



Intradermoreacții

Reacțiile biologice cutanate permit:

- evidențierea stării de imunitate
- evidențierea stării de sensibilizare de tip întârziat (reacții alergice)

IDR Schick – IDR de neutralizare

- verifică dacă persoana respectivă este sau nu protejată față de infecția cu bacilul difteric toxinogen
- se injectează în treimea medie a antebrațului, intradermic, 0,1 ml toxină difterică diluată (eritrogenă)
- dacă persoana prezintă Ac anti-toxină difterică, toxina inoculată va fi neutralizată, nu va apărea eritemul la locul inoculării
- dacă persoana nu prezintă Ac anti-toxină difterică, la locul inoculării toxinei va apărea eritemul

IDR cu tuberculină (PPD) – IDR alergică

- utilizată în decelarea infecției tuberculoase
- tuberculina – derivat proteic purificat, extras din cultura de *Mycobacterium tuberculosis*
- după ce o persoană se infectează cu bacilul tuberculos, urmează sensibilizarea și proliferarea anumitor populații de limfocite T
- injectarea intradermică de PPD stimulează limfocitele T și declanșează o reacție de hipersensibilitate de tip IV (vasodilatație, edem, infiltrat celular)
- răspunsul maxim apare la cca. 48 ore după injectare (eritem, edem, indurație), la persoane care au venit în contact anterior cu Ag (a fost sau este bolnav, a fost vaccinat); rezultatul se evaluează în contextul clinic
- la persoane care nu au fost vaccinate sau nu au venit în contact prin alt mod cu Ag, nu apare reacție locală; în acest caz persoana respectivă trebuie vaccinată



Boala experimentală

În microbiologie se folosesc animale de laborator în diferite scopuri:

- în cadrul diagnosticului de laborator pentru:
 - o izolarea bacteriilor
 - o identificarea bacteriilor prin studierea patogenității
- prepararea vaccinurilor
- cercetări științifice, etc.

Animalele cel mai frecvent folosite sunt șoarecii, cobaii, iepurii, sobolani, hamsterii, pisicile, maimuțele, etc.

Animalele se aleg în funcție de:

- receptivitate
- animale „germ free” – nu conțin floră microbiană, sunt crescute în condiții de asepsie
- animale „gnotobiotice” – specii „germ free” inoculate cu tulpini microbiene cunoscute

Creșterea și întreținerea animalelor de laborator

- pentru întreținerea animalelor sunt necesare 2 încăperi:
 - o una pentru crescătorie
 - o alta pentru întreținerea animalelor inoculate
- asigurarea condițiilor optime de temperatură, aerăție, căldură, hrană

Inocularea animalelor

- cunoașterea regulilor de manipulare a animalelor
- operațiile dureroase pentru animale necesită anestezie
- material necesar: seringi, ace, pipete, etc.
- căi de inoculare:
 - o intradermic, subcutanat, intramuscular, intraperitoneal, intravenos, intranasal, etc.
- după inoculare animalele se supraveghează zilnic; se notează toate modificările apărute
- se recoltează probe biologice pentru diferite examinări

Autopsia

- se observă modificările apărute, se recoltează probe biologice, fragmente de organe în vederea examinărilor necesare



Antibiograma

Antibiograma: testarea sensibilității in vitro a microorganismelor față de antibiotice (TSA – testarea susceptibilității față de antibiotice)

Antibiotice

- substanțe cu efect antibacterian produse de diferite microorganisme
- substanțe semisintetice, sintetice (chimioterapeutice)

Clasificarea antibioticelor după compoziție

1. antibiotice β -lactamice

peniciline

penicilina

peniciline cu spectru larg (ampicilina, amoxicilina)

peniciline antistafilococice (oxacilina)

peniciline antipseudomonazice (piperacilina, ticarcilina)

cefalosporine (gen I-IV)

gen I – cefazolin, cefalotin.

gen II – cefuroxim

gen III – ceftazidim, ceftriaxon, cefotaxim,

gen IV – cefpirom, cefepim

cefamicine (cefoxitin)

monobactame (aztreonam)

carbapeneme (ertapenem, imipenem, meropenem)

combinații β -lactamine + inhibitori de lactamază (amoxicilina+acid clavulanic,

ampicilina+sulbactam, piperacilina+tazobactam, ticarcilina+clavulanat)

2. macrolide, lincosamide

eritromicina, claritromicina, azitromicina

clindamicina

3. fluorochinolone

norfloxacin, ciprofloxacin, ofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin



4. tetraciclina

tetraciclina, doxiciclina, minociclina

5. glicilciclina

tigeciclina

6. aminoglicozide

kanamicina, gentamicina, amikacina, netilmicina

7. glicopeptide

vancomicina, teicoplanin

7. oxazolidinone

linezolid

8. fenicoli

cloramfenicol

9. Sulfonamide

trimetoprim-sulfametoxazol

Indicațiile efectuării antibiogramii:

- în cazul tuturor bacteriilor semnificative clinic a căror susceptibilitate nu este predictibilă (condiție: existența standardizării privind specia, antibioticul de testat)

Necesitatea efectuării antibiogramii se decide de către medicul microbiolog în funcție de:

- felul produsului din care s-a izolat germele,
- specia bacteriană

Când relevanța unui izolat este incertă, medicul microbiolog se consultă cu medicul curant și se ia o decizie în comun pe baza datelor clinice.

Metode:

- metode calitative
 - metoda difuzimetrică
- metode cantitative
 - determinarea CMI (concentrația minimă inhibitorie)



A. Metode calitative

Metoda difuzimetrică Kirby-Bauer

Se testează sensibilitatea unei tulpini bacteriene izolate în cultură pură și identificate.

Este metoda utilizată de rutină pentru testarea susceptibilității izolatelor clinice.

Fiind o metodă calitativă, nu permite cuantificarea nivelului de rezistență, rezultatele fiind exprimate în sensibil, intermediar sau rezistent:

- sensibil
 - tulpina este sensibilă față de antibioticul testat la o concentrație realizabilă de către antibiotic în ser
 - bacteriilor sensibile nu dispun de mecanisme de rezistență
- intermediar
 - răspunsul terapeutic în cazul acestor izolate poate fi mai slab decât în cazul izolatelor sensibile
 - această categorie reprezintă totodată o zonă de tampon care, în caz de erori tehnice minore necontrolate, previne crearea unor discrepanțe majore în interpretare
 - în caz de sensibilitate intermediară antibioticul poate fi utilizat clinic în anumite situații:
 - în infecții urinare - acele antibiotice, care se concentrează în urină (realizează concentrații mai mari în urină decât în ser)
 - când pot fi administrate doze crescute (β -lactamine)
- rezistent
 - bacteriile rezistente nu pot fi inhibitate de antibiotic la concentrația serică realizabilă prin administrare uzuală
 - pot fi detectate mecanisme de rezistență specifice

În efectuarea și interpretarea antibiogramelor calitative se urmăresc standarde internaționale. În prezent standardul acceptat în cele mai multe țări (inclusiv România) este cel american, elaborat de CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute). La sfârșitul anului 2009 s-a finalizat standardul european de către EUCAST (European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing), care are în vedere caracteristicile tulpinilor circulante și al infecțiilor mai importante în Europa. Adoptarea acestui nou standard este în curs în România.



Realizarea antibiogramei conform standardului CLSI

1. 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).

2. 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

3. Depunerea microcomprimatelor de antibiotice

- se aleg antibioticele care trebuie testate în funcție de specia bacteriană testată și în funcție de localizarea infecției (anexa 1)
- 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

4. 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)
- 24 de ore în cazul testării vancomicinei

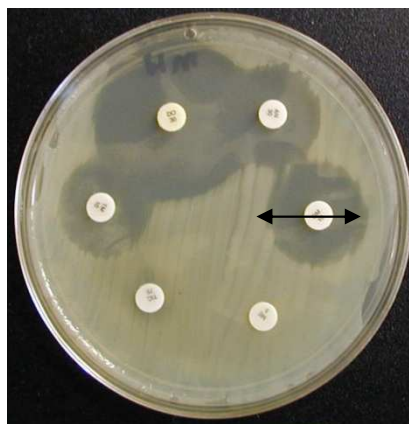
5. Citire

- apare o cultură bacteriană confluentă, în jurul microcomprimatelor apar zone de inhibiție (lipsa creșterii bacteriene)
- se citesc diametrele zonelor de inhibiție
- 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 synergism/antagonism care reflectă diferite mecanisme de rezistență
- colonii izolate in interiorul zonei de inhibiție: subpopulații rezistente



synergism



antagonism



6. Interpretarea antibiogramelor:

- rezultatul se raportează: sensibil (S), intermediar sensibil (IS) sau rezistent (R) la antibioticul testat
- fiecare rezultat de antibiogramă se interpretează!
- nu se comunică diametrele citite (metodă calitativă)

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
-

B. 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
- situații speciale (de ex. testarea sensibilității pneumococului la penicilină printr-o metodă cantitativă când diametrul zonei de inhibiție la oxacilină este sub 20 mm)

CMI obținut se raportează la punctele de ruptură superior și inferior date de CLSI



Exemplu: Puncte de ruptură CMI în ug/ml pentru ampicilină:

| Specii bacteriene | Sensibil | Intermediar sensibil | Rezistent |
|-------------------|-------------|----------------------|------------|
| Stafilococi | $\leq 0,25$ | - | $\geq 0,5$ |
| Enterococi | ≤ 8 | | ≥ 16 |
| Enterobacterii | ≤ 8 | 16 | ≥ 32 |

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 18 ore 35°C
- se urmărește apariția culturii în mediul lichid
- CMI: cea mai mică concentrație de antibiotic care nu permite creșterea germenilor (cultură limpede)



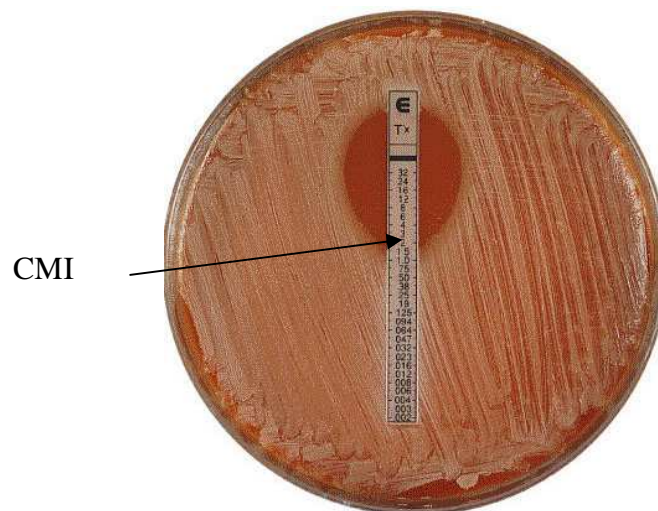


Metoda diluțiilor în agar

- se realizează diluții succesive din antibioticul testat în geloză Mueller-Hinton se însămânțează cultură bacteriană în spoturi
- citire: CMI - concentrația cea mai mică care inhibă complet creșterea sau apare maximum o colonie
-

E-teste

- pe suprafața mediului de cultură solid și însămânțat se aplică fâșii din plastic impregnate cu antibiotic în concentrație crescândă - la un capăt concentrația este minimă, la celălalt este maximă; gradațiile sunt notate pe fâșie;
- incubare
- apar zone de inhibiție de formă elipsoidală, în dreptul intersecției cu fâșia de plastic se citește CMI





Anexa 1

Antibiotice testate în funcție de specii bacteriene, bazat pe standardul CLSI

1. NECESITATEA EFECTUĂRII ANTIBIOGRAMEI SE DECIDE ÎN FUNCȚIE DE

Izolatul bacterian

- Se efectuează antibiogramă pentru fiecare izolat bacterian **considerat agentul etiologic** al unei infecții.
- În cazul unor specii bacteriene **nu există rezistență *in vivo* recunoscută** față de anumite clase antibacteriene, de aceea testarea *in vitro* nu are sens. De exemplu:
 - ✓ *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae* sunt **sensibile față de penicilină**
 - ✓ *Staphylococcus saprophyticus* izolat din infecții urinare este **sensibil la toate antibioticele** utilizate în tratamentul infecțiilor urinare
- Metoda difuzimetrică (metodă calitativă, antibiograma obișnuită) nu este adecvată testării susceptibilității unor specii bacteriene, rezultatele obținute prin această metodă fiind neinterpretabile. De exemplu:
 - ✓ germeni anaerobi,
 - ✓ streptococi grup viridans,
 - ✓ bacili Gram pozitivi (*Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp.),
 - ✓ *Campylobacter* spp.,
 - ✓ pseudomonade (specii de *Pseudomonas* altele decât *P. aeruginosa*)

Semnificația clinică a izolatului

- Nu se testează sensibilitatea la antibiotice pentru izolate fără semnificație clinică. De ex. streptococi grup viridans, bacili Gram pozitivi (*Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp.) izolate din urină, *S. aureus*, enterobacterii izolate din secreții faringiene în faringita acută a persoanelor imunocompetente, etc.
- Nu se testează sensibilitatea tulpinii bacteriene reizolate de la același pacient și la care s-a testat deja sensibilitatea în interval de 5 zile (excepție: *Serratia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*: testarea rezistenței inductibile la cefalosporine de generația a III-a)



2. SELECTAREA ANTIBIOTICELOR TESTATE

Se testează seturi de antibiotice specifice pentru:

- diferite grupuri de germeni: *Staphylococcus* spp, *Enterococcus* spp, *Streptococcus* spp, *enterobacterii*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, etc.
- izolate provenite de la pacienți spitalizați sau din ambulator
- în tabelele de mai jos antibioticele grupate în același box reprezintă grupe de antibiotice cu efecte similare și nu este nevoie de testarea fiecăruia în parte, pentru că rezultatele testării *in vitro* sunt similare iar eficacitatea clinică comparabilă
- dacă apare „sau” între două antibiotice, înseamnă că cele două antibiotice au un spectru de activitate identic, rezistența/sensibilitatea față de acestea este **încrucișată**
- astfel din fiecare box se alege **un singur** antibiotic pentru testare iar rezultatele se pot extrapola pentru restul antibioticelor din boxul respectiv

Grupele de antibiotic testate/raportate

- **Grup A:** antibiotice testate și raportate de rutină, de primă intenție
- **Grup B:** antibiotice importante clinic, care se testează de rutină dar se raportează selectiv. Se raportează dacă
 - tulpina este rezistentă față de aceeași clasă de antibiotic din grup A.
 - izolatul provine din produs patologic special (de ex. sensibilitatea față de cefalosporine de generația a III-a a izolatelor din LCR, etc)
 - infecția este polimicrobiană
 - infecția se extinde la mai multe situsuri
 - alergii la antibiotice
 - eșec terapeutic la tratament cu antibiotic grup A
 - raportare către SPCIN, scop epidemiologic
- **Grup C:** antibiotice suplimentare sau alternative,
 - tulpini nosocomiale
 - alergii
 - scop epidemiologic
- **Grup U:** antibiotice testate în infecții urinare
- **Grup O (other):** antibiotice utilizabile în terapie dar care nu se testează de rutină



3. ALEGEREA ANTIBIOTICULUI CORESPUNZĂTOR PENTRU TRATAMENT PE BAZA REZULTATULUI ANTIBIOGRAMEI

- se alege antibioticul față de care tulpina este sensibilă, eventual intermediar sensibilă
- în funcție de localizarea infecției (antibioticul să realizeze concentrații adecvate la locul infecției)
- în funcție de farmacocinetica, farmacodinamica antibioticului, administrare, dozare
- în funcție de complianța pacientului
- în funcție de costuri

Atenție: Următoarele antibiotice nu se raportează în cazul izolatelor obținute **din lichid cefalorahidian**, deoarece pot fi ineficiente in vivo:

antibiotice cu administrare per oral

cefalosporine de gen I, II (excepție cefuroxime sodium)

clindamicină

macrolide

tetraciclone

fluoroquinolone



Tabel 1. Antibiotice propuse spre testare difuzimetrică de către CLSI (interpretare în text) pentru enterobacterii

| | Enterobacterii^g |
|---|---|
| Grup A (testare, raportare primară) | Ampicilină ^{g, r} |
| | Cefazolin ^a |
| | Cefalotin ^a |
| | Gentamicină |
| Grup B (testare primară, raportare selectivă) | Amikacin |
| | Amoxicilina-clavulanat |
| | ampicilină-sulbactam |
| | Piperacilină-tazobactam |
| | Ticarcilina-clavulanat |
| | Cefuroxim |
| | Cefepime |
| | Cefotaxim ^{g, h, i} sau ceftriaxon ^{g, h, i} |
| | Ciprofloxacin ^g |
| | Levofloxacin ^g |
| | Ertapenem |
| | Meropenem |
| | Imipenem |
| Piperacilină | |
| Ticarcilină | |
| Trimethoprim-sulfamethoxazol ^g | |
| Grup C (testare suplimentară) | Aztreonam |
| | Ceftazidim |
| | Chloramphenicol ^{b, g} |
| | Tetraciclină ^c |
| Grup U (testare izolate urinare) | Norfloxacin |
| | Ofloxacin |
| | Nitrofurantoin |

^a **Cephalotin** este reprezentativ pentru: **cephalotin, caphalexin, cephapirin, cefactor, cephradine, cefadroxil.**

^b Nu se raportează pentru izolatele urinare.

^c Germenii sensibili la **tetraciclină** sunt sensibile și la **doxiciclină, minociclină.** Unele izolate rezistente sau intermediar sensibile la tetraciclină pot fi sensibile la doxiciclină sau minociclină.

^g Pentru izolatele fecale de **Salmonella, Shigella** se testează numai ampicilina, o quinolonă și trimethoprim-sulfamethoxazol. Pentru izolatele extraintestinale de **Salmonella** se testează în plus cloramfenicolul și o cefalosporină de generația a III-a.

^h În cazul **izolatelor din LCR** se testează sensibilitatea față de cefotaxim și ceftriaxon în loc de cephalotin, cefazolin.

ⁱ **Tulpinile de Kbsiella spp. și E. coli producătoare de BLSE (beta-lactamază cu spectru extins) sunt rezistente in vivo față de peniciline, cefalosporine, aztreonam chiar dacă arată sensibilitate in vitro.**

^r **ampicilina** se utilizează pentru prezicerea sensibilității față de **ampicilină și amoxicilină**



Tabel 2. Antibiotice propuse spre testare difuzimetrică de către CLSI (interpretare în text) pentru *Pseudomonas aeruginosa*¹

| | |
|--|--|
| | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^a |
| Grup A (testare, raportare primară) | <i>Ceftazidim</i> |
| | <i>Gentamicină</i> |
| | <i>Piperacilina</i> |
| Grup B (testare primară, raportare selectivă) | <i>Amikacin</i> |
| | <i>Cefepime</i> |
| | <i>Ciprofloxacin</i> Levofloxacin |
| | <i>Imipenem</i> Meropenem |
| | <i>Piperacilina/tazobactam</i> |
| Grup C (testare suplimentală, raportare selectivă) | |
| Grup U (testare suplimentară pentru izolate urinare) | <i>Norfloxacin</i> |
| | <i>Ofloxacin</i> |

^a *P. aeruginosa* se testează prin metoda difuzimetrică. Pseudomonadele (alte specii de *Pseudomonas* decât *aeruginosa*) pot fi testate numai prin metoda diluțiilor (antibiograma cantitativă, determinarea concentrației minime inhibitorii).



Tabel 3. Antibiotice propuse spre testare difuzimetrică de către CLSI (interpretare în text) pentru specii de stafilococ¹

| | Staphylococcus spp. |
|--|--|
| Grup A (testare, raportare primară) | Oxacilină ^a (cefoxitin) |
| | Penicilină ^a |
| | Clindamicină ^b |
| | Trimethoprim-sulfamethoxazol (cotrimoxazol) |
| Grup B (testare primară, raportare selectivă) | Azithromicină ^b sau claritromicină ^b sau eritromicină ^b |
| | Linezolid |
| | Vancomicină |
| | Tetracilină ^c Doxiciclina |
| Grup C (testare suplimentală, raportare selectivă) | Chloramphenicol ^b |
| | Gentamicină |
| | Rifampicină ^d |
| | Ciprofloxacin sau levofloxacin sau ofloxacin Moxifloxacin |
| Grup U (testare suplimentară pentru izolate urinare) | Norfloxacin |
| | Nitrofurantoin |

^a Stafilococii:

- **sensibili la penicilină, oxacilină sunt sensibili și la restul penicilinelor, la cefalosporine și carbapeneme active față de stafilococi.**

- **rezistenți la penicilină, sensibile la oxacilină (= stafilococi meticilino-sensibili, MSSA) sunt rezistente la penicilinele penicilino-labile și sensibile față de penicilinele penicilino-stabile (meticilină, oxacilină, nafcilină), combinații β-lactamină/inhibitori de β-lactamază, cefeme active pe stafilococi, carbapeneme.**

- **rezistenți față de oxacilină (=stafilococ meticilino-rezistent, MRSA) sunt rezistente față de toate β-lactaminele, combinații de β-lactamine/inhibitori de β-lactamază.** Nu se recomandă testarea de rutină a sensibilității față de alte peniciline, cefalosporine, combinații de β-lactamine/inhibitori de β-lactamază, carbapeneme pentru că sensibilitatea/rezistența față de acestea se prezice folosind penicilina și oxacilina (cefoxitina).

^b Nu se raportează pentru izolatele urinare.

^c Germenii sensibili la **tetracilină** sunt sensibile și la **doxiciclina, minociclina**. Unele izolate rezistente sau intermediar sensibile la tetracilină pot fi sensibile la doxiciclina sau minociclina.

^d **Rifampicina nu se utilizează în monoterapie!**



Tabel 4. Antibiotice propuse spre testare difuzimetrică de către CLSI (interpretare în text) pentru specii de enterococi¹

| | Enterococcus spp.^a |
|--|---|
| Grup A (testare, raportare primară) | Penicilină ^e Ampicilină |
| Grup B (testare primară, raportare selectivă) | Linezolid |
| | Vancomicină ^f |
| Grup C (testare suplimentală, raportare selectivă) | Gentamicină (screening rezistență de nivel înalt) |
| | Streptomicină (screening rezistență de nivel înalt) |
| Grup U (testare suplimentară pentru izolate urinare) | Ciprofloxacin |
| | Levofloxacin |
| | Norfloxacin |
| | Nitrofurantoin |
| | Tetraciclină |

^a **Atenție:** în cazul enterococilor **cefalosporinele, aminoglicozidele** (excepție aminoglicozidele cu concentrație crescută – gentamicină, streptomicina), **clindamicina, trimethoprim-sulfamethoxazol** pot părea active *in vitro* dar **nu sunt eficiente *in vivo***, nu se raportează ca sensibile!

^b Germenii sensibili la **tetraciclină** sunt sensibile și la **doxiciclină, minociclină**. Unele izolate rezistente sau intermediar sensibile la tetraciclină pot fi sensibile la doxiciclină sau minociclină.

^c **Rifampicina nu se utilizează în monoterapie!**

^d **Nu se raportează pentru izolatele urinare**

^e **Penicilina, ampicilina** se utilizează pentru prezicerea sensibilității față de **ampicilină, amoxicilină, ampicilină-sulbactam, amoxicilină-clavulanat, piperacilină, piperacilină-tazobactam** pentru tulpinile neproducătoare de β-lactamază. La izolatele din hemoculturi, LCR este indicată efectuarea testului de producere a β-lactamazei. Se recomandă **combinații de penicilină sau amoxicilină plus aminoglicozid** pentru

tratamentul infecțiilor grave (de ex. endocardită).

^f Dacă **vancomicina** se utilizează în tratamentul unei infecții grave (de ex. endocardită) cauzată de enterococi, se recomandă **asociere cu aminoglicozide**.



Tabel 5. Antibioticele propuse spre testare difuzimetrică de către CLSI (interpretare în text) pentru *Acinetobacter* spp, *Stenotrophomonas*, *Burkholderia cepacia*

| | Acinetobacter^{a,b} | <i>Stenotrophomonas^{a,b}</i> | <i>Burkholderia cepacia^{a,b}</i> |
|---|------------------------------------|--|---|
| Grup A (testare, raportare primară) | Ceftazidime | Trimethoprim-sulfamethoxazol (cotrimoxazol) | Trimethoprim-sulfamethoxazol (cotrimoxazol) |
| | Imipenem | | |
| | Meropenem | | |
| | Ampicilină-sulbactam | | |
| | Ciprofloxacina | | |
| | Levofloxacina | | |
| Grup B (testare primară, raportare selectivă) | Amikacin | Ceftazidim | Levofloxacina |
| | | Meropenem | |
| | Piperacilin-tazobactam | Minociclină | |
| | Ticarcilin-clavulanat | | |
| | Cefepime | | |
| | Cefotaxime | | |
| | Ceftriaxone | | |
| | Doxiciclină | | |
| | Tetraciclină | | |
| Piperacilină | | | |
| Trimethoprim-sulfamethoxazol (cotrimoxazol) | | | |

^a Non-Enterobacteriaceae-le se testează numai prin metoda diluțiilor (antibiograma cantitativă, determinarea concentrației minime inhibitorii). *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* pot fi testate difuzimetric numai pentru antibioticele ce figurează în tabel

^b Pot fi indicate în terapie și alte antibiotice, însă nu

există suficiente date pentru a putea stabili diametrele standard aplicabile



Tabel 6. Antibioticele propuse spre testare difuzimetrică de către CLSI (interpretare în text) pentru *Haemophilus* spp.

| | <i>Haemophilus</i> spp.^a |
|--|---|
| Grup A (testare, raportare primară) | Ampicilină ^{a, d} |
| | Trimethoprim-sulfametoxazol |
| Grup B (testare primară, raportare selectivă) | Cefotaxim ^a sau ceftazidime ^a sau ceftriaxon ^a |
| | Cefuroxime sodium (parenteral) |
| | Cloramfenicol ^a |
| | Meropenem ^{a, e} |
| Grup C (testare suplimentară, raportare selectivă) | Azitromicină ^b sau Claritromicină ^b |
| | Cefpodoxime ^b |
| | Cefaclor ^b |
| | Ciprofloxacin sau Levofloxacin sau Ofloxacin |
| | Cefuroxim axetil ^b (oral) |
| | Ertapenem sau imipenem |
| | Rifampicină |
| | Tetraciclină ^c |

^a Pentru izolatele din LCR se raportează numai rezultatele pentru ampicilină, o cefalosporină de generația a III-a, cloramfenicol și meropenem.

^b Amoxicilina-acid clavulanic, azitromicina, claritromicina, cefaclorul, cefpodoximul, cefuroximaxetil, sunt antibiotice orale utilizabile în infecții ale căilor respiratorii cauzate de *Haemophilus* spp. Rezultatele testării in vitro nu sunt întotdeauna folosibile în managementul pacienților. Testarea acestor antibiotice poate fi efectuată cu scop epidemiologic, de supraveghere.

^c Germenii sensibili la **tetraciclină** sunt sensibile și la **doxiciclină, minociclină**. Unele izolate rezistente sau intermediar sensibile la tetraciclină pot fi sensibile la doxiciclină sau minociclină.

^d Rezultatele obținute pentru ampicilină se folosesc pentru prezicerea activității amoxicilinei. Majoritatea izolatelor de *Haemophilus influenzae* rezistente la ampicilină produc β-lactamaze de tip TEM. Testul β-lactamazei directe asigură detectarea rapidă a rezistenței față de ampicilină, amoxicilină.

^e Indicații clinice și patogen semnificativ: meningită bacteriană, meningită cauzată de *H. influenzae* (tulpini producătoare sau neproducătoare de β-lactamaze) asociată cu bacteriemie



Tabel 7. Antibioticele propuse spre testare difuzimetrică de către CLSI (interpretare în text) pentru *Neisseria* spp.

| | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> |
|--|---|
| Grup A (testare, raportare primară) | |
| Grup B (testare primară, raportare selectivă) | |
| Grup C (testare suplimentară, raportare selectivă) | Cefotaxime sau ceftriaxon |
| | Cefuroxim |
| | Cefaclor |
| | Ciprofloxacina sau Ofloxacina |
| | Penicilină |
| | Tetraciclină ^c |

^a Testul β-lactamazei rapide poate detecta unele forme de rezistență la penicilină. Tulpinile cu rezistență mediată cromosomal pot fi detectate numai utilizând alte metode, ca de exemplu metoda difuzimetrică sau determinarea concentrației minime inhibitorii.



Tabel 8. Antibioticele propuse spre testare difuzimetrică de către CLSI (interpretare în text) pentru *Streptococcus pneumoniae*

| | <i>Streptococcus pneumoniae</i> ^f |
|--|--|
| Grup A (testare, raportare primară) | Eritromicină ^{a, d} |
| | Penicilină (cu disc de oxacilină) ^b |
| | Trimethoprim-sulfametoxazol |
| Grup B (testare primară, raportare selectivă) | Clindamicină |
| | Levofloxacin |
| | Moxifloxacin |
| | Ofloxacin |
| | Tetraciclina ^c |
| Vancomicină ^b | |
| Grup C (testare suplimentară, raportare selectivă) | Cloramfenicol ^d |
| | Linezolid |
| | Rifampicină ^e |

^a Sensibilitatea, rezistența față de claritromicină, azitromicină pot fi determinate utilizând discul de eritromicină

^b **penicilina, cefotaximul, ceftriaxona și meropenemul trebuie testate prin metodă cantitativă** (determinarea concentrației minime inhibitorii) și raportate de rutină în cazul izolatelor din **LCR**. Aceste izolate trebuie testate și față de **vancomicină** de asemenea preferabil prin metodă cantitativă. Pentru izolatele obținute din alte produse poate fi utilizată **testul screening cu oxacilină**. În cazul în care diametrul zonei de inhibiție este ≥ 20 mm, tulpina poate fi raportată sensibil față de β -lactamine. Dacă diametrul este mai mic sau egal cu 19 mm, trebuie determinată concentrația minimă inhibitorie a penicilinei, cefotaximului și ceftriaxonului.

^c Germenii sensibili la **tetraciclina** sunt sensibile și la **doxiciclina, minociclina**. Unele izolate rezistente sau intermediar sensibile la tetraciclina pot fi sensibile la doxiciclina sau minociclina.

^d Nu se raportează pentru izolatele din urină.

^e Rifampicina nu se folosește în monoterapie

^f **Amoxicilina, amoxicilina-acid claculanic, cefepim, cefotaxim, ceftriaxon, cefuroxim, imipenemul și meropenemul** pot fi utilizate în infecții pneumococice. Testare sensibilității față de acestea nu standardizată prin metoda difuzimetrică, este necesară determinarea concentrației minime inhibitorii ale acestor antibiotice.



Tabel 9. Antibioticele propuse spre testare difuzimetrică de către CLSI (interpretare în text) pentru streptococi, altele decât *Streptococcus pneumoniae*

| | |
|--|--|
| | streptococi, altele decât <i>Streptococcus pneumoniae</i> |
| Grup A (testare, raportare primară) | Eritromicină ^{a, b, c} |
| | Penicilină ^{d, e, f} sau ampicilină ^{e, f} |
| Grup B (testare primară, raportare selectivă) | Cloramfenicol ^b |
| | Clindamicină ^{b, c} |
| | Vancomicină |
| Grup C (testare suplimentară, raportare selectivă) | Levofloxacin ^e |
| | Ofloxacin ^e |
| | Linezolid |
| | Cefepim sau cefotaxim sau ceftriaxon |

^a Sensibilitatea, rezistența față de **claritromicină, azitromicină** pot fi determinate utilizând discul de **eritromicină**

^b Nu se raportează pentru izolatele din urină.

^c Pentru **profilaxia intrapartum a streptococului de grup B** se recomandă **penicilina** sau **ampicilina**. Femeilor cu risc scăzut pentru reacție anafilactică se recomandă cefazolin, celor cu risc crescut clindamicină sau eritromicină. Streptococul de grup B este sensibil față de ampicilină, penicilină, cefazolin, dar poate fi rezistent față de clindamicină și/sau eritromicină. În caz de alergie severă față de penicilină (risc la reacție anafilactică crescută), trebuie testată sensibilitatea față de eritromicină, clindamicină.

^d Sensibilitatea față de **penicilină** sau **ampicilină** a streptococilor grup **viridans** izolate din hemocultură sau zone obișnuit sterile (de ex. LCR) se testează prin metodă cantitativă – se determină **concentrația minimă inhibitorie**.

^e Criteriile interpretative pentru metoda difuzimetrică la penicilină, ampicilină, levofloxacin, ofloxacin se referă numai la streptococii beta hemolitici.

^f **Testare de rutină a sensibilității față de penicilină și alte beta-lactamine nu se recomandă** în cazul speciilor *Streptococcus pyogenes* și *Streptococcus agalactiae*, pentru că **nu există tulpini rezistente** față de aceste antibiotice. Criteriile interpretative (diametrele) sunt definite pentru cercetări farmaceutice, epidemiologie sau monitorizarea apariției rezistenței. Orice tulpină identificată ca și rezistentă trebuie trimisă unui laborator de referință pentru confirmare.