

## HET ANTIBIOGRAM

Met een antibiogram wordt de gevoeligheid van een micro-organisme bepaald t.o.v. verschillende antibiotica. Men wenst na te gaan in hoeverre bepaalde geneesmiddelen kunnen worden aangewend in een klinische situatie. Het is noodzakelijk om over een goed gestandaardiseerde techniek te beschikken.

### Minimale inhibitorische concentratie

De meest gebruikte parameter voor de evaluatie van de microbiologische activiteit van antibiotica is de MIC-waarde (*minimal inhibitory concentration*). De minimale inhibitorische concentratie is de laagste concentratie, waarbij de groei van een bacterie nog net wordt geremd. Deze MIC-waarde is het resultaat van een gestandaardiseerde gevoeligheidsbepaling *in vitro*. Het inoculum bij de MIC-bepaling is gestandaardiseerd op  $5 \times 10^5$  CFU (*colony forming units*, kolonie vormende eenheden) per ml maar het reële inoculum *in vivo* is uiteraard afhankelijk van de plaats van de infectie (veel hoger bij endocarditis, lager in sommige andere situaties). De MIC<sup>50</sup> en MIC<sup>90</sup> zijn deze MIC-waarden waarbij respectievelijk 50 en 90 % van een bepaalde bacteriesoort geïnhibeerd worden. Ze zijn een goede maatstaf voor de intrinsieke activiteit (MIC<sup>50</sup>) en de graad van resistentie (MIC<sup>90</sup>) van een bepaald antibioticum.

Voor het bepalen van MIC-waarden zijn de diluatiemethoden de referentietechnieken. Meer en meer laboratoria maken gebruik van geautomatiseerde diluatiemethoden (Phoenix, Vitek2). De drie Leuvense laboratoria hebben geopteerd voor de Vitek2 automaat van BioMérieux (2). In sommige situaties worden eveneens diffusiemethodes met schijfjes of tabletten aangewend. Er is een correlatie tussen de MIC en de grootte van de inhibitiezone rondom een schijfje dat een antibioticum bevat (3, 5).

### Breekpunten

De gevoeligheid van een bacterie aan een bepaald antibioticum, uitgedrukt als MIC (minimale inhibitorische concentratie), wordt vergeleken met de serum-(weefsel-)spiegel van dit geneesmiddel.

Een breekpunt is de concentratie die de grens aangeeft voor gevoeligheid, respectievelijk resistentie. De breekpunten worden bepaald aan de hand van de microbiologische (distributies van de MIC-waarden van een bacteriële populatie), de farmacologische en de farmacodynamische eigenschappen van de antibiotica en worden gevalideerd door studies bij proefdieren en bij patiënten (1, 4). Men heeft experimenteel kunnen vaststellen dat de antibiotica kunnen ingedeeld worden in twee grote klassen: tijdsafhankelijke ( $\beta$ -lactam antibiotica, macroliden en clindamycine) en concentratie-dependente (aminoglycosiden, quinolones, azithromycine en tetracyclines) antibiotica. Studies bij proefdieren tonen aan dat de concentratie van een tijdsafhankelijk antibioticum minstens gedurende de helft van het toedieningsinterval hoger moet zijn dan de MIC opdat er een gunstig effect zou worden bekomen van de therapie (1, 4). Voor concentratie dependente antibiotica is de verhouding van de concentratiepiek en de MIC belangrijk. De verschillende breekpunten worden vastgelegd in een **norm**. Bij gebrek aan eigen Belgische normen of aan een Europese norm hanteren de meeste laboratoria in ons land de Amerikaanse normen voor het antibiogram (CLSI of *Clinical and Laboratory Standards Institute*, vroeger NCCLS,) (3). De Franse normen worden ook gebruikt, gewoonlijk wanneer de Amerikaanse norm geen richtlijnen heeft voor bepaalde organismen (vb. *Campylobacter*) (5).

### Gevoelig, intermediair gevoelig, resistent

De CLSI-criteria (vroeger NCCLS) maken het mogelijk om de bacteriën onder te verdelen in diverse categorieën: gevoelig (S), dit wil zeggen met een MIC, die lager of gelijk is aan de breekpunt waarde voor gevoelig, wat betekent dat men redelijkerwijze een gunstig resultaat mag verwachten. Resistent (R) met een MIC, die hoger of gelijk is aan de breekpunt waarde voor resistentie, suggestief voor een ongunstig resultaat. De intermediaire categorie (I) omvat alle waarden tussen de twee breekpunten. Bovendien zal men er rekening mee houden dat een waarde in het intermediaire gebied een lichte onzekerheid inhoudt. In geval van lagere urinewegen infecties kan een kiem met een dergelijk resultaat waarschijnlijk nog als gevoelig worden aanzien gezien de zeer hoge concentraties antibioticum in de urine, wanneer althans dit antibioticum via de urine wordt uitgescheiden.

## Confirmatietesten

Meer en meer wordt naast het opzoeken van de fenotypische resistentie ook nagekeken welk resistentiemechanisme verantwoordelijk is voor deze resistentie. De aanwezigheid van een bepaald resistentiemechanisme heeft soms een betere voorspellende waarde dan het fenotypisch antibiogram. Voorbeelden zijn, de aanwezigheid van een ESBL (extended spectrum  $\beta$ -lactamase) voor  $\beta$ -lactam resistentie, of van gewijzigde penicilline bindende proteïnen (PBP2a, gecodeerd door het mecA-gen) bij een MRSA. Men kan zowel het PBP2a (eiwit) als het mecA-gen (via een moleculaire techniek) opsporen.

## Richtlijnen voor de te testen antibiotica

Een antibiogram is enkel zinvol voor kiemen, die een variabele gevoeligheid vertonen. De normen (CLSI, SFM) geven hieromtrent dan ook de nodige richtlijnen (3, 5). De keuze van de te testen antibiotica wordt mede bepaald door de farmacologische eigenschappen van de antibiotica alsmede door de resultaten van gecontroleerde studies bij mensen en dieren (1, 4).

## Kruisresistentie

Verschillende antibiotica, die behoren tot dezelfde antibioticaklasse kunnen kruisresistentie vertonen. Is een bacterie resistent aan één antibioticum van deze klasse dan geldt het resultaat in principe voor de hele groep. Het is natuurlijk altijd mogelijk dat een bacterie een MIC heeft voor een bepaald antibioticum net onder het breekpunt (S) en net er boven (R) voor een ander antibioticum van dezelfde familie (dit wordt regelmatig geobserveerd met bv *Pseudomonas aeruginosa* en quinolones). In ieder geval is het duidelijk dat in dit geval het “net” gevoelige antibioticum niet als eerste keuze mag worden beschouwd. Aangezien het niet haalbaar is om al de verschillende moleculen, die behoren tot een zelfde familie afzonderlijk te testen, heeft de CLSI het begrip “**klaseschijfje**” ingevoerd. De uitslag van dit klaseschijfje (bv. 1ste generatie cefalosporine of quinolone) mag geëxtrapoleerd worden naar de ganse groep.

## Epidemiologische waarde van het antibiogram

In veel gevallen heeft een antibiogram slechts een epidemiologische waarde. Resistentie aan sommige antibiotica laat het voorafgaand gebruik ervan, of een bepaalde bron van infectie (bv. nosocomiaal) vermoeden.

Het opvolgen van de resistenties door de laboratoria is niet zonder belang voor de continue evaluatie van de bruikbaarheid van de verschillende antibiotica. Zo verdienen ondermeer de volgende resistentieproblemen al onze aandacht: de resistentie aan penicilline en aan macroliden (reeds aanzienlijk) bij de pneumokok; de quinoloneresistentie bij *Campylobacter* spp. en bij *Escherichia coli*; de verspreiding van MRSA (methicilline resistente *Staphylococcus aureus*) buiten het ziekenhuis.

Het rapporteren van een antibiogram betekent niet automatisch dat antibiotica voor een welbepaalde patiënt nodig of zelfs nuttig zijn. De klinische context blijft hier immers doorslaggevend.

M. Lontie

## Referenties

1. Amsden G.W., Ballou C.H., Bertino J.S., Kashuba D.M. 2005. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of anti-infective agents. In Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R., eds. Principles and practice of infectious diseases. Philadelphia, Elsevier Churchill Livingstone: 271-281.
2. Blanckaert H., Verhaegen J., Lontie M. 2000. Comparison of the VITEK 2 and the NCCLS disk diffusion susceptibility testing. 10th ECCMID, Poster:10/4, TuP232.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifteenth informational supplement.
4. Craig W.A. 1998. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: Rationale for antibacterial dosing of mice and men. Clinical Infectious Diseases. 26: 1-10.
5. Société Française de Microbiologie. 2005. Communiqué 2005 du Comité de l'Antibiogramme. <http://www.sfm.asso.fr/>