

Κεφάλαιο 15

Αντιβιόγραμμα

15.1 Ορισμός

Αντιβιογράμμα είναι η τεχνική με την οποία προσδιορίζεται η ευαισθησία ενός μικροβίου σε συγκεκριμένα αντιβιοτικά.

Υλικά

1. Muller Hinton

Αυτό είναι το θρεπτικό υπόστρωμα, το οποίο συνήθως χρησιμοποιείται κατά την τεχνική του αντιβιογράμματος και τοποθετείται μέσα σε στρογγυλά ή τετράγωνα τρυβλία.

2. Καθαρό καλλιέργημα

Φροντίζουμε να έχουμε το μικρόβιο, που έχει προσβάλλει τον ασθενή μας, απομονωμένο μέσα στα τρυβλία με το θρεπτικό υλικό καλλιέργειας.

3. Δισκία

Υπάρχουν στο εμπόριο έτοιμοι χάρτινοι δίσκοι μικρής διαμέτρου εμποτισμένοι ο καθένας και με διαφορετικό αντιβιοτικό.

Κάθε τέτοιος δίσκος φέρει στην μία του επιφάνεια τα αρχικά γράμματα του αντιβιοτικού, με το οποίο είναι εμποτισμένος και φυλάσσεται στο ψυγείο στους 4°C. Ορισμένοι δίσκοι απαιτούν φύλαξη σε κατάψυξη.

4. Υποδεκάμετρο και Πίνακας

Για την μέτρηση της ισχύος του αντιβιοτικού επάνω στο μικρόβιο, που έχει προσβάλλει τον ασθενή χρησιμοποιούμε ειδικό χάρακα και πίνακα, ο οποίος με την ισχύουσα βιβλιογραφία κρίνει την ευαισθησία ή την αντοχή του μικροβίου στο καθένα αντιβιοτικό ξεχωριστά, από το μέγεθος της "ζώνης αναστολής" που δημιουργείται στο τρυβλίο.

15.2 Σκοπιμότητα

Το αντιβιογράμμα αποσκοπεί στην εξεύρεση του κατάλληλου αντιβιοτικού, το οποίο θα θεραπεύσει τον ασθενή μας από τη λοίμωξη. Από το σύνολο των αντιβιοτικών που θεραπεύουν τη λοίμωξη επιλέγεται σαν κατάλληλο εκείνο του οποίου μικρή ποσότητα και σε σύντομο χρονικό διάστημα προκαλεί την ίαση από τη συγκεκριμένη λοίμωξη.

15.3 Τεχνική

Πριν ακόμη το μικρόβιο καλλιεργηθεί μέσα στο υπόστρωμα Muller Hinton θα πρέπει να έχει ενοφθαλμιστεί σε υγρό θρεπτικό υλικό όπως είναι ο θρεπτικός ζωμός ή ο Trypticase Soy ζωμός και να τοποθετηθεί στους 37°C για

4-5 ώρες. Μετά την ολοκλήρωση της επώασης του υγρού καλλιεργήματος συγκρίνεται η θολερότητα αυτού με την θολερότητα την οποία παρουσιάζει ένα διάλυμα το οποίο έχει προκύψει από την ανάμιξη 0,5 ml διαλύματος BaCl₂ 1% και 99,5 ml διαλύματος H₂SO₄ 1% (κλίμακα Mc Farland). Εφόσον συγκριθούν οι δύο θολερότητες και κρίνουμε ότι είναι ταυτόσημες τότε προχωρούμε στην εκτέλεση της τεχνικής του αντιβιογράμματος. Προσοχή: οι χάρτινοι δίσκοι με τα αντιβιοτικά πριν χρησιμοποιηθούν θα πρέπει να έχουν βγει από το ψυγείο, όπου φυλάσσονται και να έχουν παραμείνει σε θερμοκρασία δωματίου για μισή ώρα.

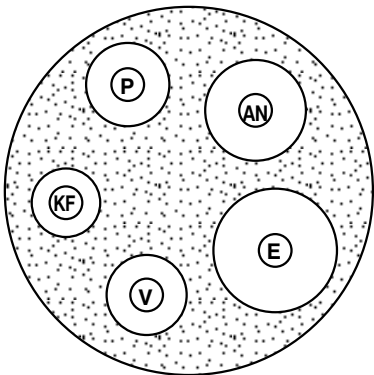
Στη συνέχεια τοποθετούμε 2-4 ml του υγρού καλλιεργήματος μέσα στο υπόστρωμα του Muller Hinton, το οποίο απλώνουμε με ένα γυάλινο ραβδάκι ή με έναν βαμβακοφόρο στυλέο, καθ' όλη την έκταση του τρυβλίου μας. Στη συνέχεια αφήνουμε το υγρό καλλιέργημα να απορροφηθεί από το θρεπτικό υπόστρωμα για 5 min και ότι τελικώς παραμένει στην επιφάνεια του θρεπτικού υλικού το αφαιρούμε με ένα pasteur. Ακολούθως ευρισκόμενοι πλησίον φλόγας λύχνου Bunsen, με αποστειρωμένη λαβίδα, τοποθετούμε στην επιφάνεια του θρεπτικού υλικού τα χάρτινα δισκία, ξεκινώντας από το κέντρο του τρυβλίου. Προσέχουμε έτσι ώστε καθένα δισκίο να απέχει από το άλλο απόσταση περίπου ίση με 20 mm, ενώ καθένα από αυτά να απέχει από την περιφέρεια του τρυβλίου 15 mm.

Στη συνέχεια τοποθετούμε το τρυβλίο στον επωαστικό κλίβανο στους 37oC για 18-24 ώρες και στη συνέχεια παρατηρούμε τις ζώνες αναστολής που δημιουργήθηκαν μετρώντας τη διάμετρό τους.

15.4 Αποτελέσματα

Μετά την επώαση του τρυβλίου με το Muller Hinton για τον έλεγχο της ευαισθησίας στα αντιβιοτικά του μικροβίου που απομονώθηκε στο εργαστήριο π.χ. ενός σταφυλόκκοκου, μετρούμε με τη βοήθεια χάρακα ή ειδικού παχυμέτρου, τις διαμέτρους των ζωνών αναστολής (εικ. 15.1) και καταγράφουμε τις τιμές καθενός αντιβιοτικού χωριστά (πίνακας 15.1).

Τις επιμέρους τιμές συγκρίνουμε με τις αντίστοιχες τιμές που δίνονται σε ειδικούς πίνακες για το συγκεκριμένο μικρόβιο και οι οποίες χαρακτηρίζουν το μικρόβιο ως ευαίσθητο ή ως ανθεκτικό για το συγκεκριμένο αντιβιοτικό (πίν. 15.2).



Εικόνα 15.1. Ενδεικτικό αντιβιογράμμα σταφυλόκκοκου

Πενικιλίνη G (P)	15mm
Αμπικιλίνη (AN)	19mm
Κεφαλοθίνη (KF)	12mm
Βανκομυκίνη (V)	15mm
Ερυθρομυκίνη (E)	20mm

Πίνακας15.1. Διάμετροι ζωνών αναστολής σε mm, στο αντιβιογράμμα της εικόνας 15.1

Αντιβιοτικό	Σύμβολο	Περιεκτικότητα δίσκου (μg)	Διάμετρος ζώνης αναστολής (mm)	
			Ευαίσθητο	Ανθεκτικό
Πενικιλίνη G	P	10	≥ 29	≤ 20
Αμπικιλίνη	AN	30	≥ 17	≤ 14
Κεφαλοθίνη	KF	30	≥ 18	≤ 14
Βανκομυκίνη	V	30	≥ 12	≤ 9
Ερυθρομυκίνη	E	15	≥ 18	≤ 13

Πίνακας15.2. Ερμηνευτικοί πίνακες ζωνών αναστολής για το σταφυλόκκοκο

Μετά την ανάλυση των αποτελεσμάτων, συντάσσεται η έκθεση ευαισθησίας (αντιβιογράμμα ή test ευαισθησίας) του μικροβίου (πίν. 15.3), δηλαδή τα αντιβιοτικά που δημιούργησαν κύκλο διαμέτρου ίσης ή μεγαλύτερης από αυτούς που αναγράφονται στη στήλη "ΕΥΑΙΣΘΗΤΟ", του πίνακα 15.2, είναι εκείνα από τα οποία θα επιλέξει ο κλινικός γιατρός για να χορηγήσει στον ασθενή, ως τα πλέον δραστικά.

ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΟ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ
Πενικιλίνη G	Ανθεκτικός
Αμπικιλίνη	Ευαίσθητος
Κεφαλοθίνη	Ανθεκτικός
Βανκομυκίνη	Ευαίσθητος
Ερυθρομυκίνη	Ευαίσθητος

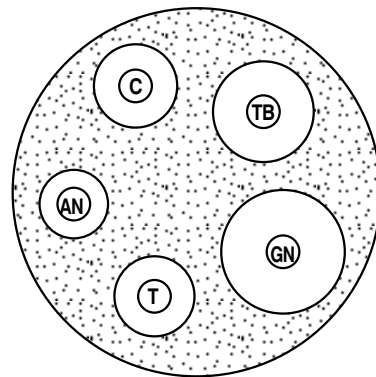
Πίνακας15.3. Test ευαισθησίας του σταφυλόκκοκου της εικόνας 15.1

Περίληψη

Το τεστ ευαισθησίας των μικροβίων στα αντιβιοτικά αποσκοπεί στην εξεύρεση κατάλληλου αντιβιοτικού για τη θεραπεία του ασθενούς από τη λοίμωξη.

Ερωτήσεις

1. Τεχνική του αντιβιογράμματος
2. Στο τεστ ευαισθησίας κολοβακτηριδίου (Εικ. 15.2) τα παρακάτω αντιβιοτικά έδωσαν τις εξής ζώνες αναστολής: (Πίν. 15.4)



Εικόνα 15.2. Ενδεικτικό αντιβιογράμμα κολοβακτηριδίου

α) Αμπικιλίνη (AN)	7 mm
β) Γενταμικίνη (GN)	20 mm
γ) Τετρακυκλίνη (T)	10 mm
δ) Τομπραμικίνη (TB)	18 mm
ε) Χλωραμφαινικόλη (C)	11 mm

Πίνακας 15.4. Ενδεικτικό αντιβιογράμμα κολοβακτηριδίου

Ποιο κατά τη γνώμη σας είναι το κατάλληλο αντιβιοτικό για την αντιμετώπιση του κολοβακτηριδίου αυτού;
Δίδονται επίσης από την βιβλιογραφία οι εξής πίνακες αντοχής και ευαισθησίας του συγκεκριμένου βακτηρίου στα αντιβιοτικά που μελετήθηκαν: (Πίν. 15.5)

	Ευαίσθητο	Ανθεκτικό
Πενικιλίνη G	≥ 14	≤ 11
Αμπικιλίνη	≥ 15	≤ 12
Κεφαλοθίνη	≥ 19	≤ 14
Βανκομικίνη	≥ 15	≤ 12
Ερυθρομικίνη	≥ 18	≤ 12

Πίνακας 15.4. Ερμηνευτικός πίνακας ζωνών αναστολής για το κολοβακτηρίδιο.