

Guía para la realización de estudios de Concentración Mínima Inhibitoria 90 en patógenos de salmónidos

A. EL DISEÑO DEL ESTUDIO DEBE CONSIDERAR 2 ETAPAS:

1. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria 90 (CIM₉₀ o MIC₉₀), entendiéndose como tal a **“la menor concentración de antimicrobiano necesaria para impedir o inhibir el crecimiento bacteriano (in vitro) del 90% de las cepas estudiadas, en un ensayo de laboratorio utilizando la técnica de dilución”**.
2. Estudio farmacocinético: determinar la concentración plasmática o tisular del antimicrobiano (ug/ml), obtenida al administrar el medicamento en una dosis y pauta horaria determinada. Este valor se compara con el valor MIC₉₀ previamente definido. **Para esta etapa es fundamental DEFINIR la formulación del alimento y el método de incorporación.**

B. TÓPICOS A CONSIDERAR EN CÁLCULO DEL MIC:

Cepas a utilizar:

- Deben ser representativas de la situación epidemiológica nacional: *P. salmonis*, *Y. ruckeri*, *V. ordalii*, *V. anguillarum*, *A. salmonicida* atípica, *F. psychrophilum*.
- Se debe trabajar con cultivos PUROS
- Se debe incluir tanto aislados de casos clínicos, como cepas de referencia (ATCC, NCTC o CNCM), cuando éstas estén disponibles.
- Se debe trabajar con una suspensión bacteriana estándar, equivalente al estándar de turbidez McFarland 0,5

Número de aislados a utilizar:

- Aislados de casos clínicos:
 - o *P. salmonis*: ≥ 20
 - o *F. psychrophilum*: ≥ 20
 - o *Y. ruckeri*: ≥ 10
 - o *V. ordalii*: ≥ 10
 - o *V. anguillarum*: ≥ 10
 - o *A. salmonicida* atípica: ≥ 10
- Cepas de referencia: ≥ 1

Informe de las cepas utilizadas:

- Se debe entregar un informe completo de cada cepa incluida en el estudio, debiendo considerar a lo menos los siguientes puntos:
 - o Fecha de aislamiento y lugar de obtención del aislado (señalar código del centro de cultivo). No deben tener una antigüedad mayor a 5 años.
 - o Especie a partir de la cual se obtuvo el aislamiento (*Salmón del atlántico*, *Salmón del pacífico* o *Trucha arcoíris*)
 - o Identificación del laboratorio que efectuó el aislamiento.
 - o Metodología utilizada para el aislamiento, medio de cultivo utilizado y condiciones de crecimiento.

- Identificación bioquímica completa y serológica cuando corresponda.
- Identificación molecular, perfil de DNA y Plasmídico (opcional).
- Otros ensayos realizados.
- Condiciones de almacenamiento de los aislados (congelación, liofilización, otros).
- Adjuntar certificado, en el caso de las cepas de referencia.

Antimicrobianos a utilizar:

- Para evitar confusiones, se debe utilizar el nombre INN (International Nonproprietary Names)
- Se debe utilizar un estándar primario de antimicrobiano.
- Si se utiliza un estándar secundario, éste debe ser trazado al estándar primario.
- Adjuntar, en ambos casos, certificados de análisis, señalando a lo menos potencia y fecha de vencimiento.
- La preparación de la solución stock debe tener una concentración de a lo menos 800 ug/ml.
- Si el antimicrobiano no es soluble en agua, se debe indicar el solvente utilizado.
- La solución stock se debe proteger de la exposición a la luz.
- Idealmente la solución stock debe ser esterilizada por filtración, alicuotada y almacenada en congelación a -70 grados C°.
- Una vez descongelado, no se debe volver a congelar.

C. DESCRPCIÓN COMPLETA DEL MÉTODO UTILIZADO (MACRO O MICRO DILUCIÓN)

- Para la realización del estudio, se recomienda considerar las directrices de:
 - **CLSI**, Clinical and Laboratories Standards Institute (www.clsi.org)
 - **BSAC**, British Society for Antimicrobial Chemotherapy (www.bsac.org.uk)
 - **EUCAST**, The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (www.escmid.org/research_projects/eucast/)
 - **NCCLS**, National Comitee for Clinical Laboratory Standards, basado en la Norma M-494