



Antibiograma

Antibiograma: testarea sensibilității microorganismelor față de antibiotice

1. Metode calitative

Metoda difuzimetrică Kirby-Bauer

Se testează sensibilitatea unei tulpini bacteriene izolate

Prepararea inoculului:

- se suspensionează 2-3 colonii izolate în ser fiziologic
- turbiditatea suspensiei se controlează nefelometric sau comparând cu tuburi etalon (conțin suspensii de particule latex/sulfat de Ba având turbiditate determinată);
- se ajustează la 0.5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml).

Însămânțare:

- se alege un mediu corespunzător speciei bacteriene testate
 - Mueller-Hinton pentru majoritatea bacteriilor
 - Mueller-Hinton cu sânge pentru pretențioși (de ex. streptococi)
 - medii speciale (pentru Haemophilus spp . neisserii)
- se introduce un tampon în suspensia bacteriană, se stoarce pentru îndepărtarea excesului de lichid
- se șterge uniform toată suprafața mediului de 3x

Depunerea microcomprimatelor de antibiotice

- se aleg antibioticele care trebuie testate în funcție de specia bacteriană testată și în funcție de localizarea infecției (! infecții urinare)
- se depun discurile de antibiotic la 1.5 cm distanță de marginea cutiei Petri și la 3 cm distanță unul față de celălalt (pot fi depuse max. 12 discuri)
- 15 min. temperatura camerei

Incubare

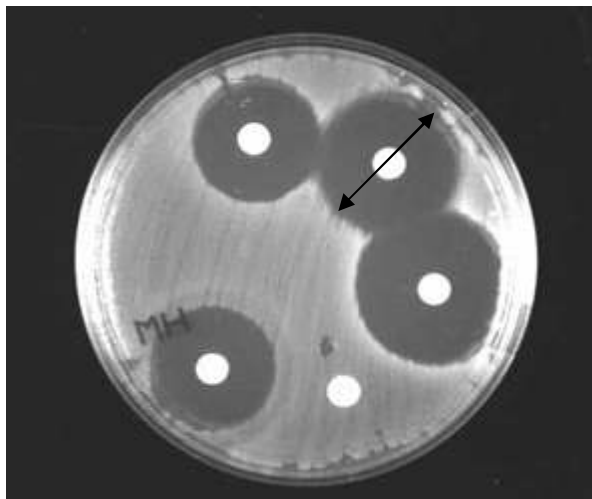
- în funcție de specia bacteriană: în atmosfera obișnuită sau în atmosferă de CO₂ (de ex. streptococi, neisserii.)
- 35°C
- 16-18 ore (în cazul germenilor pretențioși până la 20-24 de ore)



Interpretare

- apare o cultură bacteriană confluentă, în jurul microcomprimatelor apar zone de inhibiție (lipsa creșterii bacteriene).

- se citesc diametrele zonelor de inhibiție (mm)



- se compară diametrele citite cu diametre standard în funcție de antibiotic, cantitatea de antibiotic din comprimat, specia bacteriană testată

Tabel: Exemple de diametre standard, conform standardelor CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute USA)

Standard	Specii bacteriene	Antibiotic	Rezistent	Intermediar sensibil	Sensibil
CLSI	<i>Staphylococcus aureus</i>	levofloxacin 10 ug	≤ 15 mm	16-18	≥ 19 mm
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	levofloxacin 10 ug	≤ 13 mm	14-16	≥ 17 mm

- pot apărea fenomene de sinergism/antagonism care reflectă diferite mecanisme de rezistență
- colonii izolate în interiorul zonei de inhibiție: subpopulații rezistente

Interpretarea antibiogramelor:

- Rezultatul se raportează: sensibil (S), intermediar sensibil (IS) sau rezistent (R) la antibioticul testat
- nu se comunică diametrele citite (metodă calitativă)
- cunoașterea rezistenței intrinsece a bacteriilor (dg) + a mecanismelor de rezistență prin care bacteriile pot dobândi rezistență la diferite antibiotice



Variabilele care influențează rezultatele:

- compoziția mediului (conținut de cationi, timidină)
- pH (optim: 7,2-7,4)
- grosimea gelozei (standard: 4 mm)
- inoculul - 0,5 McFarland
- microcomprimate (valabilitate, conținut, condiții de păstrare)
- timpul, temperatura de incubare
- citirea diametrelor (lumină refractată/reflectată, colonii izolate, prezența unui vâl, margini crenelate)

Control de calitate

- microcomprimatele
- loturile noi de medii de cultură se testează cu tulpini de referință

2. Metode cantitative

- permit stabilirea concentrației minime inhibitorii (CMI) a unui antibiotic

CMI: cantitatea cea mai mică de antibiotic care inhibă complet multiplicarea unei bacterii

Este recomandată testarea cantitativă în următoarele situații:

cazuri clinice grave (septicemii, endocardite, meningite)

- rezultate incerte cu metoda difuzimetrică / sensibilitate nedeterminată

Metoda diluțiilor (macro/microdiluție)

- se realizează diluții succesive din antibioticul de testat în mediu de cultură lichid
- se adaugă cantități fixe din cultura bacteriană cercetată
- incubare 18ore 35°C
- se urmărește apariția culturii în mediul lichid
- CMI: cea mai mică concentrație de antibiotic care nu permite creșterea germenilor (cultură limpede)