

# **Resistencia de** **Salmonella a Antibióticos**

Alumna: Marcela Morales.

Grupo: 3° BG Química.

Asignatura: Biorgánica, Introducción al  
Análisis Químico y Química General III.

Docentes: Raúl Britos y Anarella Gatto.

Resumen.....	3
Introducción.....	3
Objetivo general.....	3
Pregunta investigable.....	4
Hipótesis.....	4
Marco teórico.....	4
Materiales.....	9
Sustancias/Soluciones.....	10
Técnicas.....	11
Procedimiento.....	11
Recolección y análisis de datos.....	13
Conclusiones.....	20
Bibliografía.....	20
Anexos	
Medidas de seguridad.....	22
Imágenes.....	23

## Resumen:

El proyecto realizado consistió en administrarle antibióticos de diferentes grupos (y por tanto distintos métodos de acción) a cultivos de *Salmonella Enteritidis* para estudiar la resistencia a éstos que la bacteria presenta y así responder a la pregunta, ¿frente a qué grupos de antibióticos presenta mayor resistencia? Los antibióticos utilizados fueron ácido nalidíxico, que pertenece al grupo de quinolonas, penicilina G y amoxicilina que son  $\beta$ -lactámicos, estreptomina y eritromicina (macrólidos), tetraciclina, trimeto-sulfametoxazol (sulfamida), cefalotina (cefalosporina) y cloranfenicol. Mediante una yodometría se estudió a la amoxicilina, respondiendo a la pregunta ¿afecta la temperatura mayor a 30 °C a la concentración de amoxicilina? Para estas interrogantes, se manejan las siguientes hipótesis: los antibióticos que presentarán mayor resistencia son la penicilina y la amoxicilina, mientras que la que mostrará más sensibilidad será el ácido nalidíxico; en cuanto a la concentración de amoxicilina, ésta disminuirá a mayores temperaturas.

Los resultados de los cultivos demuestran que, efectivamente la penicilina G (11,67 $\pm$ 0,45) mm y la eritromicina (11,83 $\pm$ 0,45) mm presentaron una mayor resistencia (o sea, su anillo es más pequeño), la estreptomina (16,00 $\pm$ 0,41) mm resultó en anillos intermedios, y los principios activos restantes (ácido nalidíxico (21,83 $\pm$ 0,68) mm, tetraciclina (22,67 $\pm$ 0,45) mm, trimeto-sulfametoxazol (26,00 $\pm$ 0,68) mm, cefalotina (24,33 $\pm$ 0,36) mm y cloranfenicol (24,83 $\pm$ 0,73) mm resultaron ser sensibles para el microorganismo estudiado. En cuanto a la amoxicilina, dio un promedio de 95,66 %, por lo que un 4,44 % de principio activo se vio afectado por el aumento de temperatura.

## Introducción:

Se eligió el tema, ya que en las últimas décadas, por consumir antibióticos sin indicación y por no finalizar el tratamiento de los mismos, se ha demostrado una resistencia a ciertos principios activos por parte de diferentes bacterias. La *Salmonella Enteritidis* puede encontrarse en alimentos como el huevo, el pollo y la carne roja, alimentos muy consumidos por el ser humano en todas las etapas de su vida.

## Objetivos:

- Estudiar la resistencia que presenta la *Salmonella Enteritidis* frente a determinados antibióticos, los cuales son el ácido nalidíxico, la estreptomina, la penicilina G, la tetraciclina, el trimeto-sulfametoxazol, el cloranfenicol, la eritromicina, la cefalotina, y la amoxicilina.
- Determinar si afecta el calor a la concentración de principio activo de la amoxicilina.

## Pregunta investigable:

¿Frente a qué grupos de antibióticos ( $\beta$ -lactámicos, macrólidos, quinolonas, tetraciclina, sulfamidas, cefalosporinas y cloranfenicol) la *Salmonella Enteritidis* presenta mayor resistencia antibiótica? ¿Afecta la temperatura mayor a 30 °C a la concentración de amoxicilina?

## Hipótesis:

Como usualmente los antibióticos de uso más frecuentes son los  $\beta$ -lactámicos, la *Salmonella Enteritidis* presentará una resistencia mayor que al ácido nalidíxico, el cual es un antibiótico mucho menos utilizado.

La concentración de amoxicilina se verá afectada por el aumento de temperatura, ya que puede descomponerse a más de 30 °C.

## Marco teórico:

El uso creciente de antibióticos para la salud humana y animal, así como para la producción ganadera, ha sido acompañado por el desarrollo de mecanismos de evasión por parte de microorganismos anteriormente sensibles. De este modo, desde hace décadas hasta la actualidad, no han cesado de crecer las descripciones de microorganismos que han adquirido alguna forma de resistencia contra uno o más antibióticos. (Balsalobre y Hernández-Godoy. 2004).

Un antimicrobiano es una molécula natural (producida por un organismo vivo, hongo o bacteria), sintética o semisintética, capaz de inducir la muerte o la detención del crecimiento de bacterias, virus u hongos. Los antibióticos constituyen un grupo heterogéneo de sustancias con diferente comportamiento farmacocinético y farmacodinámico, ejercen una acción específica sobre alguna estructura o función del microorganismo, tienen elevada potencia biológica actuando a bajas concentraciones y la toxicidad es selectiva, con una mínima toxicidad para las células de nuestro organismo. El objetivo de la antibioticoterapia es controlar y disminuir el número de microorganismos viables, de modo que el sistema

inmunológico sea capaz de eliminar de totalidad de los mismos. De acuerdo a la interacción germen-antibiótico, estos fármacos pueden dividirse en: a) bactericidas: su acción es letal, llevando a la lisis

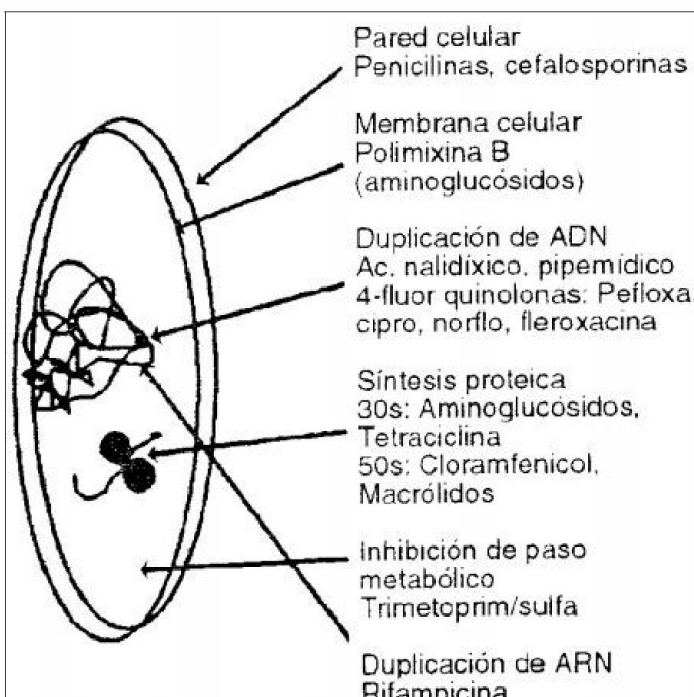


Ilustración 1: Sitio de acción de los antibióticos.

bacteriana; b) bacteriostáticos: a las concentraciones que alcanzan en el suero o tejidos impiden el desarrollo y multiplicación bacteriana pero sin llegar a destruir las células. De hecho, cuando se retira el antibiótico, el microorganismo se puede multiplicar de nuevo. (Seija y Vignoli, 2006).

El mecanismo de acción es por lo que un antibiótico es capaz de inhibir el crecimiento o destruir una célula bacteriana. Se dividen en inhibidores de la formación de la pared bacteriana, inhibidores de la síntesis proteica, inhibidores de la duplicación del ADN, inhibidores de la membrana citoplasmática e inhibidores de vías metabólicas. (Seija y Vignoli, 2006)

1. Quinolonas: Este grupo de compuestos incluye un número de agentes antimicrobianos íntimamente relacionados que funcionan primariamente inhibiendo la actividad de la ADN-girasa de muchas bacterias, enzima que cataliza el súper enrollamiento del ADN cromosómico, que asegura una adecuada división celular. Se clasifican en generaciones.
2. Tetraciclinas: Las tetraciclinas inhiben la síntesis de proteínas a nivel ribosomal, de ciertas bacterias gram positivas y negativas. *Ilustración 1. Sitio de acción de los antimicrobianos*
3. Sulfonamidas y trimetoprima: Este grupo de compuestos, abarcan varios agentes quimioterapéuticos con similar espectro de actividad, los cuales inhiben el metabolismo del folato. El sulfametoxazol es usualmente ensayado en combinación con trimetoprima, estos producen una inhibición secuencial en dos pasos del metabolismo del folato de algunas bacterias gram negativas y positivas.
4. Macrólidos: Son antibióticos estructuralmente relacionados que inhiben la síntesis proteica a nivel ribosomal.
5. El cloranfenicol, como la clindamicina y la rifampicina son antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas. No presentan otros compuestos relacionados.
6. Betalactámicos: Son un grupo de antibióticos de origen natural o semisintético que se caracterizan por poseer en su estructura un anillo betalactámico. Actúan inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared bacteriana. En esta familia se encuentran las penicilinas naturales (G y V), aminopenicilinas (ampicilina, amoxicilina), carboxipenicilinas y ureidopenicilinas. (Seija y Vignoli, 2006).
  - a. Penicilinas: Su espectro está dirigido a las bacterias no productoras de  $\beta$ -lactamasas: gram positivas, algunos fastidiosos y gram negativos. Las acilamino-penicilinas (ampicilina y amoxicilina) poseen actividad contra muchas especies gram negativas, incluyendo miembros de la familiar *enterobacteriaceae* no productos de  $\beta$ -lactamasas. Se combina un  $\beta$ -lactámico con inhibidores de  $\beta$ -lactamasas, esto incluye una penicilina y un segundo agente que posee una actividad antibacteriana mínima pero funciona como inhibidor de algunas  $\beta$ -lactamasas. (Malbrán. 2001).

- i. Combinación de  $\beta$ -lactámico/Inhibidor de  $\beta$ -lactamasas: Esta combinación antimicrobiana incluye una penicilina y un segundo agente que posee una actividad antibacteriana mínima, pero funciona como inhibidor de algunas  $\beta$ -lactamasas. (Malbrán. 2001).
- b. Cefalosporinas: Poseen un espectro de actividad levemente diferente contra bacterias gram negativas y positivas. Estos agentes son frecuentemente referidos como de “primera”, “segunda” o “tercera” generación. (Seija, Vignoli, 2006).
- c. Carbapenemes.
- d. Monobactames.

La Amoxicilina es un antibiótico semisintético derivado de la penicilina. Se trata de un amino penicilina de amplio espectro para administración oral. La acción bactericida que ejerce, es el resultado de la inhibición de la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana, uniéndose a unas proteínas específicas llamadas PBPs (Penicillin-Binding Proteins) localizadas en la pared celular. Al impedir que la pared celular se construya correctamente, la Amoxicilina ocasiona, en último término, la lisis de la bacteria y su muerte. (Maradiaga, Montoya y Mora. 2011).

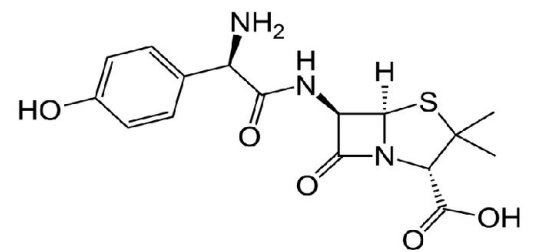


Ilustración 2. Estructura de la amoxicilina

La resistencia antibiótica puede presentarse en la bacteria de diferentes maneras, como el mecanismo de resistencia individual, de resistencia poblacional y de resistencia poblacional en microorganismos que producen una infección. La resistencia individual se refiere a la interacción molecular entre la célula bacteriana con todo su arsenal genético y metabólico, y un antibiótico determinado. La resistencia poblacional representa el comportamiento *in vitro* de un inóculo bacteriano preestablecido (una población bacteriana) enfrentado a determinada concentración de un antibiótico, por un período de tiempo determinado. En el caso de la resistencia poblacional en microorganismos que están produciendo una infección, se habla de una eficacia terapéutica y juegan otros factores, como el sitio de infección, las propiedades farmacocinéticas del antibiótico (donde se encuentran incluidos la dosis y el fraccionamiento diario del mismo), el estado inmunológico del paciente, el tamaño del inóculo bacteriano, etc. (Seija y Vignoli, 2006)

En este trabajo, se investigó la sensibilidad a 9 antibióticos de cepas de *Salmonella entérica* aislada de pollo, utilizando la técnica de difusión en placa. Ingerir ésta bacteria ocasiona enfermedades con carácter oportunista si se dan las circunstancias oportunas, y el hecho de que pueda presentar resistencias a antibióticos podría tener implicaciones para la salud humana y animal. Por una parte, podría dificultar la terapia antibiótica en aquellos casos en que pudiera ser necesaria, pero además podría contribuir de forma

importante a la difusión de resistencias dada la capacidad de ambos gérmenes para intercambiar material genético con otros gérmenes habituales del intestino humano y animal. (Balsalobre, Hernández-Godoy. 2004).

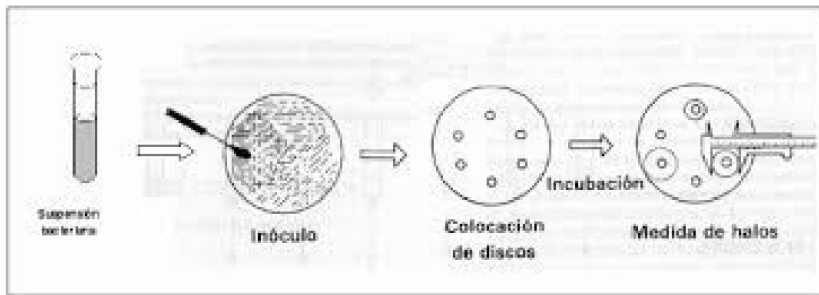


Ilustración 3. Esquema de técnica por difusión de agar.

El método de disco difusión es un método cualitativo, que se caracteriza por ser fácilmente estandarizable y que está indicado para microorganismos no exigentes de crecimiento rápido. Partiendo de una muestra clínica siempre se debe realizar un cultivo puro para poder comenzar el estudio de la sensibilidad

antibiótica. Para esto se utiliza la técnica de aislamiento en placas que contengan un medio adecuado para la cepa en estudio (al cual además se le deben otorgar las condiciones atmosféricas específicas de esa cepa). El método de disco difusión consiste en depositar en la superficie de una placa de agar MH previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel de filtro impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto como el disco impregnado en antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico se difunde por el agar, formándose un gradiente de concentración. Transcurridas de 18 a 24 horas de incubación, los discos pueden o no aparecer rodeados por una zona de inhibición de crecimiento bacteriano. (Taroco, Seija y Vignoli, 2006).

Una manera de determinar la concentración de bacterias en un cultivo es mediante una espectrofotometría y luego, mediante la escala McFarland, la cual, dependiendo del número de bacterias, es un número.

La espectrofotometría UV-visible es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración. Para hacer este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma. El fundamento de la espectroscopía se debe a la capacidad de las moléculas para absorber radiaciones, entre ellas las radiaciones dentro del espectro UV visible. Las longitudes de onda de las radiaciones que una molécula puede absorber y la eficiencia con la que se absorben dependen de la estructura atómica y de las condiciones del medio (pH, temperatura, fuerza iónica, constante dieléctrica).

Cuando un rayo de luz de una determinada longitud de onda de intensidad  $I_0$  incide perpendicularmente sobre una solución de un compuesto químico que absorbe luz o cromóforo, el compuesto absorberá una parte de la radiación incidente ( $I_a$ ) y dejará pasar el resto ( $I_t$ ), de forma que se cumple:

$$I_o = I_a + I_t$$

La transmitancia ( $T$ ) de una sustancia en solución es la relación entre la cantidad de luz transmitida que llega al detector una vez que ha atravesado la muestra,  $I_t$ , y la cantidad de luz que incidió sobre ella,  $I_o$ , y se representa normalmente en tanto por ciento:  $\%T = I_t/I_o \times 100$ . La transmitancia nos da una medida física de la relación de intensidad incidente y transmitida al pasar por la muestra. (Rivera, Reyes, Cejudo, Jorrín, Peinado, Meléndez-Valdez, Fiñaña. S/F)

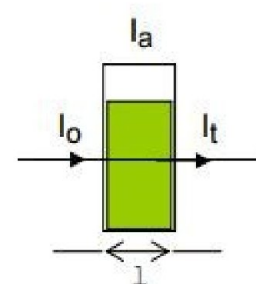


Ilustración 4.  
Esquema de cromóforo

La absorbancia ( $A$ ) es un concepto más relacionado con la muestra puesto que nos indica la cantidad de luz absorbida por la misma, y se define como el logaritmo de  $1/T$ , en consecuencia:  $A = \log 1/T = -\log T = -\log I_t/I_o$ . Cuando la intensidad incidente y transmitida son iguales ( $I_o = I_t$ ), la transmitancia es del 100% e indica que la muestra no absorbe a una determinada longitud de onda, y entonces  $A$  vale  $\log 1 = 0$ . (Rivera, Reyes, Cejudo, Jorrín, Peinado, Meléndez-Valdez, Fiñaña. S/F)

La cantidad de luz dispersada es proporcional al cociente entre el tamaño de la partícula y la longitud de onda incidente; la sensibilidad de la técnica aumenta a longitudes de onda ( $\lambda$ ) cortas. Éste método se utiliza para determinar el número de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) usando una tabla ya estipulada (ver Anexo 1).

En el análisis volumétrico, la determinación cuantitativa de sustancias químicas se efectúa por medio de la medición exacta de los volúmenes de las disoluciones que entran en reacción, siempre que también se conozca exactamente, la concentración de una de ellas. El procedimiento general y esencial empleado en los métodos volumétricos de análisis se denomina —valoración, y puede definirse como —el procedimiento operativo consistente en hacer reaccionar dos disoluciones: una en la cual se encuentra la sustancia que se desea cuantificar, convenientemente disuelta en un solvente adecuado, y otra de la cual se conoce exactamente su concentración. A esta última solución se le denomina —solución patrón valorante (también, solución valorante) y a la de concentración desconocida —solución a valorar o —solución valorada. Una de las dos, generalmente la valorante, deberá colocarse en una bureta para ir añadiendo volúmenes sucesivos de la misma hasta finalizar la valoración. El volumen exacto de la otra solución debe ser previamente fijado y medido exactamente con una pipeta. La valoración culmina cuando se alcanza el punto de equivalencia, es decir cuando la cantidad de sustancia de equivalentes de la especie que se valora ha reaccionado completamente con una idéntica cantidad de sustancia de equivalentes del patrón (o agente) valorante adicionado. (Maradiaga, Montoya, Mora. 2011).

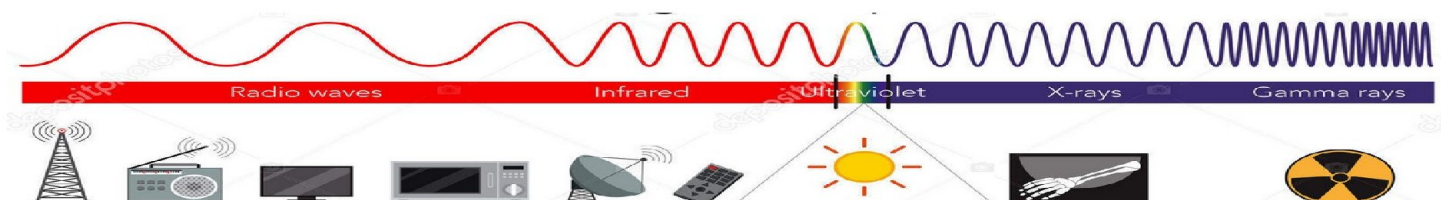
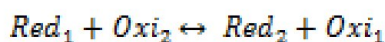


Ilustración 5. Espectro electromagnético.



El punto de equivalencia de la valoración es un concepto teórico; en la práctica, sólo se puede apreciar una aproximación a este punto a la que se denomina punto final de la valoración. La detección del punto final de la valoración se realiza con ayuda de los indicadores, nombre con el cual se identifican aquellas sustancias que provocan un cambio físico visible (variación de color, aparición de un precipitado u otras señales perceptibles al ojo humano) en la solución que se valora. Este cambio físico apreciable es el que indica que debe detenerse la adición de la solución patrón valorante, es decir, que debe darse por concluida la valoración. (Maradiaga, Montoya, Mora. 2011).

Los métodos de análisis volumétricos se pueden clasificar, atendiendo al tipo de reacción química que tiene lugar entre el patrón valorante y la sustancia presente en la solución a valorar. Una volumetría de Oxidación-Reducción se basa en reacciones donde ocurre una transferencia de electrones de una especie a otra, debido a que la oxidación de una especie va siempre acompañada de la reducción de la otra especie. La ecuación general puede ser representada de la siguiente forma:



Los métodos volumétricos basados en este principio encuentran también una notable aplicación en el análisis de aquellos compuestos de interés farmacéutico capaces de oxidarse o reducirse. (Maradiaga, Montoya, Mora. 2011)

Atendiendo al agente valorante que se emplea, la volumetría redox puede considerarse subdividida, fundamentalmente, de la siguiente forma: permanganometría, dicromatometría, cerimetría, yodometría, yodimetría, bromatometría y yodatometría, entre otros tipos. (Maradiaga, Montoya, Mora. 2011)

Los oxidantes fuertes oxidan  $I^-$  a  $I_3^-$  en medio ácido (el último es también llamado ión complejo triyoduro y se obtiene por la mezcla de yodo  $I_2$  con exceso de  $I^-$ , lo que permite una mejor solubilización en medio acuoso); dado que el establecimiento de la cantidad de muestra demanda la titulación del  $I_3^-$  formado, este procedimiento se denomina método indirecto o Iodométrico. Uno de las aplicaciones de éste método es la apertura por hidrólisis de funciones cíclicas presentes en la molécula de un fármaco, permite la reacción con solución de  $I_2$  y la posterior valoración del exceso de éste con solución estandarizada de Tiosulfato. Esto se aplica con Antibióticos  $\beta$ -Lactámicos. (Maradiaga, Montoya, Mora. 2011)

## **Materiales:**

- Hisopos estériles.
- Pinzas estériles o dispensador.
- Gradillas.
- Descartador.

- Anza bacteriológica.
- Estufa de 35°C.
- Espectrofotómetro.
- Tubos de ensayo.
- Placas de agar MH.
- Placas de Petri.
- Pipetas aforadas 1,0 mL
- Tubos eppendorf.
- Autoclave.
- Balanza analítica.
- Agitador magnético.
- Plancha.
- Papel de filtro.
- Embudo.
- Varilla de vidrio.
- Vasos de bohemia.
- Matraces Erlenmeyer.
- Pipetas graduadas (25, 5, 2) mL.
- Pipetas aforadas (50,00±0,05) , (5,00±0,01) mL., (10,00±0,04) mL, (2,000±0,006).
- Mortero.
- Bureta (10,000±0,005) mL.
- Soporte.
- Pinza de Mohr.

### **Sustancias/Soluciones:**

- Agar Mueller-Hinton.
- Cloruro de bario.
- Buffer.
- Ácido nalidíxico.
- Estreptomina.
- Penicilina (G).
- Tetraciclina.
- Trimetopina-Sulfometoxazol.
- Cloranfenicol.
- Eritromicina.
- Cefalotina.

- Amoxicilina con ácido clavulánico.
- Tiosulfato de sodio (sólido).
- Solución de yodo 0,1 N.
- Ácido clorhídrico 10 N.
- Almidón soluble.
- Fosfato monobásico sódico (sólido).
- Fosfato dibásico sódico (sólido).
- Amoxidal 500 mg (comp.)
- Hidróxido de sodio (sólido).

### **Técnicas:**

- Test de difusión por disco.
- Espectrofotometría.
- Yodometría.

### **Procedimiento:**

#### **1. Preparación de placas Muller-Hinton:**

- a. Se preparó el agar M. Hinton a partir de la base deshidratada de acuerdo a las recomendaciones del fabricante.
- b. Inmediatamente se esterilizó, se enfrió a baño de agua hasta 45-50 °C.
- c. Se colocó el medio en las placas de Petri, hasta un nivel aproximado de 4 mm.
- d. Las placas que no se usan en el día pueden mantenerse en refrigerador (2-8 °C).
- e. Con ansas se quitaron las bacterias congeladas y se sembraron por estrías en placas estériles con medio TSA (Tryptic Soy Agar) Se incubaron las placas a 37 °C por aproximadamente 18 h.
- f. Se autoclavaron los tubos con TSB (Tryptic Soy Broth) para esterilizarlos para el próximo uso.
  - i. Se esterilizó en autoclave: 121°C x 15 minutos.

#### **2. Preparación de tubos con TSB:**

- a. A las placas con estrías (colonias) se les quitaron aprox. 5 colonias con ansas y se colocaron en tubos con TSB.
- b. Se incubó en estufa con agitación a 35°C.
- c. Luego se secaron las placas con Muller-Hinton a 35°C.

#### **3. Turbidez estándar para la preparación del inóculo:**

- a. Se colocó una muestra de caldo TSB en una cubeta de espectrofotómetro.
- b. La absorbancia a 625 nm debió tener valores entre 0,08 y 0,10 para equivalencia a 0,5 en la escala Mc Farland ( $1,5 \times 10^8$  células).
- c. En caso de dar valores mayores, se diluyó el caldo con buffer.

#### 4. Colocación de antibióticos:

- a. Se ensopó el hisopo con el caldo TSB (Algunos diluidos con buffer).
- b. Se pasó el hisopo por la placa de Petri con Agar (3 Agar por cada caldo).
- c. Se agregaron los discos de antibióticos (6 por placas)
- d. Se esterilizó la pinza de los antibióticos con fuego antes de tomar un nuevo disco.
- e. Se llevó a estufar a 35 °C por 18 h aprox.

#### 5. Determinación de resistencia antibiótica:

- a. Se midió el diámetro del anillo formado alrededor del disco del antibiótico.
- b. En caso de que un círculo crezca sobre otro, se midió el radio y se multiplicó por 2.

#### 6. Yodometría:

- a. Preparación de solución de tiosulfato de sodio 0,01 N:
  - i. En un matraz Erlenmeyer se tomaron aprox. 0,79055g de tiosulfato de sodio.
  - ii. Se diluyó y trasvasó a un matraz aforado de 1000 mL.
  - iii. Se completó hasta el aforo, se limpió y enrasó.
- b. Preparación de solución de yodo 0,01N:
  - i. Se tomó con pipeta aforada 50 mL de solución de yodo 0,1 N y se diluyó en un matraz aforado de 500 mL.
- c. Preparación de solución de ácido clorhídrico 1,2N:
  - i. Se tomó con pipeta graduada 12 mL de ácido clorhídrico 10 N y se diluyó en un matraz Erlenmeyer hasta los 100 mL de agua.
- d. Preparación de solución buffer pH 6:
  - i. En un matraz Erlenmeyer se colocó 0,2 g de fosfato dibásico sódico y 0,8 g de fosfato monobásico sódico.
  - ii. Se diluyó en 100 mL de agua.
- e. Preparación de almidón indicador:
  - i. Se hizo una pasta colocando aproximadamente 0,4 g de almidón soluble en un vidrio reloj con un poco de agua.
  - ii. Se calentó en un vaso de bohemia 200 mL de agua hasta ebullición.

- iii. Se le adicionó la pasta al agua hirviendo lentamente y se continuó calentando suavemente durante 10 minutos, agitando de forma alternada.
  - iv. Se enfrió y transfirió a un recipiente bien tapado.
- f. Preparación del estándar:**
- i. Se pesaron 4 cápsulas de amoxicilina 500 mg individualmente.
  - ii. Se determinó el peso promedio del contenido de las cápsulas.
  - iii. Se tomó un peso equivalente de 100 mg de principio activo y se transfirió a un matraz Erlenmeyer.
  - iv. Se disolvió en solvente cantidad suficiente (Büffer pH=6).
  - v. Se agitó con agitador magnético durante 15 minutos.
  - vi. Finalmente se filtró la solución.
- g. Preparación de la muestra.**
- i. Se tomó un peso equivalente de 100 mg de principio activo y se transfirió a una cápsula, luego se calentó a 100 °C aprox.
  - ii. Se disolvió en solvente cantidad suficiente (Büffer pH=6).
  - iii. Se agitó con agitador magnético durante 15 minutos.
  - iv. Luego se filtró la solución.
- h. Valoración:**
- i. Se tomó de cada una de las soluciones (estándar y muestra) alícuotas de 2 mL y se transfirieron a un Erlenmeyer de 250 mL.
  - ii. Se adicionaron 2 mL de NaOH 1 N, se tapó y se dejó en reposo durante 15 minutos.
  - iii. Se adicionaron 2 mL de HCl 1,2 N.
  - iv. Se adicionaron 15 mL de Yodo al 0,01 N y se dejó en reposo debidamente tapado y protegido de la luz por 15 minutos.
  - v. Luego, se valoró el exceso de yodo con tiosulfato de sodio al 0,01 N y se adicionó solución indicadora de almidón para la detección del punto final.

## **Recolección y análisis de datos:**

### Método de difusión de agar:

Pasado el tiempo estipulado, se midieron las circunferencias de sensibilidad a las bacterias formadas por los antibióticos y se obtuvieron las siguientes tablas:

1. RV1:

Tabla 1: Crecimiento en mm de cada antibiótico utilizado:

Antibiótico		Diámetro (mm)
NA	Ácido Nalidíxico	23
S	Estreptomicina	15
P	Penicilina (G)	12
Te	Tetraciclina	23
SXT	Trimetopina-Sulfometoxazol	25
C	Cloranfenicol	21
E	Eritromicina	13
KF	Cefalotina	24
AML	Amoxicilina + Ácido clavulánico	17

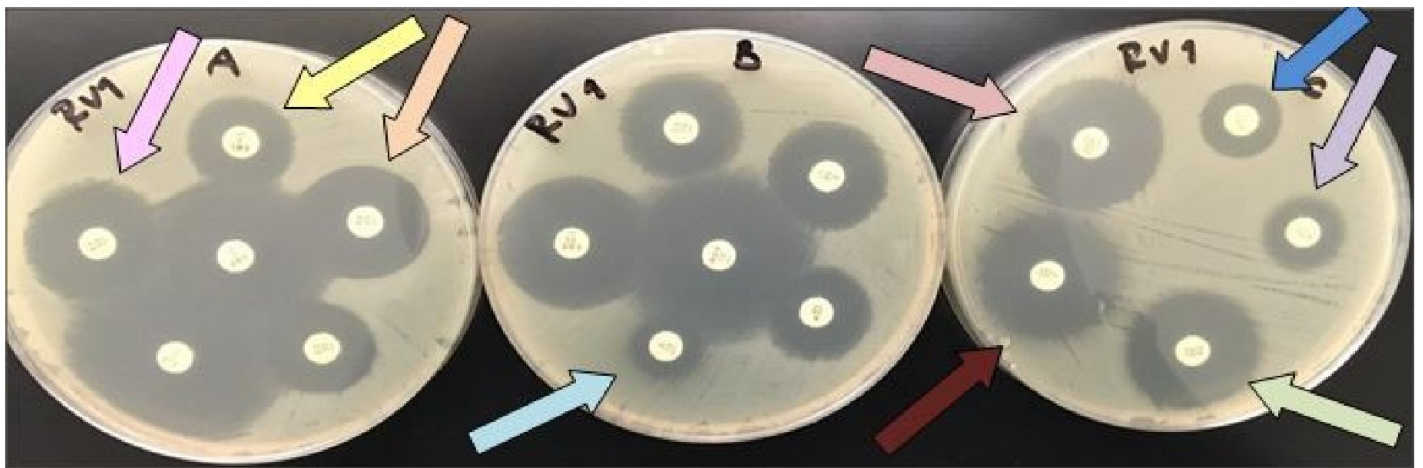


Ilustración 6. Crecimientos en los discos RV1 A, RV1 B y RV1 C y los anillos de resistencias.

- Ácido nalidíxico.
- Eritromicina.
- Cloranfenicol.
- Amoxicilina c/ácido clavulánico.
- Trimetopina-Sulfametoxazol
- Cefalotina.
- Estreptomicina
- Penicilina G.
- Tetraciclina.

2. RV6:

Tabla 2: Crecimiento en mm de cada antibiótico utilizado:

Antibiótico		Diámetro (mm)
NA	Ácido Nalidíxico	22
S	Estreptomicina	15

P	Penicilina (G)	12
Te	Tetraciclina	22
SXT	Trimetopina-Sulfometoxazol	25
C	Cloranfenicol	26
E	Eritromicina	12
KF	Cefalotina	24
AML	Amoxicilina + Ácido clavulánico	17

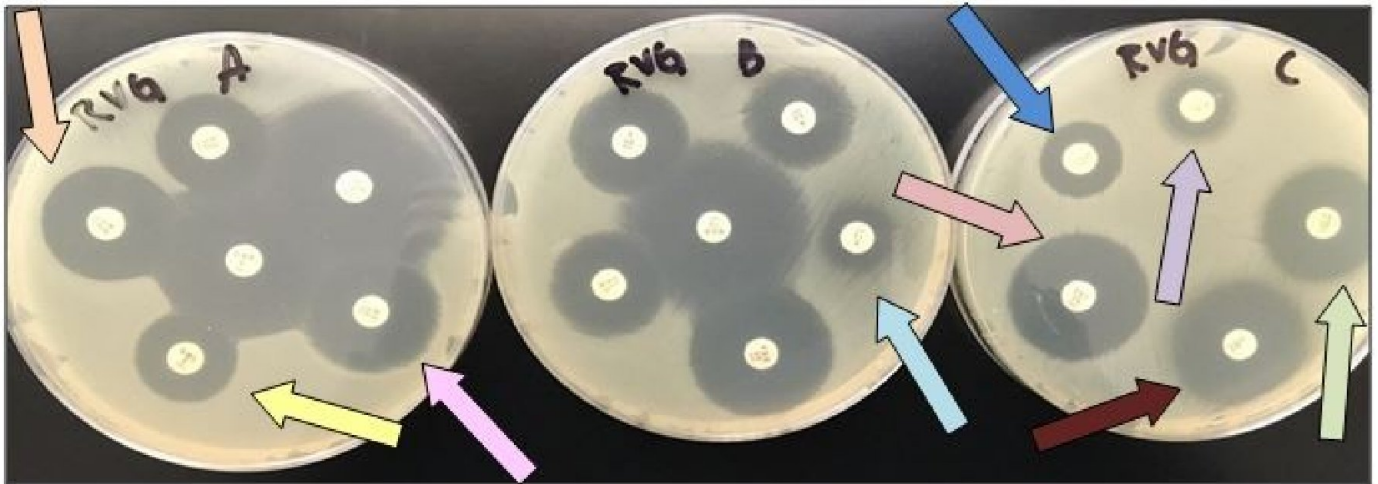


Ilustración 7. Crecimientos en los discos RV6 A, RV6 B y RV6 C y los anillos de resistencias.

- Ácido nalidíxico.
- Eritromicina.
- Cloranfenicol.
- Amoxicilina c/ácido clavulánico.
- Trimetopina-Sulfametoxazol
- Cefalotina.
- Estreptomina
- Penicilina G.
- Tetraciclina.

### 3. RV7:

Tabla 3: Crecimiento en mm de cada antibiótico utilizado:

	Antibiótico	Diámetro (mm)
NA	Ácido Nalidíxico	22
S	Estreptomina	22
P	Penicilina (G)	11
Te	Tetraciclina	23
SXT	Trimetopina-Sulfometoxazol	26
C	Cloranfenicol	24
E	Eritromicina	12

KF	Cefalotina	24
AML	Amoxicilina + Ácido clavulánico	17

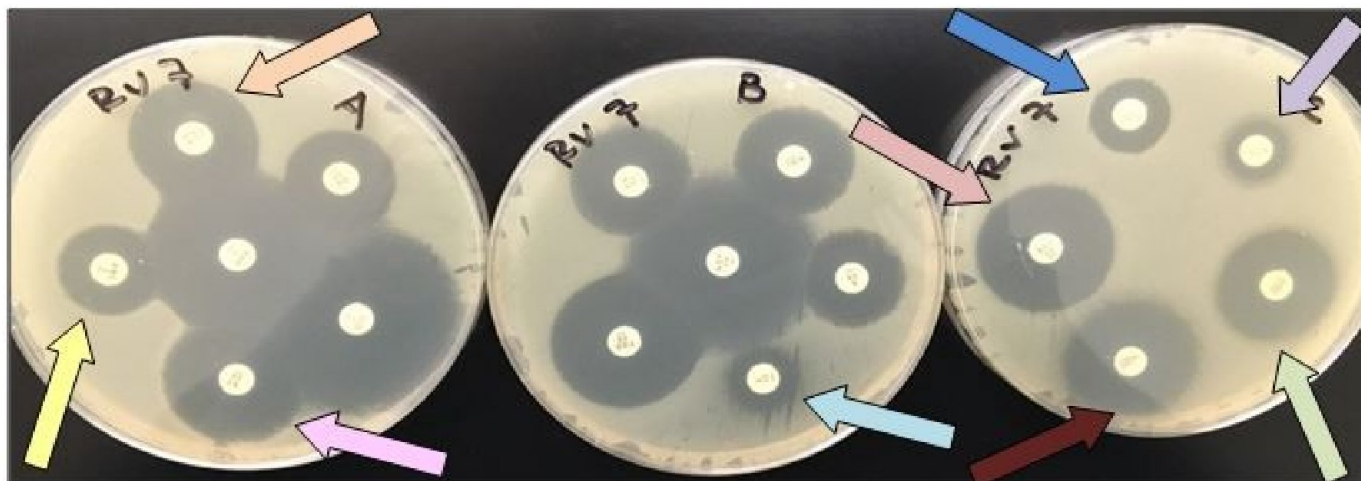


Ilustración 8. Crecimientos en los discos RV7 A, RV7 B y RV7 C y los anillos de resistencias.

- Ácido nalidíxico.
- Eritromicina.
- Cloranfenicol.
- Amoxicilina c/ácido clavulánico.
- Trimetopina-Sulfametoxazol
- Cefalotina.
- Estreptomina
- Penicilina G.
- Tetraciclina.

#### 4. RV8:

Tabla 4: Crecimiento en mm de cada antibiótico utilizado:

	Antibiótico	Diámetro (mm)
NA	Ácido Nalidíxico	21
S	Estreptomina	14
P	Penicilina (G)	12
Te	Tetraciclina	22
SXT	Trimetopina-Sulfometoxazol	26
C	Cloranfenicol	26
E	Eritromicina	12
KF	Cefalotina	24
AML	Amoxicilina + Ácido clavulánico	17



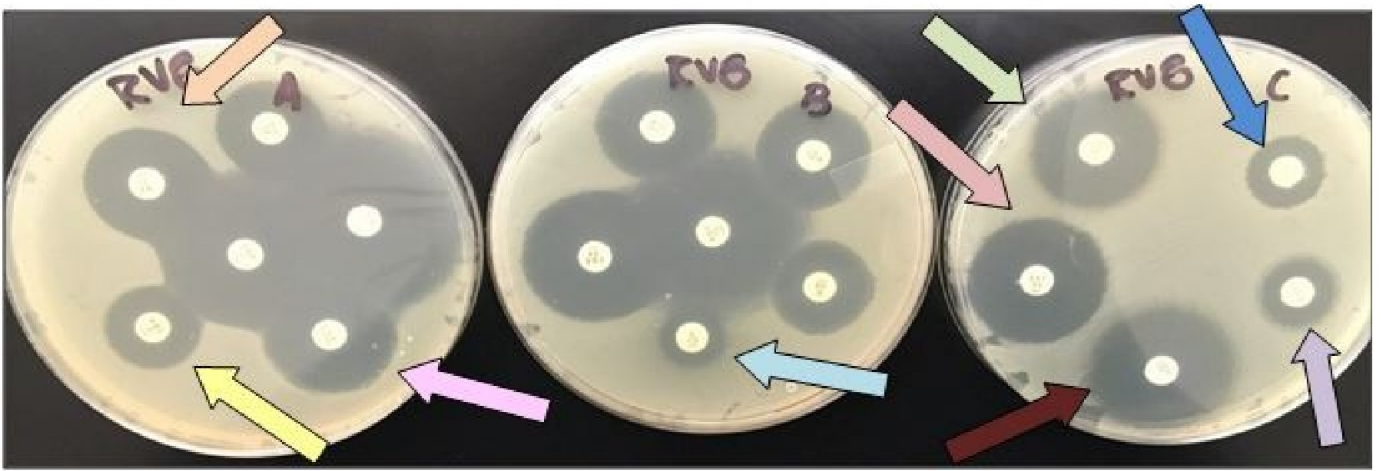


Ilustración 9. Crecimientos en los discos RV8 A, RV8 B y RV8 C y los anillos de resistencias.

- |                                    |                 |                              |
|------------------------------------|-----------------|------------------------------|
| Ácido nalidíxico.                  | ● Eritromicina. | ● Cloranfenicol.             |
| ● Amoxicilina c/ácido clavulánico. |                 | ● Trimetopina-Sulfametoxazol |
| ● Cefalotina.                      |                 | ● Estreptomicina             |
|                                    |                 | ● Penicilina G.              |
|                                    |                 | ● Tetraciclina.              |

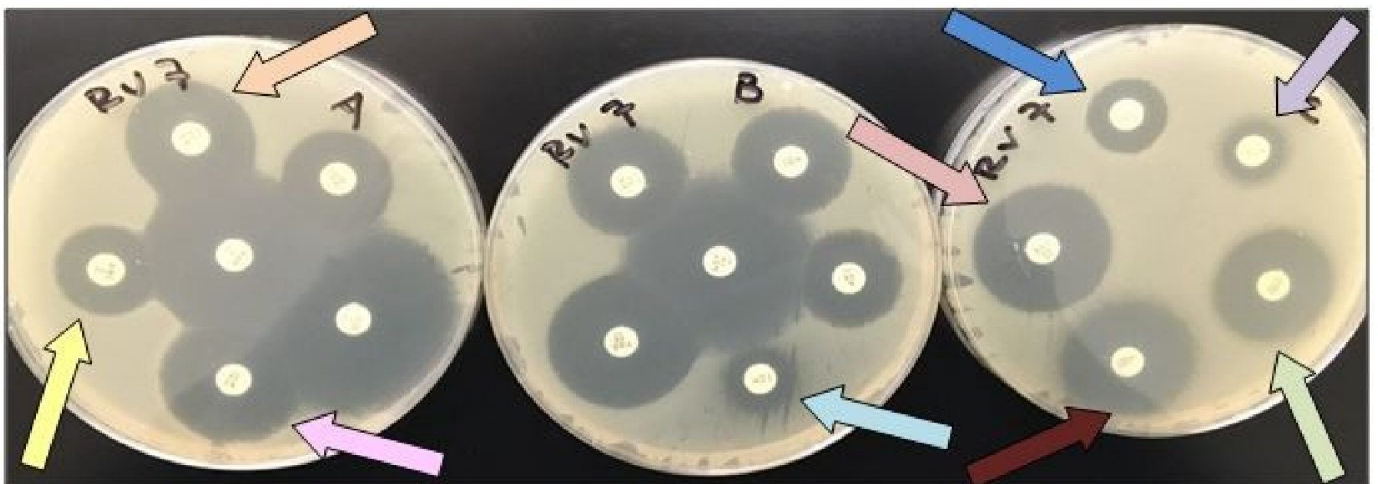


Ilustración 10. Crecimientos en los discos RV7 A, RV7 B y RV7 C y los anillos de resistencias.

- |                                    |                 |                              |
|------------------------------------|-----------------|------------------------------|
| ● Ácido nalidíxico.                | ● Eritromicina. | ● Cloranfenicol.             |
| ● Amoxicilina c/ácido clavulánico. |                 | ● Trimetopina-Sulfametoxazol |
| ● Cefalotina.                      |                 | ● Estreptomicina             |
|                                    |                 | ● Penicilina G.              |

● Tetraciclina.

5. RV9

Tabla 5: Crecimiento en mm de cada antibiótico utilizado:

Antibiótico		Diámetro (mm)
NA	Ácido Nalidíxico	21
S	Estreptomicina	15
P	Penicilina (G)	11
Te	Tetraciclina	23
SXT	Trimetopina-Sulfometoxazol	27
C	Cloranfenicol	26
E	Eritromicina	11
KF	Cefalotina	25
AML	Amoxicilina + Ácido clavulánico	18

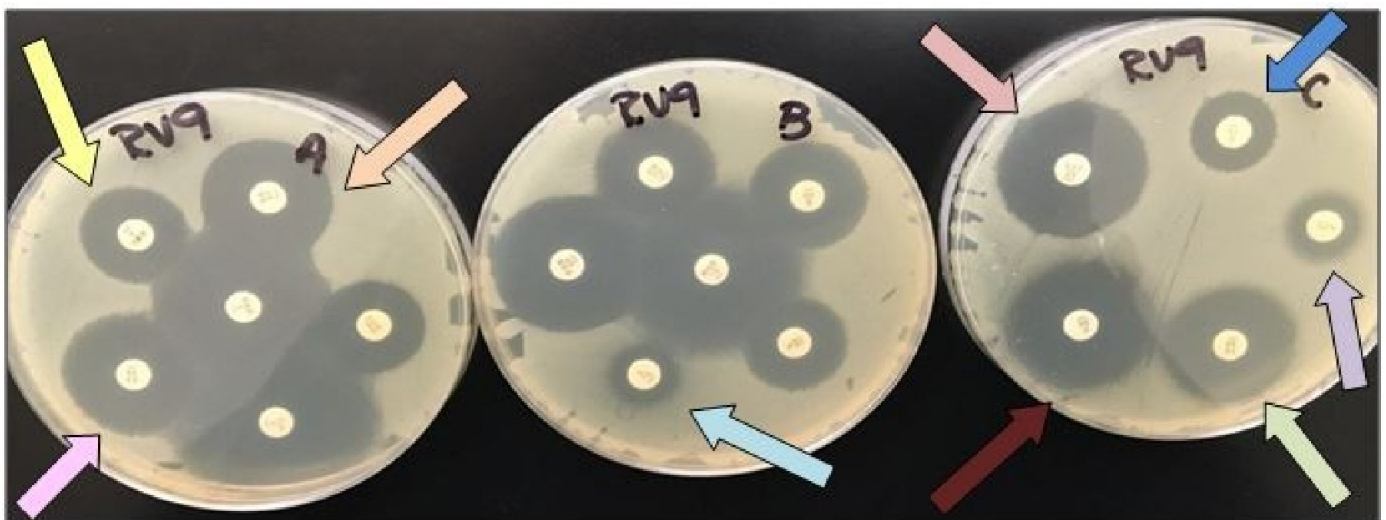


Ilustración 11. Crecimientos en los discos RV9 A, RV9 B y RV9 C y los anillos de resistencias.

- Ácido nalidíxico.
- Eritromicina.
- Cloranfenicol.
- Amoxicilina c/ácido clavulánico.
- Trimetopina-Sulfametoxazol
- Cefalotina.
- Estreptomicina
- Penicilina G.
- Tetraciclina.

6. MK3:

Tabla 6: Crecimiento en mm de cada antibiótico utilizado:

Antibiótico	Diámetro (mm)
-------------	---------------

NA	Ácido Nalidíxico	22
S	Estreptomina	15
P	Penicilina (G)	12
Te	Tetraciclina	23
SXT	Trimetopina-Sulfometoxazol	27
C	Cloranfenicol	26
E	Eritromicina	11
KF	Cefalotina	25
AML	Amoxicilina + Ácido clavulánico	17

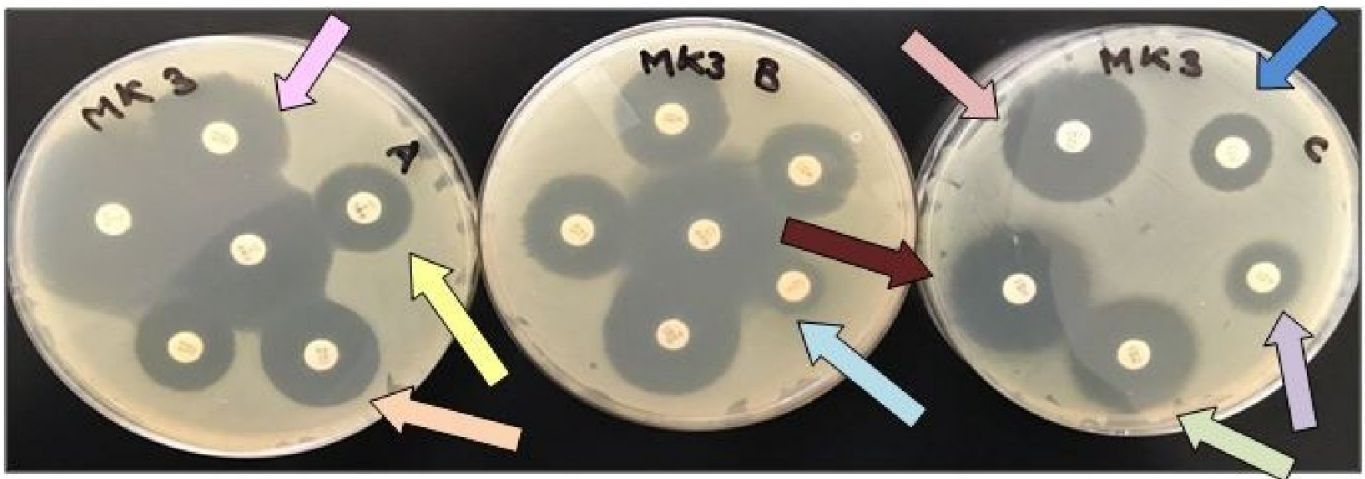


Ilustración 12. Crecimientos en los discos MK3 A, MK3 B y MK3 C y los anillos de resistencias.

- Ácido nalidíxico.
- Eritromicina.
- Cloranfenicol.
- Amoxicilina c/ácido clavulánico.
- Trimetopina-Sulfametoxazol
- Estreptomina
- Penicilina G.
- Cefalotina.
- Estreptomina
- Penicilina G.
- Tetraciclina.

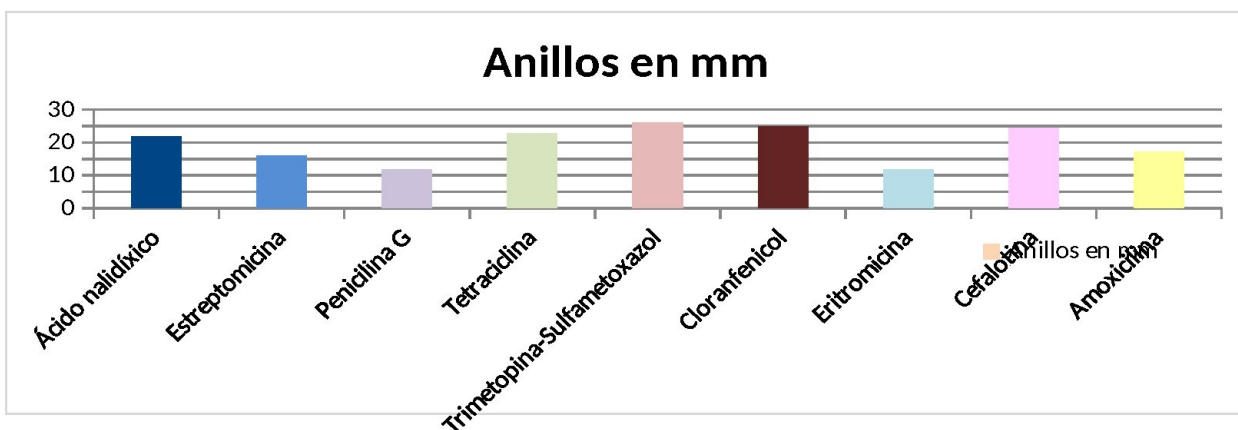


Ilustración 23. Gráfica de mm de los anillos en función de principios activos.

### Cálculo de % recuperado de principio activo:

$$\%Amox = \frac{V_m}{V_{std}} \times 100$$

$V_m$  = Volumen de la muestra.

$V_{std}$  = Volumen del estándar.

$$\%Amox = \frac{3,780}{3,870} \times 100 = 97,67\%$$

$$IC = \frac{z \cdot \sigma}{\sqrt{n}}$$

$Z = 2.$

$\sigma$  = Desviación estándar.

$N$  = Número de ensayos.

### **Conclusiones:**

Comparando los resultados de los crecimientos de microorganismos con los valores estipulados en las tablas que se encuentran en el *M-100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 28<sup>th</sup> Edition*, y *M-100 S-25 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 28<sup>th</sup> Edition* (ver anexo 2), se concluye que la bacteria *Salmonella Enteritidis* presenta resistencia ante los antibióticos tamicos (penicilina G (11,67±0,45)mm) y la eritromicina (11,83±0,46)mm, que es un macrólido, una resistencia intermedia a la amoxicilina (17,17±0,36)mm, que también es un β-lactámico, y es sensible ante el ácido nalidíxico (21,83±0,068)mm, perteneciente al grupo de quinolonas, la tetraciclina (22,67±0,045)mm, del grupo de las tetraciclinas, el trimeto-sulfometoxazol (26,00±0,68)mm (sulfamida), cefalotina del grupo de cefalosporinas (24,33±0,36)mm y el cloranfenicol (24,83±0,73)mm.

En cuanto a la amoxicilina, ésta demostró una pérdida de un 4,44% de principio ante una temperatura mayor a 30 °C.

### **Bibliografía:**

Balsalobre Hernández, B., Hernández-Godoy, J. (2004) *Resistencias a Antibióticos en Listeria Monocytogenes y Salmonella Enterica Aislados de Alimentos de Origen Animal*. Valencia, España. Centro de Salud Pública

Sandín, D., Algorta, G. (2006). *Temas de Bacteriología y Virología Médica*. (2<sup>a</sup> Edición). Montevideo, Uruguay: FEFMUR.

Maradiaga, A., Montoya, E., Mora, Á. (2011) *Evaluación de la Calidad Fisicoquímica y del Etiquetado en Cápsulas de Amoxicilina 500 mg, que se Comercializan en la Ciudad de León, Nicaragua*. León, Nicaragua.

Malbrán, Dr. C.(2001). *Manual de Procedimientos para la Determinación de la Sensibilidad a los Antimicrobianos en Bacterias Aisladas de Humanos*. Buenos Aires, Argentina: Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas.

Limeres, R., Chiale, C., Beltramini, H., Manco, K. (2003). *Farmacopea Argentina*. (7ª Edición). Buenos Aires, Argentina: Anmat.

CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.

CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement*. CLSI document M100-S25. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.

Nieves, J., Rivera, A., Reyes, E., Cejudo, A., Jorrín, J., Peinado, J., Meléndez-Valdez. F., Fiñana, I. *Espectrofotometría: Espectros de Absorción y Cuantificación Colorimétrica de Biomoléculas*. Departamento de Biología y Bioquímica Molecular.

### Imágenes:

*Ilustración 1: Sitio de acción de los antibióticos*. Recuperado de: Sandín, D., Algorta, G. (2006). *Temas de Bacteriología y Virología Médica*. (2ª Edición). Montevideo, Uruguay: FEFMUR.

*Ilustración 2: Estructura de Amoxicilina*. Recuperado del sitio web: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Amoxicillin.svg> el 29 de octubre de 2019

*Ilustración 3: Esquema de Técnica por Difusión de Agar*. Recuperado del sitio web: <http://composi.info/trabajo-practico-n-1-preparacion-de-materilaes-y-esterilizacio.html?page=4> el 29 de octubre de 2019.

*Ilustración 4: Esquema de cromóforo*. Recuperado del sitio web [https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08\\_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf](https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf) el día 29 de octubre de 2019.

*Ilustración 5: Electromagnetic Spectrum*. Recuperado del sitio web <https://sp.depositphotos.com/203576836/stock-illustration-science-electromagnetic-spectrum-diagram-illustration.html> el día 29 de octubre de 2019.

*Anexos: Medidas de seguridad: Cloruro de Bario*. Recuperado del sitio web [https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/4/SDB\\_4453\\_ES\\_ES.pdf](https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/4/SDB_4453_ES_ES.pdf) el día 3 de noviembre de 2019.

*Anexos: Medidas de seguridad: Tiosulfato de Sodio*. Recuperado del sitio web [https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/H/SDB\\_HN25\\_MX\\_ES.pdf](https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/H/SDB_HN25_MX_ES.pdf) el día 3 de noviembre de 2019.

*Anexos: Medidas de seguridad: Yodo*. Recuperado del sitio web [https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/7/SDB\\_7335\\_ES\\_ES.pdf](https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/7/SDB_7335_ES_ES.pdf) el día 3 de noviembre de 2019.

*Anexos: Medidas de seguridad: Ácido Clorhídrico*. Recuperado del sitio web [https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/K/SDB\\_K025\\_ES\\_ES.pdf](https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/K/SDB_K025_ES_ES.pdf) el día 3 de noviembre de 2019.

Anexos: Medidas de seguridad: Hidróxido de sodio. Recuperado del sitio web [https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/6/SDB\\_6771\\_ES\\_ES.pdf](https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/6/SDB_6771_ES_ES.pdf) el día 3 de noviembre de 2019.

Anexos: Imágenes: Anexo 1: Escala McFarlane. Recuperado del sitio web <http://iamtheonewhocooks.blogspot.com/2016/06/preparacion-escala-mac-farland-y.html> el día 3 de noviembre de 2019.

Anexos: Imágenes: Anexo 2: Tabla

## Anexos:

### Medidas de seguridad:

#### Cloruro de Bario:



**GHS06**  
Toxicidad aguda categoría 1,  
2, 3 (T0)

- H301 Tóxico en caso de ingestión.
- H332 Nocivo en caso de inhalación.

#### Tiosulfato de sodio:

No presenta pictogramas.

- H303+H313+H333 Puede ser nocivo en caso de ingestión, en contacto con la piel o en caso de inhalación.

#### Yodo:



**GHS08**  
Cancerígeno, mutágeno (MU)



**GHS09**  
Dañino para el medio  
ambiente acuático (EN)



**GHS07**  
Toxicidad aguda categoría 4  
(peligro al inhalar) (DA)

- H302+H312+H332 Nocivo en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación
- H315 Provoca irritación cutánea
- H319 Provoca irritación ocular grave
- H335 Puede irritar las vías respiratorias

- H372 Provoca daños en los órganos (tiroides) tras exposiciones prolongadas o repetidas (en caso de ingestión)
- H400 Muy tóxico para los organismos acuáticos

### Ácido clorhídrico:



GHS05  
Sustancias corrosivas (CR)

- H290 Puede ser corrosivo para los metales

### Hidróxido de sodio:



GHS05  
Sustancias corrosivas (CR)

- H290 Puede ser corrosivo para los metales
- H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves

### Anexos. Imágenes:

#### ESCALA MCFARLAND

Nº	BaCl <sub>2</sub> 0,048M ml	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,36M ml	Vf ml	Nº Células
0,5	0,05	0,05	10	1,5 · 10 <sup>8</sup>
1	0,1	0,1	10	3 · 10 <sup>8</sup>
2	0,2	0,2	10	6 · 10 <sup>8</sup>
3	0,3	0,3	10	9 · 10 <sup>8</sup>
4	0,4	0,4	10	12 · 10 <sup>8</sup>
5	0,5	0,5	10	15 · 10 <sup>8</sup>
6	0,6	0,6	10	18 · 10 <sup>8</sup>
7	0,7	0,7	10	21 · 10 <sup>8</sup>
8	0,8	0,8	10	24 · 10 <sup>8</sup>
9	0,9	0,9	10	27 · 10 <sup>8</sup>
10	1	1	10	30 · 10 <sup>8</sup>

Se preparan los tubos contemplados en dicha tabla, con esas cantidades de sulfúrico y de cloruro de bario y se rotulan con los números de la izquierda. Se usa para ello pipetas del volumen adecuado, pipeteador y tubos de ensayo.

*Anexo 1: Tabla de escala McFarland por número de células en el cultivo.*

Table 2A-1. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm)				MIC Interpretive Criteria (µg/mL)				Comments
			S	SDD	I	R	S	SDD	I	R	
<b>PENICILLINS</b>											
A	Ampicillin	10 µg	≥17	–	14–16	≤13	≤8	–	16	≥32	(4) Results of ampicillin testing can be used to predict results for amoxicillin. See comment (2).
O	Piperacillin	100 µg	≥21	–	18–20	≤17	≤16	–	32–64	≥128	
O	Mecillinam	10 µg	≥15	–	12–14	≤11	≤8	–	16	≥32	(5) For testing and reporting of <i>E. coli</i> /urinary tract isolates only.
<b>β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS</b>											
B	Amoxicillin-clavulanate	20/10 µg	≥18	–	14–17	≤13	≤8/4	–	16/8	≥32/16	
B	Ampicillin-sulbactam	10/10 µg	≥15	–	12–14	≤11	≤8/4	–	16/8	≥32/16	
B	Ceftolozane-tazobactam	–	–	–	–	–	≤2/4	–	4/4	≥8/4	
B	Piperacillin-tazobactam	100/10 µg	≥21	–	18–20	≤17	≤16/4	–	32/4–64/4	≥128/4	
O	Ticarcillin-clavulanate	75/10 µg	≥20	–	15–19	≤14	≤16/2	–	32/2–64/2	≥128/2	

Anexo 2. Tabla 7. Tablas de resistencia antibiótica extraídas de Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed.

<b>TETRACYCLINES</b>											
(35) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline. However, some organisms that are intermediate or resistant to tetracycline may be susceptible to doxycycline, minocycline, or both.											
C	Tetracycline	30 µg	≥15	–	12–14	≤11	≤4	–	8	≥16	
O	Doxycycline	30 µg	≥14	–	11–13	≤10	≤4	–	8	≥16	
O	Minocycline	30 µg	≥16	–	13–15	≤12	≤4	–	8	≥16	
<b>QUINOLONES AND FLUOROQUINOLONES for Enterobacteriaceae except Salmonella spp. (Please refer to Glossary I.)</b>											
B	Ciprofloxacin	5 µg	≥21	–	16–20	≤15	≤1	–	2	≥4	
B	Levofloxacin	5 µg	≥17	–	14–16	≤13	≤2	–	4	≥8	
O	Cinoxacin	100 µg	≥19	–	15–18	≤14	≤16	–	32	≥64	See comment (25).
O	Enoxacin	10 µg	≥18	–	15–17	≤14	≤2	–	4	≥8	See comment (25).
O	Galifloxacin	5 µg	≥18	–	15–17	≤14	≤2	–	4	≥8	
O	Gemifloxacin	5 µg	≥20	–	16–19	≤15	≤0.25	–	0.5	≥1	(36) For testing and reporting of <i>K. pneumoniae</i> only.
O	Grepafloxacin	5 µg	≥18	–	15–17	≤14	≤1	–	2	≥4	
O	Lomefloxacin	10 µg	≥22	–	19–21	≤18	≤2	–	4	≥8	
O	Nalidixic acid	30 µg	≥19	–	14–18	≤13	≤16	–	–	≥32	See comment (25).

Anexo 3. Tabla 8. Tablas de resistencia antibiótica extraídas de Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Interpretive Categories and Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm				Interpretive Categories and MIC Breakpoints, µg/mL				Comments
			S	SDD	I	R	S	SDD	I	R	
<b>QUINOLONES AND FLUOROQUINOLONES for Salmonella spp. (Please refer to Glossary I.)</b>											
(37) For testing and reporting of <i>Salmonella</i> spp. (including <i>S. Typhi</i> and <i>S. Paratyphi A–C</i> ). Routine susceptibility testing is not indicated for nontyphoidal <i>Salmonella</i> spp. isolated from intestinal sources.											
(38) The preferred test for assessing fluoroquinolone susceptibility or resistance in <i>Salmonella</i> spp. is a ciprofloxacin MIC test. A levofloxacin or ofloxacin MIC test can be performed if either agent, respectively, is the fluoroquinolone of choice in a specific facility. If a ciprofloxacin, levofloxacin, or ofloxacin MIC or ciprofloxacin disk diffusion test cannot be done, pefloxacin disk diffusion may be used as surrogate test to predict ciprofloxacin susceptibility.											
(39) No single test detects resistance resulting from all possible fluoroquinolone resistance mechanisms that have been identified in <i>Salmonella</i> spp.											
B	Ciprofloxacin	5 µg	≥31	–	21–30	≤20	≤0.06	–	0.12–0.5	≥1	(40) Isolates of <i>Salmonella</i> spp. that test not susceptible to ciprofloxacin, levofloxacin, ofloxacin, or pefloxacin may be associated with clinical failure or delayed response in fluoroquinolone-treated patients with salmonellosis.
B	Levofloxacin	–	–	–	–	–	≤0.12	–	0.25–1	≥2	
O	Ofloxacin	–	–	–	–	–	≤0.12	–	0.25–1	≥2	
Inv.	Pefloxacin (surrogate test for ciprofloxacin)	5 µg	≥24	–	–	≤23	–	–	–	–	(41) Report results as ciprofloxacin susceptible or resistant based on the pefloxacin test result. Pefloxacin will not detect resistance in <i>Salmonella</i> spp. due to <i>aac(6)-Ib-cr</i> . Pefloxacin disks are not available in the United States.
See comment (39).											
<b>FOLATE PATHWAY ANTAGONISTS</b>											
B	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≥16	–	11–15	≤10	≤2/38	–	–	≥4/76	See general comment (2).
U	Sulfonamides	250 or 300 µg	≥17	–	13–16	≤12	≤256	–	–	≥512	(42) Sulfisoxazole can be used to represent any of the currently available sulfonamide preparations.
U	Trimethoprim	5 µg	≥16	–	11–15	≤10	≤8	–	–	≥16	

Anexo 4. Tabla 9. Tablas de resistencia antibiótica extraídas de Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed.



Table 2A. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm)				MIC Interpretive Criteria ( $\mu\text{g/mL}$ )				Comments
			S	SDD	I	R	S	SDD	I	R	
<b>CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.) (Continued)</b>											
U	Cephalothin (surrogate test for uncomplicated UTI)	30 $\mu\text{g}$	$\geq 18$		15–17	$\leq 14$	$\leq 8$		16	$\geq 32$	(11) Cephalothin interpretive criteria can be used only to predict susceptibility to the oral agents, cefadroxil, cefpodoxime, cephalexin, and loracarbef. Older data that suggest that cephalothin results could predict susceptibility to some other cephalosporins may still be correct, but there are no recent data to confirm this.  (12) To predict results for oral cephalosporins when used for therapy of uncomplicated UTIs, testing ceftazidime is preferred to testing cephalothin.

Anexo 5. Tabla 9. Tablas de resistencia antibiótica extraídas de Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement.

Table 2A. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm)				MIC Interpretive Criteria ( $\mu\text{g/mL}$ )				Comments
			S	SDD	I	R	S	SDD	I	R	
<b>AMINOGLYCOSIDES (Continued)</b>											
O	Netilmicin	30 $\mu\text{g}$	$\geq 15$		13–14	$\leq 12$	$\leq 8$		16	$\geq 32$	
O	Streptomycin	10 $\mu\text{g}$	$\geq 15$		12–14	$\leq 11$	–		–	–	(32) There are no MIC interpretive standards.

Anexo 6. Tabla 10. Tablas de resistencia antibiótica extraídas de Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement