

## **EXPERIENȚE PENTRU STANDARDIZAREA METODEI ȘI AMELIORAREA INTERPRETĂRII ANTIBIOGRAMELOR**

*E. Kiss, Ö. Nagy, J. Bíró, L. Boér, G. Horváth, Maria Akszenyuk*

Determinarea sensibilității bacteriilor față de antibiotice se face în mod curent cu ajutorul metodei difuziometrice. Avantajul cel mai de seamă al acestei metode este efectuarea ei extrem de ușoară și rapidă, dând în același timp date prețioase pentru medicii practicieni. Ea prezintă însă dezavantajul că nu este absolut precisă în ce privește gradul de sensibilitate.

Metoda difuziometrică se poate efectua în diferite moduri, iar felul efectuării ei depinde de natura mediului de cultură, de modul de aplicare a antibioticului pe suprafața mediului și de felul de interpretare a rezultatelor etc. Se poate spune că metoda aplicată diferă de la un laborator la altul și că aceasta influențează în mare măsură valoarea metodei difuziometrice.

În consecință ar trebui să se introducă în toate laboratoarele de specialitate din R.S.R. o metodă standardizată, ale cărei avantaje nu trebuie justificate în mod deosebit.

În prezenta lucrare vom încerca să cuprindem constatările făcute în cursul ultimilor 10 ani în legătură cu procedeul difuziometric, iar metoda pe care am găsit-o ca cea mai potrivită și mai precisă să o propunem ca metodă standard; această metodă să fie introdusă și aplicată în toate laboratoarele din țara noastră sau cel puțin în Regiunea Mureș-Autonomă Maghiară.

În ultima vreme am efectuat și am încercat diferitele variante ale metodei difuziometrice pe mediul cu geloză. Aceste metode au fost variate numai în ceea ce privește modul de aplicare pe suprafața mediului solid al antibioticelor.

O metodă inițial preconizată de noi a fost aplicarea antibioticului sub formă de soluție introdusă în inele de sticlă sau rondele de hîrtie de filtru, îmbibată cu antibioticul respectiv. Altădată antibioticul a fost aplicat în godeurile făcute în mediul solid cu geloză. Am făcut determinări, aplicînd antibioticul sub formă de praf; de asemenea au fost folosite rondele de hîrtie de filtru „Biotest” impregnate cu antibiotice și preparate în străinătate.

Paralel cu aceste metode am efectuat determinări difuziometrice cu tabletele „Comprimata pro antibiograma”, metodă aplicată încă în 1957 de către un colectiv de muncă din Tg.-Mureș (O. Nagy, J. Biró, E. Kiss).

Dintre toate aceste variante s-a găsit că metoda cea mai potrivită și care poate fi introdusă în practica curentă ca metodă standard, ar fi metoda cu „Comprimata pro antibiograma”.

Aplicarea antibioticului sub formă de soluție prezintă între altele dezavantajul că soluția odată preparată se alterează foarte repede, conservarea ei timp mai îndelungat este dificilă și greoaie. Prepararea soluțiilor necesită de fiecare dată o muncă imensă și îndelungată și de multe ori înseamnă și risipă de antibiotic.

Dozarea exactă a antibioticului sub formă de soluție sau sub formă de picături nu poate fi efectuată cu exactitate (scurgerea soluției pe suprafața mediului, picături inegale etc.).

De asemenea nici dozarea antibioticului sub formă de praf nu poate fi considerată ca o metodă exactă. În cazul antibioticelor întrebuițate sub formă de praf, s-a observat că amidonul, care servește ca vehicul, nu este indiferent pentru metabolismul și multiplicarea microbilor.

Din punct de vedere tehnic rondelele de „Biotest” corespund cu totul cerințelor dar, fiind un preparat de import, aprovizionarea este dificilă și prea costisitoare. De multe ori s-au pus în comerț rondele cu durată de eficacitate depășită.

Comparînd metodele mai sus amintite cu metoda bazată pe folosirea tabletelor „Comprimata pro antibiograma”, s-a găsit că aceasta din urmă prezintă următoarele avantaje:

1. dozarea antibioticului pe suprafața mediului se face cu exactitate maximă, deci este practic standardizată;
2. durata de eficacitate a comprimatelor este extrem de lungă. Experiențele făcute în cursul anilor au dovedit că, dacă tabletele au fost păstrate în întuneric la temperatura camerei în ambalaje originale, ele și-au păstrat timp de 6—7 ani în întregime eficacitatea lor și proprietățile originale;
3. sînt relativ ieftine;
4. tehnica metodei este ușoară și precisă;
5. se pot fabrica sau prepara în laboratoare indigene centrale.

Modul de preparare a „Comprimata pro antibiograma”. precum și metoda

de determinare a sensibilității bacteriilor față de antibiotice cu ajutorul acestor comprimate, au apărut în Revista Medicală nr. 1, 1958, pag. 48.

În prezenta lucrare se expun numai datele cele mai importante care sînt în legătură cu prepararea tabletelor și cu principiul metodei de lucru.

Greutatea tabletelor este de 0,10 gr cu un diametru de 9 mm, avînd diferite culori în funcție de antibioticul pe care îl conțin: Penicilina roșu; streptomycină albastru; chloramfenicol verde; clortetracilină galben; oxitetracilină brun; eritromicină alb; neomicină roz; canamicină gri; sulfatiazol violet.

Substanța de bază a tabletelor este hidroxidul de aluminiu „Alucoli”, substanță ușor tabletabilă, emulsionabilă cu alte substanțe și inactivă asupra antibioticelor și asupra tuturor substanțelor din compoziția mediului de cultură și asupra microbiilor. Un alt avantaj al Alucolului este că favorizează difundarea antibioticului în mediul de cultură. Tabletele sînt colorate cu coloranți insolubili în apă, inactivi față de antibiotice, bacterii și medii.

Cantitatea optimă a antibioticului conținut în masa tabletei a fost determinată cu ajutorul tulpinei standard de stafilococ Oxford, rezultatele fiind comparate cu cele obținute prin întrebuintarea preparatelor din străinătate. Prepararea tabletelor se face din substanțe de bază sterile, în condiții de asemenea sterile, și care sînt puse la dispoziție ambalate în fiole închise cu dop de plută, acoperit cu parafina solidă topită.

*Metoda de lucru.* O cultură bacteriană de 5—6 ore în bulion (sau bulion cu ser) în cantitate de 0,5 ml se însămîntează pe suprafața unei plăci de geloză. Mediul de cultură poate fi geloză simplă, geloză cu singe, geloză cu ser etc. Dacă nu există intenția de a urmări acțiunea antibioticului față de o bacterie în fază de multiplicare logaritmică, atunci se poate lucra și cu culturi de 24 de ore. În acest caz se întrebuintează o cultură diluată de 10—100 ori în ser fiziologic steril.

Pentru o determinare globală de orientare în cazuri urgente, produsul patologic este însămîntat direct pe suprafața mediului.

După cîteva minute de uscare a culturii însămîntate pe suprafața mediului, tabletele sînt așezate cu ajutorul unei pense pe suprafața mediului la o distanță de 4—5 cm. După 30 de minute de păstrare la temperatura camerei, mediile sînt incubate timp de 18—20 de ore la termostat la 37°C.

După mărimea transversală a zonei de inhibiție stabilim în interpretarea rezultatului 4 grade de sensibilitate:

1. *sensibil*, dacă zona de inhibiție are un diametru de 26—30 milimetri;
2. *sensibilitate mediocră*, cu o zonă de inhibiție între 21—25 milimetri;
3. *rezistență relativă*, cu o zonă de inhibiție între 16—20 milimetri;
4. *rezistent*, cu o zonă de inhibiție între 0—15 milimetri.

Se recomandă ca gradul de sensibilitate să se noteze cu cifre (mm).

Dacă în zona de inhibiție apar colonii izolate de bacterii (colonii rezistente), se va trece semnul negativ (—) după cifrele care indică dimensiunea zonei de inhibiție și numărul coloniilor rezistente, de exemplu: 24—6 c. r. : 24 mm zonă de inhibiție cu 6 colonii rezistente (c. r. = colonii rezistente).

Dacă în jurul tabletelor se va constata o creștere mai abundentă de bacterii decît în celelalte sectoare ale mediului (dependență) se va nota diametrul acestei zone de creștere cu semnul pozitiv (+) înaintea cifrei care indică dimensiunea zonei (exemplu: +14 mm).

În cazurile unde se indică o terapie cu mai multe antibiotice (terapie combinată), determinarea sensibilității bacteriilor față de antibiotice se face cu ajutorul tabletelor combinate. Asupra acestor experiențe și asupra rezultatelor obținute în cursul cercetărilor în acest domeniu se va reveni într-o lucrare ulterioară.

*Sosit la redacție: 30 septembrie 1965.*

### *Bibliografie*

1. BALȘ M.: Antibioticele (1965), Edit. Medicală București;
2. NESTORESCU N.: Bacteriologie medicală (1965), Edit. Medicală București;
3. CONDREA P. și colab.: Lucr. pract. de microbiologie, (1959), Edit. Medicală București;
4. KRASILNIKOV: Antagonismul microbial și substanțele antibiotice, Inst. Rom. Sov. Acad. R.P.R. (1961);
5. ALFÖLDI—IVÁNOVICS—RAUSS: Orvosi Microbiologia (1961), Medicina Kiadó, Budapest;
6. NAGY ÖRS, BÍRÓ I., KISS E.: Revista Medicală (1958),