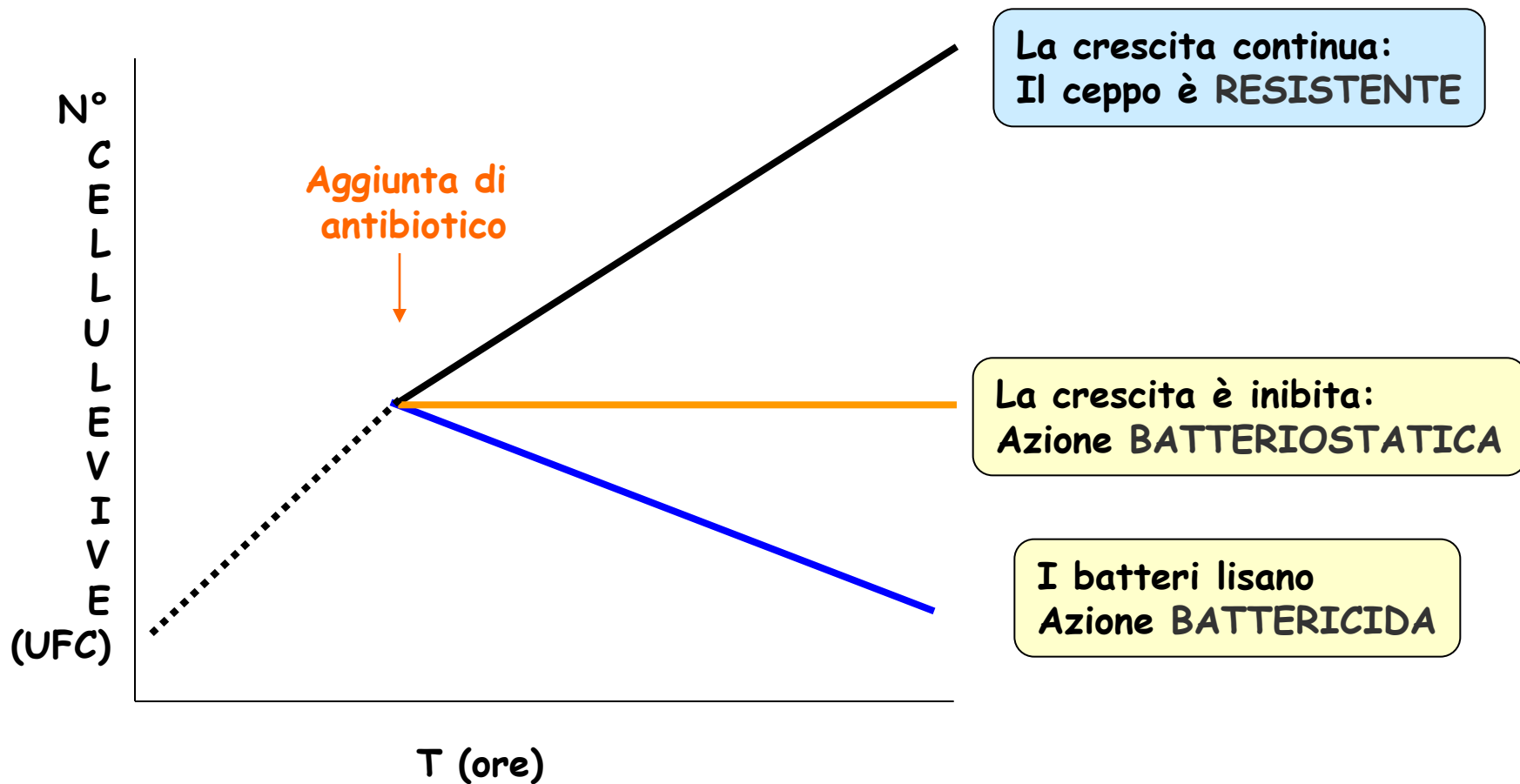


ANTIBIOTICI BATTERIOSTATICI/BATTERICIDI



I parametri che influenzano l'esito sono:
Tipo di antibiotico
Ceppo batterico
Concentrazione di antibiotico

Concetto CLINICO di sensibilità/resistenza

Il concetto di sensibilità/resistenza deve essere riferito alla situazione incontrata in vivo

Batterio sensibile
ad un certo antibiotico: se in vivo nei tessuti infetti l'antibiotico
inibisce la crescita batterica

Batterio resistente
ad un certo antibiotico: se in vivo nei tessuti infetti l'antibiotico
non riesce ad inibire la crescita batterica

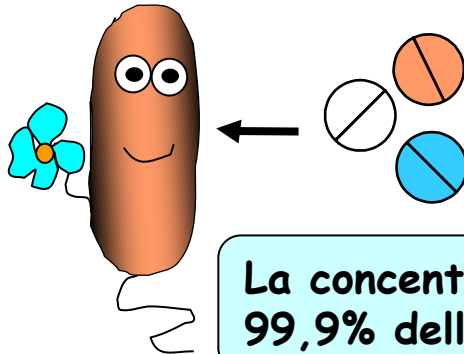
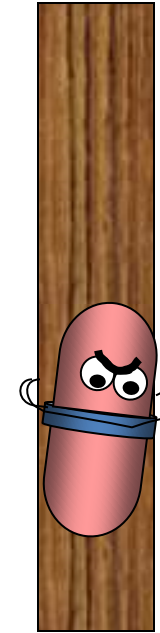
Per ogni antibiotico vengono stabilite, sulla base delle
delle concentrazioni tissutali, e di altri parametri
delle concentrazioni limite (breakpoints)
che definiscono la sensibilità o resistenza
dei batteri riferite all'impiego clinico

PER OGNI COMBINAZIONE
tipo di antibiotico/ceppo batterico

La più bassa concentrazione di farmaco
in grado di bloccare la crescita

è detta MIC

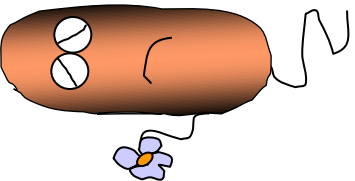
(Minima concentrazione inibente)



La concentrazione che uccide il
99,9% dell'inoculo originale

è detta MBC

(Minima concentrazione battericida)

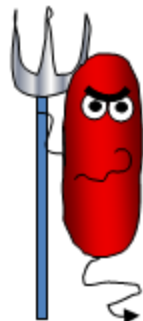


Definizione dei breakpoint
(nuovo farmaco antibatterico)

Determinazione della MIC nei confronti di molti
ceppi batterici appartenenti alle principali
specie patogene

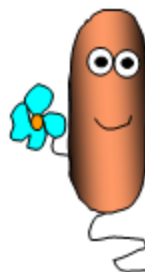


Tutti i ceppi di una
specie sono resistenti



La specie viene definita
naturalmente resistente
al farmaco

Tutti o gran parte dei ceppi
di una specie sono sensibili



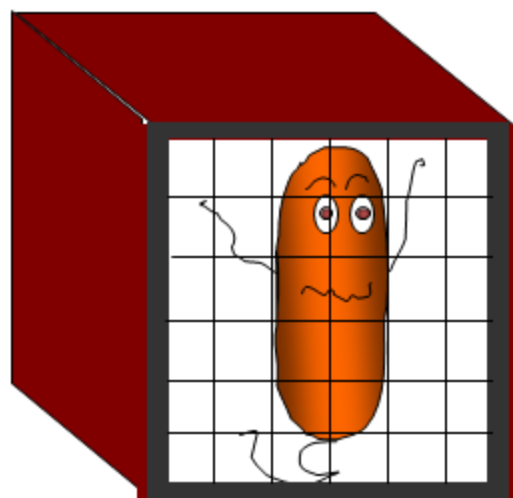
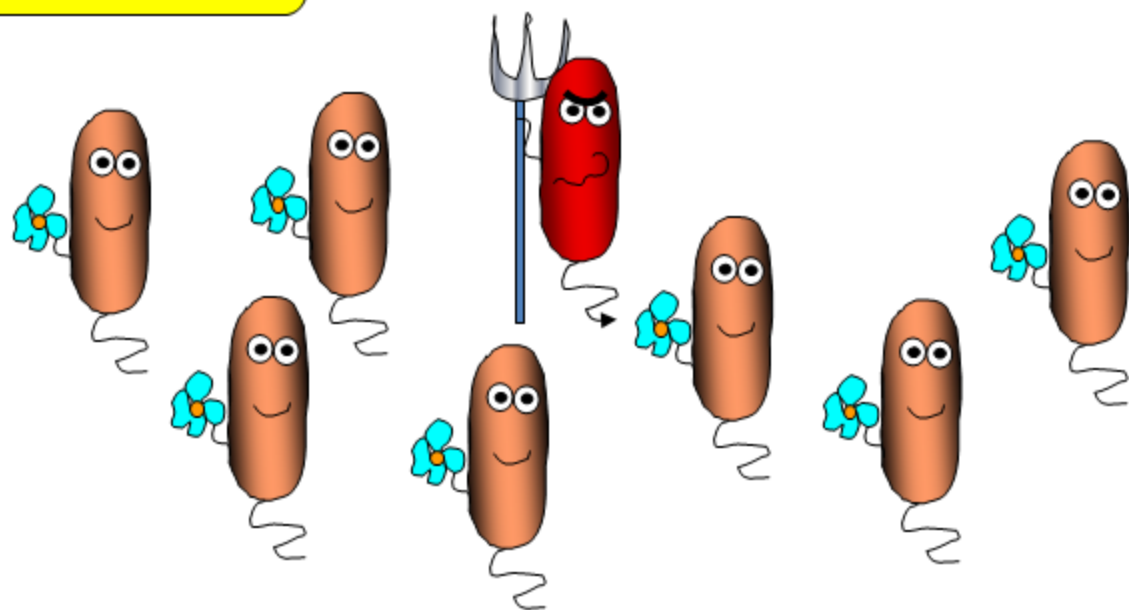
La specie viene definita
sensibile a quel farmaco

I BREAKPOINT DEFINITI INIZIALMENTE SULLA BASE DELLE
CONCENTRAZIONI TISSUTALI DEL FARMACO...

Antibiotico	Breakpoint ($\mu\text{g/ml}$)		
	Sensibile	Intermedio	Resistente
Ampicillina	<16	16	>16
Tetraciclina	<8	8	>8
Eritromicina	<1	1-2	>2

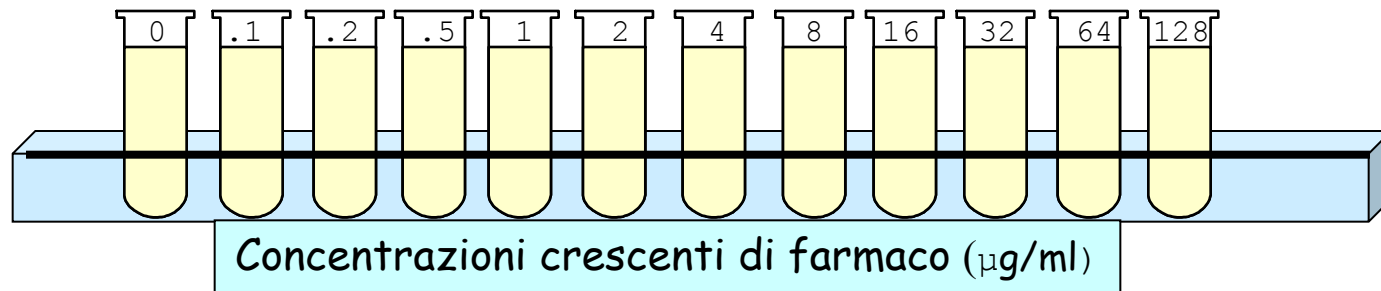
...possono essere successivamente rivisti in base ai risultati
della sperimentazione clinica

In una specie sensibile possono essere presenti ceppi resistenti !

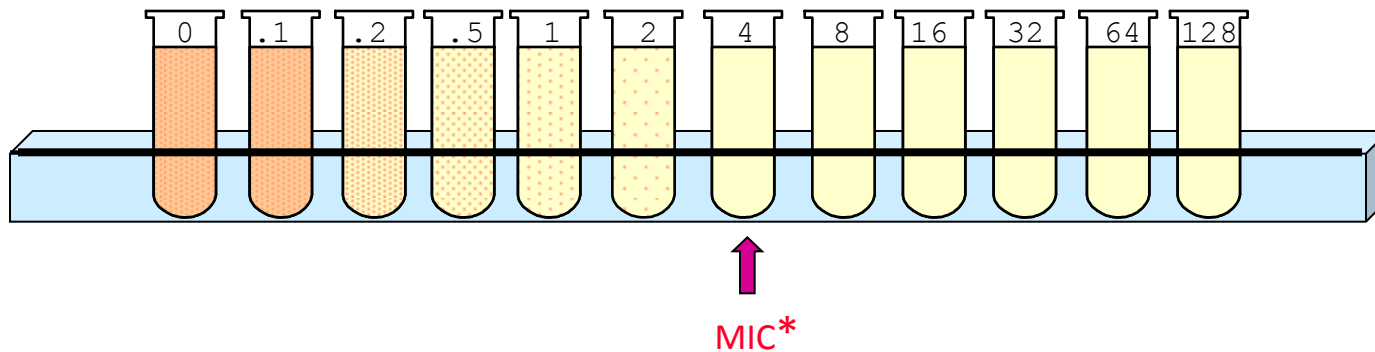


E' quindi necessario effettuare il saggio di sensibilità sul singolo ceppo batterico isolato dall'infezione

SAGGI DI SENSIBILITÀ PER DILUIZIONE (MACROMETODO)

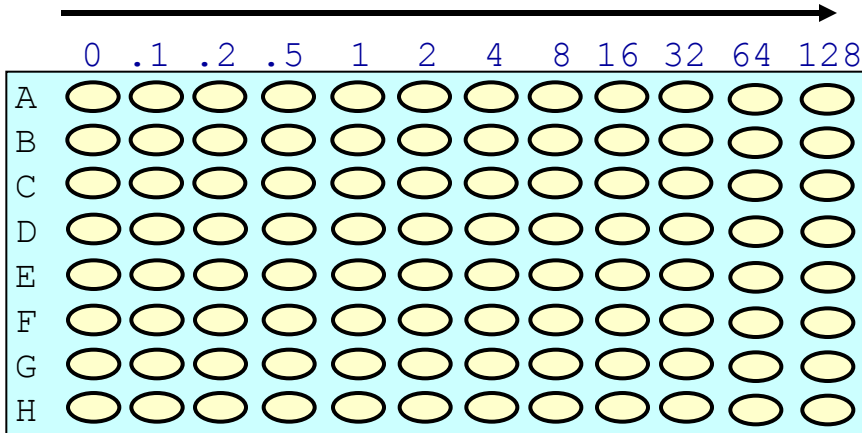


ogni PROVETTA viene inoculata
con il ceppo batterico in esame



SAGGI DI SENSIBILITÀ PER DILUIZIONE (MICROMETODO) anche automatizzato

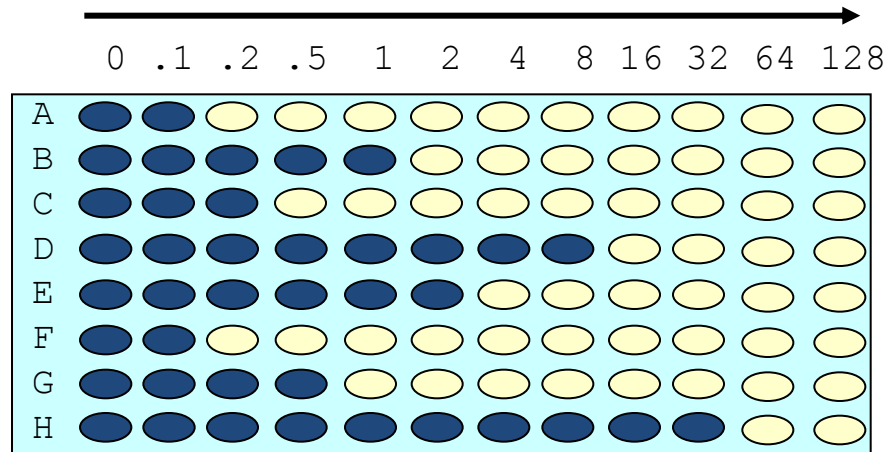
Concentrazioni crescenti di farmaco ($\mu\text{g/ml}$)



**ogni fila
un farmaco**

ogni pozzetto viene inoculato
con il ceppo batterico in esame

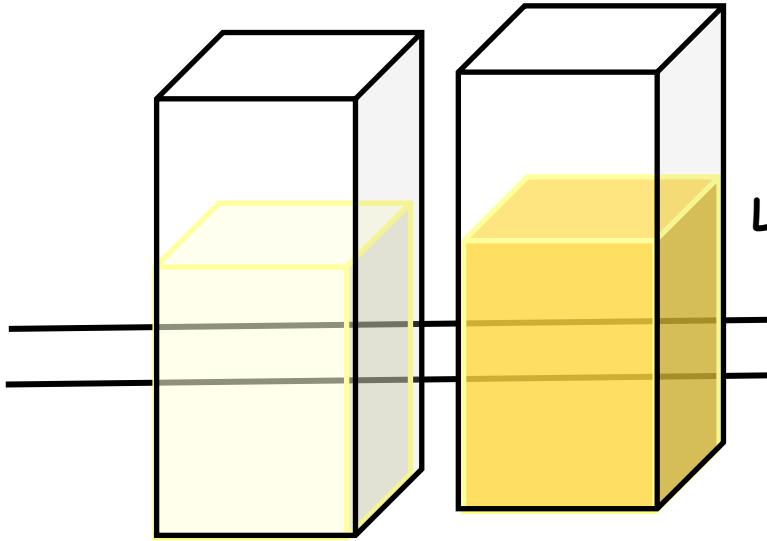
Concentrazioni crescenti di farmaco ($\mu\text{g/ml}$)



MIC ($\mu\text{g/ml}$)

0.2
2
0.5
16
4
0.2
1
64

L'entità dell'inoculo per i test di determinazione della sensibilità deve essere inferiore a quella in cui ci si può ragionevolmente aspettare la presenza di mutanti occasionali



L'inoculo deve provenire da una coltura fresca
(non più di 24h)

La densità può essere stimata per confronto con uno
standard nefelometrico (McFarland)
O leggendo l'assorbanza a 600 nm

La concentrazione idonea è pari
allo 0,5 di McFarland (assorbanza
a 600 nm = 0,14 circa)
Concentrazione circa $1,5 \times 10^8$



ASM MicrobeLibrary © Hudzicki

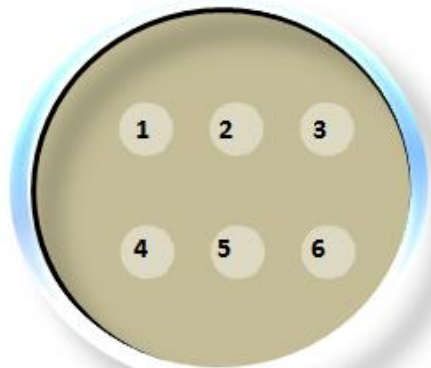
Standard nefelometrico di MCFARLAND

McFarland Standard No.	0.5	1	2	3	4
1.0% Barium chloride (ml)	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4
1.0% Sulphuric acid (ml)	9.95	9.9	9.8	9.7	9.6
Approx. cell density (1×10^8 CFU/mL)	1.5	3.0	6.0	9.0	12.0
% Transmittance*	74.3	55.6	35.6	26.4	21.5
Absorbance*	0.132	0.257	0.451	0.582	0.669

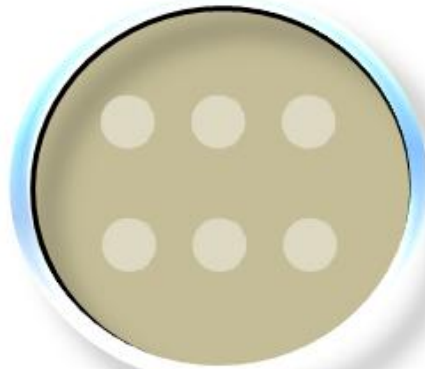
600 nm

M.I.C (diluizione in solido)
1 antibiotico = 1 serie, diverse diluizioni, diversi ceppi

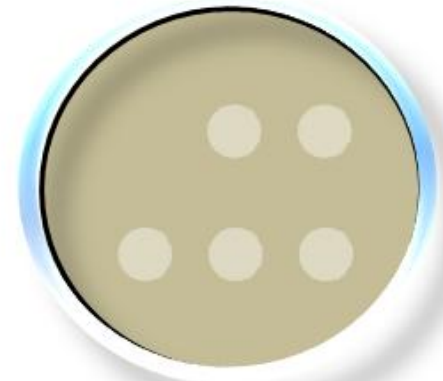
Es: Ampicillina



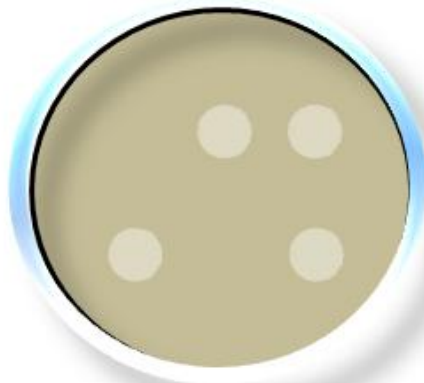
Controlllo



2 mcg/mL



4 mcg/mL



8 mcg/mL



16 mcg/mL



32 mcg/mL

L'antibiotico diffonde nel terreno



Gli aloni di inibizione **NON** possono essere confrontati tra loro
(differenze di diffusibilità delle molecole)

Vanno riferiti a precisi parametri stabiliti per ciascun antibiotico:

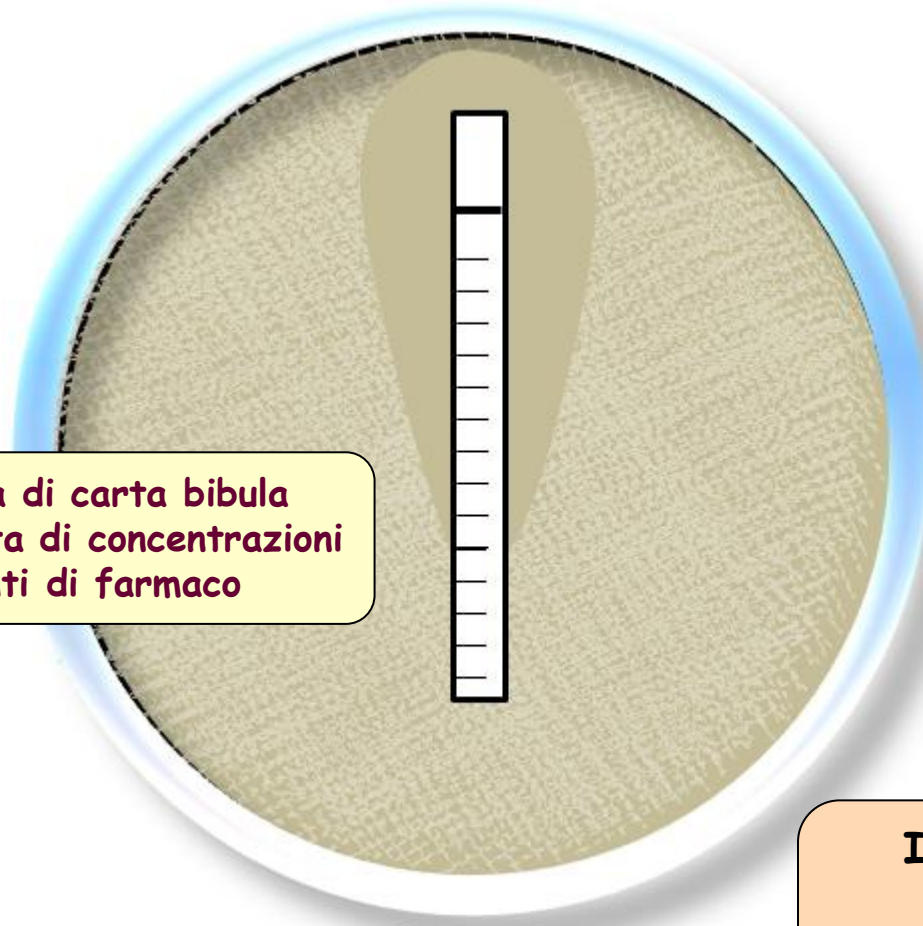
Es. Gentamicina:

ceppi con diametro dell'alone < 14mm = R

Ceppi con alone ≥ 17 mm = S

I valori di MIC possono essere determinati anche con saggi per DIFFUSIONE (E-Test)

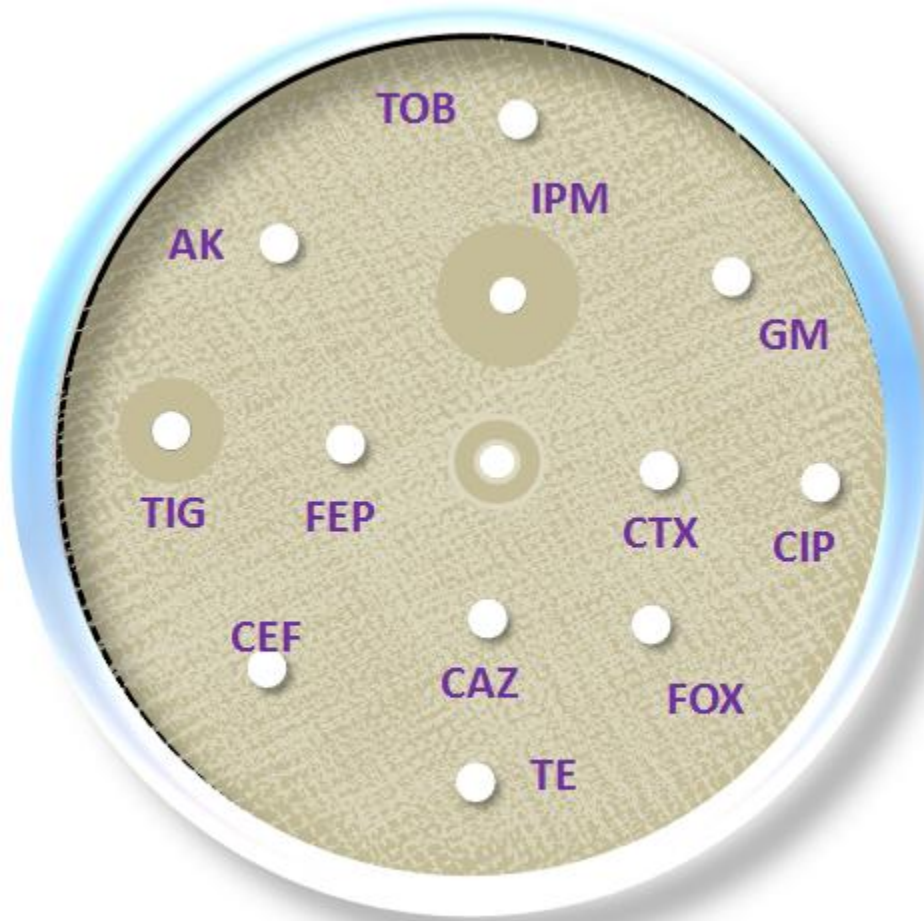
L'inoculo viene distribuito in modo omogeneo con un tampone



Striscia di carta bibula imbevuta di concentrazioni crescenti di farmaco

Il punto di giunzione tra il margine dell'alone e la striscia permette di leggere direttamente la concentrazione di MIC

L'INDICAZIONE SENSIBILE/RESISTENTE
PUÒ ESSERE OTTENUTA CON UN ALTRO TEST PER
DIFFUSIONE: L'ANTIBIOGRAMMA



Ceppo MDR-Multi Drug Resistant
(*Klebsiella pneumoniae*)