

SIMPOSIO SOBRE AGENTES ANTIMICROBIANOS

2. - TEST DE LABORATORIO PARA GUIAR LA TERAPEUTICA ANTIMICROBIANA*

JONE OSENBLATT, M.D.**

RESUMEN

Los test de laboratorio que pueden ayudar en guiar la terapia antimicrobiana incluyen, test de susceptibilidad antimicrobiana, determinación de la actividad lactamasa bacteriana, análisis de inhibidores séricos y actividad bactericida y análisis de niveles en suero de antibióticos específicos. Cuando en un paciente con evidencia clínica de infección, algún microorganismo es aislado de un líquido corporal, normalmente estéril deben hacerse estudios de susceptibilidad.

Los test de discos standarizados dan resultados comparables entre distintos laboratorios pero presentan la desventaja de expresar los resultados sólo como: susceptible, intermedio o resistente. Por el contrario los métodos de dilución permiten la determinación de la concentración mínima inhibitoria de un agente, lo cual puede relacionarse con los niveles del agente antimicrobiano en sangre, orina y otros líquidos corporales. La medición segura de la concentración sérica de los antimicrobianos es importante sobre todo cuando el margen entre niveles terapéuticos y tóxicos es pequeño, como en los aminoglúcidos, vancomicina, y cuando el paciente presenta alguna alteración renal y puede por tanto acumular altos niveles de la droga (que normalmente serían excretadas).

Seleccionar el tratamiento para una infección determinada es un proceso complejo que depende tanto del juicio clínico acertado como de un conocimiento general de la actividad farmacocinética de los agentes antimicrobianos y de los resultados de los test de laboratorio. Disponemos de muchos test capaces de ayudar a guiar la terapéutica antimicrobiana si se usan dentro de un contexto correcto. Ejemplo de éstos análisis son los test de susceptibilidad antimicrobiana, la producción de lactamasa, análisis de niveles séricos de antibióticos específicos, análisis de inhibición sérica y actividad bactericida. Existe considerable controversia sobre la utilización clínica de los análisis bacteriológicos, por supuesto a menudo la guía terapéutica más importante "es simplemente el aislado o identificación segura de los microorganismos infecciosos" porque muchas bacterias tienen patrones de susceptibilidad antimicrobianas predecibles.

Por ejemplo el estreptococo hemolítico del grupo A puede predecirse que es susceptible a la penicilina G sin la necesidad de test de laboratorio a menos que se sepa que cepas resistentes están presentes en una particular área geográfica. Lo mismo la *Pseudomona Aeruginosa* es a menudo resistente a todos los agentes excepto los aminoglúcidos y ciertos lactámicos nuevos.

Además el médico debe recordar que los test de laboratorio in vitro no dan una predicción segura de la eficacia del agente antimicrobiano in vivo.

Zak y colaboradores demostraron ésta discrepancia entre in vitro in vivo usando modelos animales. (1)

TEST DE SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO

Los test de susceptibilidad in vitro, están indicados cuando la susceptibilidad de un organismo no es completamente predecible, o cuando existen otros problemas como la necesidad de determinar que resistencia se ha desarrollado durante el curso de la terapia. A propósito de los test in vitro, un organismo es considerado suscep-

tible si la concentración del agente antimicrobiano necesaria para inhibir su crecimiento es menor que el que contiene generalmente los líquidos corporales, particularmente la sangre, líquido cefaloraquídeo o la orina. Los resultados de éstos test pueden variar de un laboratorio a otro dependiendo de la preparación del agente anti-

* Publicado en: Mayo Clin. Proc. 62 (9): 805 (1987) Responsable de Traducción María del Carmen López.

** División de Enfermedades Infecciosas y Medicina Interna. Sección de Microbiología Clínica. Clínica Mayo.

crobianos, de la cantidad de organismos inoculados, de la duración y temperatura de incubación, de la definición del punto final de inhibición y del medio específico usado especialmente sus contenidos catiónicos y PH.

Es mejor usar métodos estandarizados, en los cuales cada una de estas variables está controlada. Gran ayuda para esto son los estándares elaborados por el Comité Nacional de Standarización de Análisis Clínicos (NCCLS) para utilizarse en test de difusiones en disco y de susceptibilidad en diluciones de agar y caldo.

Aún una variable controlable como el PH de un medio puede no reflejar con seguridad la situación *in vivo*, por ejemplo el test de la susceptibilidad a la gentamicina hecho a PH 7,4 puede indicar una actividad considerable, pero *in vivo*, la presencia de exudados purulentos en el sitio de la infección pueda dar un PH más bajo; la actividad de los aminoglúcidos decrece al disminuir el PH. Además el nivel del antibiótico en suero o líquido cefalorraquídeo puede no reflejar la actual concentración que se tiene en algunos huesos o en los tejidos cerebrales. Estos conflictos potenciales pueden ser reconciliados solamente correlacionando la actividad antimicrobiana sugerida por los test *in vitro* con una extensa experiencia *in vivo*.

Cuando algún microorganismo es aislado de un líquido corporal normalmente estéril (ejemplo sangres, líquido cefalorraquídeo, pleural o sinovial) en la evidencia clínica de infección se deberán hacer estudios de susceptibilidad.

Estafilococos epidermidis, especies de *Corynebacterium* y *Propionibacterium* acnés son generalmente considerados contaminantes dérmicos y no se testan excepto cuando parecen ser el único patógeno potencial en una clara infección segura tal como endocarditis y otras infecciones de elementos protésicos. Las bacterias recogidas de garganta y materias fecales no son testadas a menos que puedan ser consideradas especialmente patógenas en esa área por ejemplo *Shigella* aislada en pacientes con gastroenteritis. Muestras aisladas urinarias deberán testarse si la cantidad de microorganismos excedan de 100000/ml y si no más de dos organismos son cultivados. Especialmente de esputos que contienen muchas células epiteliales y pocos leucocitos (menos que 10 por peso seco) son probablemente no representativos de secreciones infectadas y no deben hacerse estudios de susceptibilidad sobre aislados estas muestras. (2)

METODO DE DIFUSION EN DISCO

El método de difusión en disco ha sido standarizado por el CCNLS (3) para test de susceptibilidad *in vitro*. Se dispone en el comercio de discos de papel que contienen cantidades específicas de agente microbianos que se colocan en placas de agar de Muller-Hinton que contienen un inóculo bacteriano standar. Una zona de inhibición del crecimiento bacteriano se desarrolla alrededor de cada antibiótico activo, después de una incubación de toda la noche. El tamaño exacto de esta determina la susceptibilidad o resistencia, estudios previos correla-

cionaron el tamaño de la zona con las concentraciones mínimas inhibitorias (MICS) obtenidas por test de dilución.

El ancho de las zonas arbitrarias "puntos críticos" de susceptibilidad se han determinado por investigaciones clínicas y de laboratorio en conjunción con factores como la evaluación de niveles en suero (u orina), la adherencia de proteínas, la toxicidad y disponibilidad de gráficas standards. En todo el mundo el test de discos standarizados es el método usado con mayor frecuencia para prueba de susceptibilidad *in vitro*, (susceptible, intermedio o resistente) y no puede ser correlacionado directamente con niveles esperados o medidas del nivel antimicrobiano en suero, este método tiende a subestimar la actividad contra la infección del tracto urinario (los niveles en orina de la mayoría de los agentes antimicrobianos son mucho más altos que los del suero). En suma: este método es insuficiente en grandes instituciones donde varios cientos de tests son hechos por día, porque cada placa de discos, debe ser testada por separado, por cada organismo y cada zona es medida individualmente. Sin embargo como el método de discos no requiere elementos técnicos especiales o equipamiento caro y da resultado simplificados es ampliamente usado.

METODOS DE DILUCION

DILUCION EN CALDO

Los métodos de dilución consisten en exponer durante la incubación un inóculo bacteriano (u hongos) a varias concentraciones (generalmente una doble dilución) de un agente antimicrobiano. Uno puede determinar la concentración mínima de un agente que inhibe el crecimiento bacteriano (MIC) y éste valor puede ser correlacionado con niveles del agente antimicrobiano en sangre, orina u otros líquidos corporales. Además aquellos tubos que muestran inhibición pueden ser subcultivados en un medio libre de antibiótico, y puede determinarse la concentración mínima letal o bactericida (MBC). En general los agentes que son bactericidas (tienen un MBC bajo) y se prefieren en el tratamiento de endocarditis bacteriana y otras infecciones severas como septicemias en pacientes inmunocomprometidos.

El método de dilución en caldo, ha sido eficientemente adaptados a la tecnología de la microdilución usando 96 placas microtituladas y se han desarrollado versiones automáticas (por ejemplo SENSITITRE y ALADIN están disponibles comercialmente).

Una ventaja de los métodos de dilución en caldo es dar un MIC específico (y también MBC) más que el simple dato de susceptibilidad o resistencia. El MIC puede ser útil para el clínico acostumbrado a esta información pero es difícil para la interpretación del práctico general.

Por ejemplo, aunque el *S. Aureus* presenta un MIC relativamente bajo para la penicilina de 0.5 g/m puede parecer ser "susceptible", experiencias anteriores han demostrado que este organismo produce lactamasa y

deberá ser considerado resistente. En forma similar la *B. Aeruginosa* con un MIC relativamente alto para la cefepidina de 64 mg/ml puede parecer "resistente", pero usando altas dosis de cefepidina (30 gr. por día) se ha obtenido niveles sanguíneos mayores de 100 ng/ml. De esta manera, el MIC de 64 mg/ml sugiere susceptibilidad a la cefepidina y esta interpretación ha surgido de la experiencia valores MIC en las categorías de susceptible, intermedio o resistente.

Otros métodos comerciales (AUTOBAC, VITEC, AVANTAGE), intentan dar completo automatismo para tests de susceptibilidad en caldos. Estos tests controlan espectrofotométricamente el crecimiento de bacterias en una concentración simple de un agente antimicrobiano para unas pocas horas y entonces produce susceptibilidad por comparación de las curvas de crecimiento con los estándares. Las computadoras son usadas para obtener los resultados (susceptible, intermedio o resistente) y también se han usado para algunos de los métodos de dilución en caldo.

Estas técnicas automáticas son rápidas pero muy caras y algunas están limitadas a un número determinado de microorganismos que pueden ser testados simultáneamente. Se estima que menos del 10% de los laboratorios usan estos sistemas. Existe una considerable controversia por el valor del MBC determinado por técnicas de difusión en caldo. El test no está bien estandarizado y cuando es expuesto a comparaciones intra o inter laboratorio el éxito en la reproducibilidad es pobre. El MBC se define generalmente como la mínima concentración de agente antimicrobiano capaz de matar por lo menos el 99,9% del inóculo bacteriano original. En un estudio realizado (4) sólo un tercio de los laboratorios usan una cantidad de inóculo que permita una determinación segura de este punto final. También hay discusión por el fenómeno de tolerancia, el cual se define como una gran discrepancia entre MIC y MBC particularmente para drogas, generalmente consideradas bactericidas, tales como los lactámicos; esto es que la droga inhibe pero no mata al organismo. Un organismo es considerado tolerante cuando la relación entre MBC y MIC es 32 o más. Aunque la tolerancia ha sido bien descrita para algunos microorganismos (*S. Pneumoniae*) no existe acuerdo en su incidencia en las consecuencias médicas.

Las mayores discrepancias en los resultados surgieron en estudios de *S. Aureus*. No sólo tiene que haber suerte en reproducir la determinación del MBC de este organismo, sino que también los estudios sobre la significación de la tolerancia del *S. Aureus* en infecciones experimentadas en pacientes han dado resultados variables. (6) El MBC sólo se determinaría idealmente luego que el clínico y el microbiólogo clínico hayan discutido el test y tengan conocimiento de su valor limitado.

DILUCION EN AGAR

El método de dilución en agar incorpora los mismos principios que el anterior, excepto que el técnico utiliza placas de agar que contienen varias diluciones del agente

antimicrobiano y múltiples organismos (más de 36) y pueden ser perfectamente cultivadas en cada placa con el uso de un replicador. Este es el método usado por rutina en la clínica Mayo. El MIC se determina leyendo la inhibición del crecimiento de las colonias en la superficie de agar.

Tiene la ventaja de dar eficientemente el dato MIC en un laboratorio que hace un número grande de tests por día, permite reproducir los resultados más fácilmente que el anterior, permite visualizar contaminantes o mutantes resistentes en la superficie del agar y permite el uso de medios que contengan sangre que son necesarios para tratar microorganismos molestos como *Nisseria Gonorrhoeae* y *Hemophilus influenzae*.

Las desventajas son la necesidad de un inoculador y el tiempo necesario para la preparación de las placas de agar antimicrobiano y los mismos problemas en la interpretación de los resultados que se mencionaron para la dilución en caldo.

ESTAFILOCOCOS METICILINA RESISTENTES

El término estafilococo *aureus* meticilina resistente (MRSA) se aplica a aquellos organismos que son resistentes a las penicilinas lactámicas estables y cefalosporinas como la oxacilina y cefazolin. El nombre MRSA se ha mantenido en uso aunque la meticilina es usada raramente hoy en día. La base para la resistencia es la producción de una proteína alterada por parte de las bacterias que tienen baja afinidad para adherirse a agentes antimicrobianos lactámicos. Dado que los lactámicos son pobremente confinados por el MRSA. Las infecciones causadas por MRSA no van a responder al tratamiento con estos agentes antimicrobianos (o clindamicina o eritromicina).

La vancomicina es activa con estos organismos y ha dado éxitos terapéuticos. La detección de MRSA ha sido descrita como "pesadilla tecnológica" y tiene considerables variaciones en los diferentes laboratorios. Métodos no confiables se disponen en el comercio para detección de MRSA, problema del cual el NCCLS se está ocupando.

Ellos han defendido un MIC para la oxacilina de 2 ng/ml o menos como susceptible y de 4 ng/ml o más como resistente (la oxacilina ha demostrado ser el agente antimicrobiano más confiable usado en la detección de MRSA). Desafortunadamente alguno de los sistemas automáticos comerciales y de susceptibilidad de dilución en caldo han demostrado ser impracticables. El método más sensible de los disponibles corrientemente parecer ser el método difusión en discos de agar que utiliza 1 ng/ml de oxacilina en placas incubadas a 35°C de 18 a 24 hs. Aún este método sin embargo tiene fallas por lo que el microbiólogo clínico tiene que estar atento a los últimos adelantos en ésta área. (7)

TEST DE SUSCEPTIBILIDAD COMBINACION DE AGENTES ANTIMICROBIANOS

Cuando se usan ciertos agentes antimicrobianos combinados pueden mostrar adicción, sinergismo, (el efecto combinado es mayor que simplemente la suma de la actividad de cada agente individualmente) o actividad antagonista. Ejemplo de sinergismo es penicilina más aminoglucósido contra *P. Aeruginosa*. Los test de actividad combinada pueden realizarse en los métodos antimicrobianos mencionados de dilución en caldo o agar en los que diferentes concentraciones de cada antibiótico son incluidos en el medio y el MIC se determina para cada agente por separado y para la combinación.

Alternativamente "curvas de muerte" actuales deben planearse por la cuenta hecha de colonias durante 24 hs. de incubación de alícuotas de caldo conteniendo agentes antimicrobianos individuales o combinados. Se construye una curva que muestra la supervivencia bacteriana y que puede determinar la rapidez de la muerte para cada agente antimicrobiano.

Estas técnicas son usadas frecuentemente en investigación de combinaciones nuevas de drogas pero son muy complejas para uso en laboratorio clínico.

Se pueden hacer en ciertas circunstancias como una guía en la terapia de la endocarditis entorocócica u otras infecciones serias causadas por múltiples organismos resistentes.

TEST DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA PARA ANAEROBIOS

La importancia de los test de susceptibilidad antimicrobiana para anaerobios se ha enfatizado por ciertos hechos recientes 1) mayor reconocimiento de varios anaerobios como importantes patógenos humanos. 2) Demostración de la necesidad de tratamiento específico en muchas infecciones en las cuales juegan un papel estos microorganismos. 3) Aumento de la resistencia antimicrobiana frente a ciertos anaerobios y por tanto menor predicción de los patrones de susceptibilidad.

4) Introducción de numerosos agentes antimicrobianos con actividad antianaeróbica y 5) desarrollo de un método de referencia standar NCCLS y varios métodos más prácticos para test de susceptibilidad de anaerobios. El laboratorio clínico puede rutinariamente testar todos los anaerobios clínicamente significativos aislados en cultivos puros y aquellos recogidos de sangre, hueso, líquido sinovial, líquido pleural y abscesos cerebrales. Los agentes antimicrobianos testados deben incluir: cloranfenicol, clindamicina, cefoxilina, penicilina, metronidazol y probablemente algunos de los nuevos Lactámicos que tienen actividad contra anaerobios incluyendo imipenem, ceftizoxime y cefotaxime. Una técnica de agar dilución comparable al método de referencia NCCLS puede ser más efectiva para testar gran parte de estos organismos. Hoy en día el tes de aislación individual, sin embargo está mejor hecho por los métodos de caldo y disco (los cuales describen crecimiento o inhibición a una concentración del antimicrobiano) o a un método de

dilución en microcaldo (que da resultados de MIC específicos). Preparados de este último método pueden hacerse y mantenerse congelados hasta tres semanas. También se encuentran disponibles en el comercio. Recientemente datos importantes sobre los patrones de susceptibilidad de anaerobios incluyendo variables y posibles incrementos en la resistencia del grupo *Bacteroides Fragilis* a la clindamicina, variables en la susceptibilidad a numerosos agentes de diferentes especies del grupo *Fragilis*, a los Lactámicos (por producción de Lactamasa) resistencia relativa de anaerobios G+ (otros además de *Clostridium*) al metronidazol y con algunas variables pero generalmente buena actividad antianaeróbica de los agentes más recientes. (8). Los laboratorios que no pueden realizar test de susceptibilidad pueden dar información útil por pruebas de producción de Lactamasa por anaerobios G+, usando el simple y rápido método cefalosporinas cromogénico (NITROCEFÍN, CEFINASE; BAL sistemas microbiológico Cockeysville Maryland).

DETERMINACION DE ACTIVIDAD LACTAMASA BACTERIANA B

Algunos aislamientos de *S. Aureus*, *H. Influenzae*, *N. Gonorrhoe* y muy recientemente un pequeño número de *S. Pneumoniae* se mostraron resistentes a la penicilina o la ampicilina (o a ambas) porque producen lactamasa que inactiva el agente antimicrobiano. Métodos rápidos de detección de esta enzima permiten testar tan pronto como las colonias son aisladas y a menudo antes de 12 a 24 hs. ya se dispone de los resultados de susceptibilidad. En la Clínica Mayo, los cultivos de sangre y líquido cefalorraquídeo de *S. Aureus* y *H. Influenza* y todos los *N. Gonorrhoe* son testados por la producción de Lactamasa usando el Kit de Test Cefinase que da resultados dentro de los 5 minutos. El uso de este test puede ayudar en la detección de resistentes a la ampicilina debido a la producción de Lactamasa en pacientes con meningitis por *Hemophilus Influenzae*. Su uso con anaerobios ha sido descrito anteriormente.

ACTIVIDAD BACTERICIDA EN SUERO

En los test de actividad bactericida en suero (SBT) se obtienen muestras del suero del paciente tratado que son incubadas (en una doble dilución con caldo o suero) con el organismo infeccioso para determinar la más alta dilución en la que es bactericida. Pueden obtenerse muestras de suero para coincidir con picos y descensos de los niveles antimicrobianos anticipados. Este test es en efecto una prueba de la actividad del contenido antimicrobiano en suero. Indirectamente confirma los factores combinados de susceptibilidad de los organismos testados y la concentración en suero del agente antimicrobiano, así como la interacción entre suero-organismo y suero - antibiótico.

Existen métodos no estandarizados para realizar el SBT, y los resultados son variables de un laboratorio a

otro. Las variables mayores incluyen el tiempo de muestreo de los especímenes, el tamaño del inóculo, el cultivo y el medio de dilución, el tiempo de incubación y la determinación del punto final bactericida.

Reller (9) ha intentado lograr alguna standarización para SBT. El determinó un diluyente óptimo (el caldo Muller-Hinton suplementado con calcio y magnesio y combinado con un 50% de pool de sueros humanos, e inóculo óptimo (5 x 10 a la 5 organismos ml.) para la medición de la muerte del 99,9% después de incubados a 35° C. x18 hs. Usando estos métodos standarizados encontró una correlación significativa entre el SBTs calculado (nivel antimicrobiano en suero dividido por MBC en pacientes con sepsis estafilocócicas y estreptocócicas. El NCCLS ha propuesto una guía para el SBT basada en estas recomendaciones.

El SBT ha sido usado por muchos años (Schlichter test) para guiar el tratamiento de endocarditis bacteriana, la impresión es que el título bactericida en suero de por lo menos 1:4 o 1:8 son necesarios para asegurar éxito. Bastante curiosamente esta impresión nunca ha sido confirmada por un estudio apropiado y algunos especialistas en enfermedades infecciosas no creen que el SBT sea particularmente útil. Concluyen que con el uso apropiado de una agente antibacteriano activo, el curso clínico del paciente es un adecuado indicador del resultado final. Klastersky y col.(10) reportaron que la medida de la actividad antimicrobiana en suero y orina es buena para predecir los resultados terapéuticos.

Sus pacientes tenían varias infecciones y enfermedades malignas subyacentes pero no endocarditis bacteriana. Coleman y col. (11) revisaron 17 estudios de endocarditis bacteriana en los cuales se evaluaron los resultados de los test de inhibición de suero o SBT así como la información sobre los resultados terapéuticos. Ellos concluyen que sus análisis revelan evidente insuficiencia para demostrar que los test de inhibición sérica y las titulaciones SBT (1:8 o mayores) son de valor pronóstico en el tratamiento de pacientes con endocarditis bacteriana. Su uso debe ser restringido quizás a aquellos casos en que ambos, el clínico y el microbiólogo perciben que pueden tener cierto valor.

Weinstein y col. (12) hicieron una importante revisión de las consideraciones técnicas y clínicas del SBT, la cual pueden leerla aquellos más interesados en este problema. Ellos concluyen que el valor actual y la aplicación clínica adecuada del SBT será estudiada más profundamente por la clínica con el uso de métodos standarizados, como el recomendado por el NCCLS. Las investigaciones deben incluir aquellas infecciones en las cuales la terapia bactericida es la más importante, como endocarditis bacteriana que incluye inmunocomprometidos. En el presente el valor clínico del SBT no está claramente determinado y más recientemente Weinstein y col. (13) evaluaron el SBT standarizado (como fuera recomendado por NCCLS) para su valor pronóstico en infecciones de endocarditis en un gran estudio de multicentros. Ellos encontraron que los SBT realizados en

muestras de sangres estudiadas en el momento del pico del nivel antimicrobiano que era de 1:64 o mayor y el SBTs bajo de por lo menos 1:32 eran predictivos de cura bacteriológica, sin embargo el SBT no era bueno para predecir el fracaso bacteriológico y los últimos resultados clínicos.

PRUEBAS DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA EN SUERO

Mediciones exactas de la concentración en suero del agente antimicrobiano pueden ser a veces necesarias para determinar un tratamiento y como prevención de su toxicidad. Estos test a menudo se usan cuando el tratamiento es con antibióticos en los cuales el margen entre niveles terapéuticos y tóxicos son estrechos, como los aminoglucósidos o vancomicina o en pacientes con problemas renales, que pueden acumular altos niveles de la droga. A veces el tratamiento con dosis muy altas de penicilina deben ser controlados para prevenir su neurotoxicidad.

Pruebas de los niveles séricos pueden también tener valor para asegurar que la dosis de la droga sea adecuada. Moore y col.(14) mostraron una asociación entre aumento de la mortalidad por bacteriemia por G- e inadecuada concentración pico en plasma del aminoglucósido.

El eslabón más débil en la cadena de sucesos en la pruebas en suero es el tiempo apropiado de recolección de espécimen. El clínico debe primero decidir como administrar la droga (dosis, administración continua o intermitente e intervalo entre dosis) y entonces anticipar los tiempos de los picos y descensos de nivel. Debe entonces asegurarse que el tratamiento se realice en los intervalos correctos y finalmente que la muestra sea recogida en el tiempo asignado. Toda esta información debe estar documentada en la boleta de pedido al laboratorio.

Un estudio de pruebas de gentamicina en suero ha mostrado que la mayoría de los test eran ordenados indebidamente y que los resultados eran mal o pobremente usados. Varios estudios se han desarrollado en particular para gentamicina y otros aminoglucósidos por su amplio uso y por su toxicidad sobre el VII par craneano. Los más simples son placas de agar, bioensayos de difusión en disco, el cual en principio es similar a los test de susceptibilidad por difusión en disco. Sin embargo en gran parte los bioensayos han sido reemplazados por métodos más eficientes de cromatografía, inmunología o radioenzimáticos para medir las concentraciones antimicrobianas en suero o en otros líquidos corporales.

Se han desarrollado pruebas de líquidos en cromatografía para varios agentes antimicrobianos, son rápidos pero necesitan instrumental. Los inmunoensayos son rápidos y están hechos en Kits, pero son muy costosos y hay disponibles para relativamente muy pocos agentes antimicrobianos. Las pruebas de enzimáticos son también rápidas y específicas pero también disponibles para muy pocas drogas.

La gentamicina es el agente más estudiado en la Clínica Mayo. Quizás cada paciente que recibe este agente u otro aminoglucósido debería ser testado desde el principio para verificar la adecuación a la dosis. En suma la función renal debe ser controlada para obtener mediciones de creatinina sérica cada 2 ó 3 días. Las elevaciones

en los niveles de creatinina en suero indican la necesidad de reducción en la dosis del aminoglucósido y de ahí en adelante se deben hacer pruebas frecuentes para balancear la terapéutica con posibilidad de niveles tóxicos en suero hasta que la situación se vuelva estable.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Zak O, Tosch W, Sande M.A.: Correlation of antibacterial activities of antibiotics in vitro and in animal models of infection. *J. Antimicrob. Chemother* 15 (Suppl A): 273-282, 1983.
- 2.- Murray P. R., Washington JA H: Microscopic and Bacteriologic analysis of expectorated Sputum. *Mayo Clin. Proc.* 50: 339, 344, 1975.
- 3.- Jones R.N.: NCCLS regulatory guidelines, *Antimicrob Newslett* 1:5-8, 1984.
- 4.- Murray P.R., Jorgensen JH: Quantitative susceptibility test methods in major United States medical centers. *Antimicrob Agents Chemother* 20: 66-70, 1981.
- 5.- Pellier I. L., Jr: Lack of reproducibility of macrodilution MBCs for *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents. Chemother* 26: 815-818, 1984.
- 6.- Sherris J.C.: Problems in vitro determination of antibiotic tolerance in clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 30: 633-637, 1986.
- 7.- Mulligan M.E., Citron D.M., Kwok R.Y.Y., Wheelock J.P., Farrohi F.K., Hindler J.A., Johnston L.: Impact of prolonged incubation on disk diffusion susceptibility test results for *Staphylococcus aureus*. *J. Clin Microbiol* 25: 840-844, 1987.
- 8.- Rosenblatt J.E.: Antimicrobial susceptibility Testing of anaerobic bacteria. *Rev. Infect Dis* 6 (Suppl 1): S242-S248, 1984.
- 9.- Reller L.B.: The serum bactericidal test. *Rev. Infect Dis* 8: 803-808, 1986.
- 10.- Klastersky J., Daneau D., Swings G., Weerts D.: Antibacterial activity in serum and urine as a therapeutic guide in bacterial infections. *J. Infect dis* 129: 187-193, 1974.
- 11.- Coleman D.L., Horwitz R.I., Andriole V.T.: Association between serum inhibitory and bactericidal concentrations and therapeutic outcome in bacterial endocarditis. *Am J Med* 73: 260-267, 1982.
- 12.- Weintein M.P., Stratton C.W., Ackley A., Hawley H.B., Robinson P.A., Fisher B.D., Alcid D.V., Stephens D.S., Reller L.B.: Multicenter collaborative evaluation of a standardized serum bactericidal test as a prognostic indicator in infective endocarditis. *Am J Med.* 78: 262-269, 1985.
- 13.- Weintein M.P., Stratton C.W., Reller L.B.: Current status of the serum bactericidal test as a monitor of therapeutic efficacy in serious infections. *Antimicrob Newslett* 3:9-14, 1986.
- 14.- Moore R.D., Smith C.R., Lietman P.S.: The association of aminoglycoside plasma levels with mortality in patients with gram-negative bacteremia. *J Infect Dis* 149: 443-448, 1984.
- 15.- Anderson A.C., Hodges G.R., Barnes W.G.: Determination of serum gentamicin sulfate levels: ordering patterns and use as a guide to therapy. *Arch Intern Med* 136: 785-787, 1976.