

## VALORACIÓ DE L'ANTIBIOGRAMA

pel doctor JOSEP LLORENS i TEROL

Metge de la Clínica Pediàtrica de l'Hospital Municipal  
d'Infecciosos, de Barcelona

L'estudi de la sensibilitat de les bactèries als antibiòtics resulta d'una importància cabdal en determinades circumstàncies. Les dades obtingudes amb aquesta investigació permeten una antibioteràpia dirigida, i això és important no tan sols des del punt de vista científic, sinó també pràctic en certes malalties infeccioses.

De tota manera, hom no ha de pensar que l'administració indiscriminada dels antibiòtics que s'han mostrat actius «in vitro» sobre un germen o uns germens aïllats d'un producte patològic, mena sempre a l'èxit terapèutic. L'antibiograma estudia una part —potser la més important— de la lluita antiinfecciosa: l'acció de l'antibiòtic enfront del microorganisme causant de la infecció. Però cal tenir en compte moltes altres circumstàncies. A part emprar una tècnica correcta per a la determinació de l'antibiograma —detall fonamental que no sempre s'acompleix—, cal que els microorganismes estudiats siguin veritablement els únics responsables d'aquell procés. L'antibiòtic ha d'ésser administrat per la via i en les dosis adequades, tenint en compte la seva absorció, la seva difusibilitat i les vies d'eliminació; i encara caldrà corregir tots els factors sobreposats que dificulten o impossibiliten el guariment del procés.

En definitiva, quan fem un antibiograma enfrontem el germen i l'antibiòtic en unes condicions que podríem anomenar «químicament pures». Però l'organisme no és una càpsula de Petri. A part l'acció bactericida o bacteriostàtica de l'antibiòtic, hi intervenen altres factors també molt importants, els uns afavorint i els altres destorbant aquesta acció antibiòtica. Per tant, hom ha de saber valorar les dades de l'antibiograma, tot aplicant-les en cada cas concret segons les necessitats i les exigències d'aquella determinada circumstància.

Existeixen dues tècniques per a l'estudi de l'antibiograma: una en

medi líquid i una altra en medi sòlid. Amb el *mètode de les dilucions progressives en medi líquid* cal preparar una sèrie de tubs amb el medi de cultiu adequat, el qual ha de contenir quantitats decreixents de l'antibiòtic. Una vegada sembrats tots els tubs amb una suspensió del germen a estudiar, cal incubar durant algunes hores a l'estufa, i determinar tot seguit la *concentració mínima inhibidora* d'aquell antibiòtic per a aquell germen. Aquesta tècnica és molt sensible i des del punt de vista de rigor científic és la que resulta més aconsellable. Però la complexitat de treballar amb unes suspensions bacterianes molt homogènies per tal de poder estandarditzar el mètode i la innecessarietat d'obtenir uns resultats tan ben mesurats per a unes finalitats clíniques immediates, fan que aquesta tècnica no sigui aconsellable com a mètode de rutina.

Molt més utilitzat és el mètode de la *difusió en medi sòlid*. Cal aplicar a la superfície del medi sembrat amb el germen en estudi uns discos de paper (o unes pastilles) impregnats amb l'antibiòtic. Si aquesta tècnica es realitza bé, proporciona uns resultats molt útils en clínica. Això, unit a la seva simplicitat, fa que sigui el mètode d'elecció. Hi ha nombrosos variants, però sigui quina sigui la tècnica emprada, és imprescindible treballar amb cultius purs de gèrmens; mai no han d'ésser utilitzats cultius mixtos, cosa que es fa amb una certa freqüència, sota el pretext d'obtenir els resultats de l'antibiograma amb més rapidesa.

La tècnica consisteix en la preparació de plaques d'un medi de cultiu adequat, el qual, una vegada solidificat, cobrim amb una suspensió molt diluïda del germen a estudiar. Passat un moment, s'elimina la major quantitat possible de l'inòcul, i a continuació col·loquem damunt la superfície del medi els discos de paper impregnats amb els diferents antibiòtics. Portem les plaques així preparades a l'estufa, i les hi mantenim algunes hores, fins que el germen ha proliferat de manera ben aparent. L'antibiòtic contingut en el disc de paper difon en el medi de cultiu, i si el germen és sensible s'observa un halo més o menys ample a l'entorn del disc on no hi ha hagut proliferació bacteriana. Si, en canvi, el germen és resistent, la proliferació arriba arran mateix del disc.

Encara, dins la tècnica del disc hom troba dues variants. De vegades s'utilitza un sol disc amb una quantitat coneguda d'antibiòtic i es mesura el radi (o el diàmetre) de l'halo d'inhibició valorant el grau de sensibilitat del germen segons l'amplitud del vogi que s'ha format a l'entorn del disc. Aquesta tècnica demana un mètode molt rigorós en tots els aspectes: composició del medi, pH, grau d'humitat, temperatura i temps d'incubació, concentració de l'inòcul, etc. Cal saber que no hi ha relació directa entre l'amplària del vogi i el grau de sensibilitat d'un germen; potser l'exemple més demostratiu és el de la colistina, antibiòtic actiu sobre la majoria de bacils gramnegatius, però que pel fet de difondre molt

poc en el medi de cultiu com a conseqüència de les característiques de la seva molècula, determina sempre un vogi molt petit. No hem de valorar doncs, a priori, el grau d'acció d'un antibiòtic segons l'amplitud dels seus halos d'inhibició.

Per totes aquestes raons adduïdes suara resulta molt pràctic d'utilitzar diferents discos de cada antibiòtic —habitualment tres— amb concentracions creixents, i valorar, no pas l'amplària del vogi, sinó la seva presència o absència a l'entorn dels discos. Mitjançant aquesta tècnica podem establir fàcilment els quatre graus següents: germen *resistent*, *lleugerament sensible*, *sensible* i *molt sensible*, bé que per raons pràctiques podem simplificar la cosa i agrupar-los en *resistents* i *sensibles*. Hom considera resistents els gèrmens que proliferen sense formar vogi a l'entorn de cap dels tres discos o bé en formen només a l'entorn del disc amb la màxima concentració de l'antibiòtic. I cal donar-los com a sensibles quan formen vogi a l'entorn de totes tres concentracions o també quan en formen en la concentració màxima i la mitjana.

S'ha discutit si amb el mètode de difusió en medi sòlid és preferible la sembra del germen en la superfície o bé en la massa del medi. Els resultats d'ambdós mètodes són equiparables.

Malgrat el gran valor de l'antibiograma, el seu estudi no resta justificat en tots els casos. Hi ha espècies bacterianes que presenten una sensibilitat tan constant als antibiòtics, que fan innecessari l'estudi de l'antibiograma per a dirigir correctament la terapèutica; pertanyen a aquest grup el neumococ, gonococ, meningococ, salmonelles, bruceles, etc. Altres vegades s'ha descobert que no hi ha correlació entre la sensibilitat «in vitro» i els resultats terapèutics; així, les salmonelles són sensibles «in vitro» a les tetraciclins, les quals, altrament, resulten ineficaces en el tractament de les salmonel·losis, i l'*Hemophilus influenzae* és sensible «in vitro» a la penicil·lina, tot i que aquest antibiòtic no serveix per a tractar les infeccions produïdes per aquest germen.

En altres espècies bacterianes hom troba diferències considerables en la sensibilitat als antibiòtics d'unes soques a unes altres. Així passa amb els estafilococs, enterococs, colibacils, proteus, klebsielles. Enfront de qual·sevol infecció produïda per un d'aquests gèrmens és extraordinàriament important l'estudi de l'antibiograma; en el cas d'infeccions pels referits bacils gramnegatius és més important, fins i tot, que la completa identificació del germen. Hom pot deduir, doncs, que com a norma general caldrà practicar l'antibiograma en tots els casos d'infeccions estafilocòciques i d'infeccions urinàries, en les septicèmies per bacils gramnegatius (excloses les salmonel·losis), i en les ferides i cremades infectades. L'antibiograma resulta molt poc útil referit als gèrmens isolats d'espunts (amb la possible excepció dels processos pulmonars per estafilococs o klebsielles),

de la secreció d'uretritis inespecífiques, d'exsudats faríngeics, etc. I això és així degut al fet que en tots aquests productes resulta força difícil de reconèixer el germen o gèrmens responsables d'entre la munió dels isolats. En tots aquests casos, l'antibiograma ens proporciona una falsa seguretat, amb el doble inconvenient de menar-nos a un tractament que pot no ésser l'etiollògic, i a prescindir d'un estudi més detallat de cada cas, perdent així la possibilitat d'arribar a un diagnòstic etiollògic correcte.

L'antibiograma dels gèrmens isolats de la femta pot ésser d'utilitat (bé que no imprescindible) en les gastroenteritis del lactant i en les enteritis estafilocòciques. Representa un cas especial l'estudi de la sensibilitat «in vitro» del bacil de Koch als tuberculostàtics. La freqüència creixent de soques resistents a un o més dels tuberculostàtics d'ús corrent obliga a l'estudi de la sensibilitat «in vitro» a la mínima sospita de resistència. Però per raons d'ordre pràctic aquestes tècniques no s'han imposat com fóra desitjable.

Es conegut a bastament el problema de la resistència creixent dels estafilococs als diversos antibiòtics que successivament es van introduint en la clínica. Aquest és un tema que de fa temps ens ha interessat prou a l'Hospital d'Infecciosos de Barcelona, i l'hem estudiat bastant minuciosament. Així, podem oferir un quadre resum amb les dades personals referides als principals antibiòtics, relatius a l'evolució en els darrers dotze anys de la sensibilitat dels estafilococs plasmocoagulasa positiva.

QUADRE I  
PERCENTATGE D'ESTAFILOCOCS RESISTENTS

<i>Antibiòtics</i>	<i>Anys:</i>	1955-56	1957	1958-59	1960-61	1962-63	1964-66
Cloramfenicol . . .		7,0	11,0	12,0	21,8	35,1	35,4
Eritromicina . . .		0	0	1,5	1,1	28,4	29,1
Estreptomicina . . .		47,0	32,0	49,0	61,8	67,9	70,1
Penicil·lina G . . .		31,0	36,6	70,0	74,5	90,1	96,1
Novobiocina . . .		—	—	0	2,4	3,8	5,5
Tetraciclina . . .		12,0	15,5	26,0	29,1	44,3	61,4

Creiem que les dades són prou eloqüents per a acabar aquí el nostre comentari. Solament volem afegir a aquesta visió evolutiva del problema l'estat actual de la situació i oferir en un altre quadre les dades corresponents a la sensibilitat als antibiòtics de les 127 soques d'estafilococ plasmocoagulasa positiva isolats per nosaltres de productes patològics, durant els darrers dos anys.

## QUADRE II

 PROPORCIÓ DE SOQUES D'ESTAFILOCOCC PLASMOCOAGULASA  
 POSITIVA SENSIBLES ALS ANTIBIÒTICS (anys 1964-1966)

Acid fusídic . . . . .	100,0 %
Cefalosporines:	
Cefaloridina . . . . .	87,2 %
Cefalotina . . . . .	100,0 %
Cloramfenicol . . . . .	64,6 %
Eritromicina . . . . .	70,9 %
Estreptomicina . . . . .	29,9 %
Kanamicina . . . . .	84,2 %
Lincomicina . . . . .	97,3 %
Neomicina . . . . .	100,0 %
Novobiocina . . . . .	94,5 %
Penicil·lines penicil·linasa-sensibles:	
Penicil·lina G . . . . .	3,9 %
Ampicil·lina . . . . .	3,9 %
Penicil·lines penicil·linasa-resistents:	
Oxacil·lina . . . . .	92,9 %
Cloxacil·lina . . . . .	98,3 %
Dicloxacil·lina . . . . .	100,0 %
Tetraciclines . . . . .	38,6 %

L'estudi de la sensibilitat «in vitro» dels estafilococs a la penicil·lina presenta alguns aspectes tècnics que cal conèixer per tal de no interpretar malament els resultats. Com que la resistència dels estafilococs a la penicil·lina (almenys la resistència que clínicament compta) és deguda a la producció del ferment penicil·linasa, hem de procurar descobrir la possible presència de mutands formadors d'aquest ferment. I això resulta especialment difícil a causa de la marcada heterogeneïtat de la població bacteriana en aquest aspecte. En estudiar la sensibilitat dels estafilococs a la penicil·lina, és d'aconsellar la utilització de dues plaques per a cada soca, l'una amb l'inòcul corrent i l'altra amb inòcul concentrat; en la segona resulta més fàcil de descobrir la presència de mutands formadors de penicil·linasa. Amb els estafilococs sensibles a la penicil·lina, la zona d'inhibició acostuma a ésser més gran, i les primeres colònies pròximes al vogi del disc són molt petites; li confereixen un aspecte suau, per raó de la seva vora tènue i irisada. Amb els estafilococs formadors de penicil·linasa i que, per tant, des del punt de vista clínic han d'ésser considerats sempre com a resistents, gairebé sempre hom pot observar uns halos d'inhibició més petits, amb presència d'algunes colònies resistents al dedins i amb les vores discontinües pel fet d'ésser constituïdes per colònies tan grans com les allunyades del vogi, o més encara. Quan es presenten aquestes característiques, hom es veu obligat a considerar l'estafilococ com a resistent a la penicil·lina.

Com a resum podem dir que és evident que els millors resultats d'un tractament amb antibiòtics els obtindrem partint del coneixement exacte de l'etiologia del procés. Tal com ja hem dit, de vegades n'hi ha prou de conèixer l'etiologia del procés per a poder establir un tractament correcte; com a exemples podem posar el tractament de la febre tifoide amb cloramfenicol, de la sífilis amb penicil·lina, etc. D'altres vegades cal l'estudi de la sensibilitat del germen, per la raó que existeixen considerables diferències d'unes soques a d'altres de la mateixa espècie bacteriana. En aquest cas l'antibiograma ens proporciona unes dades de gran valor que hem de saber interpretar adequadament, i inserir-les en el complex engranatge de la lluita antiinfecciosa. En definitiva, cal tenir un concepte bacteriològic de la infecció, però comprendre-la segons un criteri clínic.

## DISCUSSIÓ

### *Dr. ALSINA i BOFILL*

Diu que per a conèixer la sensibilitat d'un germen a un antibiòtic es poden seguir dos sistemes: un, posar-los directament en contacte —l'antibiograma clàssic—, i l'altre posar el germen en contacte amb el sèrum del malalt que rep un determinat antibiòtic i precisar quina és la concentració mínima que té acció inhibidora davant el cultiu. Pregunta al doctor LLORENS si el segon mètode té avantatges sobre el primer.

### *Dr. LLORENS*

Diu que, tal com havia exposat, en l'antibiograma enfrontem el germen i l'antibiòtic en unes condicions que anomenem «químicament pures», amb l'objecte de conèixer justament l'acció antibacteriana específica de cada antibiòtic per a un determinat microorganisme. Si introduïm qualsevol altre element pertorbador, aquesta acció que nosaltres volem investigar restarà alterada i, en conseqüència, la investigació esdevindrà inútil o, cosa pitjor, desorientadora.

Si afegim sèrum al medi de cultiu caldrà comptar amb el poder bactericida d'aquest sèrum, ultra tenir en compte la quantitat d'antibiòtic que es conjuga amb les proteïnes plasmàtiques i molts altres elements que emmascaren la pura acció antibiòtica. Si realitzar i valorar un antibiograma no és una tasca senzilla, quan apareixen en el medi de cultiu

altres elements pertorbadors, el problema es complica fins a límits inconcebibles.

Sosté que un altre motiu que desaconsella la pràctica d'aquests «antibiogrames modificats» és que cal fer-los en medi líquid, la qual cosa, bé que científicament ofereix més garanties, en la pràctica no pot utilitzar-se com a mètode de rutina, a causa de la seva complexitat. Per tant, cal fer els antibiogrames seguint una tècnica com més senzilla millor, i al moment d'aplicar els resultats a la clínica, tenir molt en compte els altres elements de la lluita antiinfecciosa.