

The background of the slide is a dark blue, textured surface. In the upper left quadrant, there is a pile of numerous colorful pills and capsules in various shapes and sizes, including red, white, yellow, blue, and pink. The lower half of the image features a microscopic view of bacteria, with several large, pink, rod-shaped bacteria and clusters of smaller, purple, spherical bacteria. The title 'Antibiogramma' is written in a large, bold, yellow font with a white outline, and the author's name 'Dott. Semih ESIN' is written in a smaller, white font below it.

Antibiogramma

Dott. Semih ESIN

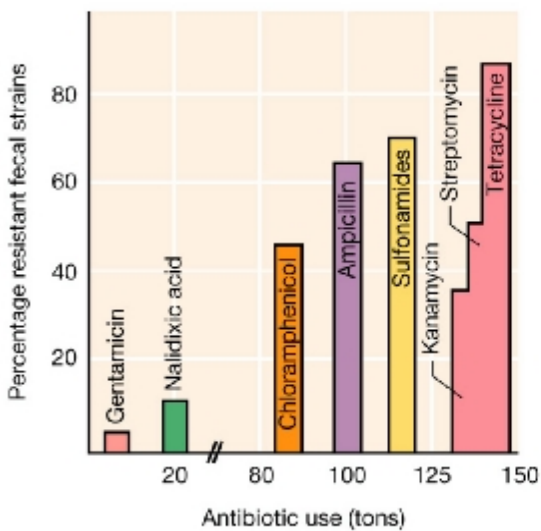
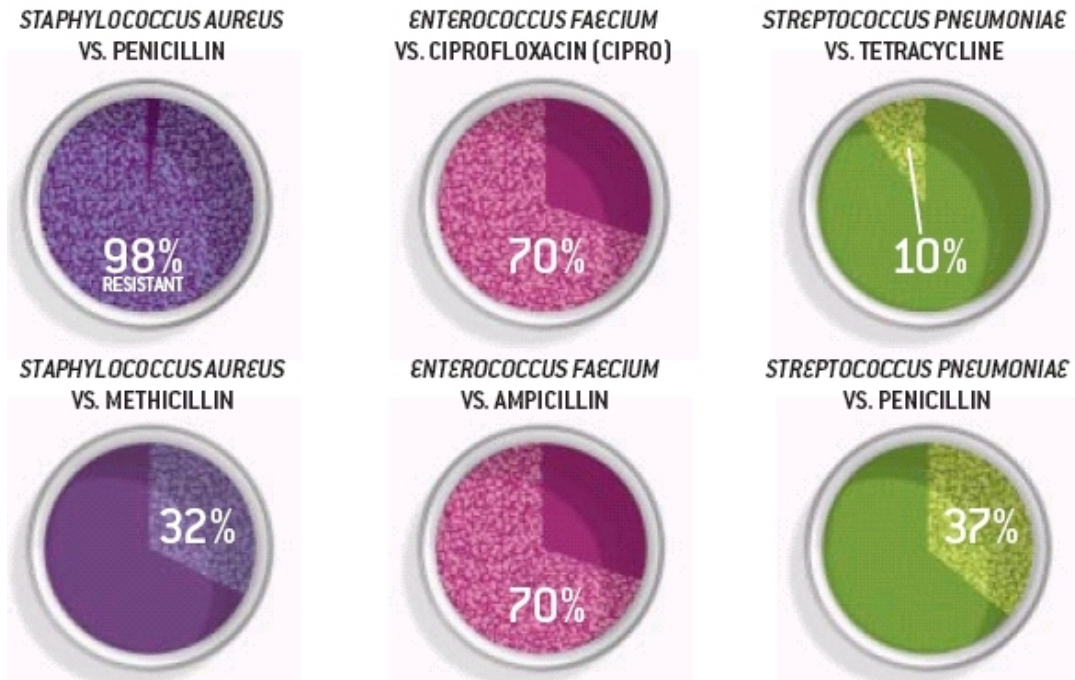
Antibiogramma:

**Indagine di laboratorio per saggiare
la suscettibilità di un microrganismo
ai farmaci antibatterici**

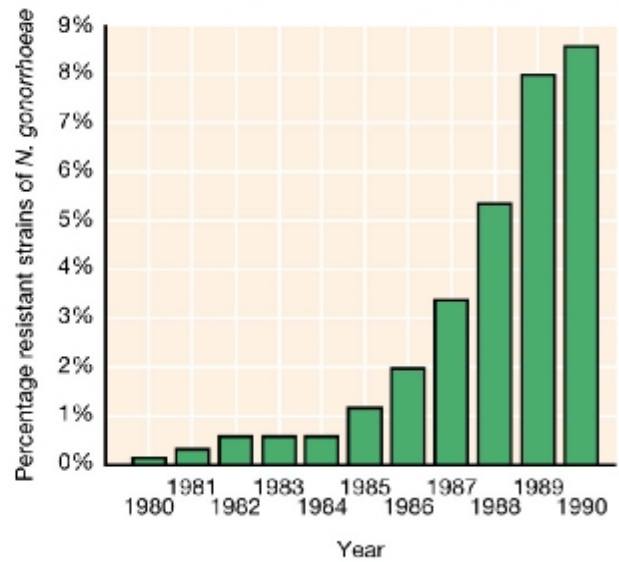
A causa della ormai vasta diffusione del fenomeno della farmaco-resistenza, il test di sensibilità agli antibiotici è essenziale per la maggior parte dei microrganismi isolati dai pazienti per la scelta dell'antibiotico migliore per il trattamento.

Il microbiologo clinico, impiegando le informazioni relative alla sensibilità ai farmaci, costruisce gli antibiogrammi, che indicano la sensibilità dei microrganismi isolati in clinica nei confronti degli antibiotici attualmente in uso.

Resistenza ai farmaci

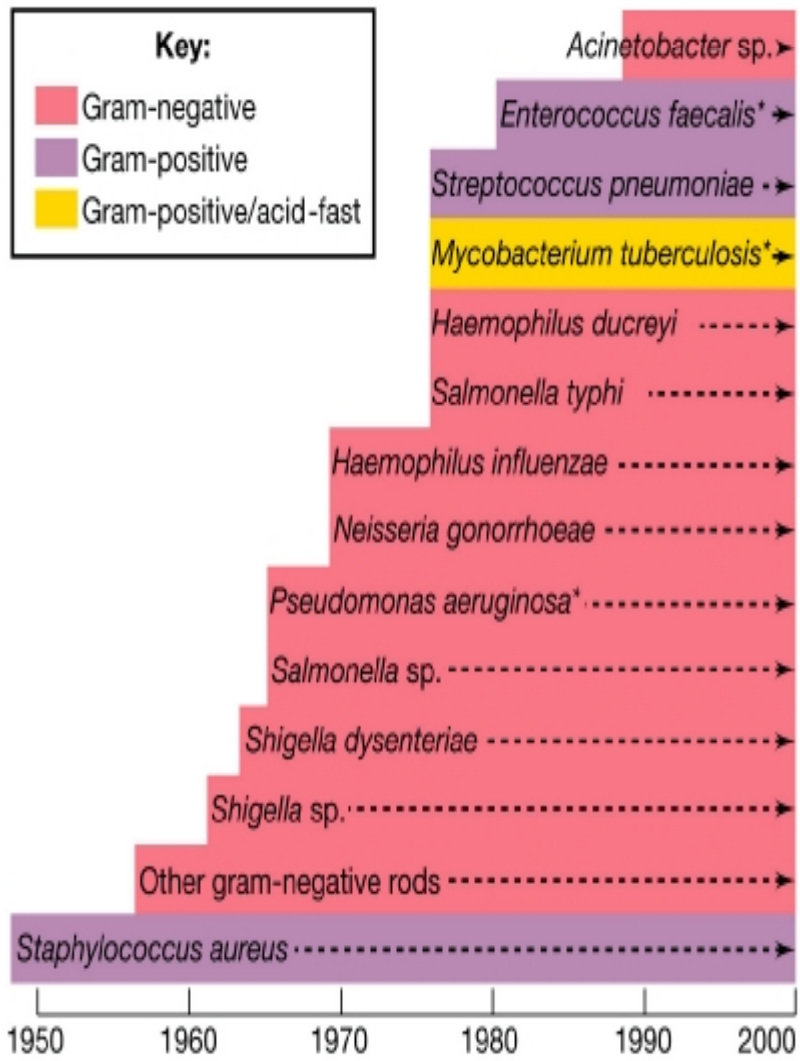


(a)



(b)

L'uso inappropriato ed esagerato di farmaci antimicrobici sta portando a un rapido sviluppo, nei microrganismi patogeni, di resistenze specifiche a tali sostanze. La scoperta e l'impiego in clinica di molti antibiotici è andata di pari passo con la comparsa di batteri resistenti alla loro azione.



Antibiogramma: diagramma di flusso

Campione clinico prelevato prima dell'inizio della terapia antimicrobica



Isolamento ed identificazione dell'agente patogeno



Antibiogramma



Scelta dell'antibiotico o rivalutazione della terapia

MIC (**M**inimum **I**nhibiting **C**oncentration; minima concentrazione inibente) La concentrazione più bassa del composto in esame necessaria per inibire la crescita di un dato organismo.

MBC (**M**inimum **B**actericidal **C**oncentration; minima concentrazione battericida) La concentrazione più bassa del composto in esame necessaria per provocare la morte di più del 99.9% di un dato organismo.

Metodi per determinare la suscettibilità dei microrganismi ai farmaci

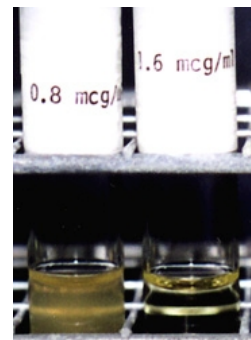
Metodi basati sulla diffusione in agar (terreno solido)

Kirby-Bauer



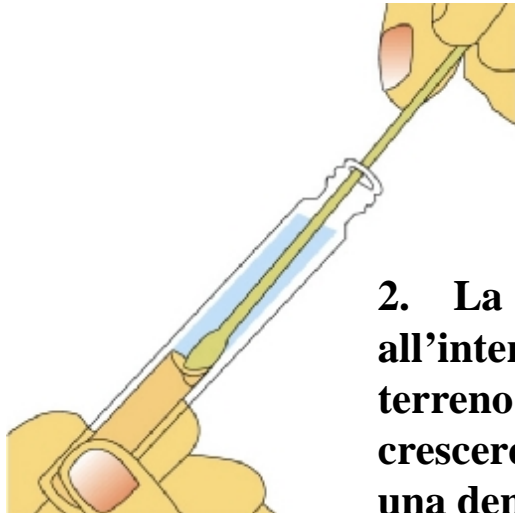
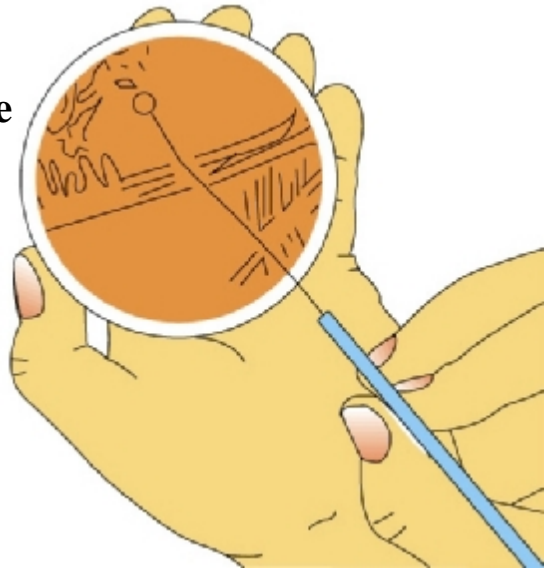
Metodi basati sulla diluizione dell'antibiotico (terreno liquido)

Determinazione della minima concentrazione inibente (MIC)

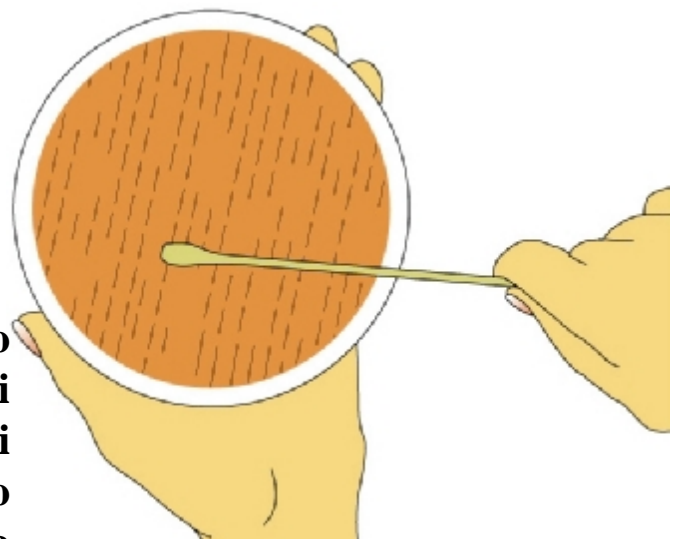


Procedura di Kirby-Bauer per determinare la sensibilità di un microrganismo agli antibiotici

1. Una colonia isolata viene prelevata da una piastra di agar.

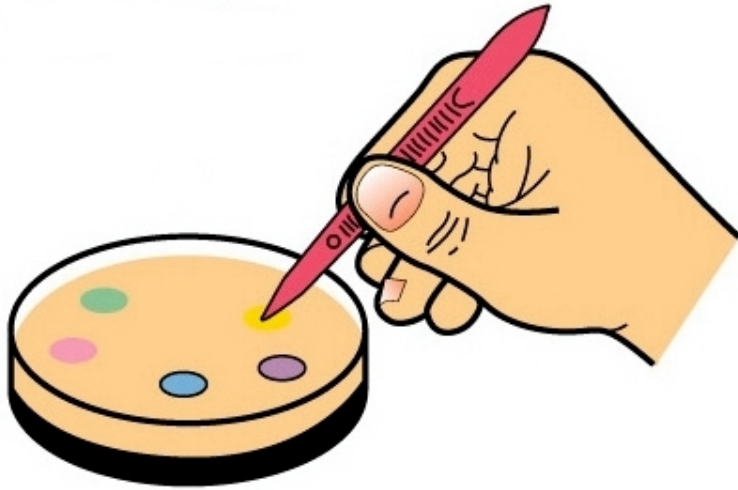


2. La colonia viene inoculata all'interno di un tubo contenente terreno di coltura liquido e lasciata crescere sino al raggiungimento di una densità specifica.

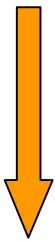


3. Un tampone viene introdotto nella coltura liquida e poi strisciato su tutta la superficie di una piastra di agar sterile in modo da ottenere una crescita batterica consistente ed uniforme.

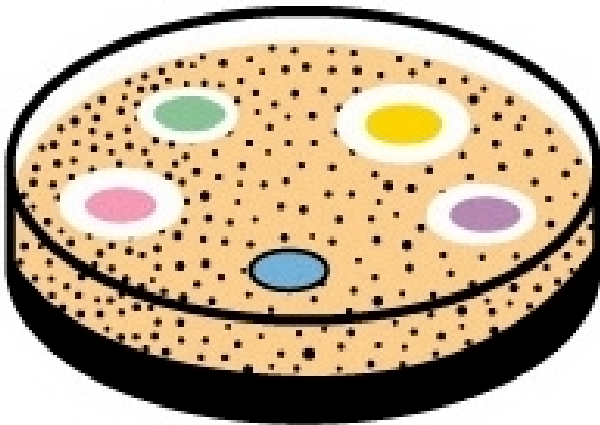
Procedura di Kirby-Bauer per determinare la sensibilità di un microrganismo agli antibiotici



4. Filtri di carta a forma di disco (carta bibula –assorbente–) contenenti concentrazioni note di diversi agenti antimicrobici vengono posti sulla piastra.

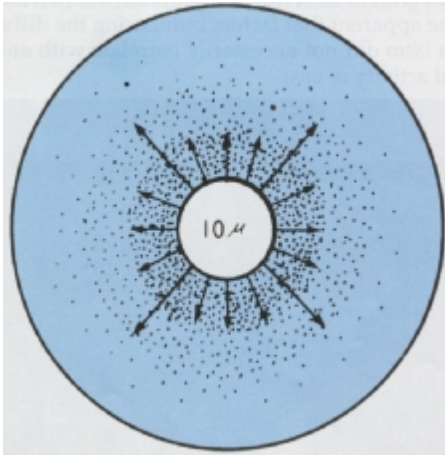


5. Incubazione di 18 ore in 35°C per consentire la crescita batterica.



6. Viene valutata la presenza e vengono misurate le dimensioni (diametro in mm) degli eventuali aloni di inibizione della crescita attorno ai dischetti dei differenti agenti ed i valori ottenuti vengono paragonati a quelli standard, in modo da stabilire se l'isolato è sensibile o meno ad un dato antibiotico.

Il metodo di Kirby-Bauer: interpretazione dei risultati



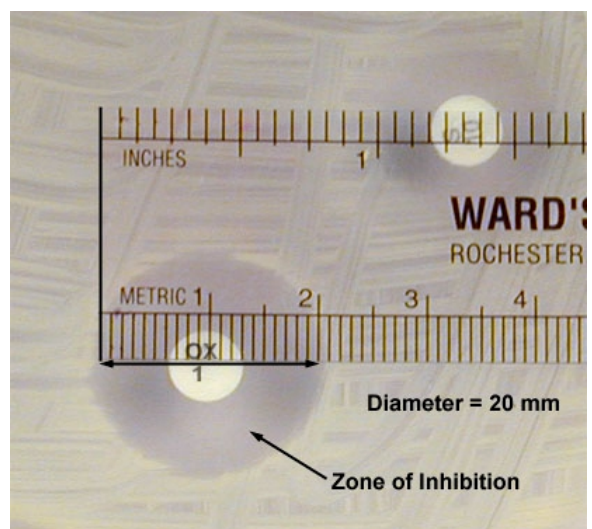
Quantità note dell'agente antimicrobico sono assorbite su dischetti di carta da filtro che vengono poi depositati sulla superficie del terreno agarizzato.

L'agente antimicrobico diffonde dal dischetto nell'agar creando un **gradiente di concentrazione**: quanto più ci si allontana dal dischetto, tanto minore sarà la sua concentrazione, fino al punto in cui si raggiungerà la **concentrazione critica** (MIC approssimata). Al di là di questo punto si avrà crescita confluenta, mentre nella zona più vicina al dischetto la crescita sarà assente. La zona in cui non si è avuta crescita viene chiamata **alone di inibizione**.

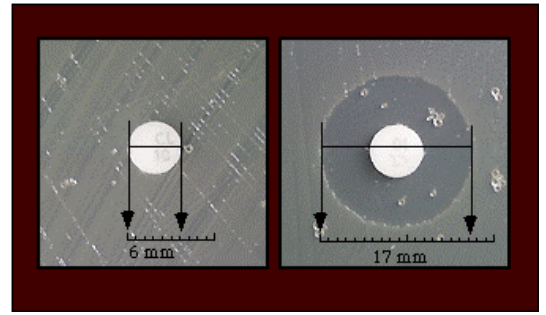
Il metodo di Kirby-Bauer: interpretazione dei risultati

ANTIMICROBIAL AGENT	DISC CODE	R = mm or less	I = mm range	S = mm or more
amoxicillin (Staph)	AMC	19		20
amoxicillin (other bacteria)	AMC	13	14-17	18
ampicillin (Staph)	AM	28		29
ampicillin (other bacteria)	AM	11	12-13	14
carbenicillin (Pseudomonas)	CB	13	14-16	17
carbenicillin (other bacteria)	CB	17	18-22	23
cefoxatime	CTX	14		23
cephalothin	CF	14	15-17	18
chloramphenicol	C	12	13-17	18
erythromycin	E	13	14-22	23
gentamycin	GM	12	13-14	15
methicillin (used for Staph only)	M (or DP)	9	10-13	14
penicillin	P	28		29
streptomycin	S	11	12-14	15
sulfamethoxazole-trimethoprim	SXT-TMP	10	11-15	16
tetracycline	TE	14	19	

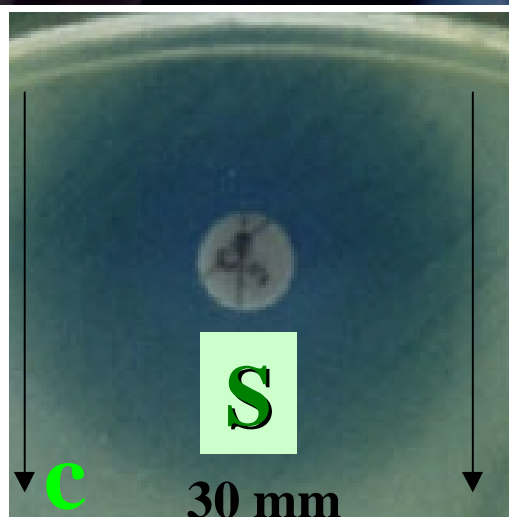
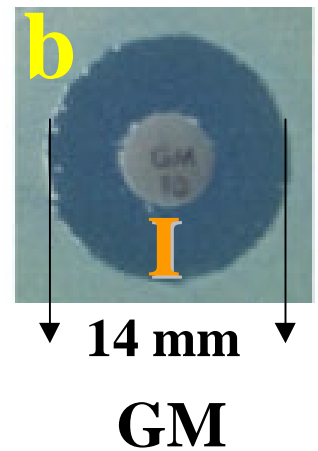
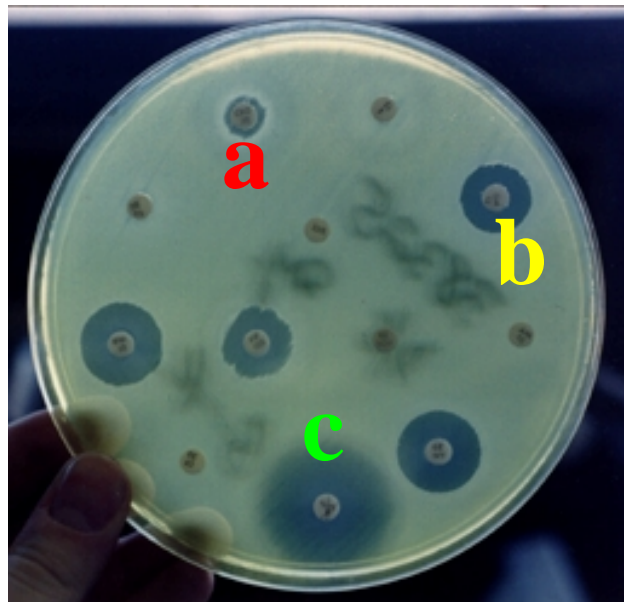
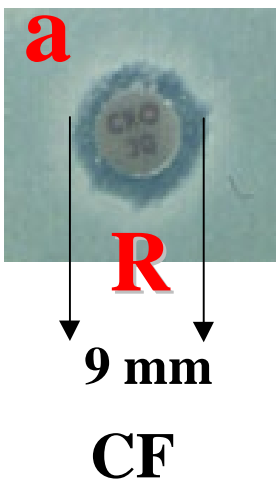
Il diametro degli aloni di inibizione osservati sulla piastra viene misurato (in mm) ed i valori ottenuti paragonati a quelli standard per il ceppo batterico, in modo da stabilire se l'isolato è sensibile o meno ad un dato antibiotico (**Sensibile**, **Intermedio**, **Resistente**).



Il metodo di Kirby-Bauer: interpretazione dei risultati



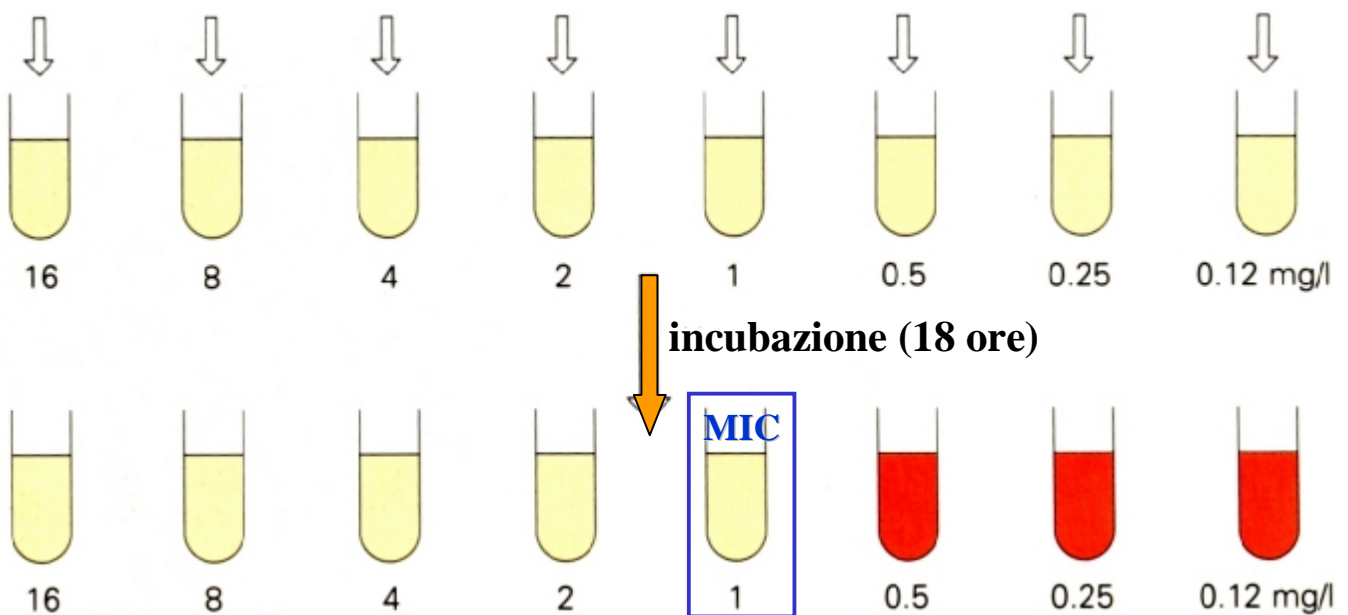
ANTIMICROBIAL AGENT		R = mm or less	I = mm range	S = mm or more
carbenicillin	CB	17	18-22	23
cephalothin	CF	14	15-17	18
gentamycin	GM	12	13-14	15



CB

Tecnica delle diluizioni scalari

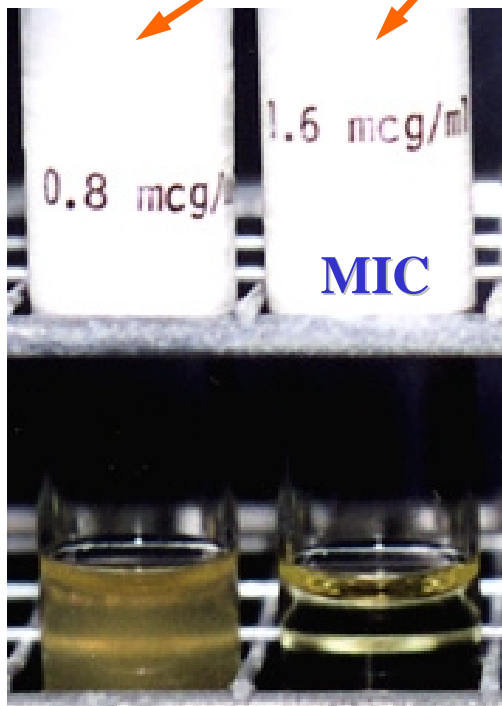
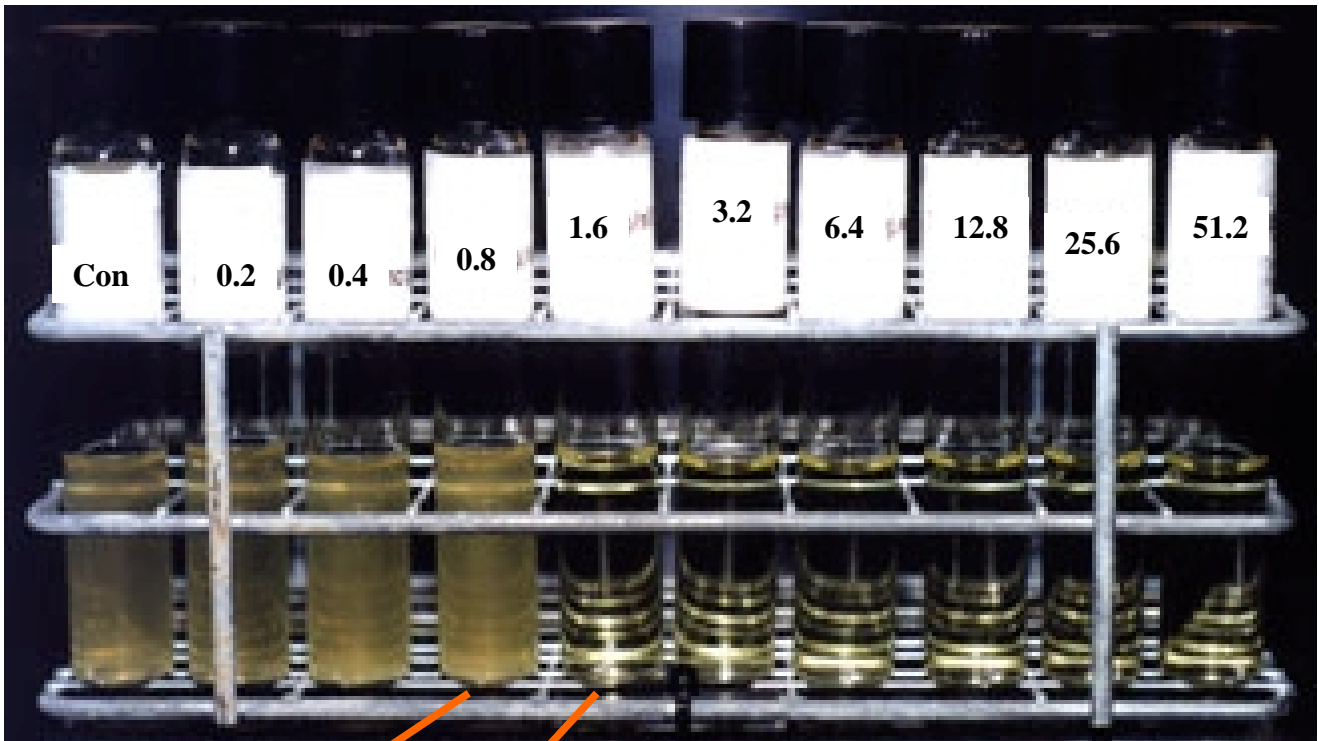
1. Ad una serie di provette contenenti il terreno di coltura (brodo di Mueller-Hinton) vengono aggiunte diluizioni scalari (in ragione di 2) dell'antibiotico da saggiare.
2. Ogni provetta viene inoculata con una quantità standard (10^5 - 10^8 CFU/ml) del microrganismo in esame.



3. Dopo 18 ore di incubazione, le provette vengono controllate per la presenza di una crescita batterica visibile (torbidità): l'assenza di torbidità visibile del terreno di coltura denota un'inibizione completa della crescita microbica.

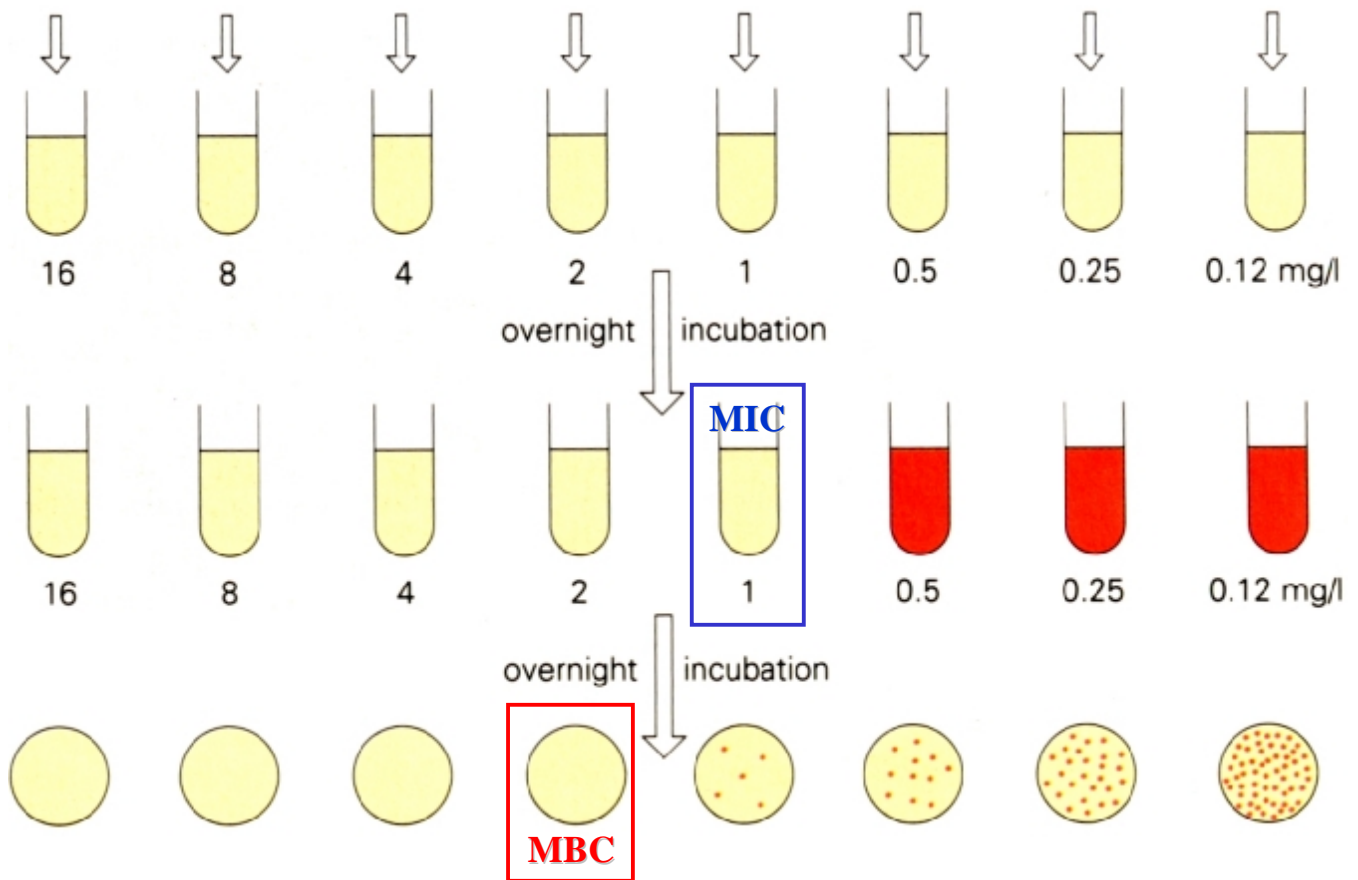
La sensibilità del microrganismo nei confronti dell'antibiotico è espressa come la più alta diluizione (cioè la più bassa concentrazione) di antibiotico capace di inibire completamente la crescita del microrganismo stesso (**minima concentrazione inibente=MIC**).

Tecnica delle diluizioni scalari (macrodiluzione)



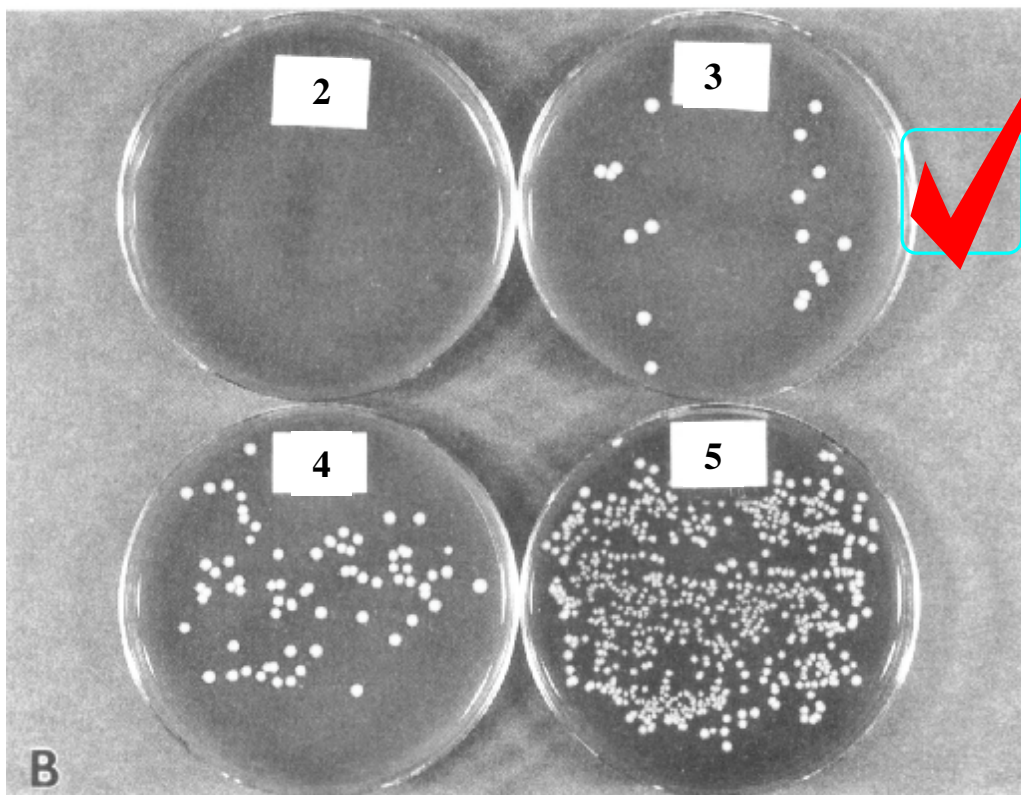
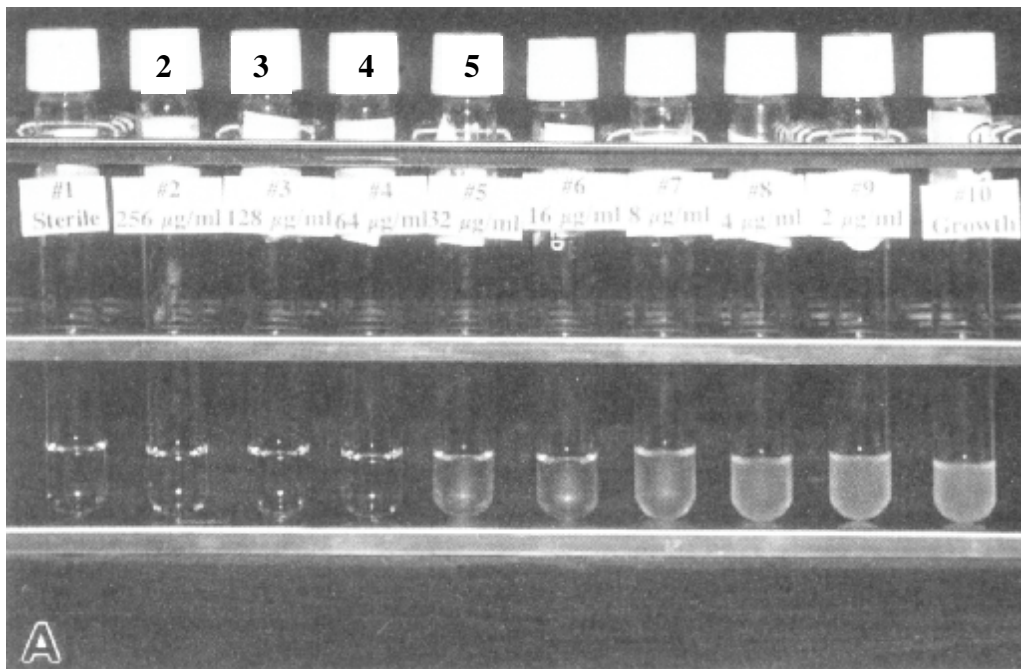
MIC (Minimum Inhibiting Concentration; minima concentrazione inibente) La concentrazione più bassa del composto in esame necessaria per inibire la crescita di un dato organismo.

Saggio di MIC e MBC



MBC (Minimum Bactericidal Concentration; minima concentrazione battericida) La concentrazione più bassa del composto in esame necessaria per provocare la morte di più del 99.9% di un dato organismo.

Concentrazione minima battericida (MBC)



$n^{\circ}3=17$ c.f.u.; $n^{\circ}4=66$ c.f.u.; $n^{\circ}5=2000$ c.f.u.
(inoculo= 0.5×10^5 c.f.u.)

Sensibilità agli antibiotici determinata attraverso il metodo delle microdiluzioni

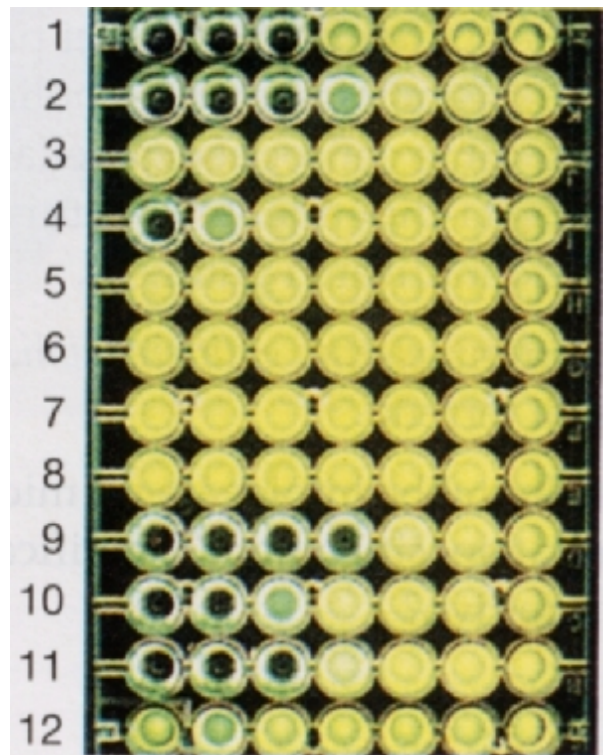
Ciascuna fila (orizzontale) di pozzetti contiene un diverso antibiotico. L'uso di una piastra per microtitolazione consente di automatizzare questo tipo di test.

La MIC corrisponde al pozzetto contenente la più bassa concentrazione di antibiotico alla quale non c'è evidenza di crescita batterica.

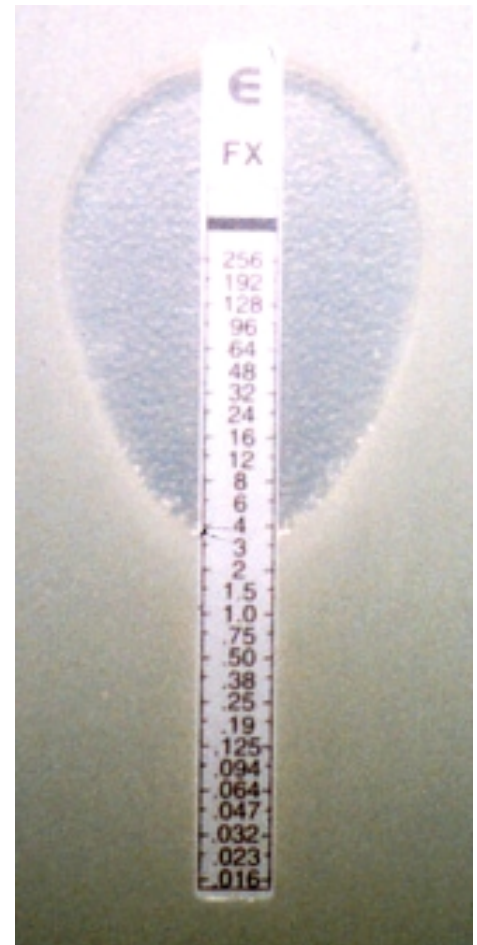
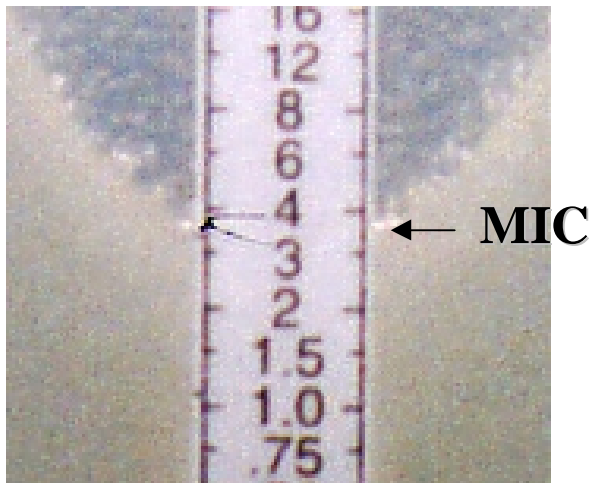
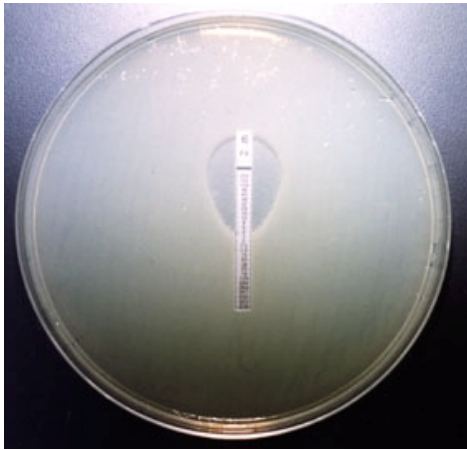
La più alta concentrazione di antibiotico è presente nel pozzetto a sinistra; le diluizioni seriali procedono nei pozzetti a destra.

Per esempio, nelle file 1 e 2, il titolo è nel terzo pozzetto. Nella fila 3 l'antibiotico è inefficace alle concentrazioni testate, per cui c'è crescita batterica in tutti i pozzetti.

Nella fila 4, la MIC è nel primo pozzetto.

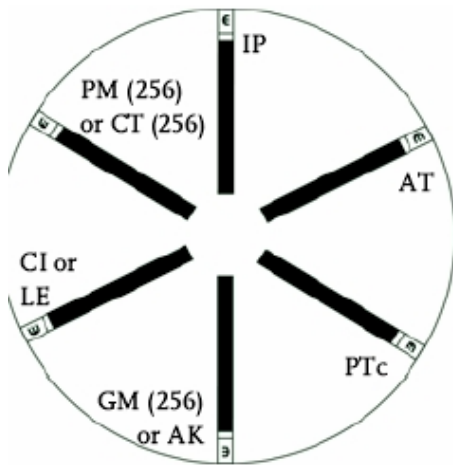


Sistemi Commerciali: E-Test (AB Biodisk)

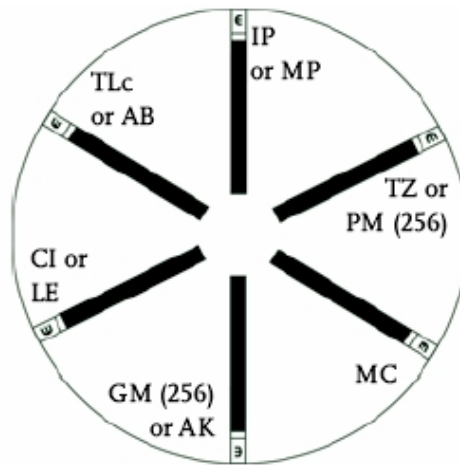


L'E-test impiega strisce impregnate di antibiotico poste sulla superficie dell'agar. Il principio del test è analogo a quello del metodo per diffusione. La striscia contiene concentrazioni crescenti di antibiotico che sono indicate sulla striscia stessa. Dopo incubazione il valore di MIC corrisponde alla concentrazione di antibiotico a cui l'alone di inibizione interseca la striscia.

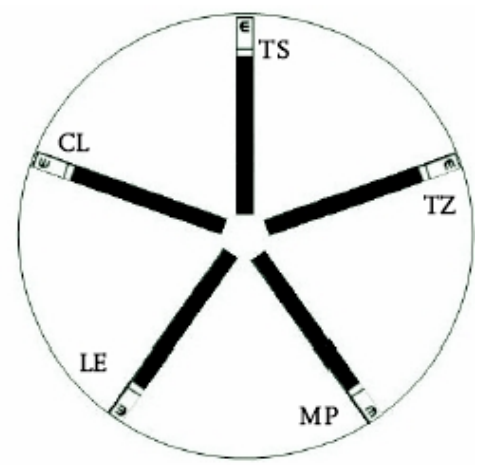
E-Test (Applicazione & Interpretazione)



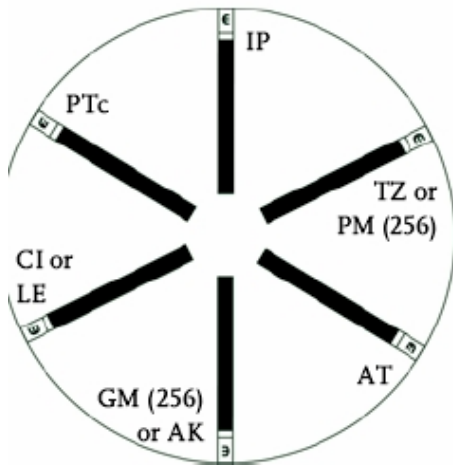
Enterobacteriaceae



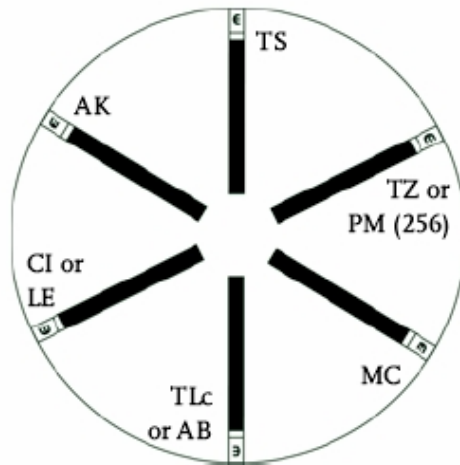
Acinetobacter spp.



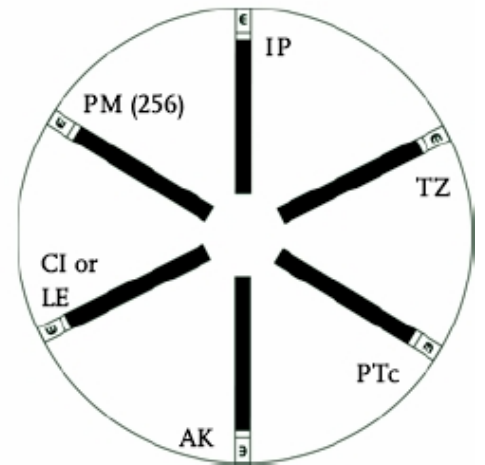
Burkholderia spp.



Pseudomonas spp.



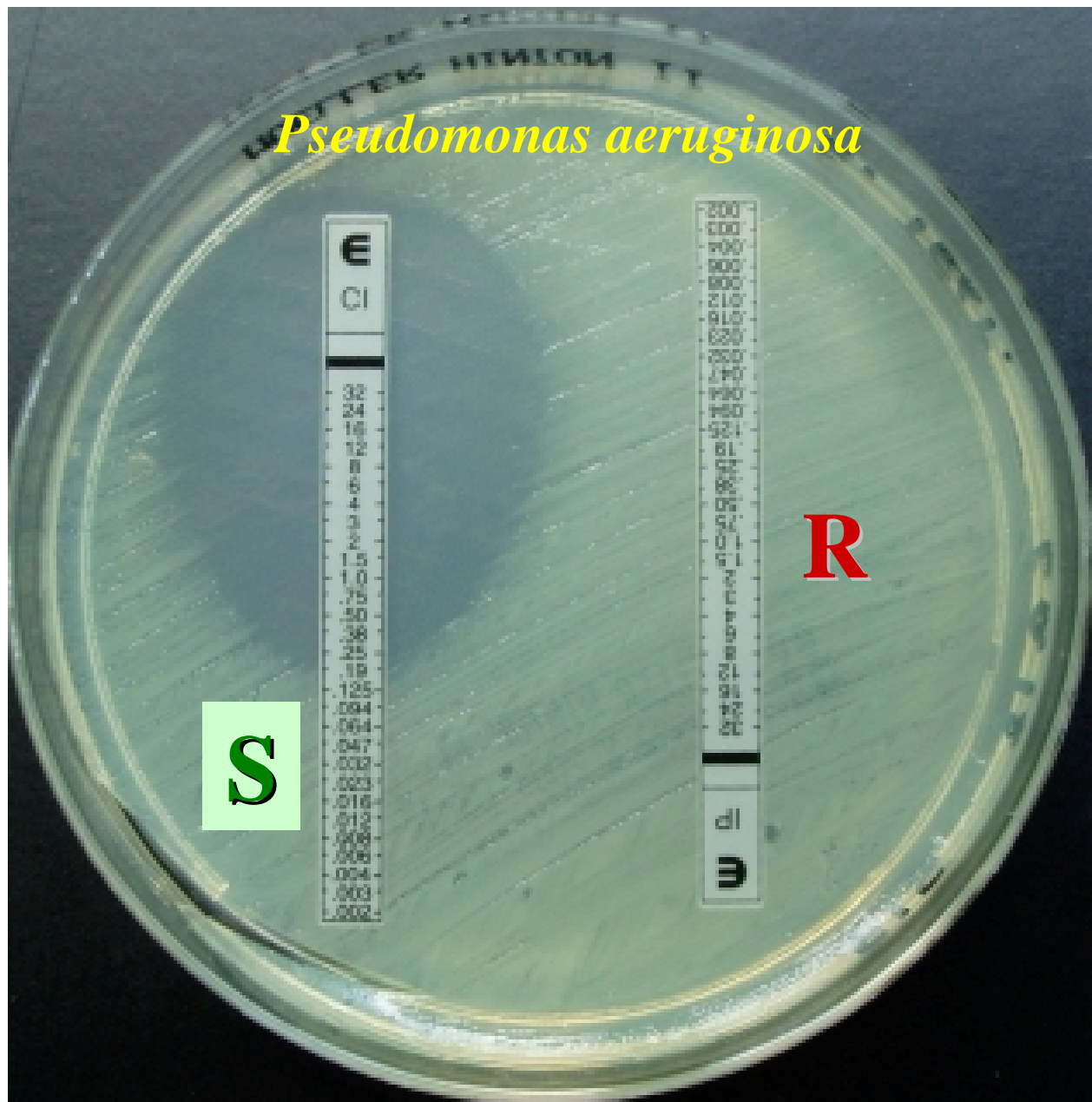
Stenotrophomonas spp.



Mucoid organisms from cystic fibrosis e.g. *Klebsiella*, *Enterobacter* and *P. aeruginosa*

	S	I	R		S	I	R
Amikacin	≤16	32	≥64	Meropenem	≤4	8	≥16
Amp/Sulb 2/1 ¹⁾	≤8	16	≥32	Minocycline	≤4	8	≥16
Aztreonam ⁶⁾	≤8	16	≥32	Pip/Tazo 4 ¹⁾			
Cefepime	≤8	16	≥32	<i>P. aeruginosa</i>	≤64	-	≥128
Cefotaxime ⁶⁾	≤8	16-32	≥64	Others	≤16	32-64	≥128
Ceftazidime ⁶⁾	≤8	16	≥32	Tetracycline ²⁾	≤4	8	≥16
Chloramphenicol	≤8	16	≥32	Ticar/Clav 2 ¹⁾			
Ciprofloxacin	≤1	2	≥4	<i>P. aeruginosa</i>	≤64	-	≥128
Gentamicin	≤4	8	≥16	Others	≤16	32-64	≥128
Imipenem	≤4	8	≥16	Trim/Sulfa 1/19 ¹⁾	≤2	-	≥4
Levofloxacin	≤2	4	≥8				

E-Test (Interpretazione)



CI: ciprofloxacin; IP: imipenem

	<u>S</u>	<u>I</u>	<u>R</u>
Ciprofloxacin	≤ 1	2	≥ 4
Imipenem	≤ 4	8	≥ 16

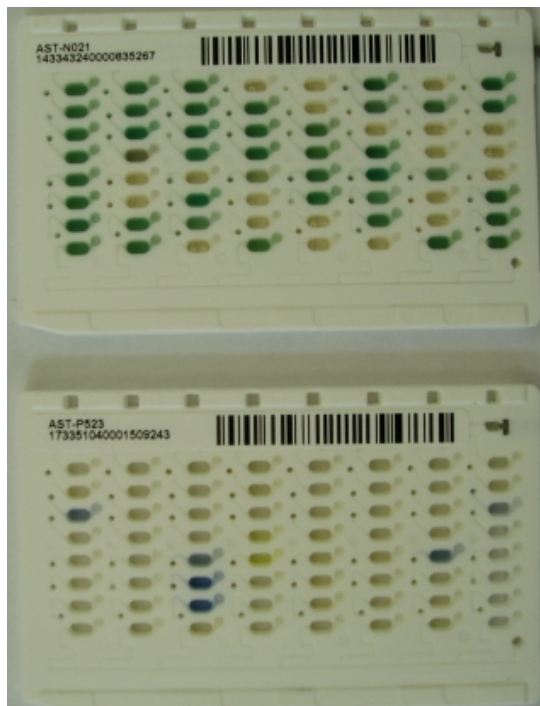
Sistemi commerciali automatizzati

Sistemi semi-automatizzati: Basati sulla determinazione della MIC in terreno liquido, utilizzano un sistema di analisi computerizzata della crescita batterica in gallerie di plastica, contenenti l'antibiotico in forma liofilizzata, per calcolare la MIC.

Vitek (BioMérieux)



Phoenix (BD Diagnostics)



Referto

Sono possibili tre categorie di suscettibilità ad un antibiotico: sensibile (S); intermedia (I); resistente (R)

S comporta che il microrganismo risponde alle dosi standard di antibiotico somministrato secondo una via opportuna, incluso la via orale.

I comporta che il microrganismo possa essere inibito da concentrazioni di antibiotico che sono raggiunte in seguito a inoculazione parenterale della massima dose di antibiotico possibile; l'antibiotico può essere selezionato a scopo terapeutico, ma è opportuno considerare altri antibiotici che potrebbero risultare più efficaci.

R Indica che il microrganismo non è inibito da concentrazioni raggiungibili del farmaco e, pertanto, non deve essere selezionato per la terapia.

Referto

AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA PISANA
U.O. MICROBIOLOGIA
Responsabile Prof. Mario Campa
P.O. Cisanello, via Paradisa 2 - 56100 PISA
tel. 050/996968 fax 050/996870

Rif. : ██████████
T.sanit.: 0000000080445-CR
Reperto : Ematologia Adulti

D/Nascita : ██████████
Prelievo del : 03/05/2004
Referto del : 06/05/04

ESAME RICHIESTO	RISULTATO	U.d.M	CUT-OFF
Batteriologia			
Tampone faringeo	Tampone Faringeo		
Materiale in esame	Positivo		
Esame colturale	Assenza di miceti		
Ricerca Miceti			
Isolamenti e Antibiogrammi			
I germe isolato	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
Antibiogramma per	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
Antibiotico	M.I.C.	Interpretazione	
ampicillina	>=32	R	
ampicillina/sulbactam	>=32	R	
cefazolin	>=64	R	
cefepime	4	S	
cefixime	>=4	R	
cefotaxime	>=64	R	
ceftazidime	8	S	
ciprofloxacina	<=0,25	S	
gentamicina	2	S	
imipenem	2	S	
levofloxacina	0,5	S	
meropenem	0,5	S	
mezlocillina	>=128	R	
norfloxacina	1	S	
piperacillina	16	S	
piperacillina/tazobactam	>=128	R	
tetraciclina	>=16	R	
tobramicina	<=1	S	
trimetoprim/sulfametoxazolo	40	R	
cefuroxime-sodio	>=64	R	
cefuroxime-acetil	>=64	R	

LEGENDA: I valori di M.I.C. Minima Concentrazione Inibente sono espressi in mcg/mL. S=Sensibile, I=Intermedio, R=Resistente