Boehringer Ingelheim

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN **MUESTRAS DE LECHE**

MANUAL

Para laboratorios y veterinarios

ubrocore

Boehringer Ingelheim Animal Health GmbH
Binger Strasse 173
55216 Ingelheim am Rhein/ Germany
www.boehringer-ingelheim.com

Contact
Elke Abbeloos
Global Marketing Cattle
Phone +49 6132 77-143837
Mail elke.abbeloos@boehringer-ingelheim.com

Issued by Boehringer Ingelheim Animal Health GmbH
All rights reserved
Version June 2015

Precauciones estándar

Recomendamos a los laboratorios que tomen las precauciones y medidas necesarias para evitar la transmisión de agentes infecciosos a través de instrumentos de laboratorio y materiales, así como la gestión adecuada a la exposición de agentes microbianos del personal del laboratorio.

La importancia de las pruebas de sensibilidad 7

Selección de antimicrobianos 8

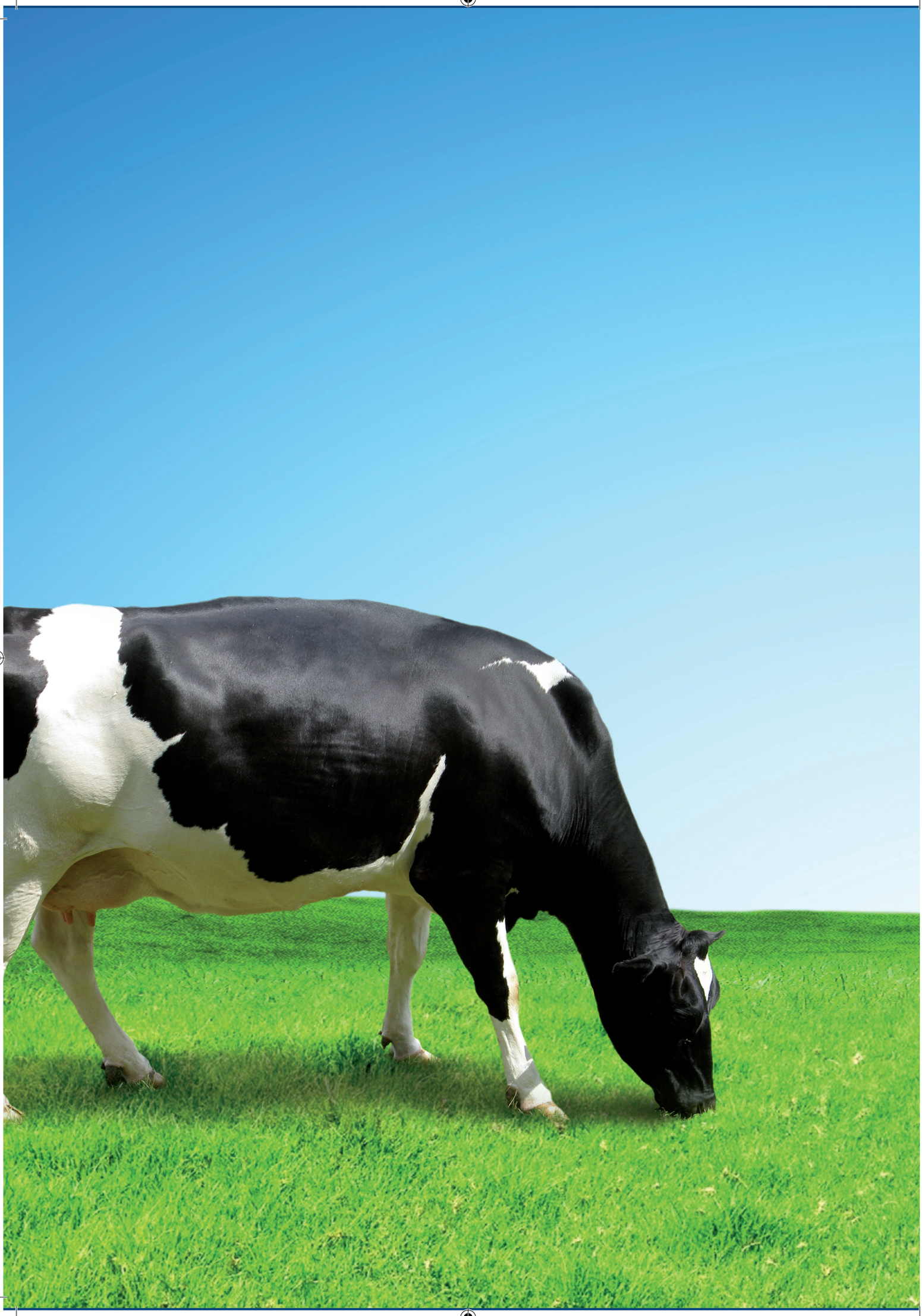
Métodos y pautas 14

Casos especiales 20

Criterios para pruebas con discos de difusión 22

Control de calidad 24

Adenda 1 27



Prólogo

En las últimas décadas, el desarrollo de resistencias bacterianas a múltiples antibióticos a pasado a encabezar las noticias. Las autoridades de las organizaciones de salud están preocupadas por el futuro tratamiento de las enfermedades bacterianas más comunes. Las guías y campañas sobre el uso responsable de antibióticos se han desarrollado con la intención de cambiar la percepción y comportamiento de la población hacia el uso de antibióticos.

Los ecosistemas humano y microbiano están íntimamente interconectados, y el uso de antibióticos en ganadería también debe ser reconsiderado. La resistencia a los antibióticos está aumentando entre los animales y afecta a patógenos zoonóticos, pero también a otros gérmenes como *Escherichia coli*, que puede actuar como reserva de genes resistentes al ambiente.[1]

El impacto en la salud humana del uso de antibióticos en medicina veterinaria no se puede cuantificar pero sin duda repercute sobre ella. Desde **Boehringer Ingelheim**, creemos que se debe asegurar que los antibióticos sigan sirviendo para salvaguardar la salud y el bienestar humano y animal.

La industria lechera utiliza relativamente poca cantidad de antibióticos, comparado con otros sistemas de producción ganadera. Pero aún hay espacio para mejorar, especialmente si tenemos en cuenta el tipo de antibiótico que se utiliza[2]. Planteando protocolos de tratamiento se puede ayudar a orientar a las granjas a hacer un correcto uso de los antibióticos. Estos protocolos solo tienen sentido si están basados en pruebas bacteriológicas periódicas de muestras de leche y evaluación de su eficacia. Las pruebas de sensibilidad antibiótica son útiles para establecer dichos protocolos además de permitir monitorizar posibles resistencias bacterianas emergentes.

Esta guía está destinada a veterinarios y laboratorios que analizan muestras de leche. No abarca la identificación de patógenos, sino que describe el resultado y la interpretación de las pruebas de sensibilidad de los discos de difusión. Esperamos que esta guía le permita mejorar la calidad de las pruebas de sensibilidad y la satisfacción de realizarlas.

Atentamente,

Elke Abbeloos
Sr. Global Technical Manager
Boehringer Ingelheim Animal Health

1. Durso and Cook 2014. Current opinion in microbiology 19: 37–44
2. Obritzhauser. Buiatricsforum 2013; Brunton *et al.*, 2012. Vet Rec, 171: 296–297

La **importancia** de las pruebas de sensibilidad

Un tratamiento eficaz para mastitis comienza con la elección del antibiótico adecuado. Los cultivos microbiológicos y las pruebas de sensibilidad para antibióticos son hoy por hoy las opciones más factibles en todo el mundo para determinar qué antibiótico tiene más opciones de lograr la curación. Aunque la vaca sea tratada antes de obtener los resultados, la información es aún valiosa para decidir si el antibiótico elegido es el apropiado. Si la vaca sufre este problema de forma recurrente, el tratamiento adecuado debe iniciarse más cautelosamente, especialmente cuando la bacteria que aparece es resistente al producto que ya se ha usado previamente. Aún es más, si utilizamos los registros previos de sensibilidad, seremos capaces de establecer un patrón sobre qué antibióticos funcionan y cuáles no para diferentes tipos de infecciones en una granja en concreto y a lo largo del tiempo.

No obstante, aún utilizando antibióticos basándonos en los resultados de sensibilidad *in vitro*, esto no es una garantía de éxito. Las pruebas miden la respuesta al crecimiento de un organismo aislado ante la presencia de un antibiótico en particular y bajo condiciones estándar. Uno podría tener en cuenta que la situación *in vivo* es más difícil. Por ejemplo, los *Staphylococcus aureus* son capaces de esconderse entre las células del sistema inmune o formar un biofilm. Al hacerlo, se protegen de ser atacados o inhibidos por los antibióticos administrados. El éxito de los tratamientos para las mastitis también depende de otros factores como la vía de administración, el momento en que se inicia el tratamiento, la gravedad de la inflamación. Estos factores pueden distorsionar la respuesta entre los resultados de sensibilidad y los resultados clínicos.

Pero estas desventajas no desmerecen los beneficios de las pruebas de sensibilidad. Combinando los resultados de los cultivos microbiológicos y las pruebas de sensibilidad con la información clínica y la experiencia, se obtiene información de gran valor para establecer un protocolo de tratamiento estándar para las mastitis de una granja. Estos protocolos *ad hoc* para una explotación son la única posibilidad para poder limitar el número de tratamientos, hacer seguimiento de su nivel de éxito y sobretodo no frustrar a veterinarios y ganaderos con fallos terapéuticos.

Dr. Sofie Piepers
M-team University Ghent

SELECCIÓN DE ANTIMICROBIANOS

El número de antibióticos que puede ser utilizado en una prueba convencional es limitado. Para hacer que la prueba sea práctica y relevante tiene sentido utilizar aquellos antibióticos que están disponibles en el mercado. En muchos de los grupos de antibióticos hay moléculas representativas que podrían ser elegidas con el mismo espectro de actividad y resistencia cruzada. Este planteamiento puede dar resultados consistentes y fiables. Para algunos tipos de antibióticos, como los aminoglucósidos, esto no es posible. Todas las moléculas de este grupo muestran poca resistencia cruzada. No obstante, en general, testar todos los antibióticos que hay en el mercado no tiene sentido.

Además, si elegimos antibióticos representativos de cada clase, se pueden añadir test específicos de resistencia antibacteriana. Un ejemplo es la cefoxitina en la detección de SARM con *Staphylococcus spp*. y cefotaxima para la detección de ESBL con *Enterobacteriaceae*.

Clases de antibióticos

Sólo se mencionan en este manual los antibióticos que son relevantes en el tratamiento de las mastitis.

Penicilinas

- **Penicilinas de espectro reducido, sensibles a β-lactamasas,** son los antibióticos de elección contra las bacterias Gram-positivas que no son productoras de β-lactamasas como por ejemplo los estreptococos y los estafilococos. También actúan contra bacterias como *Pasteurella*. Forman este grupo: penicilina benzatina, bencilpenicilina (penicilina G), penicilina procaína y penetamato. Su sensibilidad se determina con el **disco de penicilina (1 unidad).**

- **Penicilinas resistentes a β-lactamasas, de espectro reducido,** son también activas contra bacterias Gram-positivas como estreptococos y estafilococos, incluyendo los *Staphylococcus spp.* productores de β-lactamasas. Este grupo está integrado por cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina, meticilina, nafcilina y oxacilina. La sensibilidad de los estafilococos se determina con un disco de cefoxitina (30 µg), y los estreptococos con el disco de oxacilina (1 µg).

- **Penicilinas de espectro medio** (ampicilina y amoxicilina) son activas contra estreptococos, estafilococos no productores de β-lactamasas, así como contra algunas especies de Gram-negativos, incluyendo algunos miembros de la familia *Enterobacteriaceae* como la *E. coli*, *Citrobacter* y *Enterobacter spp.* Este grupo lo forman la ampicilina y la amoxicilina. La sensibilidad de las enterobacterias se determina con el disco de **ampicilina (10 µg)**, y para

los estafilococos y estreptococos con el **disco de penicilina (1 unidad)**.

Combinaciones inhibidoras de β-lactamasas

Estos agentes antimicrobianos son combinaciones que incluyen un antibiótico de la clase de las penicilinas y un segundo agente con menor actividad antimicrobiana, pero con actividad como inhibidor de la mayoría de las β-lactamasas. En medicina veterinaria, sólo el **ácido clavulánico** combinado con otros antibióticos se utiliza en algunos países contra las mastitis.

La sensibilidad de los estafilococos a la combinación de amoxicilina con ácido clavulánico se determina con un **disco de cefoxitina (30 µg)**, y la sensibilidad de las enterobacterias con el **disco de amoxicilina/ácido clavulánico (20/10 µg).** Los estreptococos no son capaces de producir β-lactamasas, así que esta prueba no es aplicable.

Cefalosporinas

Los diferentes representantes de la familia de las cefalosporinas pueden tener actividad diferente contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Estos antibióticos son referenciados según la generación a la que pertenecen, 1ª, 2ª, 3ª y 4ª generación, basado en su actividad antibacteriana contra las bacterias Gram-negativas con mayor resistencia.

- **Cefalosporinas de primera y segunda generación** son activas contra bacterias Gram-positivas (estreptococos y estafilococos) incluyendo a los estafilococos productores de β-lactamasas, pero no contra estafilococos resistentes a la meticilina (oxacilina) (ej. MARS o *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina). Son activas contra cepas de campo de Enterobacterias. Este grupo incluye la cefalexina, cefalonium, cefalotina y cefapirina. Los **discos de cefalexina (30 µg)** se usan para medir la sensibilidad de las enterobacterias, los **discos de cefoxitina (30 µg)** se usan para estafilococos y los **discos de penicilina (1 unidad)** se usan para los estreptococos.
- **Las cefalosporinas de tercera y cuarta generación** tienen un amplio espectro de actividad que abarca tanto para las bacterias Gram-positivas como Gram-negativas. Son generalmente resistentes a un amplio grupo de β-lactamasas, por lo que las hace particularmente valiosas para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias Gram-negativas. No obstante, se producen resistencias frente a ellas, por lo que su uso tenga que considerarse con cuidado*. Este grupo está formado por ceftiofur, cefoperazona y cefquinoma. La sensibilidad de las enterobacterias a este tipo de antibióticos puede determinarse con el **disco de cefoxima (5 µg)**. No obstante si se usa un disco con un antibiótico determinado la respuesta puede ser diferente. La sensibilidad de los estafilococos se determina con los **discos de**

***Nota:**
Según la OMS las cefalosporinas de tercera y cuarta generación son antibióticos críticos para ser usados en humanos, por lo que su uso en salud animal debe ser considerado con precaución.

cefoxitina (30 µg) y la sensibilidad de los estreptococos se determina con los **discos de penicilina (1 unidad).**

Aminoglucósidos

Los aminoglucósidos son antibióticos bactericidas con actividad tanto contra bacterias Gram-positivas como Gram-negativas. Generalmente su actividad incluye *Staphylococcus spp.* (también los productores de β-lactamasas) y a las enterobacterias. Los estreptococos, son todos resistentes a todas las moléculas de esta clase.

Este grupo incluye, entre otros, a la kanamicina, estreptomicina, neomicina, gentamicina y espectinomicina. La framitecina es uno de los componentes de la neomicina, de hecho, es su principal componente activo. Los aminoglucósidos se ven afectados de forma variable por diferentes enzimas de inactivación bacteriana, lo que determina diferencias en su espectro de actividad. Por esta razón, cada aminoglucósido debería probarse de forma independiente para obtener resultados fiables de su eficacia.

Su sensibilidad se determina con **discos de kanamicina (30 µg)**, **neomicina (10 µg), gentamicina (10 µg)** y **amikacina (30 µg).**

***Nota:**
Según la OMS los macrólidos están identificados como antibióticos críticos para salud humana, y su uso en medicina veterinaria tiene que ser considerado cuidadosamente.

Macrólidos

Los macrólidos* son agentes bacteriostáticos que inhiben la síntesis protéica. En este grupo se incluye la eritromicina, gamitromicina, tilmicosina, tulatromicina y la tilosina. Todas ellas son activas contra los estafilococos y los estreptococos, aunque también muestran resistencias. Las mastitis provocadas por gérmenes Gram-negativos (enterobacterias y pseudomonas) son resistentes a los macrólidos. Su sensibilidad se determina con **discos de eritromicina (15 µg).**

Lincosamidas

Las lincosamidas son antibióticos de espectro medio. Estas moléculas inhiben la síntesis protéica y en este grupo se incluye la lincomicina, clindamicina y pirlimicina. Son eficaces contra la mayoría de las bacterias Gram-positivas (estafilococos, estreptococos pero no frente a los enterococos). También son activas contra las bacterias anaeróbicas Gram-positivas y -negativas. Estos antibióticos no son activos contra la mayoría de bacterias Gram-negativas aeróbicas o facultativamente aeróbicas, como las enterobacterias.

La sensibilidad se determina con el **disco de clindamicina (2 µg)** y su resistencia colocando al lado un disco de **eritromicina (15 µg)** (ver casos especiales).

Trimetoprim y sulfonamidas

Las sulfonamidas son agentes antimicrobianos de amplio espectro que habitualmente se combinan con **trimetoprim** ya que se ha demostrado la sinergia entre ambas moléculas. Esta combinación afecta a diferentes pasos en la producción de ácido fólico así como de purinas que se necesitan para la síntesis de ADN. En su expectro se incluye a las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas y algunos protozoos. No obstante, no son activas contra las bacterias anaeróbicas o donde haya daño tisular.

Las combinaciones de trimetoprim-sulfonamida son activas contra estafilococos, estreptococos y enterobacterias.

En las pruebas de sensibilidad se utilizan los **discos de trimetoprim-sulfametoxazol (1,25-23,75 µg = 25 µg).**

Tetraciclinas

Las tetraciclinas son antimicrobianos bacteriostáticos de amplio espectro contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. En este grupo se incluye la tetraciclina, la oxitetraciclina, la clortetraciclina y la doxiciclina. Su sensibilidad se determina con el **disco de tetraciclina (30 µg).**

Quinolonas

En este grupo se incluyen las viejas **quinolonas** (ej. ácido nalidíxico) y las nuevas **fluoroquinolonas*** como el danofloxacino, enrofloxacino y marbofloxacino. Todas las quinolonas bloquean la replicación del ADN y algunas quinolonas también actúan sobre bacterias que no se encuentran en división. Especialmente las nuevas fluoroquinolonas tienen amplio espectro de actividad contra bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. Tienen buena actividad contra los estafilococos y enterococos.

***Nota:**
según la OMS las fluoroquinolonas son consideradas como antibióticos críticos para medicina humana y deben usarse con criterio en medicina veterinaria.

Su sensibilidad se determina con **discos de enrofloxacino (5 µg)** o **ciprofloxacino (5 µg).**

Combinaciones

Existen muchas combinaciones de antimicrobianos que tienen aprobación para ser utilizadas de forma intramamaria. Especialmente las combinaciones que tienen probada su sinergia contra los patógenos que provocan mastitis. Si estos agentes se analizan por separado su sensibilidad se infravalorará. Se recomienda que se realicen las pruebas con los ratios de estas combinaciones que se alcanzan en la ubre.

La combinación de cefalexina-kanamicina es un ejemplo de una combinación con conocida sinergia[3] contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* y *Escherichia coli*. La sensibilidad se prueba con el **disco de cefalexina-kanamicina (C 15 µg/K 30 µg).**

3. Ganière *et al.* 2009. Synergistic interactions between cefalexin and kanamycin in Mueller-Hinton broth medium and in milk. *Journal of Applied Microbiology,* 107: 117-125

Estableciendo paneles de antimicrobianos

Los paneles deben estar basados en la disponibilidad comercial de las fórmulas farmacéuticas. Es práctico preparar por separado paneles aislados Gram-positivos y Gram-negativos.

Gram-positivos

1. El **disco de benzilpenicilina (1 unidad)** se usa para determinar la sensibilidad de *Staphylococcus spp.* y *Streptococcus spp.* a la penicilina (y penetamato). Para estas bacterias Gram-positivas, la penicina también puede ser representante de las penicilinas de espectro moderado como la ampicilina o la amoxicilina. Para evaluar la producción de β-lactamasas en estafilococos no sólo se necesita tener en cuenta el tamaño sino también se tienen que tener en cuenta la forma de los márgenes en la zona de difusión (ver casos especiales).

2. El **disco de cefoxitina (30 µg)** se usa como test fiable para detectar la presencia del gen mecA de los *Staphylococcus spp.* (SARM). Los estafilococos sensibles a la cefoxitina se consideran sensibles a las penicilinas de espectro reducido y resistentes a las β-lactamasas, a las combinaciones de β-lactámico/β-lactamasa (amoxicilina-ácido clavulánico) y a todas las clases de cefalosporinas. Las cepas resistentes a la cefoxitina (SARM) se consideran resistentes a todos los β-lactámicos (ver casos especiales). En los estreptococos, la oxacilina (1 µg) necesita ser probada por separado de la penicilina. No obstante, aunque los estreptococos no producen β-lactamasas, se registran más casos de estreptococos resistentes a la oxacilina a pesar de ser sensibles a la penicilina.

3. Los aminoglucósidos se pueden probar con el **disco de neomicina (10 µg)** para *S. aureus* y enterobacterias, con los **discos de gentamicina (10 µg) y kanamicina (30 µg)** para todas las especies de bacterias y con el **disco de amikacina (30 µg)** para estafilococos. Ninguno de estos discos puede detectar la resistencia para todos los antibióticos de su clase. El disco de neomicina también puede usarse para detectar sensibilidad a la framitecina .

4. El **disco de eritromicina (15 µg)** se utiliza para determinar la sensibilidad de los macrólidos frente a la sensibilidad de estafilococos y estreptococos. Este disco se usa siempre junto al disco de clindamicina para evaluar la resistencia inducida (ver casos especiales).

5. El **disco de clindamicina (2 µg)** se usa para evaluar la sensibilidad de estafilococos y estreptococos a pirlimicina y lincomicina. La resistencia inducible a la clindamicina se testa con el D-test (ver casos especiales).

6. El **disco de trimetoprim-sulfametoxazol (25 µg)** se usa para evaluar la sensibilidad de estafilococos y estreptococos a la combinación de trimetoprim-sulfonamida.

7. El **disco de tetraciclina (30 µg)** se usa para evaluar la sensibilidad a estafilococos y estreptococos de este grupo de antibióticos.

8. Los **discos de ciprofloxacino (5 µg)** o **enrofloxacino (5 µg)** se usan para evaluar la sensibilidad de estafilococos y estreptococos a las fluoroquinolonas.

9. El **disco de cefalexina-kanamicina (C 15 µg/K 30 µg)** se utiliza para evaluar la sensibilidad de estafilococos y estreptococos a Ubrolexin®. El **disco de penicilina/framitecina (P 1 UI/F 100 µg)** se usa para evaluar la sensibilidad de estafilococos y estreptococos a Mamyzin® Secado.

Gram-negativos

1. El **disco de ampicilina (10 µg)** se usa para evaluar la sensibilidad a ampicilina y amoxicilina de las enterobacterias.
2. El **disco de amoxicilina-clavulánico (20-10 µg)** se usa para evaluar la sensibilidad de las enterobacterias a las combinaciones de amoxicilina-ácido clavulánico. Nota: si las bacterias Gram-negativas son resistentes a las combinaciones de amoxicilina-clavulánico, deben indicarse como resistentes a la ampicilina (ver casos especiales).
3. El **disco de cefalexina (30 µg)** se usa para evaluar la sensibilidad de enterobacterias a cefalosporinas de primera y segunda generación como la cefalexina y la cefapirina.
4. El **disco de cefotaxima (5 µg)** se usa para evaluar la resistencia a todos los β-lactámicos. Las enterobacterias resistentes a cefotaxima se consideran también clínicamente resistentes a todas las penicilinas, cefalosporinas y combinaciones inhibidoras de β-lactámicos, aunque los diámetros resultantes a estos antibióticos indiquen sensibilidad (ver casos especiales).
5. La sensibilidad específica de las enterobacterias a cada uno de los aminoglucósidos por separado se prueba utilizando **discos de neomicina (10 µg)**, **gentamicina (10 µg)**, **kanamicina (30 µg)** y **amikacina (30 µg).**
6. El **disco de trimetoprim-sulfametoxazol (25 µg)** se usa para evaluar la sensibilidad de las enterobacterias a las combinaciones de trimetoprim-sulfonamida.
7. El **disco de tetraciclina (30 µg)** se usa para evaluar la sensibilidad de las enterobacterias a los antibióticos de este grupo.
8. Los **discos de ciprofloxacino (5 µg)** o **enrofloxacino (5 µg)** se usan para evaluar la sensibilidad de las enterobacterias a las fluoroquinolonas.
9. El **disco de cefalexina-kanamicina (C 15 µg-K 30 µg)** se usa para evaluar la sensibilidad de *E. Coli* a Ubrolexin®. El **disco de penicilina-framitecina (P 1 UI-F 100 µg)** se usa para evaluar la sensibilidad de *E. Coli* a Mamyzin® Secado.

Informe selectivo

Referenciar las moléculas de referencia a las presentaciones comerciales permite mejorar la puesta en práctica de los resultados de laboratorio. Un ejemplo de guía terapéutica para los antibióticos y patógenos en las mastitis se presenta en la **adenda 1**.

Las mastitis bovinas provocadas por enterococos también se ven en la clínica habitual aunque no sean las infecciones más frecuentes. En el proceso de aislamiento bacteriano, a menudo son confundidas con estreptococos. Las enterobacterias son resistentes (de forma natural o adquirida) a varios antibióticos.

- La sensibilidad a las penicilinas de las enterobacterias se puede probar con un **disco de ampicilina (2 µg)**. Las enterobacterias resistentes a la ampicilina se pueden considerar resistentes a todas las penicilinas incluso amoxicilina y amoxicilina-clavulánico.
- Todos los enterococos son **resistentes de forma natural a las cefalosporinas**, por lo que los resultados *in vitro* deben descartarse.
- Todos los enterococos son **resistentes de forma natural a los aminoglucósidos**, aunque puede haber cierta sinergia con los β-lactámicos.
- Las enterobacterias son generalmente resistentes a los **macrólidos**.
- Las **quinolonas** son moderadamente activas contra los enterococos. Varias mutaciones genéticas en los enterococos pueden causar resistencia a las quinolonas.

MÉTODOS Y PAUTAS

Hay dos organizaciones internacionales que trabajan en la elaboración de guías y definición de los puntos de corte para la interpretación de las pruebas de sensibilidad bacteriológica.

El **CLSI** o Clinical and Laboratory Standards Institute es una organización sin ánimo de lucro cuya misión es desarrollar prácticas clínicas y laboratoriales para promover su uso en todo el mundo. Sus estándares para pruebas de laboratorio se basan en el consenso de la industria, gobiernos y profesionales sanitarios. El CLSI tiene una subdivisión veterinaria que aprueba las interpretaciones clínicas y de los puntos de corte de los discos de sensibilidad para la cura clínica de determinadas enfermedades.

El **EUCAST** o Comité Europeo sobre pruebas de sensibilidad antimicrobiana es una organización vinculada a la Unión Europea, como lo es la EMA (Agencia Europea de Medicamentos). El EUCAST tiene un comité veterinario sobre pruebas de sensibilidad antimicrobiana (VetCAST). Este comité tiene como objetivo tratar sobre las pruebas de sensibilidad antimicrobiana de bacterias de origen animal y bacterias que pueden provocar zoonosis. El VetCAST define los puntos de corte de las concentraciones mínimas inhibitorias de los nuevos agentes antimicrobianos de uso veterinario, revisa los puntos de corte de antibióticos genéricos y asesora sobre el espectro antibacteriano de todos los agentes antimicrobianos de uso veterinario en general.

Este manual está basado en las guías del CLSI, a menos que se especifique lo contrario.

Métodos posibles

Difusión en agar

El **método de difusión en agar** es el que se usa más frecuentemente porque es el más versátil para realizar pruebas de sensibilidad antimicrobiana (PSA) de la mayoría de los patógenos de origen bacteriano. La metodología para llevar a cabo estas pruebas se describe más adelante en este manual.

Cuando se realiza teniendo en cuenta las recomendaciones y haciendo uso de los controles de calidad indicados, la prueba de difusión en agar es un método fiable y reproducible para determinar la sensibilidad antimicrobiana.

Microdilución en caldo

La prueba de microdilución en caldo no se describe en este manual. Los diámetros de las zonas de inhibición de los discos de difusión y los puntos de corte de las concentraciones mínimas inhibitorias de las pruebas de la microdilución en caldo están correlacionados. No obstante, puede suceder que los diámetros de las áreas no se correspondan exactamente con las concentraciones mínimas inhibitorias descritas debido a diferencias en las metodologías. Por consiguiente, no resulta posible extrapolar las zonas de inhibición a los valores de las concentraciones mínimas inhibitorias.

Discos de difusión

Materiales necesarios

Medio

- **Agar Mueller-Hinton (MHA)** sin suplementos para enterobacterias, estafilococos y enterococos.
- **Agar Mueller-Hinton con sangre (MH-F)** para estreptococos.

Foto 1. Placas agar Mueller-Hinton con sangre (MH-F, izquierda) para estreptococos y placas agar Mueller-Hinton (MHA, derecha) sin suplementos para enterobacterias, estafilococos y enterococos.

El EUCAST recomienda para estreptococos el agar MH-F (Mueller-Hinton con 5% de sangre de caballo y 20 mg/l beta/NAD), mientras que el CLSI recomienda usar agar MH con 5% de sangre de oveja. Los puntos de corte publicados para cada una de estas organizaciones se fijan para sus propias placas recomendadas.

Foto 2. Discos de difusión específicos para cada antimicrobiano que quiera probarse.

Discos de sensibilidad

- **Discos de sensibilidad antimicrobiana** de cada agente antimicrobiano apropiado, con la dosis correcta, para cada especie bacteriana a testar.
- Los discos se pueden dispensar individualmente o con multidispensadores.
- Los discos deben ser almacenados de acuerdo con las indicaciones del fabricante para asegurar resultados correctos.

Asa de siembra esterilizada (tamaño 10 µl)

- Asas de siembra de plástico de un solo uso o bien asas de alambre (con un quemador Bunsen para su esterilización) para sembrar las placas con el asa mojada en leche.
- En caso de crecimiento de cultivos con varias colonias, se deberá aislar cada colonia con un asa de siembra esterilizado para subcultivar colonias puras.

Instrucciones

Obtención de colonias aisladas e identificables

- De una muestra de leche obtenida asépticamente del cuarterón afectado sembrar hasta obtener **colonias aisladas** en agar sangre (foto 4). Utilizar un asa de siembra mojada en leche (unos 10 µl) para sembrar cada placa. Cuando sea necesario, subcultivar para obtener colonias puras antes de la preparación de la prueba de difusión.
- Realizar la identificación de las colonias puras. Como los puntos de corte varían entre las diferentes especies, si las colonias no están correctamente identificadas los test de sensibilidad no darán información fiable.

La estandarización de la concentración del inóculo es importante. Si se cogen demasiadas colonias, las bacterias serán capaces de crecer aún en presencia del antibiótico. Si por el contrario hay pocas colonias, la zona de inhibición resultante será demasiado pequeña y las bacterias serán identificadas de forma errónea como resistentes.

Preparación del inóculo

- Suspender 3-5 colonias similares de la placa de agar usando un asa de siembra o hisopo de algodón estéril y suspender en 4-5 ml de solución salina al 0,9%.
- La densidad de la colonia en suspensión (inóculo) debe ser equivalente a 0,5 McFarland preferiblemente medido con un dispositivo fotométrico. Alternativamente se puede usar un patrón de 0,5 McFarland para comparar visualmente el inóculo.
- Se puede ajustar la densidad (si es menor a 0,5) añadiendo más bacterias, o añadir más solución salina si la densidad es superior a 0,5 McFarland.

Aplicación del inóculo

- El inóculo se debe utilizar dentro de los 15 minutos de preparación.
- Sumergir un hisopo estéril en el inóculo y retirar el exceso de líquido en las paredes del tubo para evitar la sobreinoculación de las placas.
- Sembrar el inóculo por toda la superficie de la placa rozando el hisopo en tres direcciones.

Hisopos estériles

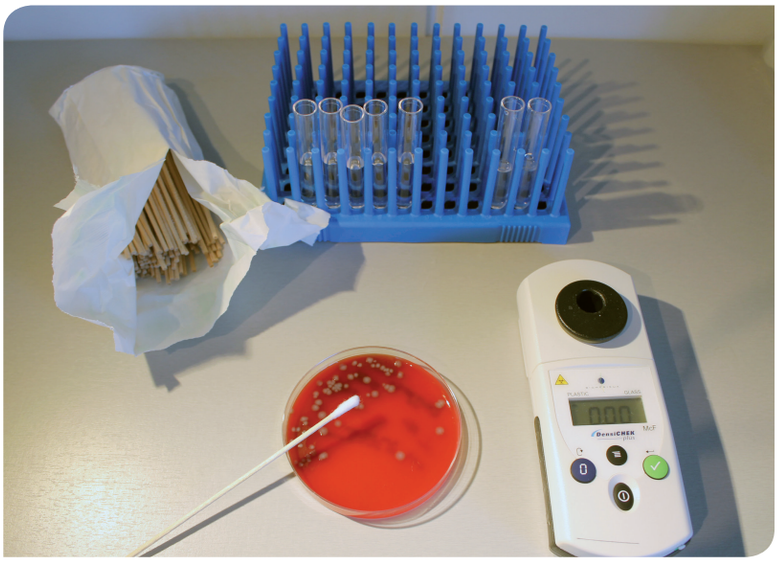


Foto 3. Se utilizan hisopos estériles para coger colonias para preparar el inóculo, y para aplicar el inóculo preparado en las placas donde se realizan las PSA.

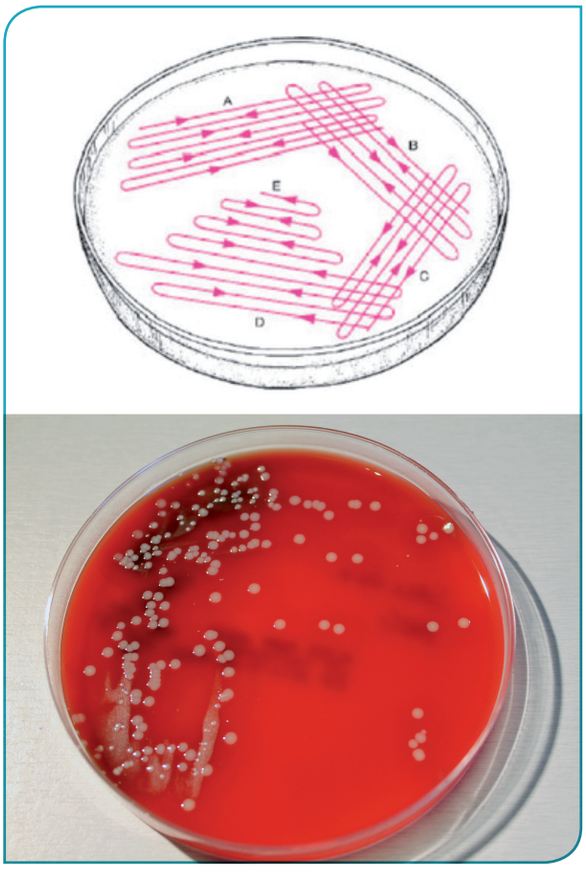


Foto 4. Diagrama de la técnica de sembrado de una placa y como ejemplo de esta técnica una placa con *S. aureus* de leche. El objetivo es diluir las bacterias que crecen en cada área de la placa, de forma que se puedan aislar las colonias en la misma placa. Esta técnica permite aislar colonias aisladas para la PSA.

Foto 5. La densidad del inóculo tiene que ser equivalente a 0,5 McFarland, y es preferible que se mida con un dispositivo fotométrico. Alternativamente se puede hacer visualmente por comparación con un patrón de 0,5 McFarland.

Aplicación de los discos

- Aplique firmemente los discos en el agar antes de que pasen 15 minutos de haber preparado el inóculo, sino las bacterias crecerán antes de aplicar los discos y se alterarán los tamaños de las zonas de inhibición.
- El número de discos debe ser limitado para evitar el solapamiento de las zonas. No utilice más de seis discos en una placa de petri estándar de 90 mm, ocho discos en una placa de 100 mm o bien 12 en una placa de 150 mm.

Incubación de las placas

- Invierta las placas para incubarlas antes que pasen 15 minutos después de la aplicación de los discos. Si la incubadora se encuentra muy llena, puede afectar la distribución del calor.
- Incube las placas durante 16-20 horas a 35+/- 2ºC antes de leerlas.
- Incubar las enterobacterias, estafilococos y enterococos en ambiente aéreo y los estreptococos en una atmósfera rica en CO_2 al 4-6%.

- Almacene los discos, incluyendo los que se encuentran en dispensadores en lugares herméticos con un deshumidificador y protegidos de la luz.
- Almacene el stock de seguridad de discos a -20ºC a menos que el fabricante especifique lo contrario.
- Almacene los discos que utilice para trabajar a <8ºC.
- Puede prevenir la condensación sacando los discos para que se calienten a temperatura ambiente antes de abrir el envase.
- Deshágase de los discos adecuadamente una vez que hayan caducado.

Examen de las placas

Examine el crecimiento de las placas. Un sembrado correcto tiene zonas confluyentes, constantes que crecen de forma circular en las zonas de inhibición. Si las colonias individuales pueden verse, los inóculos han sido demasiado débiles y se debe repetir la prueba.

Lectura de las zonas

- Los márgenes de las zonas se pueden leer a simple vista en el punto de inhibición completo poniendo las placas a unos 30 cm del ojo.
- Mida el diámetro de la zona con un calibrador o un lector automático.
- Lea las placas de MHA desde la parte de atrás con una superficie oscura de fondo y con luz reflejada (foto 7).
- Lea las placas MH-F desde la parte de arriba, sin la tapa y con luz reflejada (foto 8). Las placas tienen que estar tituladas a la luz para distinguir las zonas de inhibición externas.
- Si se observan colonias diferentes dentro de la zona de inhibición, haga un subcultivo de las colonias para comprobar su pureza y repita la prueba si fuera necesario. Cuando se encuentra la colonia dentro de la zona de difusión, no hay contaminación y el test se puede calificar como resistente.

La luz refleja significa que el punto de luz va directo hacia la placa y refleja directamente a los ojos. Puede verlo en las fotos 8 y 9. Generalmente se aconseja este tipo de iluminación para ser utilizado en el laboratorio y evaluar adecuadamente las placas de petri.

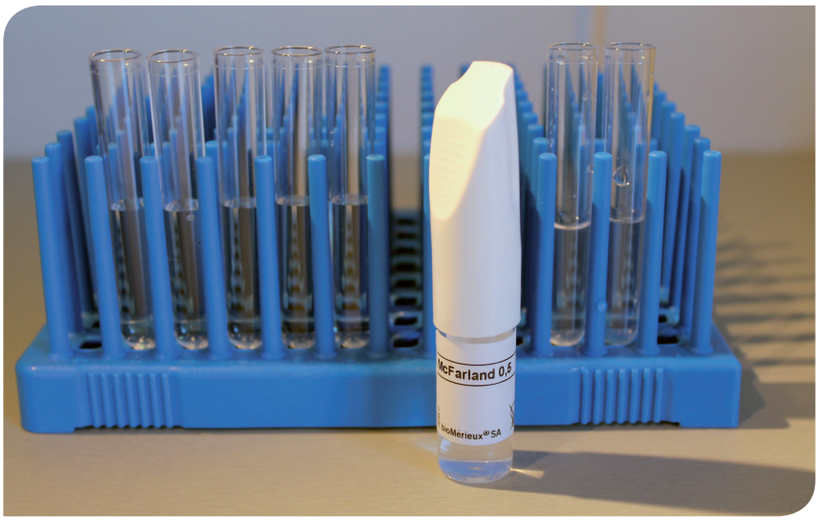


Foto 6. Un patrón visual de 0,5 McFarland.

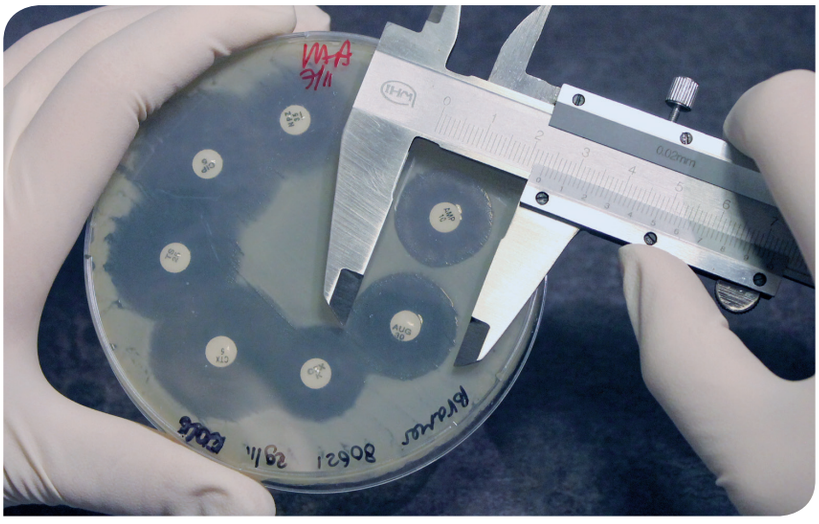


Foto 7. Mida el diámetro de la zona con un calibrador o un lector automático. Lea las placas MHA desde la parte de atrás y con un fondo oscuro iluminado con luz reflejada.

Foto 8. Para realizar una lectura y medición correcta de las placas MH-F, tienen que evaluarse sin la tapa e iluminación de luz reflejada. Las placas tienen que titularse a la luz para asegurar una correcta visualización de las zonas de inhibición.

CASOS ESPECIALES

Ampicilina *(enterobacterias)*

Ignore cualquier crecimiento que pueda aparecer de la zona interna de algunos lotes de MHA.

Penicilina *(S. aureus)*

Las zonas de inhibición con bordes afilados son indicativas de resistencia a estafilococos (producción de β-lactamasas). El disco de difusión es muy fiable para detectar productores de β-lactamasas, siempre que se mida el diámetro de la zona y se inspeccione detenidamente el borde de la misma. Examine con luz transmitida (sostenga la placa hacia la luz). En el caso de que se trate de *S. aureus*, si el borde de la zona es afilado y tiene un diámetro > 26 mm quiere decir que es resistente a la penicilina (ver foto 10).

Resistencia inducible a AmpC *(enterobacterias)*

AmpC es un gen que confiere resistencia a la β-lactamasas. AmpC no siempre se expresa de la misma forma en algunas enterobacterias. Tiene que ser previamente inducido por un antimicrobiano: el ácido clavulánico y la cefotaxima son fuertes inductores, mientras que la ampicilina es un inductor débil. Por este motivo, las enterobacterias que son calificadas como resistentes a cefotaxima o a la combinación de amoxicilina/clavulánico tienen que ser calificadas como **resistentes a todas la penicilinas y cefalosporinas.**

Detección de resistencia inducible a clindamicina[4] (D-test) *(estafilococos y estreptococos)*

Algunos genes que codifican para la resistencia tienen que ser activados antes de que se expresen. Esta activación se induce más fácilmente en el animal que en la placa de agar. Puede ser que en una simple prueba *in vitro* salga como sensible, mientras que en el animal este gen se active y proporcione protección a la bacteria contra el antibiótico. Esta resistencia inducible existe para la clindamicina. Puede ser activada añadiendo un antibiótico macrólido en la misma placa de agar.

Ponga un disco de eritromicina y otro de clindamicina al lado (para **estafilococos 12-20 mm** de separación, y para **estreptococos 12-16 mm** de separación).

Revise las placas iluminadas con luz reflejada. En caso que haya resistencia inducible a la clindamicina, la zona de difusión para el disco de clindamicina aparecerá una forma típica en forma de D con la parte aplanada hacia el disco de eritromicina (foto 11).

Trimetoprim-sulfametoxazol *(todas las bacterias)*

Algunas veces aparecen zonas difusas. En estos casos se tienen que medir las zonas interiores. Descartar las zonas brumosas y débiles que crecen dentro de los discos entre zonas libres (foto 9).

4. Fiebelkorn KR *et al.*, 2003. Practical disc diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. *J. Clin. Microbiology Oct.*; 41 (10): 4740-4.

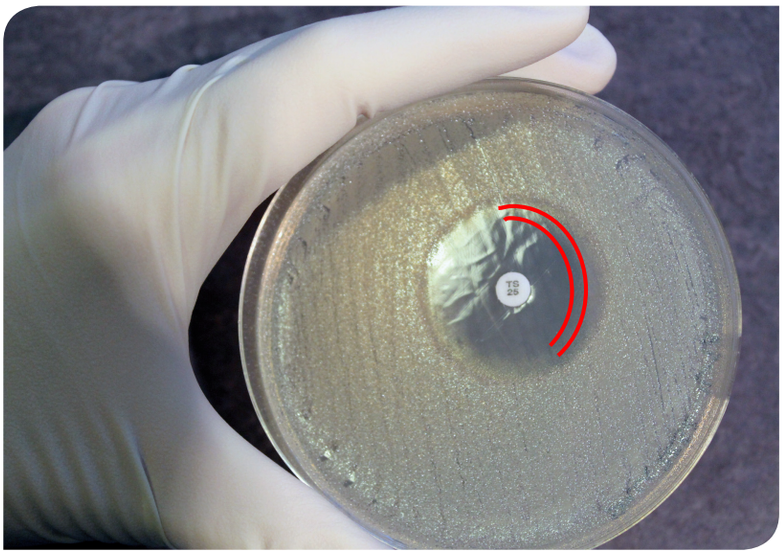


Foto 9. Para trimetoprim-sulfametoxazol lea las zonas internas cuando aparezcan dos áreas. Descarte las zonas con crecimiento borrosas que están al lado de las zonas claras.

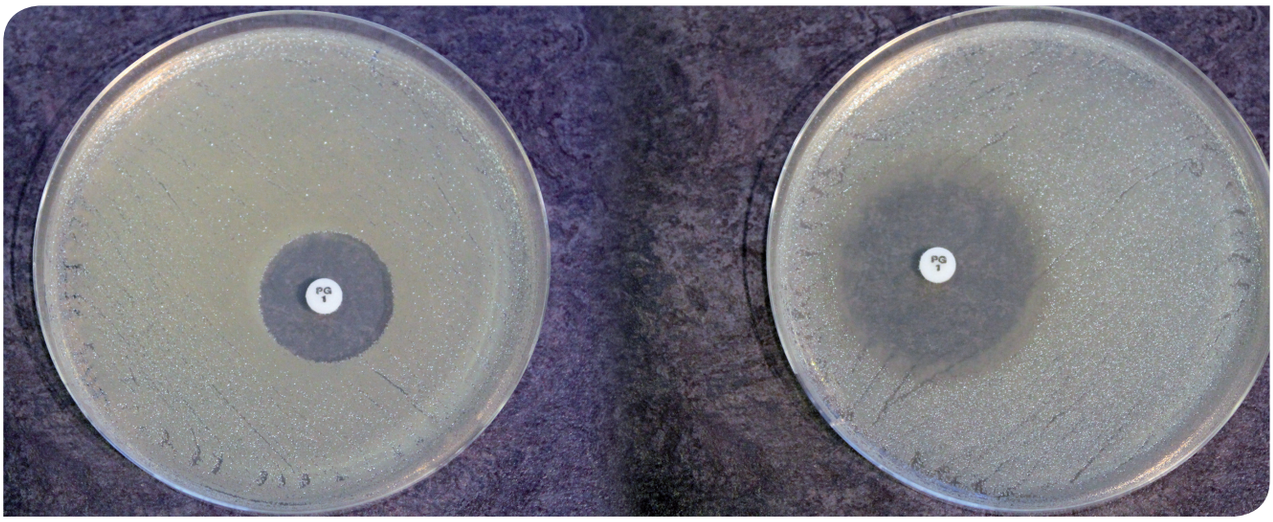


Foto 10. A la izquierda *S. aureus* resistente a la penicilina con una zona cortante, y a la derecha *S. aureus* sensible a la penicilina con una zona borrosa en los márgenes.

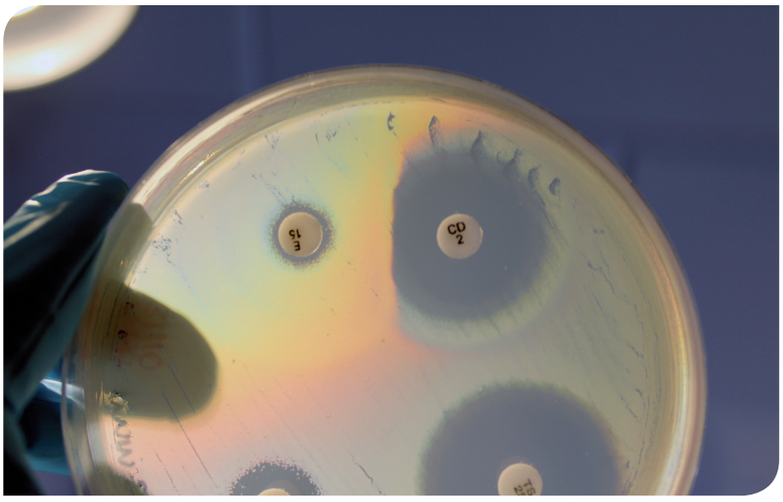


Foto 11. Aspecto típico de una zona de resistencia inducible a la clindamicina con una forma en D a consecuencia del disco de eritromicina puesto a su lado.

CRITERIOS PARA PRUEBAS CON DISCOS DE DIFUSIÓN

Panel de Gram-positivos – *Estafilococos y estreptococos*

Tabla 1

Antimicrobiano	Disco	Bacteria	Zona		Referencia	Observaciones
			S(≥)	R (<)		
Beta-lactámicos						
Benzilpenicilina	1 unit	STAPH	26	26	EUCAST[1]	
		STREP	18	18		
Oxacillina	1 µg	STREP	18	18	Punto de corte preliminar	
Cefoxitina	30 µg	SAU	22	22	EUCAST[1]	MecA screen
		CNS	25	25		
Aminoglucósidos						
Neomicina	10 µg	SAU	14	14		ECOFF propuesto por EUCAST
Gentamicina	10 µg	SAU	18	18	EUCAST[1]	
		CNS	22	22		
Kanamicina	30 µg	Todas las bacterias	18	14	CLSI[2]	
Amikacina	30 µg	SAU	18	16	EUCAST[1]	
		CNS	22	19		
Macrólidos						
Eritromicina	15 µg	STAPH y STREP	21	18	EUCAST[1]	
Lincosamidas						
Clindamicina	2 µg	STAPH	22	19	EUCAST[1]	
		STREP	17	17		
Combinaciones de Trimetoprim sulfonamida						
Trimetoprim/sulfametoxazol	1,25/ 23,75 (25) µg	STAPH	17	14	EUCAST[1]	
		STREP	18	15		
Tetraciclinas						
Tetraciclina	30 µg	STAPH	22	19	EUCAST[1]	
		STREP	23	20		
Quinolonas						
Ciprofloxacina	5 µg	STAPH	20	20	EUCAST[1]	Resistencia cruzada para todas las fluoroquinolonas y flumequina
Enrofloxacina	5 µg	STAPH	23	17	CLSI[2]	
Combinaciones de Beta-lactámico y aminoglucósido						
Cefalexina + Kanamicina (Ubrolexin®)	15/ 30 µg	STAPH y STREP	20	18	CLSI[2] y artículo[3,4]	Validado con datos farmacocinéticos en la ubre
Penicilina + Framitecina (Mamyzin® Secado)	10/ 100 µg	STAPH	21	18	Artículo[5]	Validado con datos farmacocinéticos en la ubre
		STREP	21	19		

STAPH: todos los estafilococos. **SAU:** *Staphylococcus aureus.* **CNS:** Estafilococos coagulasa negativos. **STREP:** Estreptococos

Panel de Gram-negativos – *Enterobacterias*

Tabla 2

Antimicrobiano	Disco	Bacteria	Zona		Referencia	Observaciones
			S(≥)	R (<)		
Beta-lactámicos						
Ampicilina	10 µg	Entero	14	14	EUCAST[1]	
Amoxicilina-Ácido Clavulánico	20/ 10 µg	Entero	19	19	EUCAST[1]	
Cefalexina	30 µg	Entero	14	14	EUCAST[1]	
Cefotaxima	5 µg	Entero	20	17	EUCAST[1]	ESBL/ AmpC screen.
Aminoglucósidos						
Neomicina	10 µg	Entero	12	11		ECOFF propuesto por EUCAST.
Gentamicina	10 µg	Entero	17	14	EUCAST[1]	
Kanamicina	30 µg	Todas las bacterias	18	14	CLSI[2]	
Amikacina	30 µg	Entero	16	13	EUCAST[1]	
Combinaciones de Trimetoprim sulfonamida						
Trimetoprim/sulfametoxazol	1,25 / 23,75 (25) µg	Entero	16	13	EUCAST[1]	
Tetraciclinas						
Tetraciclina	30 µg	Entero	19	15	CLSI[2]	
Quinolonas						
Ciprofloxacina	5 µg	Entero	22	19	EUCAST[1]	
Enrofloxacina	5 µg	Entero	23	17	CLSI[2]	
Combinaciones de Beta-lactámico y aminoglucósido						
Cefalexina + Kanamicina (Ubrolexin®)	15/ 30 µg	*E. coli*	20	18	CLSI[2] y artículo[4,5]	Validado con datos farmacocinéticos en la ubre
Penicilina + Framitecina (Mamyzin® Secado)	10/ 100 µg	Entero	18	16	Artículo[5]	Validado con datos farmacocinéticos en la ubre

Nota: los criterios pueden cambiar, ver la web de EUCAST o los documentos más recientes del CLSI.

Referencias de las tablas 1 y 2

1. EUCAST, 2015-01-01. *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. V 5.0.*
2. CLSI Vet01-S2., July 2013. *Performance standards for antimicrobial disc and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; second informational supplement).*
3. Pillar et al., 2009. Evaluating the *in vitro* susceptibility of bovine mastitis pathogens to a combination of kanamycin and cefalexin: recommendations for a disc diffusion test. *J. Dairy Sci*., 92: 6217–6227.
4. Silley et al., 2012. Susceptibility of coagulase-negative staphylococci to a kanamycin and cefalexin combination. *J. Dairy Sci*., 95 :3448–3453.
5. Pillar et al., 2014. In vitro susceptibility of bovine mastitis pathogens to a combination of penicillin and framycetin: Development of interpretive criteria for testing by broth microdilution and disc diffusion. *J. Dairy Sci*., 97 :1–14.

CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio, independientemente de su tamaño y de las muestras que procese necesita un plan de control de calidad. Sin un chequeo rutinario, los resultados pueden perder fiabilidad.

- Usar las cepas de control específicas para monitorizar el rendimiento del test. Estas cepas se pueden adquirir en diversas fuentes.
- Almacene las cepas de control en condiciones que mantengan su integridad. El almacenamiento en recipientes de cristal a -70°C en glicerol (o cualquier equivalente comercial) es un método adecuado. Los organismos poco exigentes pueden ser almacenados a -20 °C.
- Subcultivar cada semana una gota en un medio adecuado y no selectivo para comprobar la pureza. De este cultivo puro se pueden preparar cada semana nuevos subcultivos. Para los organismos exigentes que no sobreviven en las placas más de cinco o seis días, el subcultivo de esta cepa tiene que ser diario y no por más de una semana.
- Los rangos aceptables para controlar las cepas se muestran en la tabla adjunta.
- Las cepas de control deben ser probadas cada día hasta que su rendimiento sea satisfactorio (no más de 1 en 20 test fuera de límites de control). En esta fase, la frecuencia con que se prueban se puede reducir a una a la semana. Si el rendimiento estándar no se alcanza, se debe investigar la causa.
- Además de tener un testeo rutinario de QC, es recomendable participar en un **test nacional de competencia** para PSA para tener *feedback* general sobre mejoras de calidad.

Cepas control para CC de PSA según el método de discos de difusión incluyendo el objetivo y los intérvalos para cada cepa específica

Tabla 3

Cepas CC para PSA - Método de discos de difusión[1]			
S. aureus **ATCC 29213** (NCTC 12973, CIP 103429, DSM 2569, CCUG 15915, CECT 794)			
Agente antimicrobiano	**Contenido del disco**	**Zona de inhibición (mm)**	
		Objetivo	**Rango**
Benzilpenicilina	1 unit	15	12-18
Ampicilina	2 µg	18	15-21
Cefoxitina	30 µg	27	24-30
Gentamicina	10 µg	22	19-25
Eritromicina	15 µg	26	23-29
Clindamicina	2 µg	26	23-29
Trimetoprim-sulfametoxazol	1.25-23.75 µg	29	22-28
Tetraciclina	30 µg	27	23-31
Ciprofloxacino	5 µg	24	21-27
Cefalexina-Kanamicina (Ubrolexin®)	15-30 µg	-	19-25
Penicilina-Framitecina (Mamyzin® Secado)[3]	10/ 100 µg	-	27-33
Str. pneumoniae **ATCC 49619** (NCTC 12977, CIP 104340, DSM 11967, CCUG 33638)			
Agente antimicrobiano	**Contenido del disco**	**Zona de inhibición (mm)**	
		Objetivo	**Rango**
Benzilpenicilina	1 unit	19	16-22
Ampicilina	2 µg	28	25-31
Eritromicina	15 µg	29	26-32
Clindamicina	2 µg	25	22-28
Trimetoprim-sulfametoxazol	1,25-23,75 µg	23	20-26
Tetraciclina	30 µg	31	28-34
Ciprofloxacino	5 µg	25	22-28
Cefalexina-Kanamicina (Ubrolexin®)	15-30 µg	-	13-20
Penicilina-Framitecina (Mamyzin® Secado)[3]	10/ 100 µg	-	27-33
E.coli **ATCC 25922** (NCTC 12241, CIP 76.24, DSM 1103, CCUG 17620, CECT 434)[2]			
Agente antimicrobiano	**Contenido del disco**	**Zona de inhibición (mm)**	
		Objetivo	**Rango**
Ampicilina	10 µg	19	15-22
Amoxicilina-ácido clavulánico	20-10 µg	21	18-24
Cefalexina	30 µg	18	15-21
Cefoxitina	5 µg	28	25-31
Gentamicina	10 µg	23	19-26
Ciprofloxacino	5 µg	35	30-40
Trimetoprim-sulfametoxazol	1.25-23.75 µg	26	23-26
Cefalexina-Kanamicina (Ubrolexin®)	15-30 µg	-	19-25
Penicilina-Framitecina (Mamyzin® Secado)	10/ 100 µg	-	18-24

1. EUCAST, Routine and extended internal quality control as recommended by EUCAST, V5.0, 2015-01-09.
2 . NCTC, CIP, DSM, CCUG and CECT are alternative sources for the ATCC type of reference strains.
3. CLSI quality control for disc diffusion tested on *S. aureus* ATCC 25923 and *S. pneumoniae* ATCC 49619.

Agradecimientos

Este manual ha sido posible gracias a las inmejorables sugerencias y consejos de Marielle Melchior[7].

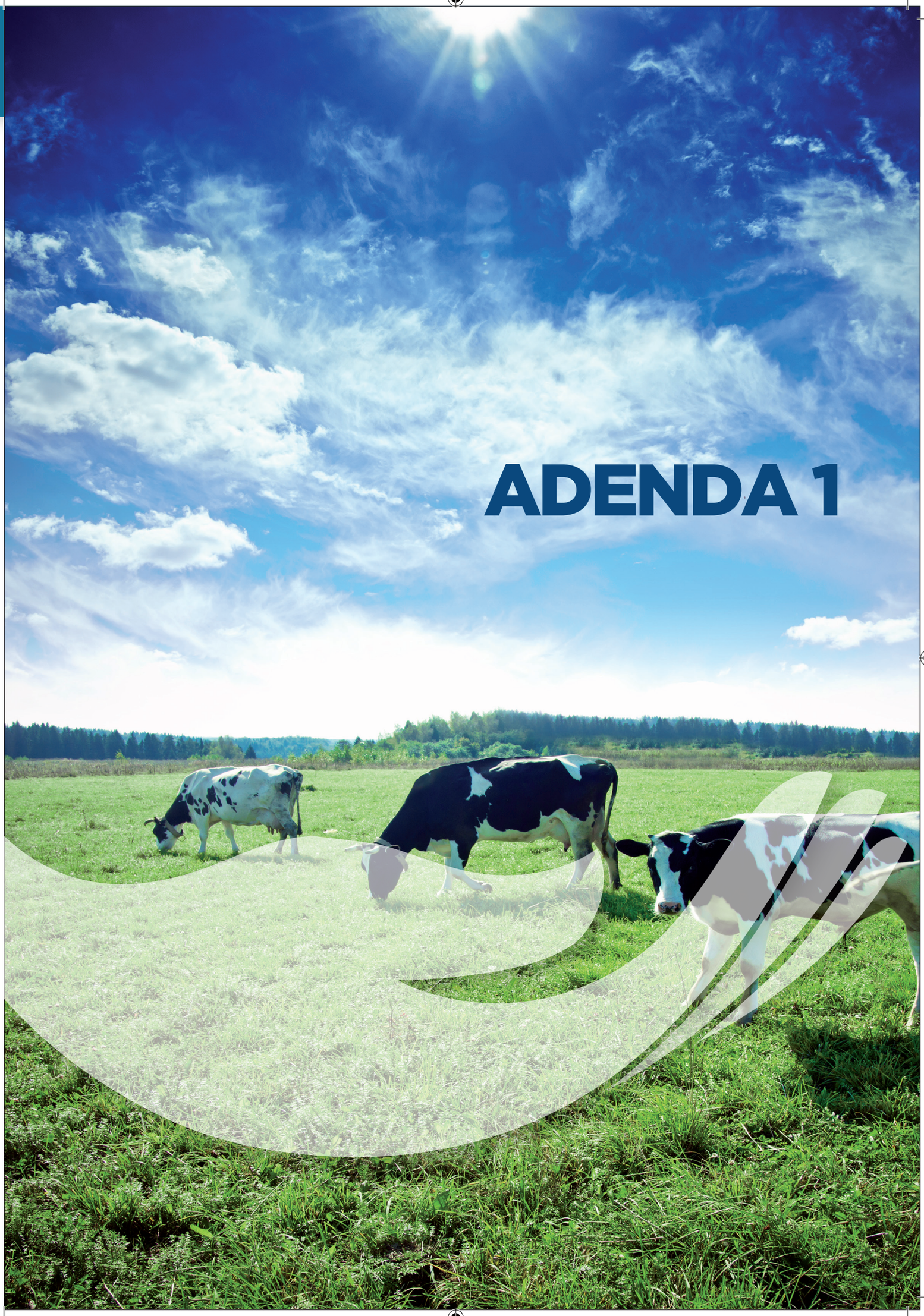
MBM Vet

Referencias

- CLSI Vet01-A4, July 2013. *Performance Standards for antimicrobial Disc and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals*; Approved standard fourth edition.
- CLSI Vet01-S2, July 2013. *Performance standards for antimicrobial disc and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; second informational supplement*.
- EUCAST, January 2015. *Antimicrobial susceptibility testing EUCAST disc diffusion method. Version 5.0*.

7. M.B. Melchior MBM Vet Consultancy, marielle@mbmvet.nl

ADENDA 1



INTERPRETACIÓN DE LOS DISCOS DE REFERENCIA PARA LA EVALUACIÓN DE OPCIONES TERAPÉUTICAS

Estafilococos		
LECTURA DE SENSIBILIDAD PARA EL DISCO DE	**Referencia de la clase de antibióticos**	**Opciones terapeúticas cuando hay sensibilidad**
Penicilina	Penicilinas de espectro reducido, sensibles a las β-lactamasas	Penicilina benzatina, benzilpenicilina (penicilina G), penicilina procaína y penetamato
	Penicilinas con espectro moderado	Ampicilina y amoxicilina
Cefoxitina	Penicilinas con espectro reducido, resistentes a las β-lactamasas	Cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina, meticilina, nafcilina, oxacilina
	Combinaciones con inhibidores de β-lactamasas	Amoxicilina y ácido clavulánico
	Todas las cefalosporinas	• Cefalexina, cefalonium, cefalotina, y cefapirina • Ceftiofur, cefoperazona, y cefquinoma
Neomicina	-	Neomicina, Framicetina
Gentamicina	-	Gentamicina
Kanamicina	-	Kanamicina
Amikacina	-	Amikacina
Eritromicina	Macrólidos	Eritromicina, gamitromicina, tilmicosina, tulatromicina y tilosina
Clindamicina[1]	Lincosamidas	Lincomicina, clindamicina y pirlimicina
Trimetoprim/ sulfametoxazol	Todas las combinaciones de trimetoprim-sulfonamida	
Tetraciclina	Todas las tetraciclinas	Tetraciclina, oxitetraciclina, clortetraciclina y doxiciclina
Ciprofloxacino o enrofloxacino	Todas las fluoroquinolonas	Danofloxacino, enrofloxacino, marbofloxacino
Cefalexina/ Kanamicina	-	Ubrolexin®
Penicilina/ Framitecina	-	Mamyzin® Secado

1. Considere también el resultado del test D, para resistencia inducible a la clindamicina (ver resistencia inducible)

Estreptococos		
LECTURAS DE SENSIBILIDAD PARA EL DISCO DE	**Referencia de la clase de antibióticos**	**Opciones terapeúticas cuando hay sensibilidad**
Penicilina	Penicilinas de espectro reducido, sensibles a las β-lactamasas	Penicilina benzatina, benzilpenicilina (penicilina G), penicilina procaína y penetamato
	Penicilinas con espectro moderado	Ampicilina y amoxicilina
	Todas las cefalosporinas	• Cefalexina, cefalonio, cefalotina y cefapirina • Ceftiofur, cefoperazona y cefquinoma
Oxacilina	Penicilinas con espectro reducido, resistentes a las β-lactamasas	Cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina, meticilina, nafcilina y oxacilina
Eritromicina	Macrólidos	Eritromicina, gamitromicina, tilmicosina, tulatromicina y tilosina
Clindamicina[2]	Lincosamidas	Lincomicina, clindamicina y pirlimicina
Trimetoprim/ sulfametoxazol	Todas las combinaciones de trimetoprim-sulfonamida	-
Tetraciclina	Todas las tetraciclinas	Tetraciclina, oxitetraciclina, clortetraciclina y doxiciclina
Ciprofloxacino o enrofloxacino	Todas las fluoroquinolonas	Danofloxacino, enrofloxacino, marbofloxacino
Cefalexina/ Kanamicina	-	Ubrolexin®
Penicilina/ Framitecina	-	Mamyzin® Secado

2. Considere también el resultado del D test, para resistencia inducible a la clindamicina (ver resistencia inducible)

Enterobacterias		
LECTURAS DE SENSIBILIDAD DE LOS DISCOS PARA	**Referencia de la clase de antibióticos**	**Opciones terapeúticas cuando hay sensibilidad**
Ampicilina	Penicilinas de espectro moderado	Ampicilina y amoxicilina
	Todas las cefalosporinas	• Cefalexina, cefalonio, cefalotina y cefapirina • Ceftiofur, cefoperazona y cefquinoma
Amoxicilina-ácido clavulánico	Combinaciones de inhibidores de β-lactamasas	Amoxicilina y ácido clavulánico
Cefalexina	Cefalosporinas de primera y segunda generación	Cefalexina, cefalonio, cefalotina y cefapirina
Cefotaxima	Cefalosporinas de tercera y cuarta generación	Ceftiofur, cefoperazona y cefquinoma
Neomicina	-	Neomicina y framitecina
Gentamicina	-	Gentamicina
Kanamicina	-	Kanamicina
Amikacina	-	Amikacina
Trimetoprim/ sulfametoxazol	Todas las combinaciones de trimetoprim-sulfonamida	
Tetraciclina	Todas las tetraciclinas	Tetraciclina, oxitetraciclina, clortetraciclina y doxiciclina
Ciprofloxacino	Todas las fluoroquinolonas	Danofloxacino, enrofloxacino, marbofloxacino
Ciprofloxacino o enrofloxacino	Todas las fluoroquinolonas	Danofloxacino, enrofloxacino, marbofloxacino
Cefalexina/ kanamicina	-	Ubrolexin®
Penicilina/ framitecina	-	Mamyzin® Secado

ubrocaje

Boehringer Ingelheim

63TESTSE16