

PERU: EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE DISCOS DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA

Obregón George¹, Zavaleta Alfonso^{2,3}

RESUMEN.

Se evaluó la calidad de 24 lotes de discos de sensibilidad antimicrobiana de dos marcas, una de fabricación nacional y otra de fabricación extranjera (USA), ambas comercializadas en el mercado peruano, empleando la norma M2-A5 del NCCLS. Se evaluaron lotes de discos β -lactámicos de Amoxicilina/Ácido Clavulánico 20/10 μ g, Ampicilina 10 μ g, Cefotaxime 30 μ g, Ceftazidime 30 μ g, Ceftriaxone 30 μ g, Cefuroxime 30 μ g, Oxacilina 1 μ g, Penicilina 10 UI, y lotes de discos no β -lactámicos de Ácido Nalidíxico 30 μ g, Amicacina 30 μ g, Ciprofloxacina 5 μ g, Clindamicina 2 μ g, Cloranfenicol 30 μ g, Eritromicina 15 μ g, Estreptomycin 10 μ g, Gentamicina 10 μ g, Norfloxacina 10 μ g, Vancomicina 30 μ g, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 25922, utilizando el Método Kirby-Bauer.

Los diámetros de zona de inhibición antibiótica obtenidos experimentalmente fueron comparados con los valores indicados en la norma, utilizando la Prueba de Límites de Confianza. Sólo el 50% del total de los lotes de discos evaluados cumplieron satisfactoriamente los requisitos de la norma, mientras que el 66,7% de los lotes de discos de fabricación extranjera cumplió con dichos requisitos. El 50% de los lotes de discos nacionales y extranjeros (Amicacina, Estreptomycin y Gentamicina) presentaron comportamiento similar, (Prueba de Hipótesis sobre Promedios) pero sólo el lote de discos de Gentamicina de fabricación extranjera cumplió con la norma M2-A5.

La elevada proporción de lotes de discos evaluados que obtuvieron resultados no conformes, plantea la necesidad de realizar un mayor número de evaluaciones a fin de conocer la real situación de la calidad de los discos de sensibilidad antimicrobiana disponibles en el Perú, debido a su particular importancia en el diagnóstico clínico.

Palabras claves: Discos de Sensibilidad Antimicrobiana, Kirby-Bauer, NCCLS, control de calidad.

ABSTRACT

The quality of 24 lots of anti-microbic sensitivity discs of two trade mark was evaluated, one of domestic manufacture and the other of foreign (USA) manufacture, both being marketed in Peru, using the M2-A5 standard of NCCLS. Lots of the following discs are evaluated: β Amoxycillin lactam/Clavulanic Acid 20/10 μ g, Ampicillin 10 μ , Cefotaxim 30 μ g, Ceftazidim 30 μ g, Ceftriaxone 30 μ g, Cefuroxim 30 μ g, Oxacillin 1 μ g, Penicillin 10 UI, as well as lots of discs non β -lactams of Nalidixic Acid 30 μ g, Amicacin 30 μ g, Cuprafloxacin 5 μ g, Clindamycin 2 μ g, Chloraphenicol 30 μ g, Eritromycin 15 μ g, Streptomycin 10 μ g, Gentamycin 10 μ g, Norphloxin 10 μ g, Vancomycin 30 μ g, against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Escherichia coli* ATCC 25922, using the Kirby-Bauer method.

The diameters of the antibiotic inhibition zone obtained experimentally were compared with the values indicated in the standard, using for this purpose, the Proof of Reliability Limits. The results show that only 50% of the total lots of discs evaluated, satisfactorily comply with the standard requirements. Furthermore, 66,7% of the foreign manufacturers' discs complied with these requirements. On analyzing 50% of the lots of national and

Biólogo, División de Microbiología, Centro Nacional de Control de Calidad. Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú.

Médico Cirujano, Doctor en Farmacología, Profesor Principal, Sección de Farmacología, Dpto. de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia. A.P. 5045, Lima 100, Perú.

Director General, Centro Nacional de Control de Calidad. Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú.

foreign manufactured discs (Amycacin, Streptomycin and Gentamycin) using the Proof of Hypothetic Means showing similar behavior, only the foreign manufactured Gentamycin discs complied with the standard M2-A5.

The great proportion of the lots of discs evaluated, obtaining non-conforming results, indicated the need to carry out a greater number of evaluations in order to know the real situation of the quality of antimicrobial sensitive discs available in Peru, due to its particular importance in clinical diagnosis.

Key word: Antimicrobial Disk Susceptibility, Kirby-Bauer, NCCLS, quality control

INTRODUCCION

Dentro del amplio espectro de productos evaluados por métodos de control de calidad, cabe mencionar a los de diagnóstico clínico, debido a su importancia en la aplicación terapéutica en clínica humana, y en particular a los discos de sensibilidad antimicrobiana. La conveniencia del control de calidad en dichos productos es fundamental, pues asegura la validez de los resultados de los análisis clínicos, y como consecuencia directa de ello, el establecimiento de una terapia antibiótica eficaz mediante la utilización adecuada de diversos productos farmacéuticos.

La existencia de microorganismos resistentes a la acción de dichos productos farmacéuticos, convirtió el desarrollo de pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos, en una necesidad práctica^{1,2}. La prueba de sensibilidad con discos de papel, conocidos también como discos de sensibilidad antimicrobiana, fue una de las primeras pruebas realizadas y es en la actualidad una de las más ampliamente aceptadas^{2,3,5}.

El mercado peruano cuenta con discos de sensibilidad antimicrobiana de fabricación nacional y extranjera, cabe señalar que en el Perú no existe aún una norma técnica específica para la evaluación de la calidad de tales discos. Se ha establecido internacionalmente como método de control de calidad la norma M2-A5, aprobada en 1993 por el Comité Nacional para Estándares de Laboratorio Clínico de los Estados Unidos de Norteamérica (NCCLS)⁶. Para el estudio, se aplicó los criterios de evaluación de esta norma a los 24 lotes de discos de las dos marcas evaluadas durante el período 1997. Asimismo, los datos registrados fueron analizados estadísticamente por medio de la prueba de Límites de Confianza y comparados con los establecidos en la norma M2-A5 del NCCLS, también se utilizó la prueba de Hipótesis sobre Promedios. Se estableció como la hipótesis planteada el que el promedio de ambas soluciones sean iguales.

MATERIALES Y METODOS

Se evaluó un total de 24 lotes de discos de sensibilidad antimicrobiana de dos marcas comercializadas en el mercado peruano, una de fabricación nacional (EMERME, Lima Perú) y otra de fabricación extranjera (DIFCO, USA), ambas fueron analizadas según la norma M2-A5: «Funcionamiento de Estándares para las Pruebas de los Discos de Sensibilidad Antimicrobiana» del NCCLS⁶, la cual está basada en el método de difusión en agar desarrollado por Kirby-Bauer⁷. La selección de los lotes se efectuó al azar.

Los discos evaluados fueron agrupados en antibióticos β -lactámicos y no β -lactámicos de-

bido a que el primer grupo de antibióticos presenta un importante registro histórico, así como una amplia utilización quimioterapéutica, a diferencia de los antibióticos del segundo grupo, que son de aparición más reciente y de uso más restringido⁸.

Los discos fueron enfrentados a las siguientes cepas de referencia: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Los diámetros de los halos de inhibición de los discos de sensibilidad antimicrobiana registrados en los análisis de control de calidad, se com-

pararon con los registros de los diámetros de zona indicados en la norma M2-A5, utilizándose para ello la Prueba de Límites de Confianza⁹. Los discos fueron considerados no conformes en los casos en que el diámetro de la zona de inhibición antibiótica excedió o fue menor en 1 mm al diámetro de zona indicado en la norma.

Para comparar si las respuestas de los discos

de sensibilidad antimicrobiana de fabricación nacional y extranjera eran similares, se procedió a una Prueba de Hipótesis sobre Promedios⁹.

Finalmente, con la intención de comparar la variabilidad existente entre discos del mismo antibiótico, pero de diferentes marcas, se realizó el análisis de Coeficiente de Variabilidad (CV)⁹.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Verificación de la eficacia de los discos de sensibilidad antimicrobiana de fabricación nacional y extranjera.

Se obtuvieron tres tipos de no conformidades. En el primer tipo (Figura 1) se presentó deficiencia en la actividad antibiótica de los discos evaluados (discos nacionales de Amicacina 30 µg, Ceftazidima 30 µg, Estreptomicina 10 µg, Gentamicina 10 µg, Norfloxacin 10 µg, Penicilina 10 UI y discos importados de Vancomicina 30 µg). En el segundo caso (Fi-

gura 2) se presentó no conformidad por exceso y defecto de actividad antibiótica, esta característica se presentó sólo en discos nacionales (Amicacina 30 µg y Gentamicina 10 µg). En el tercer caso (Figura 3) se presentó exceso en la actividad antibiótica de los discos (discos importados de Amoxicilina/Acido Clavulánico 20/10 µg, Ampicilina 10 µg, Amicacina 30 µg, Estreptomicina 10 µg y Penicilina 10 UI y discos nacionales de Amicacina 30 µg y Estreptomicina 10 µg).

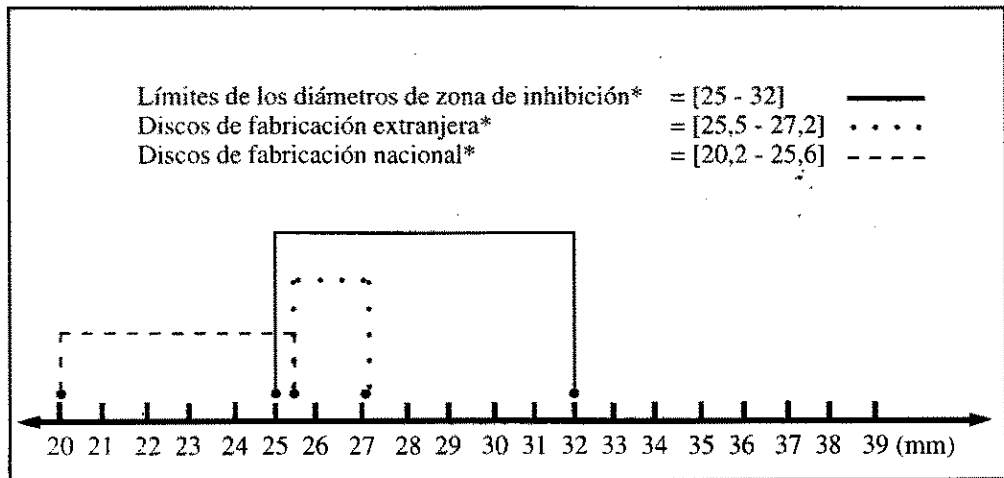


Figura 1: Comparación de los valores de la norma M2-A5 del NCCLS (1993) con los límites de confianza de discos de fabricación nacional y extranjera de Ceftazidime 30 µg (Antibiótico β-lactámico) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922. * Según Estándar Internacional M2-A5; ** Límites de Confianza $t_{0.05}$.

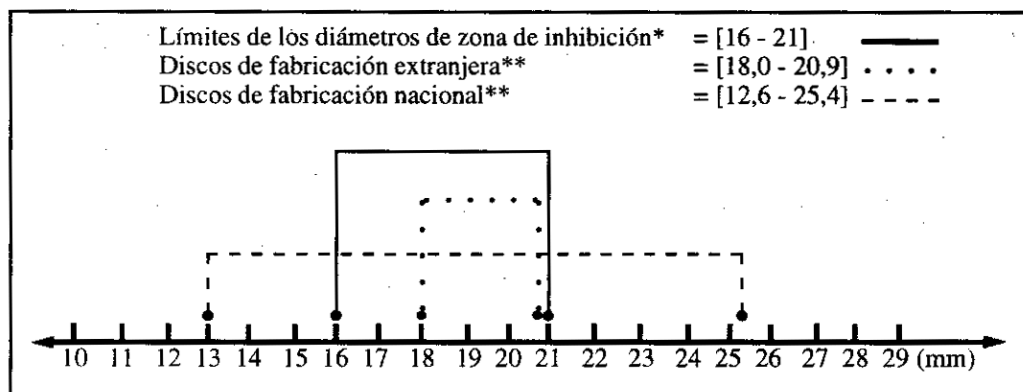


Figura 2: Comparación de los valores de la norma M2-A5 del NCCLS (1993) con los límites de confianza de discos de fabricación nacional y extranjera de Gentamicina 10 µg (Antibiótico no β -lactámico) frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. * Según Estándar Internacional M2-A5; ** Límites de Confianza $t_{0,05}$.

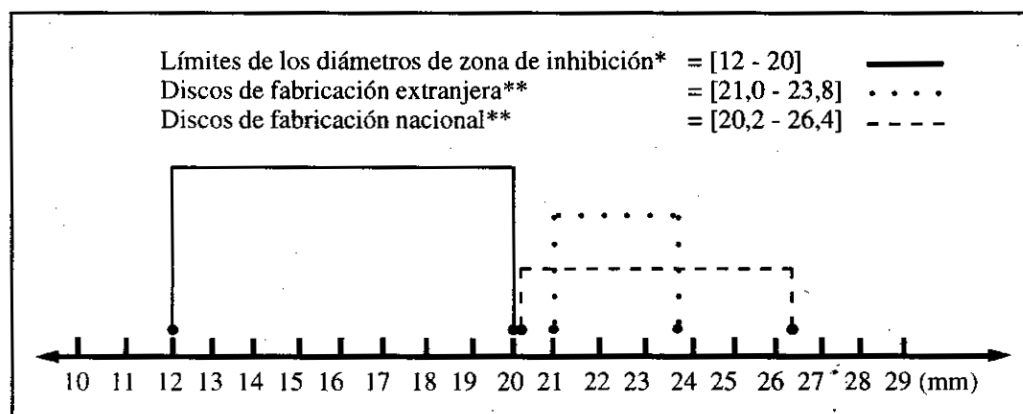


Figura 3: Comparación de los valores de la norma M2-A5 del NCCLS (1993) con los límites de confianza de discos de fabricación nacional y extranjera de Estreptomicina 10 µg (Antibiótico no β -lactámico) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 * Según Estándar Internacional M2-A5; ** Límites de Confianza $t_{0,05}$.

Se observó que la mayoría (66,7%) de los lotes de discos extranjeros (Tabla 1), cumplieron con los parámetros de la norma. Por otro lado, se pudo observar que los discos de la marca extranjera que fueron no conformes (33,3%), presentaron un exceso de potencia en su respectiva concentración antibiótica, a excepción de la Vancomicina que registró valores menores a los señalados por la norma M2-A5, lo cual hace presumir que estos antibióticos por tener la característica de disminuir en su potencia con el transcurrir del tiempo, haya motivado al fabricante a colocar en el disco una mayor concen-

tración antibiótica con la intención de disminuir este efecto.

En cuanto a los lotes de discos nacionales evaluados (Tabla 2), se pudo observar que ellos no cumplieron con la norma M2-A5 en ninguno de los casos. Asimismo, se observó discos nacionales que presentaron halos de inhibición defectuosos a diferencia de los discos extranjeros (Figuras 4 y 5). La no conformidad de estos lotes, probablemente se deba a defectos en la fabricación y/o almacenamiento de los mismos, ya que como se verificó los envases no estaban acompañados de desecadores, precintos de se-

guridad, ni otros dispositivos de protección, a diferencia de los lotes de discos de marca extranjera que si presentaron desecadores y precintos de seguridad.

Comparación entre discos de sensibilidad antimicrobiana de fabricación nacional y extranjera.

Se observó que en un 50% de los discos evaluados existió sustento estadístico para aceptar la Hipótesis planteada. Dichos discos fueron: Amicacina 30 µg, Gentamicina 10 µg y

Estreptomina 10 µg

Se determinó que en la mitad de los casos, los discos nacionales y extranjeros presentaron respuestas similares, por lo que no existiría diferencia en trabajar con cualquiera de ellos, sin embargo, cabe señalar que el lote de discos de Gentamicina de fabricación extranjera es el único disco evaluado que cumple con los requisitos exigidos por la norma, lo cual se explica por que tanto los discos de Gentamicina nacional como extranjera si bien presentan promedios similares, no tienen los mismos rangos de halos de inhibición antibiótica.

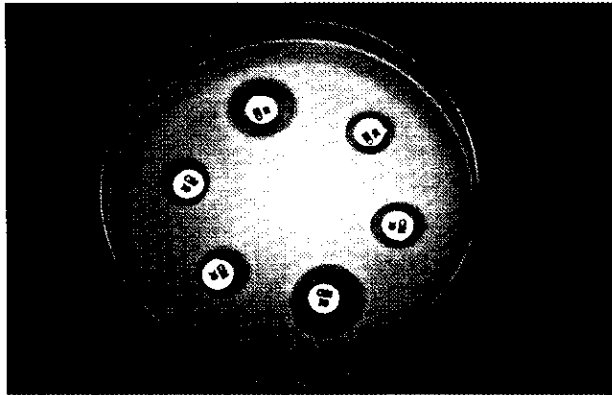


Figura 4: Zonas de inhibición defectuosas de discos de Ceftazime 30 µg de fabricación nacional en una placa conteniendo *Escherichia coli* ATCC 25922

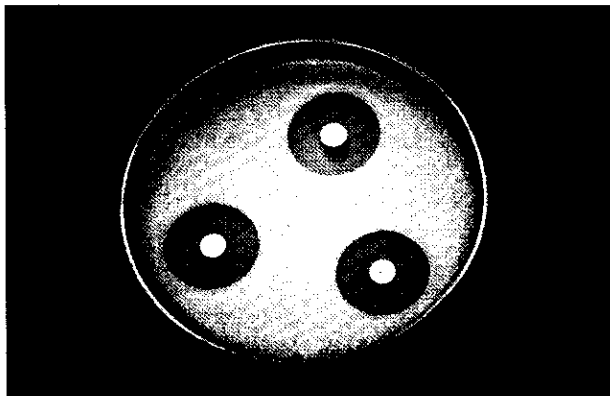


Figura 5: Zonas de inhibición antibiótica de discos de Ceftazime 30 µg de fabricación extranjera en una placa conteniendo *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

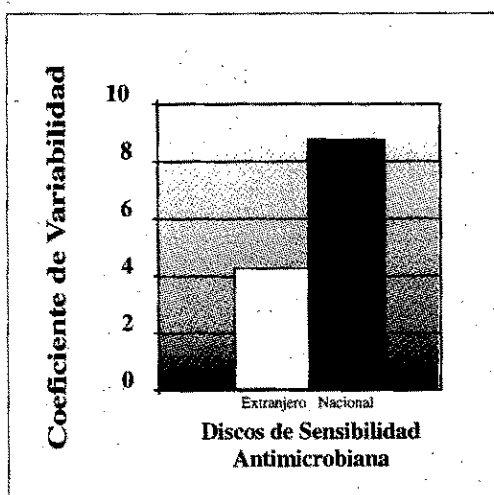


Figura 6: Coeficiente de Variabilidad (CV) de discos de sensibilidad antimicrobiana de fabricación nacional y extranjera.

TABLA 1. Valores registrados de límites de confianza de los diámetros de zona de los discos de sensibilidad antibiótica β -lactámicos y no β -lactámicos de fabricación extranjera.

LÍMITES DE CONFIANZA							
DISCO DE SENSIBILIDAD	t 0,05 (AL 95% DE PROBABILIDAD) (mm)						
ANTIMICROBIANA	<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>S. aureus</i>		OBSERVACIONES
	ATCC 25922		ATCC 27853		ATCC 25923		
	V.T	V.E	V.T	V.E.	V.T.	V.E.	
Amoxicilina/Ac. Clavulánico 20/10 µg ^a	19,0 - 25,0	22,0 - 27,2	-	-	28,0 - 36,0	39,9 - 44,8	No conforme
Ampicilina 10 µg ^a	16,0 - 22,0	23,3 - 25,4	-	-	27,0 - 35,0	37,7 - 42,5	No conforme
Cefotaxime 30 µg ^a	29,0 - 35,0	29,6 - 33,3	18,0 - 22,0	18,1 - 21,6	25,0 - 31,0	28,8 - 31,1	Conforme
Ceftazidime 30 µg ^a	25,0 - 32,0	25,5 - 27,2	22,0 - 29,0	24,3 - 28,9	16,0 - 20,0	16,2 - 19,9	Conforme
Ceftriaxone 30 µg ^a	29,0 - 35,0	31,0 - 34,8	17,0 - 23,0	19,2 - 21,4	22,0 - 28,0	22,4 - 28,0	Conforme
Cefuroxime 30 µg ^a	20,0 - 26,0	20,5 - 25,4	-	-	27,0 - 35,0	27,8 - 33,1	Conforme
Oxacilina 1 µg ^a	-	-	-	-	18,0 - 24,0	18,1 - 23,3	Conforme
Penicilina 10 U ^a	-	-	-	-	26,0 - 37,0	40,2 - 47,3	No conforme
Ácido Nalidixico 30 µg ^b	22,0 - 28,0	22,7 - 25,2	-	-	-	-	Conforme
Amicacina 30 µg ^b	19,0 - 26,0	24,4 - 31,4	18,0 - 26,0	20,9 - 28,6	20,0 - 26,0	26,8 - 28,4	No conforme
Ciprofloxacina 5 µg ^b	30,0 - 40,0	30,6 - 37,4	25,0 - 33,0	30,5 - 32,2	22,0 - 30,0	25,3 - 29,3	Conforme
Clindamicina 2 µg ^b	-	-	-	-	24,0 - 30,0	27,5 - 30,0	Conforme
Cloranfenicol 30 µg ^b	21,0 - 27,0	24,4 - 26,4	-	-	19,0 - 26,0	20,0 - 25,5	Conforme
Eritromicina 15 µg ^b	-	-	-	-	22,0 - 30,0	22,9 - 29,4	Conforme
Estreptomicina 10 µg ^b	12,0 - 20,0	21,0 - 23,8	-	-	14,0 - 22,0	20,4 - 26,2	No conforme
Gentamicina 10 µg ^b	19,0 - 26,0	20,8 - 26,0	16,0 - 21,0	18,0 - 20,9	19,0 - 27,0	19,9 - 25,1	Conforme
Norfloxacina 10 µg ^b	28,0 - 35,0	28,8 - 31,2	22,0 - 29,0	26,2 - 28,5	17,0 - 28,0	19,8 - 28,0	Conforme
Vancomicina 30 µg ^b	-	-	-	-	15,0 - 19,0	12,5 - 17,3	No conforme

V.E.= Valores experimentales

V.T.= Valores Teóricos (Norma M2-A5 NCCLS)

^a Antibiótico β -lactámico.

^b Antibiótico no β -lactámico.

TABLA 2. Valores registrados de límites de confianza de los diámetros de zona de los discos de sensibilidad antibiótica β -lactámicos y no β -lactámicos de fabricación nacional.

LÍMITES DE CONFIANZA							
DISCO DE SENSIBILIDAD	$\pm 0,05$ (AL 95% DE PROBABILIDAD) (mm)*						
ANTIMICROBIANA	<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>S. aureus</i>		OBSERVACIONES
	ATCC 25922		ATCC 27853		ATCC 25923		
	V.T.	V.E.	V.T.	V.E.	V.T.	V.E.	
Ceftazidime 30 μ g ^a	25,0 – 32,0	20,2 – 25,6	22,0 – 29,0	16,6 – 25,5	16,0 – 20,0	11,3 – 17,4	No conforme
Penicilina 10 U ^a	–	–	–	–	26,0 – 37,0	18,9 – 29,6	No conforme
Amicacina 30 μ g ^b	19,0 – 26,0	19,0 – 27,0	18,0 – 26,0	16,9 – 29,3	20,0 – 26,0	17,4 – 23,8	No conforme
Estreptomina 10 μ g ^b	12,0 – 20,0	20,2 – 26,4	–	–	14,0 – 22,0	12,3 – 17,4	No conforme
Gentamicina 10 μ g ^b	19,0 – 26,0	17,9 – 26,4	16,0 – 21,0	12,6 – 25,4	19,0 – 27,0	17,3 – 25,1	No conforme
Norfloxacin 10 μ g ^b	28,0 – 35,0	21,5 – 27,1	22,0 – 29,0	17,9 – 25,6	17,0 – 28,0	15,9 – 22,9	No conforme

V.E.= Valores experimentales.

V.T.= Valores Teóricos (Norma M2-A5 NCCLS)

^a Antibiótico β -lactámico.

^b Antibiótico no β -lactámico.

Por otro lado, en el 50% restante de discos se aceptó la Hipótesis alternativa que estableció de que el promedio de ambas poblaciones fueran diferentes. Este comportamiento se presentó entre los discos de Ceftazidime 30 μ g, Penicilina 10 UI y Norfloxacin 10 μ g.

Los discos extranjeros presentaron en promedio coeficientes de variabilidad cercanos a 5 (CV=4,93), lo cual se verifica en rangos de actividad estrechos y valores que están dentro de los límites de la norma, a diferencia de los discos nacionales que presentaron en promedio valores mayores (CV=9,97), y como consecuen-

cia rangos que exceden los límites establecidos (Figura 6).

Es necesaria a la luz de los resultados obtenidos, la adopción de medidas que regulen la evaluación obligatoria de la calidad de los discos de sensibilidad antimicrobiana, debido a la particular importancia de estos productos de diagnóstico clínico. Un mayor número de evaluaciones permitiría conocer de una manera más precisa la realidad de dichos productos en el mercado peruano, por lo que resulta imprescindible continuar con la investigación en este campo.

AGRADECIMIENTOS

A los Sres. Dr. Tomás Agurto y MsC. Andrés Valladolid por su constante apoyo y valiosas orientaciones, asimismo, al personal del Cen-

tro Nacional de Control de Calidad que apoyaron técnicamente a la realización de este estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Fleming, A. On the Antibacterial Action of Cultures of a *Penicillium* with Especial Reference to their use in the Isolation of *B. Influenzae*. Br. J. Exp. Pathol. 1929; 10: 226-236.
2. Foster, J.W. & H.B. Woodruff. Microbiological Aspects of Penicillin. J. Bacteriol. 1943; 46: 187-202.
3. Vincent, J.G. & H.W. Vincent. Filter Paper Modification of the Oxford Cup Penicillin Determination. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1944; 55: 162-164.
4. Morly, D.C. A Simple Method of Testing

- the Sensitivity of Wound Bacteria to Penicillin and Sulfathiazole by use of Impregnated Blotted Paper Disc. *J. Pathol. Bacteriol* 1945; 57: 379-382.
5. Bondi, A., Smith, J.G. & K. Bass. A Routine Method for Rapid Determination of Susceptibility to Penicillin and other Antibiotics. *Am. J. Med. Sci.* 1947; 213: 221-225.
 6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (1993) Approved Standar M2-A5: Performance Standards For Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 5th Ed. Villanova, Pa.: NCCLS.
 7. Bauer A.W., W. M. M. Kirby, J. C. Sherris, & M. Turck. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standarized Single Disk Method. *Am J. Clin. Pathol* 1966; 45: 493-496.
 8. Jawetz, E. (1992) *Microbiología Médica*. Ira Ed. México D.F.: Manual Moderno.
 9. Calzada, J. (1964) *Métodos Estadísticos para la Investigación*. 2da Ed. Lima: Sesator.