

REZISTENȚA LA BETA-LACTAMINE A UNOR AGENȚI INFECȚIOȘI BACTERIENI

Carmen Avrănescu¹, Maria Bălăsoiu¹, Adriana Turculeanu¹, Anca Ungureanu¹, Isabela Siloși¹,
Simona Neamțu², Oana Ionete¹, Mădălina Sibîșeanu³

¹Disciplina Microbiologie - Imunologie, UMF Craiova

²Disciplina Hematologie - Imunologie, UMF Craiova

³Laborator - Medic rezident, Spitalul Clinic de Urgență Craiova

Cuvinte cheie

beta-lactamine, rezistență dobândită, antibiogramă

Premize Antibiograma este una din cele mai frecvente determinări dintr-un laborator de bacteriologie fiind solicitată pe multiple considerente de ordin clinic, epidemiologic și de cercetare. În scop științific antibiograma se practică pentru cercetarea fenomenului de rezistență prin care bacteriile cu rol etiologic în infecțiile umane sunt sau devin rezistente la antibiotice.

Obiective Scopul studiului este de a estima rezistența unor germeni patogeni (*Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Proteus*, *Staphylococcus aureus*) izolați din diverse produse patologice, la unele antibiotice beta-lactamice utilizate curent în practica medicală: Imipenem+Cilastatin, Ampicilină+Sulbactam, Ampicilină+Acid clavulanic, Cefotaxim, Ceftazidim, Ampicilină.

Material și metodă În realizarea studiului nostru au fost utilizate culturi bacteriene izolate din produse patologice provenite de la un lot de 37 pacienți adulți din ambulatoriu, majoritatea cu patologie urogenitală și afecțiuni respiratorii de tip infecțios acut și cronic. Sensibilitatea și rezistența germeilor patogeni mai sus amintiți față de antibioticele enumerate a fost stabilită prin efectuarea antibiogramei difuzimetrice.

Rezultate și concluzii La Imipenem+Cilastatin *E. coli* a devenit rezistentă, sensibilitatea *Klebsiellei* și a *Proteusului* nu a suferit modificări, în timp ce sensibilitatea stafilococului a scăzut deși acesta a rămas receptiv la acest antibiotic. *E. coli* și-a păstrat sensibilitatea la acțiunea Ampicilină+Acid clavulanic, spre deosebire de ceilalți germeni luați în studiu la care s-a constatat tendința la apariția rezistenței. La Ampicilină+Sulbactam doar *E. coli* și *Proteus* au o sensibilitate intermediară. Stafilococul este cel care răspunde cel mai bine la terapia cu Cefotaxim, urmat de *Proteus*. La *Klebsiella* se constată totuși tendința la instalare a rezistenței la acest antibiotic, în timp ce la *E. coli* se constată apariția instalării definitive a rezistenței la Cefotaxim. La nici unul dintre germeni nu se mai constată sensibilitate la Ceftazidim. La Ampicilină se constată tendința de instalare a rezistenței, doar la stafilococ și *Proteus* se observă prezența unei sensibilități intermediare.

Keywords

beta-lactamines, obtained resistance, antibiogram

Resistance to beta-lactamines of several pathogenic germs

Premises The antibiogram is one of the most frequent determination from a bacteriology laboratory being required on multiple clinical, epidemiological and research considerations. Scientifically, antibiogram is made for the research of the resistance phenomenon through which the bacterias with etiological role in human infections are or become resistant to antibiotics.

Objectives The object of the study is to estimate the resistance of the several pathogenic germs (*Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Proteus*, *Staphylococcus aureus*) isolated from various pathological products, to several beta-lactamic antibiotics usually used in medical practice: Imipenem+Cilastatin, Ampicillin+Sulbactam, Ampicillin+Acid clavulanic, Cefotaxim, Ceftazidim, Ampicillin.

Material and method In our study, there were used bacterian cultures isolated from pathological products from a lot of 37 adult patients, most of them with urogenital pathology and acute or chronic respiratory infections affections. The sensibility and resistance of the pathogenical germs reminded before using difusimetrical antibiogram. **Results and conclusions** E. coli became resistant to Imipenem+Cilastatin, the sensibility of Klebsiella and Proteus was not modified, while the sensibility of the Staphylococcus dropped, although the Staphylococcus remained receptive to this antibiotic. E. coli kept it's sensibility towards Ampicillin+Acid clavulanic action unlike the other studied germs where a tendency to became resistant was observed. The Ampicillin+Sulbactam only E. coli and Proteus have an intermediate sensibility. The Staphylococcus is the one who responds best to Cefotaxim therapy, followed by Proteus. In the case of Klebsiella, one can see the tendency to become resistant to this antibiotic, while in the case of the E. coli the definitive resistance to Cefotaxim is observed. None of the germs are sensible anymore to Ceftazidim. Towards Ampicillin it is observed the tendency to become resistant, only the Staphylococcus and Proteus have an intermediate sensibility.

Introducere

Antibioticele, unele din cele mai prescrise preparate farmaceutice din practica medicală, fac parte din arsenalul terapeutic antiinfecțios existent în prezent.

Beta-lactaminele, antibiotice active asupra peretelui celular, în majoritate hidrofile și complet ionizate în soluție, au dificultăți de traversare a membranelor. Ținta lor, reprezentată de proteinele de legare a penicilinelor-PLP (enzime implicate în sinteza peptidoglicanului: transpeptidaze, glicoziltransferaze) este situată pe partea externă a membranei citoplasmatică, peretele bacterian fiind singurul obstacol între beta-lactamine și țintă (2, 5, 10). Compoziția peretelui, variabilă în funcție de natura bacteriei, va determina parțial sensibilitatea bacteriei la beta-lactamine. În cazul bacteriilor Gram pozitive pătrunderea este în general ușoară deoarece peptidoglicanul, constituent esențial al peretelui, nu reprezintă o barieră pentru molecule atât de mici ca beta-lactaminele. La bacteriile Gram negative trecerea prin pori (porinele - proteine transmembranare care au capacitatea de a se regrupa pentru a forma canale-pori) este considerată modalitatea preferențială a beta-lactaminelor hidrofile (3, 4, 8, 9).

Germeii microbieni pot prezenta o rezistență naturală la antibiotice sau pot câștiga rezistență (rezistență dobândită). Rezistența naturală este determinată genetic, fiind purtată de cromozom. Este transmisibilă la descendenți (transmisie verticală), în timp ce transmisia orizontală este rară

sau inexistentă. Rezistența dobândită, achiziționată de anumite subpopulații dintr-o anumită specie microbiană, este mediată de un suport genetic aparținând unui element mobil (plasmide, transpozoni). Ea are capacitatea de a fi transmisibilă orizontal, uneori și între specii diferite, transmiterea pe verticală fiind de asemenea posibilă (5, 8, 10, 12).

Testarea sensibilității germenilor la medicamentele antimicrobiene este necesară datorită apariției și extinderii rezistenței multor microorganisme la antibiotice. Cunoașterea nu numai a mecanismelor de acțiune ale antibioticelor, ci și a mecanismelor prin care bacteriile cu rol etiologic în infecțiile umane sunt sau devin rezistente la antibiotice, reprezintă un deziderat major al practicii de laborator. Incapacitatea antibioticelor, în cazul nostru a beta-lactaminelor, de a-și exercita acțiunea toxică caracteristică asupra germenilor rezistenți se datorează intervenției mai multor mecanisme, printre care și eliberarea de enzime produse de bacteriile rezistente. Astfel penicilinele și cefalosporinele sunt inactivate de beta-lactamaze mediate plasmidic (pentru stafilococi) sau cromozomial (pentru unii bacili Gram negativi).

Premize și obiective

Implicațiile clinice, terapeutice, epidemiologice ale fenomenului de rezistență bacteriană la antibiotice sunt extrem de mari. Selectarea tulpinilor rezistente datorită unor abuzuri de prescriere în spitale, alte unități sanitare sau prin auto-medicație,

duce la variate aspecte negative: infecții cu germeni rezistenți, apariția și transmiterea unor germeni de spital - supragermeni.

Pornind de la aceste premize, scopul studiului este de a estima rezistența unor germeni patogeni (enterobacterii: *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Proteus*; *Staphylococcus aureus*) izolați din diverse produse patologice, la unele antibiotice beta-lactamice utilizate curent în practica medicală: Imipenem + Cilastatin, Ampicilină + Sulbactam, Ampicilină + Acid Clavulanic, Cefotaxim, Cefotazidim, Ampicilină.

Sensibilitatea și rezistența acestor germeni patogeni față de antibioticele enumerate a fost stabilită prin efectuarea antibiogrammei difuzimetrice pe culturi microbiene izolate din produse patologice recoltate de la pacienți diagnosticați cu diferite infecții clinic manifeste.

Material și metodă

În realizarea studiului nostru au fost utilizate 37 culturi bacteriene izolate din diverse produse patologice provenite de la un lot de 37 pacienți adulți din ambulatoriu, majoritatea cu patologie urogenitală și afecțiuni respiratorii de tip infecțios acut și cronic, de la care au fost recoltate, după caz, următoarele produse patologice: uroculturi, spute, secreții vaginale, puroi, exudate faringiene și nazale.

Recoltarea acestor produse s-a făcut cu respectarea riguroasă a regulilor de procedură în ceea ce privește modul de prelevare, conservare și transport la laborator al probelor. Astfel recoltarea probelor de urină în vederea executării uroculturilor cantitative s-a efectuat de către pacienți, la domiciliu, după o prealabilă instruire a lor în vederea recoltării probei în condiții de asepsie (metoda „jetului mijlociu”). Prelevarea secrețiilor vaginale s-a făcut în cabinete de specialitate de la paciente care acuzau semne și simptome clinice care puneau problema existenței unei vulvovaginite (1, 6, 7, 13).

Eventuala prelucrare a produselor patologice a fost făcută în cazul sputelor. Astfel s-au prelevat cu ansa porțiuni purulente ale acesteia, care s-au depus într-o placă Petri sterilă și s-au spălat cu 2-3 ml de ser fiziologic. În cazul în care aspectul sputei a fost neomogen, cu consistență vâscoasă, s-a procedat la fluidificarea sputei.

Din unele probe recoltate - secreții vaginale - au fost efectuate preparate colorate (Gram, albastru de metilen și Giemsa) urmărindu-se excluderea agentului cauzal fungic (*Candida*), parazitar (*Trichomonas vaginalis*) sau bacterian specific (gonococ) al infecției

vaginale, morfotipul florei de asociație, categoria celulelor epiteliale după locul de proveniență (superficiale, intermediare, profunde) și frecvența leucocitelor (11).

În vederea izolării *in vitro* a germeilor implicați în etiologia infecțiilor mai sus menționate, au fost folosite: medii cu sânge (geloză sânge) pentru a permite dezvoltarea cocilor, medii moderat selective (Istrate-Meiert) și diferențiale (Drigalski) pentru dezvoltarea enterobacteriilor. De menționat că pentru însămânțarea urinei în vederea decelării de germeni a fost utilizată metoda ansei calibrate.

După perioada de incubare s-au examinat plăcile, notându-se prezența, frecvența și aspectul coloniilor pe fiecare mediu de cultură. În cazul urinei, am determinat numărul unităților formatoare de colonii (UFC/ml) numărând coloniile dezvoltate pe mediu solid și înmulțind cu diluția ansei. Toate probele considerate pozitive pentru o infecție urinară au avut minim 100.000UFC/ml, limita inferioară considerată pentru o bacteriurie semnificativă.

În continuare s-au efectuat repicări și identificări pe baza caracterelor de cultură, morfologice, biochimice (mediile politrope TSI și MIU, mediul cu citrat-Simmons, reacțiile roșu-metil și Voges-Proskaner, mediile cu lizină și fenilalanină pentru enterobacterii), pe baza caracterelor de patogenitate (fermentarea manitei, producerea de coagulază pentru stafilococ).

De menționat că au fost luate în studiu doar tulpinile izolate de *E. coli*, *Proteus*, *Klebsiella* și *Staphylococcus aureus*.

Antibiograma s-a efectuat pentru a testa sensibilitatea fiecărei tulpini bacteriene izolate la o serie de antibiotice, pentru studiul nostru fiind folosite Imipenem+Cilastatin, Ampicilină+Sulbactam, Ampicilină+Ac. Clavulanic, Cefotaxim, Cefotazidim, Ampicilină. Metoda folosită pentru efectuarea antibiogrammei a fost metoda difuzimetrică, mai ușor de executat și care permite obținerea de informații semnificative asupra sensibilității unui germen față de mai multe antibiotice.

În plus, erorile posibile de tehnică din antibiograma difuzimetrică au fost eficient corectate prin utilizarea concomitentă a tulpinilor de referință (tulpini care nu au luat contact cu antibioticele și care nu au avut gazdă umană sau animală). Tulpinile de referință, martori de sensibilitate, au fost următoarele: *Escherichia coli* ATCC 25922; *Klebsiella* ATCC 13883; *Proteus* ATCC 12453; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (13).

S-au măsurat diametrele zonei de inhibiție din

jurul microcomprimatelor de antibiotice la ambele antibiografe. Tulpinile au fost considerate „sensibile” la un antibiotic dacă zona de inhibiție din jurul rondei a fost $>25\text{mm}$, „intermediar sensibile” pentru un diametru între $15\text{-}25\text{mm}$ și „rezistente” dacă zona de inhibiție din jurul rondei a fost $<15\text{mm}$.

Sensibilitatea germeilor din produsele patologice a fost comparată cu cea a germeilor din culturile standard, statistic, cu ajutorul testului t Student pentru compararea mediilor, pentru a demonstra dacă există o diferență semnificativă statistic între zona de inhibiție a tulpinilor de cercetat comparativ cu tulpinile de referință, față de un anumit antibiotic:

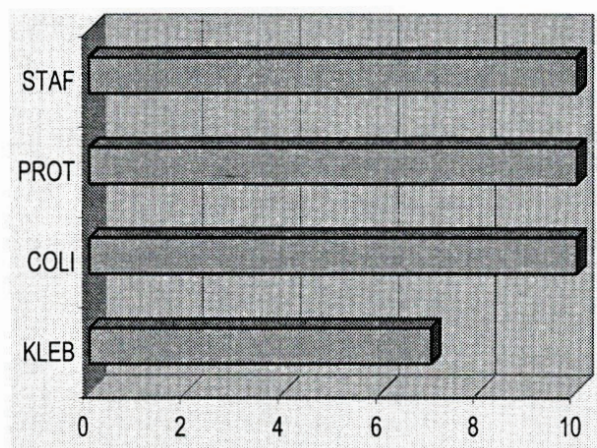
- în cazul în care diferența dintre media valorilor zonei de inhibiție pentru același antibiotic, nu diferă semnificativ statistic, atunci sensibilitatea tulpinii de cercetat a rămas nemodificată pentru antibioticul respectiv;
- în cazul în care diferența dintre media valorilor zonei de inhibiție pentru același antibiotic, diferă semnificativ statistic, se poate deduce că tulpina de cercetat a suferit modificări față de tulpina standard, care au condus la apariția rezistenței față de antibioticul respectiv.

Pragul de semnificație a testului Student, a fost de 0,05 (5%): dacă $p < 0,05$ mediile diferă semnificativ; pentru o valoare $p < 0,01$ mediile diferă înalt semnificativ; pentru o valoare $p > 0,05$ mediile diferă nesemnificativ.

Rezultate

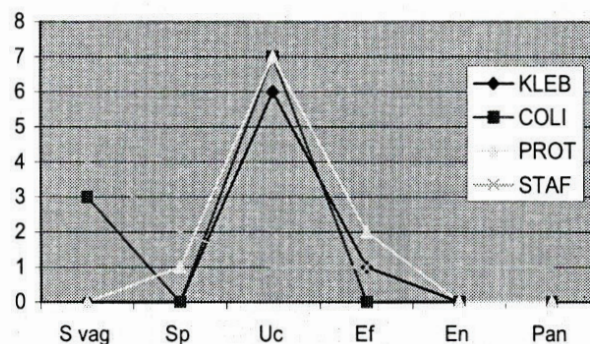
Din numărul total de pacienți - 37,7 au prezentat patologie determinată de *Klebsiella* (KLEB), 10 pacienți au prezentat patologie determinată de *E. coli* (COLI), 10 pacienți au avut patologie determinată de *Proteus* (PROT), 10 pacienți cu patologie determinată de *Staphylococcus aureus* (STAF)(grafic nr. 1).

- Produsele patologice din care s-a izolat *Klebsiella* au fost reprezentate majoritar de uroculturi (Uc), în număr de 6 și de 1 exudat faringian (Ef).
- *E. coli* a fost agentul infecțios izolat din 7 uroculturi și 3 secreții vaginale (S vag).
- Speciile genului *Proteus* au fost izolate din următoarele produse patologice: uroculturi-7, exudate faringiene-2, spută (Sp)-1.
- Aria produselor patologice din care a fost izolat *Staphylococcus aureus* a fost mult mai extinsă, cuprinzând: secreții vaginale-4, spute-2,



Grafic.1 Repartiția cazurilor în funcție de germii izolați

urocultură-1, exudat faringian-1, exudat nazal (En)-1, panarițiu (Pan)-1 (grafic nr. 2).



Grafic 2 Distribuția cazurilor în funcție de produsele patologice

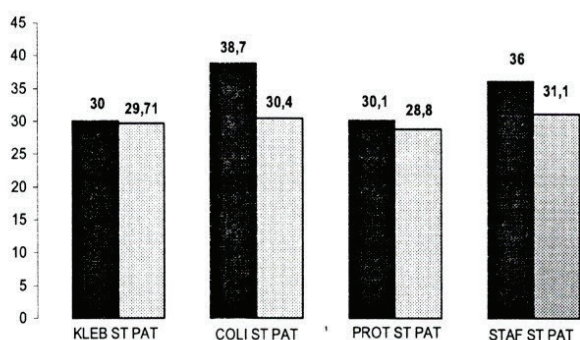
Rezistența sau sensibilitatea germeilor la beta-lactamine

a. Sensibilitatea germeilor la Imipenem+Cilastatin

- După efectuarea antibiografei atât la tulpinile de referință cât și la tulpinile de cercetat din care s-a izolat *Klebsiella*, s-a constatat că diferența valorilor medii obținute a fost nesemnificativă (standard 30mm și $29,71\text{mm}$ pentru probele patologice; $p=0,35$), aceasta păstrându-și nealterată sensibilitatea la Imipenem+Cilastatin.
- În schimb pentru *E. coli* s-a constatat o diferență înalt semnificativă ($p=0,004$) între valoarea medie a răspunsului tulpinilor standard față de valoarea medie obținută la tulpinile de cercetat ($38,7\text{mm}$ versus $30,4\text{mm}$).
- Pentru *Proteus*, diferența a fost nesemnificativă ($p=0,15$) între valorile medii ale celor două

tipuri de tulpini (standard 30,1mm și de cercetat 28,8mm), concluzia fiind că sensibilitatea la Imipenem+Cilastatin nu a suferit modificări.

- În cazul *stafilococului*, s-a obținut o diferență semnificativă ($p=0,028$) între valoarea medie a sensibilității pentru tulpinile de referință și valoarea medie a sensibilității pentru tulpinile de cercetat (36 mm versus 31,1mm). În concluzie, sensibilitatea stafilococului față de Imipenem+Cilastatin a scăzut, deși a rămas receptiv la acesta (grafic nr. 3).

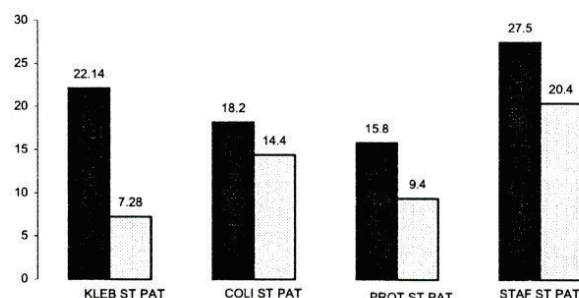


Grafic 3 Sensibilitatea germeilor la Tienam (Imipenem + Cilostatinum)

b. Sensibilitatea germeilor la Ampicilină+Acid Clavulanic

- Sensibilitatea pentru Ampicilină+Acid Clavulanic în cazul *Klebsiellei* a scăzut puternic, devenind aproape rezistentă la acțiunea acestuia, fapt dovedit de diferența înalt semnificativă ($p<0,001$) dintre valoarea medie a diametrelor tulpinilor de referință și a celor din produsele patologice (22,14mm versus 7,28mm).
- *E. coli* deși rezistent (14,2mm) la acțiunea Ampicilină+Acid Clavulanic, nu și-a modificat sensibilitatea în comparație cu tulpinile standard (18,2mm) ($p=0,38$).
- Tulpinile de *Proteus* au suferit modificări ale sensibilității față de Ampicilină+Acid Clavulanic, în sensul că a devenit rezistent la tratamentul cu acest antibiotic, dovadă fiind diferența înalt semnificativă ($p=0,0005$) dintre valoarea medie a diametrelor tulpinilor standard (15,8mm) și valoarea medie a diametrelor tulpinilor de cercetat (9,4mm).
- Deși sensibilitatea *stafilococului* a scăzut semnificativ ($p=0,0004$), răspunde încă bine la acțiunea antibioticului (valoarea medie a diametrelor pentru tulpinile standard 27,5mm

și 20,4mm pentru valoarea medie a diametrelor tulpinilor de cercetat) grafic nr. 4.

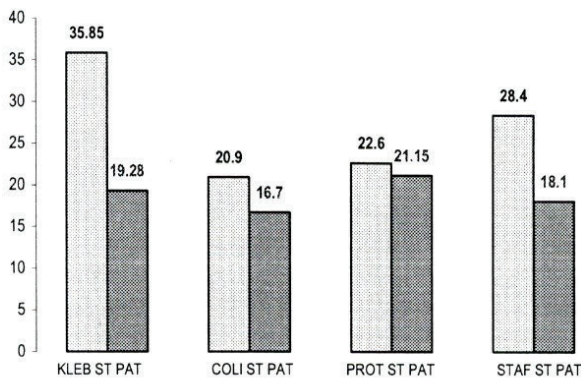


Grafic 4 Sensibilitatea germeilor la Augmentin (Ampicilină + Acid Clavulanic)

- În concluzie, doar *E. coli* și-a păstrat sensibilitatea la acțiunea Ampicilină+Acid Clavulanic; în schimb la ceilalți germeni se constată tendința la apariția rezistenței.

c. Sensibilitatea germeilor la Ampicilină+Sulbactam

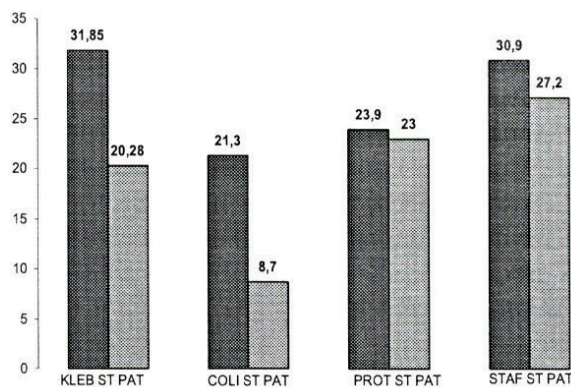
- *Klebsiella* este intermediar sensibilă la acțiunea antibioticului, dar sensibilitatea acesteia este în scădere, diferența dintre valorile medii ale standardului (35,85mm) și ale lotului de cercetat (19,28mm) fiind înalt semnificativă ($p=0,0001$).
- Pentru *E. coli*, atât standardul cât și proba răspund intermediar la acțiunea antibioticului (20,9mm respectiv 16,7mm), această diferență fiind nesemnificativă statistic ($p=0,13$). Putem concluziona că sensibilitatea germeului la antibiotic s-a păstrat nemodificată.
- Deși răspunsul la antibiotic este intermediar atât pentru standard cât și pentru probă (22,6mm și 21,15mm), *Proteus* își păstrează sensibilitatea nemodificată, diferența dintre valorile medii ale celor două loturi (standard și probă) fiind nesemnificativă statistic ($p=0,33$).
- *Stafilococul* are tendința către instalarea rezistenței, fapt constatat printr-o diferență înalt semnificativă ($p=0,00003$) între valoarea medie a standardului (28,4mm) și cea a lotului de cercetat (18,1mm) grafic nr. 5.
- Dintre germenii studiați, *Klebsiella* și *stafilococul* prezintă tendința instalării rezistenței la Ampicilină+Sulbactam, în timp ce *E. coli* și *Proteus* nu au căpătat încă rezistență la Ampicilină+Sulbactam, răspunzând intermediar.



Grafic 5 Sensibilitatea germenilor la Unasym (Ampicilină+Sulbactam)

d. Sensibilitatea germenilor la Cefotaxim

- Se constată o scădere importantă a sensibilității *Klebsiellei* la antibiotic, aceasta devenind intermediar sensibilă (20,28mm) față de valoarea medie a standardului (31,85mm) cu o diferență înalt semnificativă ($p=0,00019$). Aceasta denotă tendința la instalarea rezistenței.
- Pentru *E. coli*, se constată instalarea rezistenței germenului la acțiunea antibioticului, diferența fiind înalt semnificativă ($p=0,0002$) între valoarea medie a standardului (21,3mm) intermediar sensibil, și cea a probelor (8,7mm).
- În ceea ce privește răspunsul *Proteusului* la Cefotaxim este intermediar atât pentru standard (valoarea medie -23,9 mm) cât și pentru probele cercetate (valoarea medie 23mm), diferența dintre aceste valori fiind ne semnificativă ($p=0,4$).
- La Cefotaxim, *stafilococul* are o sensibilitate foarte bună, constatată atât la tulpinile de referință (valoarea medie: 30,9mm) cât și la tulpinile de cercetat (27,2mm), diferența fiind ne semnificativă ($p=0,06$) grafic nr. 6.

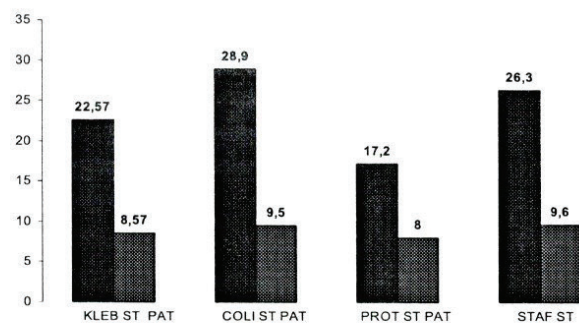


Grafic 6 Sensibilitatea germenilor la Cefotaxim

- Putem spune că dintre germenii studiați, *stafilococul* este cel care răspunde cel mai bine la terapia cu Cefotaxim, urmat de *Proteus*. Deși *Klebsiella* încă răspunde bine, având o sensibilitate intermediară, se constată totuși tendința la instalarea rapidă a rezistenței la acest antibiotic. La *E. coli* se constată apariția instalării definitive a rezistenței la Cefotaxim.

e. Sensibilitatea germenilor la Ceftazidim

- În cazul *Klebsiellei*, deși standardul răspunde bine la acțiunea antibioticului, probele cercetate au prezentat rezistență la Ceftazidim (valoarea medie a diametrelor zonei de inhibiție fiind de 22,57mm pentru standard și 8,57mm pentru probe). Diferența dintre aceste valori medii este înalt semnificativă ($p=0,00045$).
- Același caz s-a întâlnit și la *E. coli*, unde standardul răspunde foarte bine (28,9mm) pe când la probe se constată rezistență la acțiunea antibioticului (9,5mm). Diferența dintre valorile medii ale lotului standard și lotului de cercetat este înalt semnificativă ($p<0,0001$).
- La *Proteus*, standardul răspunde intermediar la acțiunea antibioticului (valoarea medie a diametrelor măsurate: 17,2mm) pe când la lotul probelor cercetate se constată rezistența la Ceftazidim (8mm). Diferența dintre aceste valori medii este înalt semnificativă ($p=0,00035$).
- *Stafilococcus aureus*. Nici în acest caz nu s-au obținut rezultate încurajatoare privind sensibilitatea probelor la acțiunea antibioticului. Valoarea medie a diametrelor lotului de cercetat fiind de 9,6mm ceea ce denotă rezistența la antibiotic, iar valoarea medie a diametrelor standardului a fost de 26,3mm (răspuns foarte bun la activitatea antimicrobiană a antibioticului). Diferența este înalt semnificativă între valorile medii ale acestor loturi ($p=0,0001$) grafic nr. 7.

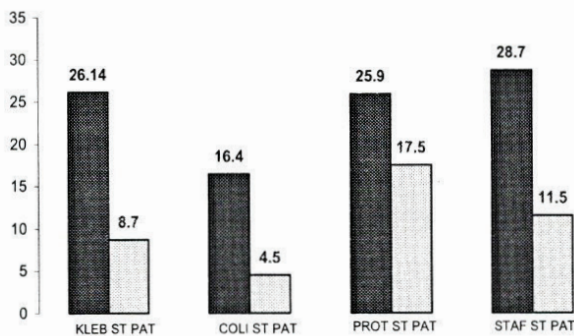


Grafic 7 Sensibilitatea germenilor la Ceftazidim

- Concluzionând, la nici unul dintre germeni nu se mai constată sensibilitate la Ceftazidim.

f. Sensibilitatea germenilor la Ampicilină

- *Klebsiella*. Standardul răspunde foarte bine la acțiunea antibioticului (valoarea medie a diametrelor: 26,14mm), în timp ce la probe se constată rezistență la Ampicilină (valoarea medie a diametrelor: 8,7mm). Diferența dintre valorile medii ale lotului standard și lotului de cercetat este înalt semnificativă ($p < 0,0001$).
- *E. coli*. În timp ce standardul răspunde intermediar la acțiunea antibioticului (16,4mm), la probe se constată o rezistență puternică la Ampicilină (4,5mm) Diferența dintre valorile medii este înalt semnificativă ($p < 0,0001$).
- *Proteus*. Se constată tendința de instalare a rezistenței, standardul având o sensibilitate foarte bună (25,9mm) iar lotul de cercetat prezentând o sensibilitate intermediară (17,5mm), cu o diferență înalt semnificativă ($p = 0,002$).
- *Stafilococul patogen*. La fel ca și în cazul de mai sus, se constată tendința de instalare a rezistenței, diferența dintre valorile medii ale diametrelor standardului (care și-a păstrat un răspuns foarte bun: 28,7mm) și a lotului de probe (cu sensibilitate intermediară: 11,5mm) este înalt semnificativă ($p < 0,0001$) grafic nr. 8.



Grafic 8 Sensibilitatea germenilor la Ampicilină

- Se poate spune, în concluzie, că deși se constată tendința de instalare a rezistenței la germenii luați în studiu, la *stafilococ* și la *Proteus* se observă prezența unei sensibilități intermediare la acțiunea Ampicilinei.

Concluzii

- Dacă sensibilitatea *Klebsiellei* și a *Proteusului* la Imipenem+Cilastatin nu a suferit modificări, la *stafilococ* sensibilitatea a scăzut, deși acesta

a rămas receptiv la acest antibiotic, în schimb *E. coli* a devenit rezistentă.

- *E. coli*, bacteria cel mai frecvent implicată în patologia infecțioasă, și mai ales în infecțiile de tract urinar, și-a păstrat sensibilitatea la acțiunea Ampicilină+Acid clavulanic, în schimb la *Proteus*, *Klebsiella*, *Stafilococcus aureus* se constată tendința la apariția rezistenței.
- Dintre germenii studiați, doar *E. coli* și *Proteus* nu au căpătat rezistență la Ampicilină+Sulbactam, răspunzând intermediar, spre deosebire de *Klebsiella* și *stafilococ* care au tendința la instalarea rezistenței.
- *Stafilococul* este cel care răspunde cel mai bine la terapia cu Cefotaxim, urmat de *Proteus*, agentul cel mai frecvent incriminat în infecțiile urinare după *Escherichia coli*. Deși *Klebsiella* încă răspunde bine, având o sensibilitate intermediară, se constată totuși tendința la instalarea rapidă a rezistenței, în timp ce la *E. coli* se constată apariția instalării definitive a rezistenței la Cefotaxim.
- La nici unul dintre germenii luați în studiu nu se mai constată sensibilitate la Ceftazidim.
- Deși se constată tendința de instalare a rezistenței la Ampicilină la unii germeni luați în studiu (*Klebsiella* și *E. coli*), la *stafilococ* și la *Proteus* se observă prezența unei sensibilități intermediare la acțiunea aceluiași antibiotic.
- Rezistența și tendința de instalare a rezistenței germenilor față de antibioticele beta-lactamice atrage atenția asupra unei administrări incorecte, abuzive, nejustificate a antibioticelor, cu nerespectarea spectrului de activitate antibacterian al acestora, cu posibilitatea apariției de schimbări în echilibrul ecologic al florei bacteriene normale, prin selectarea unor tulpini circulante de bacterii devenite rezistente la toate antibioticele uzuale.

Bibliografie

1. **Buiuc D, Neguț M** - "Tratat de Microbiologie Clinică". Editura Medicală București, 1999
2. **Cars O** - "Efficacy of beta-lactam Antibiotics: Integration of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics". *Diagn Microbiol Infect Dis.*, 1997; 27: 29-33
3. **Courvalin P, Drugeon H, Flandrois JP, Goldstein F** - "Bactericidie. Aspects theoriques et pratiques". Eds. Maloine 1990
4. **Craig WA** - "Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Parameters: Rationale for Antibacterial Dosing of Mice and Men". *Clin Infect Dis.*, 1998; 26: 1-12

5. **Craig W** - "Pharmacodynamics of Antimicrobial Agents as a Basis for Determining Dosage Regimens". *Eur. J. Clin Microbio Infect Dis.* 1993; 12 suppl 1: 6-8
6. **Greenwood D, Slack RCB, Peutherer JF** - "Medical Microbiology. A guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Diagnosis and Control". Churchill Livingstone 1992.
7. **Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF, Butel JS, Ornston LN** - "Medical Microbiology", nineteenth edition, Appleton & Lange Norwalk, CT/San Mateo, CA 1991
8. **Mendell GL, Douglas RG, Bennett JR** - "Principles and practice of infectious disease. Antimicrobial therapy". Churchill Livingstone, New York 1992, 58-71
9. **Scaglione F** - "Predicting the clinical efficacy of antibiotics: toward definitive criteria". *J Infect Dis.*, 1997; 16: 56-59
10. **Schentag JJ, Strenkoski-Nix LC, Nix DE, Forrest A** - "Pharmacodynamic interactions of Antibiotics Alone and in Combination". *Clin Infect Dis.*, 1998; 27: 40-46
11. **Sefer M** - "Examinarea microscopică în diagnosticul bolilor microbiene". Editura Viața Medicală Românească București 1998
12. **Turnidge JD** - "The pharmacodynamics of beta-lactams". *Clin Infect Dis.* 1998; 27: 10-22
13. **Zarnea G** - "Tratat de Microbiologie Generală, Vol. I, II și III, Ed. Academiei Române 1984, 1986, 1990