

PRUEBAS SINERGICAS ENTRE KITASAMICINA Y ALGUNAS QUINOLONAS USADAS EN EL TRATAMIENTO DE LA PLEURONEUMONIA CONTAGIOSA PORCINA.

Floros-Castellanos E.P., Nendoza E.S., Ciprifin C. A.
 Coordinación General de Estudios de Posgrado. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Priero de Mayo s/n. Colonia Atlanta. Cuautitlán Izcalli, Edo. de México. C.P. 54700. Apartado Postal 222. Telefono y Fax 8730834. México. (Parcialmente financiado por TRIANON S.A. de C.V.)
 Catodra: "Afecciones Bacterianas y Virales del Cordero".

INTRODUCCION.

Las combinaciones antibióticas o asociaciones antibióticas pretenden aumentar las posibilidades terapéuticas mediante el empleo simultáneo de antibióticos. Todas ellas buscan encontrar una fórmula capaz de solucionar las infecciones bacterianas, y disminuir el costo de los tratamientos. Cuando se combinan dos agentes antimicrobianos se pueden observar tres tipos de acción: sinergismo, indiferente y antagonismo.

Sinergismo y antagonismo son interacciones difíciles de predecir, ya que el resultado varía en función al microorganismo y especie bacteriana y puede ocurrir únicamente en un rango estrecho de concentraciones de la droga. Sin embargo el conocimiento de los diferentes mecanismos de acción de los agentes antimicrobianos permite predecir el efecto resultante. Por otro lado, en el desarrollo de las pruebas sinérgicas de antibióticos, los microbiólogos comúnmente usan tableros de ajedrez (checkerboard assay) en dos dimensiones para ensayar dos agentes. Este ensayo puede realizarse con tubos de macrodilución o con placas de poliestireno de 96 pozos (microdilución) utilizando medio líquido como diluyente (213).

El método más conveniente es el microdilución en caldo. El cual determina la actividad inhibitoria o bactericida de concentraciones específicas en combinación a un tiempo fijado.

Las interacciones in vitro se calculan algebraicamente y se interpretan como sinergia, indiferente o antagonismo.

En el método del tablero de ajedrez se diluye la droga A sobre el eje de las abscisas y se diluye la droga B sobre el eje de las ordenadas. El tablero resultante contiene 96 pozos, en el que cada uno de ellos contiene una combinación de concentraciones diferente de cada una de los antibióticos.

El resultado puede ser graficado para facilitar su interpretación las gráficas son conocidas como ISOBLOGRAMAS (1,2).

MATERIAL Y METODOS. Microorganismos: *Actinobacillus pleuropneumoniae* A-CC 27088 serotipo ~ *Actinobacillus pleuropneumoniae* A-CC 27090 serotipo 3 *Actinobacillus pleuropneumoniae* A-CC 33377 serotipo ~ *Actinobacillus pleuropneumoniae* A-CC 33~90 serotipo 7 *Staphylococcus aureus* spp.

Antibióticos: Kitasamicina. 950 mcg/mg. Floxacina. 983.6 mcg/mg. Enrofloxacin. 998 mcg/mg. Acido Oxolínico. 890 mcg/mg.

Combinaciones de Antibióticos: 1a. Kitasamicina - Enrofloxacin 2a. Kitasamicina - Floxacina 3a. Kitasamicina - Ac. Oxolínico

Soluciones de los Antibióticos:

Se prepararon soluciones stock de 512 mcg/ml de cada uno de los antibióticos, utilizando agua destilada estéril como diluyente.

Se realizaron diluciones dobles seriadas, obteniendo un rango desde 512 mcg/ml hasta

0.5 mcg/ml.

Suspensión del microorganismo:

A partir de un cultivo puro del microorganismo se inoculó 25 ml de caldo Bal adicionado con 10% de levadura, se incubó a 37°C durante 20 horas. Posteriormente se ajustó para obtener una concentración de aproximadamente

10⁸ UFC/ml.

Prueba Sinérgica del Tablero de Ajedrez (Microdilución):

Se colocaron volúmenes constantes del antibiótico A de arriba hacia abajo en la placa de 96 pozos (Nunc), comenzando por la concentración más baja. Posteriormente se colocaron volúmenes constantes del antibiótico B de izquierda a derecha, comenzando también por la concentración más baja. Finalmente se colocaron volúmenes constantes de la suspensión bacteriana a cada pozo de la placa. El pozo 1 es control de cultivo y el 12 control de medio. Se agitó la placa con suavidad e incubó a 37°C durante 20 horas.

Lectura de la prueba:

Se colocaron las placas sobre una fuente de luz y se examinaron cada uno de los pozos. El pozo A1 deberá observar una turbidez abundante, mientras que el 12 deberá observarse completamente claro. Se interpretaron los MICs para los antibióticos individuales, se examinaron los pozos restantes que contienen las diferentes combinaciones de los antibióticos y se registraron los resultados.

Calculos:

Se calculo la fracción de la concentración inhibitoria (FIC index) de cada una de las combinaciones de antibióticos.

} IC del agente A en combinación

FIC del agente A = $\frac{\text{MIC de la combinación}}{\text{MIC del agente A solo}}$

} IC del agente A solo

Se calculo de la misma manera la FIC para el agente B.

Interpretación: x = FIC index

Sinergismo, x < 0.5



Indiferente , $0.5 < x \text{ c ó } = 4$

Antagonis « , $x > 4$

RESULTADOS Y DISCUSION

Se demostró que para los 4 serotipos de *Actino-acillus pleuropneumoniae*, la combinación Kitasamicina-Floxacin el efecto fue INDIFERENTE . Los valores de FIC fluctuaron entre 0.5 y 1.25, dando isoblogramas típicamente indiferentes. Un ejemplo lo constituye el resultado para el serotipo 3.

La combinación Kitasamicina-Enrofloxacin, para los cuatro serotipos tuvo un efecto ANTAGONICO.Los valores de FIC fluctuaron entre 4 y 64.Un ejemplo de esta interaccion se muestra en el Isoblograma, para el serotipo 1.

Finalmente para la combinación Kitasamicina-Ac. Oxolinico el efecto fue de tipo ANTAGONICO para los serotipos 1,3 y 5, mientras que para el serotipo 7 fue SINERGICO, tal y como se podra observar en el Isoblograma

BIBLIOGRAFIA

1. Eliopoulos, G.M., AND R.C Moellering, Jr. 1991. Antimicrobial Combinations, Antibiótics in Laboratory Medicine, 3rd Ed. The Williams ~ Wilkins Co., Baltimore.
2. Berenbaum, M.C. 1978. A Method for Testing Synergy with any number of Agents. J. Infect. Dis. 137:122-130.
3. Isenberg, H.D. 1992 Clinical Microbiology Procedures Handbook Vol 1. Section 5. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
4. Wolfson I.S. Hooper D.C. Fluoroquinolonas antimicrobial agents.Clin Microbiol Rev. 1989; 2: 378-424.
5. Hernandez, M.O.E. Determinación de la Concentración mínima inhibitoria de tres quinolonas para *Actino-acillus pleuropneu-oniae* (serotipo 1, 3, 5 y 7-. 19g4. Tesis de Licenciatura de la F.E.S. U.N.A.M. pag :1-26.
6. Bergoglio, R.M. Antibióticos. 19g3. 4a. Ed. Panamericana. Madrid, España. pag:60-140.