass *et al.* as to differences in technique. Both modifications were evaluated against the standard disc method and no significant difference was found between them as to their correlation to the standard. Hence, we achieved our objective of designing a simpler rapid method which were to give clearer readings than those formerly available.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—BASS, J. A.; F. B. ENGLE; R. R. MITCHELL, AND T. G. BLOCKER.
Evaluation of a rapid (hemoglobin reduction) method for determining antibiotic susceptibility of microorganisms. I. Preliminary evaluation using stock organisms. *Antib. and Chemo.* 7:140-145, 1957.
- 2.—BASS, J. A.; F. B. ENGLE; R. B. MITCHELL, AND T. G. BLOCKER.
Evaluation of a rapid (hemoglobin reduction) method for determining antibiotic susceptibility of microorganisms. II. Modification in technique. *Antib. and Chemo.* 7:160-165, 1957.
- 3.—BIERINGER, G. S., AND J. B. MIALE.
Evaluation of a rapid dye-reduction test for bacterial susceptibility to antibiotics. *Am. J. Clin. Path.* 36:195-202, 1961.
- 4.—BROWN, J. R.; R. W. BECK, J. M.; WOODWARD, AND R. P. PORTER.
A rapid test for bacterial sensitivity to antibiotics. *Am. J. Clin. Path.* 35:10-13, 1961.
- 5.—JACKSON, J. L. W.; W. E. DYE, AND R. B. MITCHELL.
Use of hemoglobin indicator for rapid method of determining antibiotic susceptibility of microorganisms. *Texas Rep. Biol. and Med.* 12:171-172, 1954.
- 6.—PITAL, A.; D. T. DISQUE, AND J. M. LEISE.
A new rapid plate method for determining antibiotic sensitivity. *Antib. and Chemo.* 6:351-359, 1956.
- 7.—RAJAM, P. C., AND J. D. ADCOCK.
A rapid test for screening the sensitivity of *Staphylococci* to antibiotics. *Am. J. Clin. Path.* 23:1168-1172, 1953.
- 8.—UMAÑA, V., AND B. FERNÁNDEZ.
Prueba rápida de sensibilidad a antibióticos. I. Comparación con el método usual lento. *Acta Médica Costarricense*, Vol. 12, N° 2, pág. 43-49.