
ANTYBIOGRAM

Leczenie antybiotykami, aby było skuteczne, powinno uwzględniać wrażliwość danej bakterii na antybiotyk. Antybiogram jest wykonywany w celu określenia tej wrażliwości. Ze względu na tempo, w jakim pojawiają się odporne szczepy bakteryjne, badanie to jest niezbędne w przypadku poważniejszych zakażeń lub gdy wiadomo, że drobnoustroj patogeny jest mało wrażliwy na antybiotyki. Wykonywanie antybiogramu nie powinno jednak być rutynowe. W wielu przypadkach antybiotykoterapia oparta na danych epidemiologicznych uwzględniających kryteria regionalne pozwala na szybkie i skuteczne leczenie.

Techniki wykonania badania

ANTYBIOGRAM WYKONYWANY METODĄ ROZCIEŃCZEŃ W PODŁOŻU PŁYNNYM LUB STAŁYM

Wykonuje się serię rozcieńczeń antybiotyku w postępie geometrycznym o ilorazie 2 w probówkach (lub płytkach z agarem). Probówka kontrolna nie zawiera antybiotyku.

Do każdej próbki dodaje się odpowiednio rozcieńczoną kulturę bakteryjną, tak aby otrzymać niewykrywalne gołym okiem stężenie 10^6 bakterii na ml.

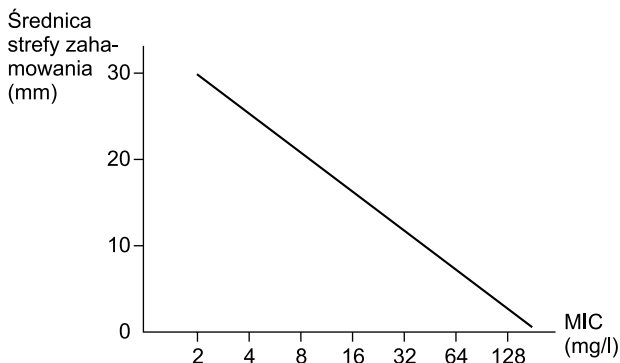
Najmniejsze stężenie hamujące (MIC) antybiotyku w stosunku do badanego szczepu bakterii określa się jako najmniejsze stężenie, które hamuje jakikolwiek wzrost bakterii możliwy do stwierdzenia gołym okiem po 18–24-godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C .

Metoda rozcieńczeń jest czasochłonna (nawet jeśli zastosowanie podłoży stałych pozwala na badanie kilku szczepów naraz) i wymaga ostrożności, dlatego obecnie stosuje się prostszą technikę dyfuzyjną.

ANTYBIOGRAM WYKONYWANY METODĄ DYFUZJI Z KRĄŻKA W AGARZE

Krażki bibuły nasyczone znaną dawką antybiotyku umieszcza się na powierzchni podłoża stałego (Mueller–Hinton), na które uprzednio naniesiono zawiesinę bakterii ($10^6/\text{ml}$) w szalce Petriego.

Antybiotyk dyfunduje w agarze, a jego stężenie jest tym mniejsze, im większa jest odległość od środka krażka.



Po 18–24-godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C wokół każdego krążka powstaje strefa zahamowania wzrostu bakterii, której średnica jest większa lub mniejsza, zależnie od zastosowanego antybiotyku.

Im większa jest średnica strefy zahamowania wzrostu kolonii bakteryjnej, tym większa jest wrażliwość szczepu na dany antybiotyk, a im mniejsza jest ta średnica, tym większa jest oporność szczepu. Zależność między średnicą a MIC ma charakter liniowy; została ona ustalona wcześniej na podstawie badań wielu szczepów i jest przedstawiona na wykresie (patrz wyżej), z którego odczytuje się MIC.

METODY AUTOMATYCZNE

Obecnie w wielu laboratoriach stosuje się automaty, które nakładają inokulum bakteryjne na płytki zawierające antybiotyki w różnych stężeniach. Po kilkugodzinnej inkubacji wzrost bakterii oceniany jest metodą turbidymetryczną. Wyniki są opracowywane i opatrywane komentarzem przez system komputerowy. Wyniki otrzymywane tą metodą są szybkie i pewne, pod warunkiem że skład zestawu płytek jest regularnie weryfikowany przez producenta zależnie od rozwijanej przez szczepy bakteryjne lekooporności.

Wyniki

Znajomość MIC pozwala na oszacowanie wrażliwości danego drobnoustroju na antybiotyk. Wrażliwość ta zazwyczaj jest większa, ponieważ MIC jest najczęściej mniejsze i bardziej odległe od stężeń antybiotyków przeciętnie występujących w surowicy przy stosowaniu zwykłych dawek.

Przy zastosowaniu metody krążkowej szczep bakteryjny może zostać określony jako wrażliwy (S), średniowrażliwy (I) lub oporny (R) przez porównanie średnicy strefy zahamowania do średnic granicznych ustalonych przez Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (Komitet ds. Oznaczenia Wrażliwości Drobnoustrojów Francuskiego Towarzystwa Mikrobiologicznego – przyp. tłum.):

– *szczep wrażliwy* jest to szczep poddający się leczeniu zwykłymi dawkami antybiotyków podawanych ogólnoustrojowo;

– *szczep średniowrażliwy* jest to szczep poddający się miejscowemu leczeniu antybiotykami, leczeniu zwiększonymi dawkami antybiotyków podawanych ogólnoustrojowo lub leczeniu szczególnym stężeniem antybiotyku *in situ*;

– *szczep oporny*: jest to szczep niereagujący na leczenie bez względu na sposób leczenia i zastosowane dawki.

Granice tych kategorii wrażliwości należy traktować jako umowne, a nie jako ścisły opis właściwości bakterii. To stanowi trudność w interpretacji antybiogramu.

Wielość mechanizmów leżących u podstaw oporności bakteryjnej – z każdym dniem lepiej poznawanych – komplikuje te proste schematy. Obecnie w celu dokonania prawidłowej oceny antybiogramu laboratorium ustala fenotyp oporności z zastosowaniem kombinacji poszczególnych antybiotyków jako markerów. Wysnuwa się również wnioski dotyczące mechanizmu lekooporności za pomocą odpowiednich systemów komputerowych, posługując się w razie potrzeby badaniami enzymów inaktywujących antybiotyki, np. beta-laktamazy.

Mimo wielkiej pomocy, jaką zyskuje się dzięki temu badaniu, lekarz musi pamiętać, że jeśli przepisze za małą dawkę leku lub niewłaściwie ustali dobowy rytm jego podawania, lub też nie weźmie pod uwagę pewnych niezgodności farmakologicznych, to wynik antybiogramu będzie bezużyteczny.

Należy również pamiętać o tym, że wynik antybiogramu jest wiążący wyłącznie w przypadku narządów lub płynów ustrojowych, w których dyfuzja antybiotyku jest porównywalna do jego dyfuzji we krwi.

Inne metody

W przypadku trudności terapeutycznych antybiogram można uzupełnić przez określenie minimalnego stężenia bakterioobójczego, badanie aktywności danej kombinacji antybiotyków *in vitro* oraz badanie siły bakterioobójczej surowicy.