

Často kladené otázky k dokumentům EUCAST



Máte další dotazy? Kontaktujte prosím erika.matuschek@ltkronoberg.se

EUCAST diskový difuzní test – Půda

- [Kterého výrobce Mueller-Hinton agaru doporučuje EUCAST?](#)
- [Jaký je rozdíl mezi Mueller-Hinton agarem a Mueller-Hinton agarem II?](#)
- [Je zapotřebí kontrolovat kvalitu každé nové šarže Mueller-Hinton agaru?](#)
- [Lze použít ovčí krev místo koňské pro přípravu půdy MH-F?](#)
- [Jaký \$\beta\$ -NAD lze použít?](#)
- [Lze MH-F půdu použít pro gradientní testy?](#)
- [V příručce EUCAST pro diskovou difuzní metodu je stanovena výška agaru \$4.0 \pm\$ mm. Znamená to, že lze užít plotny s výškou agaru 3,5-3,7 mm?](#)
- [Máme problémy se zákalem v inhibičních zónách a s růstem kolonií v blízkosti okrajů zón, zejména na půdě MH-F. Co lze udělat pro zlepšení tohoto stavu?](#)

2. EUCAST diskový difuzní test - Disky

- [Shoduje se obsah disků EUCAST a CLSI?](#)

3. EUCAST diskový difuzní test - příprava inokula

- [Je nutno měřit hodnotu McFarlanda u všech suspenzí?](#)
- [Lze k vyšetření citlivosti použít kolonie ze selektivní půdy?](#)
- [Měla by se z půdy odebrat více než jedna kolonie k záchytu heterorezistence?](#)
- [Lze k přípravě inokula použít pufr nebo vodu místo fyziologického roztoku?](#)
- [V příručce EUCAST pro diskovou difuzní metodu se uvádí úprava inokula podle zákalového stupně 0,5 McFarlandova standardu. Jaké rozmezí lze použít?](#)
- [Lze plotny pro vyšetření citlivosti inokulovat přelitím?](#)

4. EUCAST diskový difuzní test - Hodnocení zón inhibice

- [Je nutno měřit všechny zóny inhibice?](#)
- [Měly by být inhibiční zóny na MH a MH-F odečítány proti černému pozadí?](#)
- [Jsou bakteriostatická a baktericidní antibiotika odečítána podle stejných doporučení?](#)
- [Proč někdy kontrolní kmen *Haemophilus influenzae* NCTC 8468 roste uvnitř zóny \$\beta\$ -laktamových antibiotik?](#)
- [Jsou samostatné kolonie uvnitř inhibiční zóny kolem mecilinamu významné?](#)
- [Proč se někdy u *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 objevují kolonie uvnitř inhibičních zón kolem disků s karbapenemem?](#)

5. EUCAST diskový difuzní test - Obecná metodologie

- [Je nutno dodržovat „pravidlo 15-15-15 minut“?](#)
- [Doporučuje EUCAST „přímé vyšetření citlivosti“?](#)

3. [Jak se vyšetřuje antibiotická citlivost u *Neisseria gonorrhoeae*?](#)
4. [Proč EUCAST doporučuje inkubaci při \$35 \pm 1^\circ\text{C}\$ zatímco CLSI doporučuje \$35 \pm 2^\circ\text{C}\$?](#)
5. [Proč se disková difuzní metoda EUCAST, podobně jako je tomu u CLSI, implementuje po dobu 20 dnů, po nichž lze snížit frekvenci provádění kontroly kvality z denního na týdenní?](#)

6. Breakpointy - obecně

1. [Budou zveřejněny breakpointy pro *Actinomyces* spp., anaeroby, *Bordetella* spp., *Burkholderia* spp., *Campylobacter* spp., *Corynebacterium* spp., *Listeria* spp., *Neisseria* spp., *Nocardia* spp., *Pasteurella* spp., rychle rostoucí mykobakterie a *Streptomyces* spp.?](#)
2. [Vypracovává EUCAST klinické breakpointy nebo expertní pravidla pro veterinární oblast?](#)
3. [Proč nejsou v tabulkách breakpointů EUCAST uvedeny žádné breakpointy pro "I" kategorii \(citlivý, zvýšená expozice\)?](#)
4. [EUCAST neudává breakpointy oxacilinu, cefalosporinů a karbapenemů pro stafylokoky, jak lze tedy citlivost stanovit?](#)
5. [Proč jsou uvedeny breakpointy nitrofurantoinu pouze pro *E. coli* a ne pro další *Enterobacterales*?](#)
6. [Proč nejsou uvedeny breakpointy tetracyklinu pro *Enterobacterales*?](#)
7. [Je trimetoprim-sulfametoxazol jediné použité antibiotikum pro *Stenotrophomonas maltophilia*?](#)
8. [Stanoví EUCAST breakpointy pro *Enterobacterales* a temocilin?](#)
9. [Jsou breakpointy PK/PD breakpoints \(dříve nazvané "non-species-related MIC breakpoints"\) v tabulkách breakpointů jakkoli použité v rutinní klinické laboratoři?](#)
10. [Breakpointy cefuroximu pro *E. coli*, *Klebsiella* spp. \(s výjimkou *K. aerogenes*\), *Raoultella* spp. a *P. mirabilis* jsou uvedeny pouze pro vysoké dávky \(1.5 g x 3\). Jaký je k tomu důvod?](#)
11. [Proč nelze použít vysoké dávky cefuroximu pro jiné *Enterobacterales* než *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. \(s výjimkou *K. aerogenes*\), *Raoultella* spp. a *Proteus mirabilis*, které se při vyšetření citlivosti jeví jako citlivé?](#)
12. [Proč je udán breakpoint trimetoprimu pro všechny *Enterobacterales* zatímco nitrofurantoin je pouze pro *Escherichia coli*? Obě antibiotika jsou určena pouze pro nekomplikované infekce močových cest.](#)
13. [Je v plánu stanovit breakpointy pro lokální antibiotika jako jsou chloramfenikol, polymyxin B, tetracyklin, neomycin a tobramycin?](#)
14. [Bude EUCAST stanovovat breakpointy azitromycinu pro rody *Salmonella* a *Shigella*?](#)
15. [Které breakpointy lze použít pro gramnegativní nefermentující tyčky jiné než *Pseudomonas* spp. a *Acinetobacter* spp.?](#)
16. [Proč byl z poslední verze breakpointů odstraněn screening s nalidixovou kyselinou pro izoláty *Salmonella* a jak se má nyní postupovat?](#)
17. [EUCAST v tabulkách breakpointů uvádí, že breakpointy cefalosporinů pro *Enterobacterales* detekují všechny klinicky významné mechanismy rezistence \(včetně ESBL a plazmidem zprostředkované AmpC\). Znamená to, že tyto mechanismy není třeba dále vyšetřovat a že výsledek se má hlásit tak, jak byl odečten?](#)
18. [Může být k detekci ESBL nebo karbapenemázy použit ECOFF?](#)

19. [Breakpointy benzylpenicilinu pro *Streptococcus pneumoniae* závisí na podané dávce? Jak se má hlásit výsledek vyšetření? Je nutno do výsledku uvést všechny poznámky uvedené u těchto breakpointů?](#)
20. [Bude EUCAST zavádět breakpointy antibiotik používaných u močových infekcí pro skupinu viridujících streptokoků?](#)
21. [Pokud nemá pneumokok žádné mechanismy rezistence a je citlivý k penicilinu, může být označen jako citlivý ke všem \$\beta\$ -laktamovým antibiotikům, je-li však citlivý při zvýšené expozici nebo rezistentní, jak se má hodnotit citlivost k amoxicilinu a k amoxicilinu/kyselině klavulanové?](#)
22. [Co znamená poznámka „pouze pro nekomplikované infekce močových cest“ \(IMC\) pro *Enterobacterales* a cefalosporiny?](#)
23. [Breakpointy nitrofurantoinu v tabulce pro *Staphylococcus* spp. jsou uvedeny pouze pro *S. saprophyticus*. Jaké je doporučení pro testování a interpretaci pro jiné *Staphylococcus* spp. z moči?](#)
24. [Proč byly odstraněny breakpointy mupirocinu u *Staphylococcus aureus*?](#)
25. [U některých antibiotik jsou uvedeny komentáře týkající se dávkování. Vztahují se vyšší dávky k breakpointu pro citlivost nebo pro rezistenci?](#)
26. [EUCAST uvádí, že *E. faecium*, rezistentní k penicilinům, lze považovat za rezistentní ke všem \$\beta\$ -laktamovým antibiotikům včetně karbapenemů. Zahrnuje to také amoxicilin/klavulanát?](#)
27. [Tabulka breakpointů EUCAST u mupirocinu uvádí: "Breakpointy se vztahují k nosní dekolonizaci *S. aureus*". U dalších *Staphylococcus* spp. se tedy hlásí pouze MIC nebo se neoznamuje žádný výsledek, zejména proto, že pro některé koaguláza-negativní stafylokoky jsou uvedeny distribuce MIC?](#)
28. [Podle metody a breakpointů EUCAST jsou některé \$\beta\$ -laktamáza negativní izoláty *Haemophilus influenzae* rezistentní k cefuroximu a citlivé k ampicilinu. Může to být pravda?](#)
29. [Lze použít breakpointy určené pro *H. influenzae* pro izoláty jiných druhů hemofilů?](#)
30. [Od zavedení breakpointů EUCAST do naší laboratoře vždy hlásíme *H. influenzae* jako "citlivý při zvýšené expozici" cefuroximu axetilu. Předtím jsme hlásili izoláty *H. influenzae* jako citlivé k cefuroximu axetilu podle kritérií CLSI. Lze toto léčivo podávat ve vyšších dávkách? V naší oblasti je široce používáno a naši klinici věří, že poskytuje vyhovující klinické výsledky. Jaký je důvod že nelze hlásit citlivost?](#)
31. [Proč se breakpointy nitrofurantoinu vztahují pouze na *Enterococcus faecalis* a nikoli na ostatní enterokoky, speciálně na *Enterococcus faecium*?](#)
32. [Jak se má interpretovat benzylpenicilin u *S. pneumoniae*, je-li hodnota MIC \$\leq 0,06\$ mg/l avšak průměr zóny oxacilinu je \$< 20\$ mm?](#)
33. [Proč nelze nadále aplikovat breakpointy pro penicilin u koaguláza-negativních stafylokoků?](#)
34. [Někdy se vyskytne výsledek, kdy je *Haemophilus influenzae* citlivý k ampicilinu, ale rezistentní ke kombinaci amoxicilin/klavulanová kyselina. Jak se má takový izolát hlásit?](#)
35. [Lze odvodit citlivost *Corynebacterium* spp. k moxifloxacinu od výsledku s ciprofloxacinem?](#)
36. [Co je základem pro doporučení EUCAST o hlášení citlivosti stafylokoků a streptokoků s disociovanou rezistencí ke klindamycinu?](#)
37. [Proč nejsou k dispozici breakpointy daptomycinu pro enterokoky?](#)
38. [Jak vyšetřovat citlivost u klinických izolátů nebo antibiotik, pro něž EUCAST neuvádí breakpointy?](#)

39. [Proč jsou breakpointy pro ceftazidim-avibaktam vyšší než pro samotný ceftazidim?](#)
40. [Proč EUCAST nedoporučuje vyšetřit \$\beta\$ -laktamázový test předtím, než hlásí enterokoky jako citlivé k penicilinům, zatímco CLSI na tom trvá?](#)
41. [Jaký je rozdíl mezi kategorií "citlivý, zvýšená expozice" a "citlivost závislá na dávce" \(susceptibility dose dependent, SDD\), kterou definuje CLSI pro cefepim?](#)
42. [Jak se vyšetřuje citlivost a interpretují se výsledky u *Staphylococcus saccharolyticus*?](#)
43. [Co znamená nová kategorie interpretace výsledků vyšetření citlivosti "I" a jak s ní zacházet v laboratoři?](#)
44. [Co znamená Area of Technical Uncertainty \(ATU, Oblast technické nejistoty\) a jak s ní zacházet v laboratoři?](#)
45. [Jak se interpretují výsledky testování tigecyklinu u jiných Enterobacterales než je *Escherichia coli* a *Citrobacter koseri*?](#)
46. [Proč EUCAST stanovil breakpointy pro orální aplikaci amoxicilinu a kombinace amoxicilinu s kyselinou klavulánovou u *Streptococcus pneumoniae* a *Haemophilus influenzae*?](#)

7. Breakpointy – průměry zón

1. [Má EUCAST breakpointy průměrů zón, které odpovídají breakpointům **nevztaheným k druhu**?](#)
2. [EUCAST neuvádí breakpointy jiných makrolidů než erytromycinu. Jak se k nim vyšetřuje citlivost?](#)
3. [Co znamená zkratka "IP" v tabulkách breakpointů?](#)
4. [Proč je u některých antibiotik breakpoint průměrů inhibičních zón pro citlivé kmeny \$\geq 50\$ mm?](#)
5. [Mohou být výsledky screeningu s pefloxacinem u *Salmonella* spp. použity k odvození citlivosti k jiným fluorochinolonům než k ciprofloxacinu?](#)
6. [Lze použít screening s pefloxacinem u jiných druhů než *Salmonella* spp. pro screening rezistence k fluorochinolonům?](#)
7. [Lze breakpointy průměru zón EUCAST pro *Campylobacter jejuni* a *C. coli* použít pro jiné druhy rodu *Campylobacter*?](#)
8. [Proč změnil EUCAST screening cefoxitinu u *Staphylococcus epidermidis* a koaguláza-negativních stafylokoků?](#)
9. [Stanoví EUCAST breakpointy průměrů zón kolem disku s fosfomycinem pro jiné **Enterobacterales** než *Escherichia coli*?](#)
10. [Bude EUCAST stanovovat breakpointy průměrů zón RAST pro jiné Enterobacterales než *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae*?](#)

8. Kontrola kvality

1. [Kde lze získat kmeny pro kontrolu kvality EUCAST?](#)
2. [Jak často by měla být prováděna kontrola kvality s kontrolními kmeny?](#)
3. [Lze používat kmeny pro kontrolu kvality EUCAST pro kontrolu kvality automatizovaných systémů?](#)
4. [Kde lze nalézt referenční distribuce citlivostí pro srovnání s distribucemi citlivostí v naší laboratoři?](#)
5. [Většina automatizovaných systémů doporučuje kontrolní kmeny, jejichž MIC je mimo rozmezí v daném antibiotickém panelu. ISO doporučuje, aby nejméně u jednoho](#)

kontrolního kmene mohlo být měřeno MIC v rozmezí panelu. Je obtížné akceptovat u kontrolního kmene výsledky < nebo >, protože jeho MIC je mimo rozmezí MIC na panelu. Jak v tomto případě postupovat?

6. Proč jsou v některých případech nesrovnatelnosti mezi CLSI a EUCAST u stejného kontrolního kmene v rozmezí MIC?
7. Jak by se měly kontrolovat disky s kombinacemi β -laktamů s inhibitory β -laktamázy?
8. Kdy by se měla provádět kontrola kvality EUCAST u rychlého vyšetření citlivosti z pozitivních hemokultur (RAST)?

9. Ostatní dotazy

1. Nový standard EUCAST uvádí fixní koncentraci inhibitoru β -laktamázy pro piperacilin-tazobactam, amoxicilin-klavulanát a ampicilin-sulbactam. Platí to pouze pro MIC, a jaký je pro to důvod?
2. Bude EUCAST doporučovat standardizované fenotypové/genotypové metody pro confirmaci producentů karbapenemázy?
3. Jak často bude EUCAST zveřejňovat aktualizace?
4. Co znamená zkratka ND na webové stránce průměrů zón a MIC EUCAST?
5. Podle tabulky breakpointů EUCAST musí být MIC kombinace amoxicilinu/klavulanátu testována s fixní koncentrací klavulanátu (2 mg/l). Mohou být gradientní testy prováděny s fixní koncentrací kyseliny klavulanové?
6. Proč skupinu "jiné streptokoky" nahradila "skupina viridujících streptokoků", a jak se vypořádat s nehemolytickými izoláty?
7. Má EUCAST nějakou poradní roli ve vývoji u výrobců automatizovaných systémů pro vyšetřování citlivosti?
8. Používání zkratk koncentrací v ředění dvojnásobně geometrickou řadou v dokumentech EUCAST není důsledné. Jak se má správně interpretovat ve výsledku MIC antibiotika 0,125 mg/l, udává-li EUCAST breakpoint pro citlivost C \leq 0,12 mg/l?
9. V tabulce breakpointů EUCAST se udává, že u viridujících streptokoků má být do vyšetření citlivosti zahrnut i erytromycin, a to pro detekci indukované rezistence ke klindamycinu, i když breakpoint pro erytromycin není uveden. Jak je to možné?
10. EUCAST doporučuje MH-F bujón pro mikrodiluční metodu u streptokoků, ale norma ISO 20776-1 uvádí, že by měl být použit Mueller-Hinton bujón s 2,5-5 % lyzátem koňské krve. Proč je zde tento rozdíl?
11. Jak se vyšetřuje *Staphylococcus aureus*, který při použití standardní diskové difuzní metody (neobohacený Mueller-Hinton agar) neroste na vzduchu?
12. Proč EUCAST nedoporučuje používání gradientních testů pro vyšetření MIC kolistinu?
13. Je známo, že průměr zóny se může mezi různými laboratořemi lišit. Bere EUCAST tuto skutečnost v úvahu při stanovení kritérií pro kontroly kvalitu (QC), breakpointů průměrů zón a pro data v referenční databázi EUCAST?
14. Platí stále tabulky v odborných pravidlech (expert rules v 2.0) uvádějící přirozenou rezistenci a výjimečné rezistentní fenotypy (v 3.1)?
15. Jak je definován "výjimečný fenotyp rezistence" a proč v poslední verzi expertních pravidel (v3.1) byly odstraněny "výjimečně citlivé fenotypy"?

ODPOVĚDI:

1. EUCAST diskový difuzní test - Půda		
1	<p>Kterého výrobce Mueller-Hinton agaru doporučuje EUCAST?</p> <p>EUCAST nedoporučuje určitého výrobce Mueller-Hinton agaru. Testovali jsme opakovaně šarže Mueller-Hinton agaru od čtyř výrobců (BBL, Oxoid, bioMérieux a Bio-Rad) a příležitostně i jiné půdy. Testovali jsme rovněž šarže MH-F (Mueller-Hinton Fastidious organisms; Mueller-Hinton agar s 5% koňskou krví a 20 mg/l β-NAD) od výše uvedených výrobců. Každý uživatel si musí být vědom toho, že bez ohledu na výrobce musí být inhibiční zóny příslušných kontrolních kmenů pro vnitřní kontrolu kvality v rozmezí, které uvádí EUCAST. Ty byly kontrolovány na půdách několika výrobců. Je nutno poznamenat, že komerční výrobci hotových půd nemusí být totožní s výrobcí dehydratovaných půd Mueller Hinton.</p> <p>Přidáno v roce 2019: Podrobné hodnocení MH agaru několika výrobců (21 šarží od 17 výrobců) provedené v EUCAST Development Laboratory bylo prezentováno formou posteru na ECCMID 2019, viz http://www.eucast.org/presentations_and_statistics/eucast_at_eccmid/ (EUCAST na ECCMIDu 2019)</p>	▲
2	<p>Jaký je rozdíl mezi Mueller-Hinton agarem a Mueller-Hinton agarem II?</p> <p>Původní receptura Mueller-Hinton agaru nedefinuje obsah kationtů (které ovlivňují výsledky několika antibiotik, zejména aminoglykosidů) ani limity pro obsah thymidinu a thyminu (které ovlivňují výsledky trimetoprimu a sulfonamidů). Mueller-Hinton agar II má nízký obsah thymidinu a thyminu a kontrolovaný obsah iontů vápníku a hořčíku. V současné době by všechny Mueller-Hinton agary pro vyšetření citlivosti měly splňovat technickou specifikaci ISO 16782. Proto lze použít kterýkoli Mueller-Hinton agar, na němž kontrolní kmeny EUCAST pro vnitřní kontrolu kvality vytváří inhibiční zóny v přípustném rozmezí, a EUCAST nerozlišuje mezi MH a MH II.</p> <p>Přidáno v roce 2019: Podrobné hodnocení MH agaru několika výrobců (21 šarží od 17 výrobců) provedené v EUCAST Development Laboratory bylo prezentováno formou posteru na ECCMID 2019, viz http://www.eucast.org/presentations_and_statistics/eucast_at_eccmid/ (EUCAST na ECCMIDu 2019)</p>	▲
3	<p>Je zapotřebí kontrolovat kvalitu každé nové šarže Mueller-Hinton agaru?</p> <p>V rutinní práci se musí na každé nové šarži Mueller-Hinton agaru kontrolovat růst a inhibiční zóny antibiotik. Pro tuto vnitřní kontrolu kvality se používají kmeny, které doporučuje EUCAST. Vytvoření inhibičních zón mimo limit kolem gentamicinu (nebo tobramycinu) u <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 ukazuje na vysoký nebo nízký obsah kationtů a průměry zón kolem trimetoprimu a nebo trimetoprimu-sulfametoxazolu menší než je kontrolní limit u <i>E. faecalis</i> ATCC 29212 ukazují na nepřipustně vysoký obsah thyminu i thymidinu.</p>	▲
4	<p>Lze použít ovčí krev místo koňské pro přípravu půdy MH-F?</p> <p>Nikoli. Všechny breakpointy jsou standardizovány a kalibrovány pro Mueller-Hinton agar s 5 % koňské krve a 20 mg/l β-NAD a nejsou validovány pro jinou půdu. Kmeny <i>Haemophilus</i> spp. nerostou na Mueller-Hinton agaru s 5 % ovčí krve a 20 mg/l β-NAD.</p>	▲
5	<p>Jaký β-NAD lze použít?</p> <p>Hodnotili jsme šarže β-NAD různých výrobců a doporučujeme však používat β-NAD s čistotou $\geq 98\%$.</p>	▲
6	<p>Lze MH-F půdu použít pro gradientní testy?</p> <p>Informace o tom, které produkty jsou pro MH-F validovány, naleznete v pokynech</p>	▲

	výrobce. Růst anaerobů a <i>Neisseria gonorrhoeae</i> na MH-F je často nedostatečný a proto doporučujeme testování podle pokynů výrobce příslušných půd.	
7	V příručce EUCAST pro diskovou difuzní metodu je stanovena výška agaru 4.0 ± mm. Znamená to, že lze užít plotny s výškou agaru 3,5-3,7 mm? Nikoli, cílová hodnota by měla být 4,0 mm bez ohledu na to, zda jsou půdy připraveny komerčně nebo in-house. Pokud opakovaná kontrola ukáže výšku pod nebo nad 4 mm, je zapotřebí upravit objem vylévané půdy, i když je výška agaru v rozmezí 3,5 - 4,5 mm. Pravděpodobným výsledkem soustavného používání půd s hloubkou agaru v blízkosti těchto limitů, zejména nižšího limitu, je vytvoření chybných inhibičních zón.	▲
8	Máme problémy se zákalem v inhibičních zónách a s růstem kolonií v blízkosti okrajů zón, zejména na půdě MH-F. Co lze udělat pro zlepšení tohoto stavu? Příčinou zákalu nebo neostrých okrajů zón může být viditelná vlhkost na povrchu agaru nebo na víčku (vlhký film nebo kapky) a proto by plotny měly být před inokulací suché. Vlhkost je běžná u ploten uložených v igelitových sáčcích nebo v uzavřených nádobách. Plotny lze zbavit nadměrné vlhkosti uložením při 20-22° C přes noc, nebo při teplotě 35° C po dobu 15 minut bez víček, nebo při uložení bez obalu v lednici.	▲
2. EUCAST diskový difuzní test - Disky		
1	Shoduje se obsah disků EUCAST a CLSI? Většinou je obsah stejný, ale u některých disků se liší. Je zapotřebí používat disky s obsahem uvedeným v Tabulkách breakpointů EUCAST. Pokud se používají breakpointy EUCAST, pak disky s jiným obsahem nelze používat. Každá laboratoř, která používá diskovou difuzní metodu s breakpointy průměrů zón EUCAST musí provádět kontrolu kvality k ověření, zda použité disky fungují podle kritérií v tabulkách QC EUCAST. Existují významné rozdíly v kvalitě disků od různých výrobců, viz hodnocení disků EUCAST od 9 výrobců, http://www.eucast.org/documents/publications_in_journals/	▲
3. EUCAST diskový difuzní test - příprava inokula		
1	Je nutno měřit hodnotu McFarlanda u všech suspenzí? Není možno posuzovat zákal pouhým okem bez porovnání se zákalovým standardem. Hustotu suspenze lze nejspolehlivěji změřit na fotometru kalibrovaném na hodnoty McFarlanda. Porovnávání hustoty suspenze se zákalovým stupněm 0,5 McFarlandova standardu pouhým okem je méně spolehlivé než fotometrické. V současné době jsou k dispozici jednoduché komerční fotometry.	▲
2	Lze k vyšetření citlivosti použít kolonie ze selektivní půdy? Selektivní půdy obsahují látky pro inhibici nebo podporu růstu některých mikrobů. Pro vyšetření citlivosti se nedoporučuje používat kolonie ze selektivní půdy.	▲
3	Měla by se z půdy odebrat více než jedna kolonie k záchytu heterorezistence? Odběr více kolonií není pro průkaz heterorezistence nutný, může však předejít výběru atypické varianty (kolonie která ztratila plazmid rezistence). Obvykle je nutno odebrat více kolonií pro získání dostatečného množství materiálu k přípravě	▲

	inokula v koncentraci odpovídající zákalovému stupni 0,5 McFarlanda.	
4	Lze k přípravě inokula použít pufr nebo vodu místo fyziologického roztoku? Nikoli. Příprava inokula pro diskovou difuzní metodu EUCAST je založena na fyziologickém roztoku (0,85 % NaCl).	▲
5	V příručce EUCAST pro diskovou difuzní metodu se uvádí úprava inokula podle zákalového stupně 0,5 McFarlandova standardu. Jaké rozmezí lze použít? Žádné rozmezí není uvedeno, neboť koncentrace inokula má odpovídat zákalovému stupni 0,5 McFarlanda. Nicméně v praxi může být časově náročné upravovat inokulum přesně na stupeň 0,5, a malé odchylky významně neovlivní výsledky. Laboratoře, které používají jednoduché fotometry, nejsou schopny odečítat s větší předností než 0,1 McFarlandova stupně a zákal inokula je obvykle v rozmezí 0,4-0,6 McFarlanda, doporučujeme však, abyste inokulum pokud možno upravovali přesněji.	▲
6	Lze plotny pro vyšetření citlivosti inokulovat přelitím? Nikoli. V minulosti bylo přelití alternativou inokulace ploten roztěrem. Ve většině zemí je nyní z bezpečnostních důvodů považováno přelití za nepřijatelné, neboť pipetování nebo přelévání povrchu ploten suspenzí s vysokou koncentrací bakterií a její následné odstranění je zdrojem vysokého rizika aerosolu a potřísnění. Navíc je při přelití vyšší koncentrace mikrobů na povrchu agaru než při inokulaci roztěrem. Z tohoto důvodu EUCAST nedoporučuje inokulaci přelitím používat. Inokulaci tamponem lze použít na plotny jakéhokoli tvaru a velikosti je-li prováděna správně (roztěr ve třech směrech po celé ploše plotny). Na kruhových plotnách lze použít rotátor.	▲
4. EUCAST diskový difuzní test - Hodnocení zón inhibice		
1	Je nutno měřit všechny zóny inhibice? Měření a odečítání zón se doporučuje při zavádění diskové difuzní metody EUCAST. Laboratoř může získané údaje analyzovat v porovnání s distribucí referenčních inhibičních zón EUCAST na EUCAST zone diameter distribution database . Alternativně lze používat šablony kalibrované podle breakpointů EUCAST. Zóny kontrolních kmenů je nutno vždy měřit a zhodnotit.	▲
2	Měly by být inhibiční zóny na MH a MH-F odečítány proti černému pozadí? Plotny s MH jsou vždy odečítány na spodní straně v odraženém světle proti černému pozadí. Plotny MH-F jsou odečítány zepředu s odkrytým víčkem v odraženém světle a přednostně proti světlému pozadí. Pokud není uvedeno jinak, plotna se umístí ve vzdálenosti zhruba 30 cm od oka. Bližší umístění může být zapotřebí při odečítání rozdílů mezi hemolýzou a růstem na MH-F, mezi ostrým a nejasným okrajem zóny (<i>Staphylococcus aureus</i> a benzylpenicilin, enterokoky a vankomycin) a/nebo při pátrání po přítomnosti kolonií v zóně (pro detekci heterogenní rezistence). Viz EUCAST Disk Diffusion Manual and Reading Guide for Instructions.	▲

3	<p>Jsou bakteriostatická a baktericidní antibiotika odečítána podle stejných doporučení?</p> <p>Ano, u všech antibiotik se odečítají okraje zóny od bodu úplné inhibice pozorované pouhým okem. Plotna se umístí 30 cm od oka a nepátrá se po povlaku nebo drobných koloniích neviditelných pouhým okem (seznam výjimek je uveden v příručce a v návodu pro diskovou difuzní metodu EUCAST Reading Guide, český překlad viz Příručka a Návod k odečítání na http://www.szu.cz/diskova-difuzni-metoda-eucast).</p>	▲
4	<p>Proč někdy kontrolní kmen <i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 49766 roste uvnitř zóny β–laktamových antibiotik?</p> <p>Zóny inhibice kontrolního kmene <i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 49766 u β–laktamových antibiotik by měly být bez růstu a v rozmezí která uvádí EUCAST. Růst uvnitř zón je důsledkem příliš koncentrovaného inokula nebo nepřiměřeně dlouhé inkubace.</p>	▲
5	<p>Jsou samostatné kolonie uvnitř inhibiční zóny kolem mecilinamu významné?</p> <p>U diskového (a gradientního) testu s mecilinamem se mohou vyskytnout kolonie uvnitř inhibiční zóny. Interpretace testu u <i>E. coli</i> (nikoli však u jiných enterobakterií) vychází z průměru zóny inhibice a jednotlivé kolonie uvnitř zóny se přehlížejí.</p>	▲
6	<p>Proč se někdy u <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 objevují kolonie uvnitř inhibičních zón kolem disků s karbapenemy?</p> <p>Izolované kolonie uvnitř inhibičních zón, vytvářených kolem disků s karbapenemy kmenem <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 mohou být důsledkem ztráty aktivity karbapenemů v disku (karbapenemy jsou mimořádně citlivé k degradaci během skladování), nebo příliš koncentrovaného inokula, které usnadňuje výskyt rezistentních mutant, nebo změny kontrolního kmene během subkultivací. Možnou ztrátu aktivity disku lze nejlépe detekovat denní kontrolou kvality. Kmen pro kontrolu kvality by se ze zkumavek uchovávaných v mrazničce měl vyočkovávat každý týden a pro zachování vlastností subkultivovat po dobu nejvýše šesti dnů. <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 vytváří dva typy kolonií, které musí být v subkulturách přítomny.</p>	▲
<h2>5. EUCAST diskový difuzní test - Obecná metodologie</h2>		
1	<p>Je nutno dodržovat „pravidlo 15-15-15 minut“?</p> <p>EUCAST doporučuje, aby bakteriální suspenze byla naočkována do 15 minut od přípravy a to vždy do 60 minut od přípravy suspenze. Antibiotické disky je nutno klást do 15 minut po naočkování ploten a do dalších 15 minut je nutno začít plotny inkubovat. Prodloužení těchto časů může nežádoucím způsobem ovlivnit (zvětšit nebo zmenšit) inhibiční zóny.</p>	▲
2	<p>Doporučuje EUCAST “přímé vyšetření citlivosti”?</p> <p>EUCAST zveřejnil návod pro “přímé testování citlivosti”, pro více informací, viz http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/guidance_documents/ (český překlad je dostupný na http://www.szu.cz/dalsi-dokumenty-s-pokyny-pri-testovani-citlivosti-eucast)</p>	▲
3	<p>Jak se vyšetřuje antibiotická citlivost u <i>Neisseria gonorrhoeae</i>?</p> <p>EUCAST určil breakpointy pro gonokoky, avšak v současné době není doporučena specifická metoda a půda. EUCAST vyvíjí alternativy ve spolupráci s mezinárodními experty. Do doby než EUCAST tyto metody zveřejní je možno používat existující národní nebo mezinárodní postupy. Při používání komerčních výrobků pro vyšetření MIC je nutno postupovat podle pokynů výrobce.</p>	▲

4	<p>Proč EUCAST doporučuje inkubaci při 35 ± 1°C zatímco CLSI doporučuje 35 ± 2°C?</p> <p>Národní standardy pro inkubační teplotu jsou dosti odlišné, avšak s výjimkou CLSI uvádějí ±1°C. Standard ISO pro MIC uvádí teplotu v rozmezí 34-37°C, zahrnující odchylku ±1°C pro inkubátory nastavené na 35 nebo 36°C.</p> <p>Moderní inkubátory mají stanovenou kontrolu teploty v rozmezí ±1°C. Rozsáhlá práce na kalibraci diskové difuzní metody EUCAST byla založena na monitorovaných teplotách 35 ± 1°C a nevyskytl se žádný problém s jejich dosažením.</p>	▲
5	<p>Proč se disková difuzní metoda EUCAST, podobně jako je tomu u CLSI, implementuje po dobu 20 dnů, po nichž lze snížit frekvenci provádění kontroly kvality z denního na týdenní?</p> <p>Před rutinním používáním diskové difuzní metody doporučuje EUCAST pro všechny pracovníky laboratoře trénink přípravy a odečítání půd (přibližně po dobu dvou měsíců).</p> <p>Vnitřní kontrola kvality pomocí doporučených kmenů by měla být prováděna denně, nebo alespoň 4 krát týdně. Průměrné hodnoty testů (opakovaných ≥ 10 x) by měly být optimálně na cílových hodnotách kontroly kvality ± 1 mm.</p> <p>Po dobu nejméně jednoho měsíce se doporučuje měřit a zaznamenávat všechny inhibiční zóny a jejich histogramy srovnávat s referenčními histogramy na webové stránce EUCAST zone diameter distribution website. Medián distribuce divokého typu by se měl pohybovat v rozmezí ± 1 mm od mediánu referenční distribuce.</p>	▲
6. Breakpointy - obecně		
1	<p>Budou zveřejněny breakpointy pro <i>Actinomycetes spp.</i>, <i>Bordetella spp.</i>, <i>Nocardia spp.</i>, rychle rostoucí mykobakterie a <i>Streptomyces spp.</i>?</p> <p>O stanovení breakpointů pro tyto bakterie se uvažuje. Pro některé z nich bude doporučeno pouze vyšetření MIC, u jiných se vypracovávají kritéria pro diskovou difuzní metodu.</p>	▲
2	<p>Vypracovává EUCAST klinické breakpointy nebo expertní pravidla pro veterinární oblast?</p> <p>EUCAST nemá klinické breakpointy nebo expertní pravidla pro veterinární použití. Humánní klinické breakpointy nemusí vyhovovat pro veterinární izoláty, které pocházejí z různých zvířat. Farmakodynamika antibiotik se může u různých zvířat velmi lišit. V těchto situacích je logickou alternativou humánních klinických breakpointů použití epidemiologických předělů (epidemiological cut-off, ECOFF), kterým se dává přednost také v některých veterinárních studiích surveillance rezistence. Expertní pravidla EUCAST byla navržena pro používání v humánní klinické oblasti a z důvodů uvedených výše některé z nich mohou být pro veterinární účely nevhodné, ačkoli většinu z nich lze aplikovat v humánní i veterinární oblasti. Více informací, viz EUCAST Veterinary Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (VetCAST), http://www.eucast.org/ast_of_veterinary_pathogens/.</p>	▲
3	<p>Proč nejsou v tabulkách breakpointů EUCAST uvedeny žádné breakpointy pro "I" kategorii (citlivý, zvýšená expozice)?</p> <p>Hodnoty MIC nebo průměrů zón v tabulkách mezi breakpointy pro C a R jsou v kategorii "I". Měří-li se zóny na nejbližší vyšší hodnotu (mm), pak na příklad průměr zóny ≥17 mm pro citlivost a <14 mm pro rezistenci znamená, že průměr zóny 14-16 mm značí kategorii "I".</p>	▲

4	<p>EUCAST neudává breakpointy oxacilinu, cefalosporinů a karbapenemů pro stafylokoky, jak lze tedy citlivost stanovit?</p> <p>Citlivost k těmto antibiotikům se odvozuje od citlivosti k cefoxitinu. Nově zavedená β-laktamová antibiotika účinná proti izolátům rezistentním k meticilinu mají specifické breakpointy, zahrnuté v tabulce breakpointů.</p>	▲
5	<p>Proč jsou uvedeny breakpointy nitrofurantoinu pouze pro <i>E. coli</i> a ne pro další Enterobacterales?</p> <p>Nitrofurantoin je doporučen pouze pro léčbu nekomplikovaných infekcí močových cest. Močové infekce způsobené jiným druhem z čeledi Enterobacterales jsou pravděpodobně komplikované nebo postihují horní močové cesty, a proto jsou z tohoto doporučení vyloučeny.</p>	▲
6	<p>Proč nejsou uvedeny breakpointy tetracyklinu pro Enterobacterales?</p> <p>EUCAST Steering Committee ustoupila u Enterobacterales od zařazení breakpointů tetracyklinu, protože toto antibiotikum není nadále považováno za vhodné pro léčbu infekcí způsobených Enterobacterales. Vzhledem k tomu, že tetracyklin je někdy používán k profylaxi, lze použít hodnotu epidemiologického předělu (ECOFF) 8 mg/l k odlišení kmenů bez mechanismů rezistence od kmenů rezistentních.</p>	▲
7	<p>Je trimetoprim-sulfametoxazol jediné použitelné antibiotikum pro <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ?</p> <p>Trimetoprim-sulfametoxazol (kotrimoxazol) je jediným antibiotikem, u něhož je potvrzena klinická korelace mezi MIC <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> a klinickým účinkem. V budoucnu snad bude možno stanovit breakpointy pro další antibiotika, avšak současná literatura neposkytuje jasné indikace, pro které antibiotikum je stanovení breakpointů opodstatněné. Viz návod "<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>", (http://www.eucast.org/antimicrobial_susceptibility_testing/guidance_documents/), český překlad je dostupný na http://www.szu.cz/dalsi-dokumenty-s-pokyny-pri-testovani-citlivosti-eucast</p>	▲
8	<p>Stanoví EUCAST breakpointy pro Enterobacterales a temocilin?</p> <p>Řídící výbor EUCAST v nedávné minulosti o temocilinu opakovaně diskutoval, avšak proces stanovení breakpointů byl pro určité problémy odložen.</p> <p>Distribuce MIC naznačuje, že ECOFF pro většinu Enterobacterales je ≤ 16 mg/l, avšak distribuce MIC u producentů ESBL překrývá distribuci divokého typu. Koncentrace temocilinu 8-16 mg/l, nejvýše 32 mg/l inhibují mnohé producenty ESBL, u některých je však MIC vyšší. PK-PD údaje naznačují, že dávka registrovaná k léčbě celkových infekcí ve Velké Británii (1 g dvakrát denně) není dostatečná a že vyšší dávka (2 g dvakrát denně) je dokonce zapotřebí i pro izoláty divokého typu s MIC 8 mg/l, a nezahrnuje mnohé producenty ESBL. Existují studie týkající se PK-PD, a další práce věnované tomuto problému podporuje Eumedita. Na základě výše uvedených údajů stanovil BSAC breakpoint temocilinu na 8 mg/l s poznámkou, že je vždy nutno používat vysokou dávku (2 g dvakrát denně). Klinické údaje o léčbě infekcí krevního řečiště jsou velmi omezené, ale Balakrishnan et al zveřejnili (J Antimicrob Chemother 2011; 66:2628-31) pozitivní výsledky léčby většiny infekcí způsobených izoláty s MIC 8-16 mg/l, avšak čísla byla velmi malá.</p> <p>V současnosti dostupné údaje z databází, které uvádějí distribuce MIC temocilinu, neumožňují definovat skutečné divoké typy Enterobacterales a naznačují, že MIC temocilinu mohou být v malém rozsahu ovlivněny řadou beta-laktamáz nebo dokonce alterací proteinů vázajících penicilin.</p>	▲

	<p>Společnost Eumedica navrhuje dávku 2 g třikrát denně a podává žádost o schválení její registrace nejdříve v Belgii, Lucembursku a ve Francii a poté ve Velké Británii, ačkoli pro podporu této dávky zatím nejsou k dispozici žádné údaje. Očekává se, že podle výsledků PK-PD studií budou s vyšší dávkou pokryty i izoláty s MIC 16 mg/l.</p> <p>EUCAST se před stanovením brakpointů rozhodl vyčkat na dodatečné údaje o PK-PD (očekávané v průběhu letošního roku) a stanovisko příslušných autorit o dávce 2k třikrát denně. Mezitím jsou k dispozici brakpointy používané ve Velké Británii (BSAC), Francii a v Belgii.</p>	
9	<p>Jsou brakpointy PK/PD (dříve nazvané "non-species-related MIC breakpoints") v tabulkách brakpointů jakkoli použitelné v rutinní klinické laboratoři?</p> <p>Brakpointy PK/PD vychází pouze z farmakokinetických a farmakodynamických údajů. Používají se jako základ pro stanovení klinických brakpointů, při němž musí být modifikovány v závislosti na mikrobiologických a klinických údajích. V rutinní klinické laboratoři je lze použít u mikroorganismů, pro něž nejsou brakpointy stanoveny. Znamená to, že u druhu nebo skupiny mikrobů, které nejsou zahrnuty nebo zmíněny v jakékoli části tabulek brakpointů, lze vyšetřit MIC a interpretovat výsledek podle brakpointů PK/PD. Tak lze získat určitou představu o použitelnosti daného antibiotika. Získaný výsledek MIC je možno také porovnat s distribucí MIC na webu EUCAST, je-li pro daný druh a antibiotikum k dispozici (dostupné na EUCAST MIC distribution website). Takové srovnání umožňuje posoudit pravděpodobnost výskytu jakéhokoli fenotypově detekovatelného mechanismu rezistence u daného izolátu.</p> <p>Další informace lze získat v pokynech "What to do when there are no breakpoints in the EUCAST Breakpoint Table" (http://www.eucast.org/guidance_documents/), český překlad "Jak postupovat nejsou-li k dispozici brakpointy" je dostupný na http://www.szu.cz/dalsi-dokumenty-s-pokyny-pri-testovani-citlivosti-eucast</p>	▲
10	<p>Brakpointy cefuroximu pro <i>E. coli</i>, <i>Klebsiella</i> spp. (s výjimkou <i>K. aerogenes</i>), <i>Raoultella</i> spp. a <i>P. mirabilis</i> jsou uvedeny pouze pro vysoké dávky (1.5 g x 3). Jaký je k tomu důvod?</p> <p>PK/PD brakpointy cefuroximu jsou C ≤4 mg/l a R >8 mg/l. Brakpoint C vychází z nízké dávky (750 mg x 3) a brakpoint R z vyšší dávky. Hodnota 4 mg/l spadá doprostřed distribuce MIC populace divokého typu <i>E. coli</i> a indikuje, že při podání standardní dávky bude léčba pacienta na hranici účinnosti, nebo bude zcela nedostatečná. Brakpoint pro C byl tudíž upraven na 8 mg/l, aby se předešlo rozdělení populace divokého typu (které znemožňuje získání reprodukcibilních výsledků vyšetření citlivosti) a pro kompenzaci zvýšeného brakpointu bylo specifikováno vysoké dávkování. Distribuce MIC je uvedena na EUCAST MIC distribution website.</p>	▲
11	<p>Proč nelze použít vysoké dávky cefuroximu pro jiné <i>Enterobacterales</i> než <i>Escherichia coli</i>, <i>Klebsiella</i> spp. (s výjimkou <i>K. aerogenes</i>), <i>Raoultella</i> spp. a <i>Proteus mirabilis</i>, které se při vyšetření citlivosti jeví jako citlivé?</p> <p>Při harmonizaci brakpointů byl cefuroxim nejspornějším antibiotikem a některé země neakceptovaly u žádného člena čeledi <i>Enterobacterales</i> citlivost k cefuroximu pro jeho hraniční účinnost. Výsledkem kompromisu je omezení použití cefuroximu na nejcitlivější (a nejběžnější) druhy a použití pouze vysokých dávek.</p> <p>V současné verzi tabulek brakpointů (viz poslední verzi na webu EUCAST) jsou v poznámce k cefuroximu spolu s <i>Escherichia coli</i> zahrnuty <i>Klebsiella</i> spp. (s</p>	▲

	<p>výjimkou <i>K. aerogenes</i>), <i>Raoultella spp.</i> a <i>Proteus mirabilis</i>. Během rozhodovacího procesu o účinnosti cefuroximu se také diskutovalo o jiných jednoznačně nekomplikovaných infekcích. Bylo rozhodnuto, že „nekomplikované“ infekce by měly být primárně způsobeny pouze těmito druhy a že pro jiné, méně často izolované druhy, je dokumentace o klinické účinnosti cefuroximu chudá nebo neexistuje.</p>	
12	<p>Proč je udán breakpoint trimetoprimu pro všechny <i>Enterobacterales</i> zatímco nitrofurantoin je pouze pro <i>Escherichia coli</i>? Obě antibiotika jsou určena pouze pro nekomplikované infekce močových cest.</p> <p>Je pravda, že nitrofurantoin i trimetoprim jsou určeny pouze pro nekomplikované infekce močových cest (IMC) a že <i>Enterobacterales</i> jiné, než <i>E. coli</i>, jsou obvykle sdruženy s komplikovanými IMC. Nicméně účinnost trimetoprimu proti <i>Enterobacterales</i> je relativně konstantní a s reproducibilitou výsledků vyšetření citlivosti trimetoprimu nejsou problémy.</p> <p><i>E. coli</i> je jediná cílová bakterie pro nitrofurantoin, protože u <i>Klebsiella pneumoniae</i> MIC nitrofurantoinu často převyšuje breakpoint a jeho účinnost je tudíž problematická, a protože účinnost nitrofurantoinu proti <i>Proteus spp.</i> a <i>Providencia spp.</i> je nízká.</p>	▲
13	<p>Je v plánu stanovit breakpointy pro lokálně aplikovaná antibiotika jako jsou chloramfenikol, polymyxin B, tetracyklin, neomycin a tobramycin?</p> <p>Přes vleklá jednání a dvě rozsáhlé konzultace EUCAST breakpointy pro lokální antibiotika neustanovil. U většiny z nich není známa koncentrace v místě infekce, jak dlouho přetrvává a jaká je v praxi jejich variabilita. Pro většinu těchto léčiv nejsou k dispozici žádné spolehlivé farmakokinetické údaje a ani podložené údaje o výsledcích léčby. Použití klinických breakpointů nemusí být vhodné a navíc nejsou k dispozici pro všechna lokálně používaná antibiotika. Použití epidemiologických předělů (ECOFF) by mohlo vést k podcenění aktivity některých lokálních antibiotik, přinejmenším je však schopno kategorizovat izoláty jako divoký typ a ne-divoký typ se sníženou citlivostí, která může vést k vyšší pravděpodobnosti klinického selhání. Někteří účastníci diskuse však silně pocítovali, že používání ECOFF, které jsou často blízké klinickým breakpointům, by bylo matoucí. Klinické údaje týkající se vztahu MIC a výsledků léčby nejsou k dispozici, a proto EUCAST nebyla schopna dosáhnout konsensu, který by vyřešil protichůdné názory na tyto dva alternativní návrhy:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. U všech lokálních antibiotik používat epidemiologické předěly (ECOFF). 2. Používat klinické breakpointy a v případech, kdy nejsou k dispozici, používat epidemiologické předěly (ECOFF). <p>Dokument s příslušnými argumenty pro použití epidemiologických předělů nebo klinických breakpointů je na http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/guidance_documents/, český překlad http://www.szu.cz/dalsi-dokumenty-s-pokyny-pri-testovani-citlivosti-eucast.</p>	▲
14	<p>Bude EUCAST stanovovat breakpointy azitromycinu pro rody <i>Salmonella</i> a <i>Shigella</i>?</p> <p>Hodnoty epidemiologického předělu (ECOFF) azitromycinu pro <i>Salmonella spp.</i> jsou stanoveny na 16 mg/l. Odpovídající ECOFF průměru zón je 12 mm. V současné době není k dispozici dostatek údajů pro stanovení těchto hodnot u <i>Shigella spp.</i></p>	▲
15	<p>Které breakpointy lze použít pro gramnegativní nefermentující tyčky jiné než <i>Pseudomonas spp.</i> a <i>Acinetobacter spp.</i>?</p> <p>Na těchto breakpointech se v současné době pracuje a než budou stanoveny, lze v praxi použít breakpointy PK/PD.</p>	▲

	<p>Další informace, viz dokument EUCAST "What to do when there are no breakpoints in the EUCAST Breakpoint Table" (http://www.eucast.org/guidance_documents/), český překlad "Jak postupovat nejsou-li k dispozici breakpointy", dostupný na http://www.szu.cz/dalsi-dokumenty-s-pokyny-pri-testovani-citlivosti-eucast</p>	
16	<p>Proč byl z poslední verze breakpointů odstraněn screening s nalidixovou kyselinou pro izoláty <i>Salmonella</i> a jak se má nyní postupovat?</p> <p>Ohledně chinolonové rezistence u <i>Salmonella</i> spp. proběhla rozsáhlá diskuse, speciálně u rezistence v nízkém stupni. Vzhledem k tomu, že screening s nalidixovou kyselinou neodhalí mutanty <i>qnr</i>, nelze jej nadále doporučovat pro vyšetření citlivosti k ciprofloxacinu.</p> <p>EUCAST doporučuje pro detekci rezistence k ciprofloxacinu u <i>Salmonella</i> spp. screening s diskem 5 µg pefloxacinu (viz EUCAST breakpoint table). Tak lze detekovat kmeny se známými mechanizmy rezistence (<i>qnr</i>, QRDR, a <i>aac</i>' u <i>Salmonella</i> spp. a všech dalších izolátů s MIC vyšším než ECOFF (> 0,06 mg/l). Z toho důvodu lze hlásit izoláty rezistentní k pefloxacinu jako rezistentní k ciprofloxacinu a izoláty citlivé k pefloxacinu jako citlivé k ciprofloxacinu.</p> <p>Pokud se k testování používá kyselina nalidixová, pak všechny rezistentní izoláty lze kategorizovat jako rezistentní také k ciprofloxacinu. U citlivých izolátů ke kyselině nalidixové musí být stanoveno MIC ciprofloxacinu.</p> <p>Pro více informací, viz Skov R. <i>et al.</i> 2015. Development of a pefloxacin disk diffusion method for detection of fluoroquinolone-resistant <i>Salmonella enterica</i>. <i>J Clin Microbiol</i> 53:3411–3417.</p>	▲
17	<p>EUCAST v tabulkách breakpointů uvádí, že breakpointy cefalosporinů pro <i>Enterobacterales</i> detekují všechny klinicky významné mechanismy rezistence (včetně ESBL a plazmidem zprostředkované AmpC). Znamená to, že tyto mechanismy není třeba dále vyšetřovat a že výsledek se má hlásit tak, jak byl odečten?</p> <p>EUCAST doporučuje stejně jako CLSI, aby výsledek vyšetření β-laktamových antibiotik pro <i>Enterobacterales</i> byl hlášen tak, jak byl odečten („as found“). Tudíž pro klinické hlášení výsledků není nutno detekovat mechanismy rezistence.</p> <p>Nicméně jsou zde dobré důvody pro detekci mechanismů rezistence pro epidemiologické účely a kontrolu infekcí.</p> <p>Viz metodický dokument pro detekci mechanismů rezistence http://www.eucast.org/resistance_mechanisms/, český překlad http://www.szu.cz/detekce-mechanismu-rezistence-eucast.</p>	▲
18	<p>Může být k detekci ESBL nebo karbapenemázy použit ECOFF?</p> <p>Ano, neboť ECOFF je pro posouzení fenotypu nejcitlivější. Pro screening ESBL se doporučuje použít ECOFF cefotaximu a ceftazidimu a pro karbapenemázu ECOFF meropenemu. Viz "EUCAST guideline for the detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance" (http://www.eucast.org/resistance_mechanisms/), český překlad http://www.szu.cz/detekce-mechanismu-rezistence-eucast</p>	▲
19	<p>Breakpointy benzylpenicilinu pro <i>Streptococcus pneumoniae</i> závisí na podané dávce. Jak se má hlásit výsledek vyšetření? Je nutno do výsledku uvést všechny poznámky uvedené u těchto breakpointů?</p> <p>Národní komise pro vyšetřování citlivostí (u nás Subkomise pro antibiotickou politiku ČLS JEP) by měla doporučit laboratořím příslušné breakpointy podle toho, jaké dávky penicilinu se nejčastěji používají k léčbě pneumokokové pneumonie v dané zemi.</p>	▲

20	<p>Bude EUCAST zavádět breakpointy antibiotik používaných u močových infekcí pro skupinu viridujících streptokoků?</p> <p>Nález viridujících streptokoků v moči je s největší pravděpodobností kontaminace, a tyto bakterie jsou velmi vzácně příčinou močových infekcí. EUCAST nepředpokládá zavádění breakpointů antibiotik u izolátů viridujících streptokoků z moči.</p> <p>"Viridující streptokoky" by neměly být zaměněny s druhy rodu <i>Aerococcus</i>, pro které jsou rovněž stanoveny breakpointy.</p>	▲
21	<p>Pokud nemá pneumokok žádné mechanismy rezistence a je citlivý k penicilinu, může být označen jako citlivý ke všem b-laktamovým antibiotikům, je-li však citlivý při zvýšené expozici nebo rezistentní, jak se má hodnotit citlivost k amoxicilinu a k amoxicilinu/kyselině klavulanové?</p> <p>Od doby, kdy byla položena tato otázka, byly zavedeny breakpointy pro perorální léčbu infekcí způsobených <i>S. pneumoniae</i> (a <i>H. influenzae</i>) těmito antibiotiky.</p>	▲
22	<p>Co znamená poznámka „pouze pro nekomplikované infekce močových cest“ (IMC) pro Enterobacterales a cefalosporiny?</p> <p>Při stanovování breakpointů pro perorální cefalosporiny u Enterobacterales nenašel EUCAST klinické důkazy podporující používání těchto antibiotik u jiných než nekomplikovaných IMC. Tyto látky mají nízké tkáňové hladiny a údaje PK/PD obecně ukazují na nedostatečnou odpověď u celkových infekcí. Bez ohledu na tyto skutečnosti se mohou vyskytnout situace, v nichž je léčba celkových infekcí úspěšná, a pokud EUCAST shledá dostatek klinických důkazů potvrzujících úspěšné použití v léčbě infekcí jiných než IMC, bude breakpointy revidovat. Viz také metodický dokument http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/guidance_documents/, český překlad je dostupný na http://www.szu.cz/dalsi-dokumenty-s-pokyny-pri-testovani-citlivosti-eucast</p>	▲
23	<p>Breakpointy nitrofurantoinu v tabulce pro <i>Staphylococcus</i> spp. jsou uvedeny pouze pro <i>S. saprophyticus</i>. Jaké je doporučení pro testování a interpretaci pro jiné <i>Staphylococcus</i> spp. z moči?</p> <p>EUCAST nedoporučuje nitrofurantoin u jiných stafylokoků než je <i>S. saprophyticus</i>. Závažné infekce způsobené <i>S. aureus</i> nebo koaguláza-negativními stafylokoky jinými než <i>S. saprophyticus</i> obvykle nejsou příčinou nekomplikovaných infekcí močových cest a neměly by být léčeny nitrofurantoinem.</p>	▲
24	<p>Proč byly odstraněny breakpointy mupirocinu u <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p>Breakpointy a epidemiologické předěly (ECOFF) EUCAST pro <i>S. aureus</i> a mupirocin jsou v tabulce pro lokální antibiotika (ta byla prvně zahrnuta do Tabulek breakpointů EUCAST verze 7.0, 2017). Další informace o tom, jak tyto breakpointy používat, viz webové stránky EUCAST (http://www.eucast.org/guidance_documents/), český překlad "Breakpointy pro lokálně používaná antibiotika" je dostupný na http://www.szu.cz/dalsi-dokumenty-s-pokyny-pri-testovani-citlivosti-eucast</p>	▲
25	<p>U některých antibiotik jsou uvedeny komentáře týkající se dávkování. Vztahují se vyšší dávky k breakpointu pro citlivost nebo pro rezistenci?</p> <p>Podle terminologie EUCAST se vyšší dávka se vztahuje ke kategorii „citlivý, zvýšená expozice“. Viz tabulka dávkování v Tabulce breakpointů EUCAST.</p>	▲
26	<p>EUCAST uvádí, že <i>E. faecium</i>, rezistentní k penicilinům, lze považovat za rezistentní ke všem β-laktamovým antibiotikům včetně karbapenemů. Zahrnuje to také amoxicilin/klavulanát?</p> <p>Rezistence k β-laktamům u <i>E. faecium</i> je obvykle důsledkem změny PBP. Podle</p>	▲

	<p>našich informací je produkce β-laktamázy popsána pouze ve dvou publikacích, jedna je z USA (Coudron et al 1992, AAC 36:1125-6), a jedna z Itálie (Sarti et al 2012; JCM 50:169-72).</p> <p>Vzhledem k tomu, že rezistenci většiny kmenů <i>E. faecium</i> k β-laktamovým antibiotikům způsobuje změna PBP, nemají inhibitory β-laktamáz žádný vliv na obnovení citlivosti k těmto antibiotikům. Rezistentní izoláty vytvářející β-laktamázu, citlivé ke kombinaci ampicilinu se sulbaktamem, byly zřejmě popsány pouze v italské studii. V hlavních studiích surveillance se v posledních letech kmeny rezistentní v důsledku β-laktamázy nevyskytly a zdá se, že jejich výskyt bude velmi vzácný a geograficky omezený. Detekce rezistence způsobené produkcí β-laktamázy u <i>E. faecium</i> má technické problémy a proto nelze s jistotou tvrdit, že kmeny rezistentní k penicilinu jsou rezistentní k amoxicilinu/klavulanátu. Pokud se rezistence způsobená produkcí β-laktamázy vyskytne častěji, bude tato poznámka revidována.</p>	
27	<p>Tabulka breakpointů EUCAST u mupirocinu uvádí: "Breakpointy se vztahují k nosní dekolonizaci <i>S. aureus</i>". U dalších <i>Staphylococcus</i> spp, se tedy hlásí pouze MIC nebo se žádný výsledek neoznamuje?</p> <p>Údaje o mechanismech rezistence a klinický význam se týkají pouze <i>S. aureus</i>, proto se hlásí jen tyto výsledky.</p>	▲
28	<p>Podle metod a breakpointů EUCAST jsou některé β-laktamáza negativní izoláty <i>Haemophilus influenzae</i> rezistentní k cefuroximu a citlivé k ampicilinu. Může to být pravda?</p> <p>EUCAST doporučuje k průkazu β-laktamové rezistence <i>H. influenzae</i> screening s diskem s 1J benzylpenicilinu. Disk s 1 J benzylpenicilinu je spolehlivý pro odhalení všech typů β-laktamové rezistence, včetně produkce β-laktamázy a různých typů PBP mutací. Pokud je zóna kolem disku ≥ 12 mm, pak lze kmen považovat za citlivý ke všem β-laktamům, u nichž jsou uvedeny klinické breakpointy (viz doplňkovou tabulku v breakpointech EUCAST pro <i>H. influenzae</i>). Informace o screeningu s benzylpenicilinem je v EUCAST breakpoint table a na webu EUCAST http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/calibration_and_validation/</p> <p>V posledních letech vzrostla rozmanitost a množství mutací PBP u <i>H. influenzae</i>. Několik typů PBP mutací se týká především penicilinů (včetně ampicilinu) a další se týkají zejména cefalosporinů (a ty mají největší vliv na cefuroxim). Tyto mutace nemusí mít ve stejné míře vliv na ampicilin nebo amoxicilin. Cefuroxim je citlivý marker pro mutace PBP, které ovlivňují cefalosporiny. Tyto mutace nemusí působit na ampicilin nebo amoxicilin ve stejné míře.</p>	▲
29	<p>Lze použít breakpointy určené pro <i>H. influenzae</i> pro izoláty jiných druhů hemofilů?</p> <p>Breakpointy EUCAST byly definovány pouze pro <i>H. influenzae</i>, neboť klinické údaje týkající se úspěchu nebo selhání léčby infekcí způsobených jinými druhy <i>Haemophilus</i> jsou vzácné. Distribuce MIC u <i>H. parainfluenzae</i> a <i>H. influenzae</i> jsou však velmi podobné, a proto po dobu absence příslušných breakpointů lze používat breakpointy pro <i>H. influenzae</i>. Kritéria diskové difuzní metody pro jiné druhy <i>Haemophilus</i> než <i>H. influenzae</i> nejsou stanoveny.</p>	▲
30	<p>Od zavedení breakpointů EUCAST do naší laboratoře vždy hlásíme <i>H. influenzae</i> jako "citlivý, zvýšená expozice" k cefuroximu axetilu. Předtím jsme hlásili izoláty <i>H. influenzae</i> jako citlivé k cefuroximu axetilu podle kritérií CLSI. Lze toto léčivo podávat ve vyšších dávkách? V naší oblasti je široce používáno a naši klinici věří, že poskytuje vyhovující klinické výsledky. Jaký je důvod že nelze hlásit citlivost?</p> <p>Ve srovnání s mnoha jinými antibiotiky není účinek cefuroximu proti <i>H. influenzae</i></p>	▲

	<p>dostatečný a dokonce je sporné, zda i při intravenózním podávání jsou u pacientů vždy dosaženy účinné koncentrace. Při stanovení breakpointů EUCAST pro cefuroxim a cefuroxim axetil byly vzaty do úvahy všechny aspekty (distribuce MIC, farmakokinetiky, farmakodynamiky, nosné klinické údaje a mechanismy rezistence) a bylo rozhodnuto, že neexistují žádné klinické údaje podporující používání cefuroximu axetilu (nebo cefacloru) k léčbě plicních infekcí nebo otitis media, způsobených <i>H. influenzae</i>. Kliničtí lékaři sice mohou přičítat úspěch léčby cefuroximem, avšak infekce horních cest dýchacích způsobené <i>H. influenzae</i> jsou ve vysoké frekvenci samoúzdavné, a proto účinek tohoto antibiotika je obtížné posoudit.</p> <p>Kromě toho se vzrůstající a ve většině lokalit vysokou frekvencí výskytu chromosomálně zprostředkované rezistence (mutace PBP3) k beta-laktamům (t.j. beta-laktamová rezistence nezpůsobená produkcí beta-laktamázy) u <i>H. influenzae</i> a skutečností, že cefuroxim (a cefuroxim axetil a cefaclor) tyto mutace ovlivňuje více než jiné beta-laktamy, je třeba se vyhnout empirické terapii cefuroximem axetilem.</p>	
31	<p>Proč se breakpointy nitrofurantoinu vztahují pouze na <i>Enterococcus faecalis</i> a nikoli na ostatní enterokoky, speciálně na <i>Enterococcus faecium</i>?</p> <p>Distribuce MIC u <i>E. faecalis</i> (medián MIC 8) a <i>E. faecium</i> (medián MIC 64 nebo vyšší) se liší nejméně o tři řadění. Citlivý breakpoint $C \leq 64$ mg/l je vhodný pro <i>E. faecalis</i>, rozděluje však distribuci MIC u <i>E. faecium</i> v takové míře, že reprodukovatelná kategorizace citlivosti není možná. Tato skutečnost v kombinaci s mnohem nižší vrozenou citlivostí <i>E. faecium</i> a s nedostatkem důkazů o klinickém účinku vedla EUCAST k vyloučení breakpointu u <i>E. faecium</i>.</p>	▲
32	<p>Jak se má interpretovat benzylpenicilin u <i>S. pneumoniae</i>, je-li hodnota MIC $\leq 0,06$ mg/l avšak průměr zóny oxacilinu je < 20 mm?</p> <p>Prvním krokem by mělo být opakování obou testů. Nemáte-li čas k opakovanému vyšetření s oxacilinovým diskem a MIC (a u meningitidy nelze otálet), navrhuje následující postup: pokud je kvalita vašeho vyšetření MIC dobrá (bujónová diluční mikrometoda podle standardu ISO), je dobře kalibrovaná a pečlivě kontrolovaná, pak lze výsledku MIC důvěřovat a hlásit izolát jako C (citlivý). Pokud si nejste zcela jistí výsledkem MIC, pak použijte nejhorší scénář a hlase izolát R (rezistentní), zejména není-li zóna kolem oxacilinu hraniční. Oxacilinový disk je spolehlivý screening pro β-laktamovou rezistenci u <i>S. pneumoniae</i>.</p>	▲
33	<p>Proč nelze nadále aplikovat breakpointy pro penicilin u koaguláza-negativních stafylokoků?</p> <p>Breakpointy benzylpenicilinu pro stafylokoky byly založeny na datech získaných se <i>S. aureus</i> a původně byly používány pro všechny stafylokoky s několika vyjmenovanými výjimkami. Protože byla získána nová data pro takové druhy jako je <i>S. lugdunensis</i> a ukázalo se, že spolehlivost detekce penicilinázy je nízká, byla zpochybněna použitelnost breakpointů benzylpenicilinu pro všechny druhy stafylokoků.</p> <p>Breakpointy penicilinu pro <i>S. aureus</i> byly v zásadě založeny na odlišení producentů β-laktamázy od izolátů neprodukcujících penicilinázu. Breakpoint MIC však všechny producenty neodliší a pro snížení výskytu chyb by se proto producenti penicilinázy měli hlásit jako rezistentní, i když jejich MIC benzylpenicilinu je nižší než breakpoint. Většina metod pro detekci penicilinázy u stafylokoků je nespolehlivá, včetně metod s chromogenními cefalosporiny. Pokud se věnuje pozornost pečlivému odečítání, pak jako spolehlivý se jeví screening ostrých okrajů zón, tato metoda však je použitelná pouze pro <i>S. aureus</i> ale nikoli obecně pro stafylokoky. U <i>S. lugdunensis</i> lze pomocí screeningu s diskem benzylpenicilinu (stejně jako breakpointem MIC) odlišit izoláty <i>blaZ</i> pozitivní od</p>	▲

	<p><i>blaZ</i> negativních. Geny <i>blaZ</i> geny jsou variabilní a výsledky PCR metod mohou být závislé na použitých primerech, takže nemohou být pokládány za referenční nebo jako průkaz přítomnosti <i>blaZ</i>. Navíc benzylpenicilin je nepravděpodobným lékem volby pro léčbu infekcí způsobených koaguláza-negativními stafylokoky s výjimkou <i>S. lugdunensis</i>, zejména pro vysokou proporcii rezistentních izolátů.</p> <p>Na základě v současné době dostupných údajů lze konstatovat, že breakpointy penicilinu nejsou použitelné pro koaguláza-negativní stafylokoky a že pro ně není žádný důvod.</p>	
34	<p>Někdy se vyskytne výsledek, kdy je <i>Haemophilus influenzae</i> citlivý k ampicilinu, ale rezistentní ke kombinaci amoxicilin/klavulanová kyselina. Jak se má takový izolát hlásit?</p> <p>Izoláty citlivé k ampicilinu by měly být hlášeny jako citlivé k ampicilinu, amoxicilinu a ke kombinaci amoxicilin/klavulanová kyselina. Vyšetření citlivosti k aminopenicilinu u <i>H. influenzae</i> se změnami PBP je obtížné a proto byla zavedena "Area of Technical Uncertainties (ATU, Oblasti technické nejistoty)" k upozornění laboratoří, že některé výsledky jsou nejisté. EUCAST doporučuje postup při testování ampicilinu a hlášení výsledků u izolátů s negativní produkcí beta-laktamázy (z nichž lze odvodit citlivost na amoxicilin a amoxicilin/klavulanovou kyselinu) a testování kombinace amoxicilin/klavulanová kyselina a hlášení výsledků u izolátů s pozitivní produkcí beta-laktamázy. Viz také Breakpointy - obecně, otázka 28.</p>	▲
35	<p>Lze odvodit citlivost <i>Corynebacterium</i> spp. k moxifloxacinu od výsledku s ciprofloxacinem?</p> <p>Citlivost <i>Corynebacterium</i> spp. k moxifloxacinu může být odvozena od výsledku diskového difuzního testu s diskem ciprofloxacinu, ale rezistence k moxifloxacinu může být v některých případech přehlédnuta.</p>	▲
36	<p>Co je základem pro doporučení EUCAST o hlášení citlivosti stafylokoků a streptokoků s disociovanou rezistencí ke klindamycinu?</p> <p>Rezistenci k makrolidům, linkosamidům a streptograminu B (MLS_B) u stafylokoků a streptokoků většinou zprostředkovávají <i>erm</i> geny a indukuje ji erytromycin, klaritromycin a azitromycin, nikoli však klindamycin (disociovaná nebo indukovaná MLS_B rezistence). Z tohoto důvodu jsou kmeny s indukovanou rezistencí v testu citlivosti rezistentní k erytromycinu, ale ne ke klindamycinu. Kmeny s konstitutivní MLS_B rezistencí jsou k oběma látkám rezistentní.</p> <p>Po mnoho let se diskutuje o tom, zda stafylokoky a streptokoky s indukovanou rezistencí ke klindamycinu (rezistentní k erytromycinu, citlivé ke klindamycinu), by měly být hlášeny jako rezistentní nebo citlivé, neboť indukované kmeny segregují mutanty rezistentní ke klindamycinu, jejichž selekce v průběhu léčby může vést k selhání léčby.</p> <p>Současné stanovisko upřednostňuje hlásit stafylokoky s disociovanou rezistencí jako rezistentní ke klindamycinu. U zvířecích modelů infikovaných kmeny <i>S. aureus</i> a léčených klindamycinem byl prokázán opětovný nárůst <i>S. aureus</i> s disociovanou rezistencí ke klindamycinu. U <i>S. aureus</i> jsou i odkazy na klinická selhání, i když není známa jejich četnost a klindamycin pravděpodobně může být použit u méně závažných infekcí kůže a měkkých tkání. Proto se v současné době doporučuje kmen s disociovanou rezistencí hlásit jako rezistentní a do výsledku by se mělo uvážit přidání komentáře o možnosti krátkodobého použití klindamycinu pro léčbu méně závažných infekcí kůže a měkkých tkání, neboť rozvoj plné rezistence se jeví v průběhu této léčby nepravděpodobný.</p> <p>Význam disociované rezistence není tak jasný u streptokoků. U zvířecích modelů léčených klindamycinem byl prokázán opětovný nárůst kmenů s disociovanou rezistencí ke klindamycinu, ale v menší míře, než je tomu u <i>S. aureus</i>. Klinické</p>	▲

	<p>údaje u streptokoků jsou velmi vzácné, i když jedna nedávná zpráva ukazuje, že může dojít k selhání léčby. EUCAST doporučení preferují obezřetnosti a pokud je u izolátu zjištěna disociovaná rezistence, měl by být hlášen jako rezistentní a do výsledku by se mělo uvážit přidání komentáře o možnosti krátkodobého použití klindamycinu pro léčbu méně závažných infekcí kůže a měkkých tkání, neboť rozvoj konstitutivní rezistence se jeví v průběhu této léčby nepravděpodobný.</p> <p>Význam indukované rezistence při kombinované terapii závažných infekcí způsobených <i>S. pyogenes</i> není znám.</p>	
37	<p>Proč nejsou k dispozici breakpointy daptomycinu pro enterokoky?</p> <p>Z farmakokinetických a farmakodynamických studií a skromných klinických údajů vyplývá nízká pravděpodobnost úspěchu léčby infekcí způsobených izoláty divokého typu i přes použití licencované dávky daptomycinu (4 mg/kg/den). Z toho důvodu nejsou k dispozici breakpointy. Nicméně je potvrzeno, že infekce způsobené izoláty s MIC ≤ 4 mg/l mohou být léčeny vysokými dávkami daptomycinu (alespoň 8 mg/kg/den). (Pro více informací viz http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/guidance_documents/).</p>	▲
38	<p>Jak vyšetřovat citlivost u klinických izolátů nebo antibiotik, pro něž EUCAST neuvádí breakpointy?</p> <p>Pro některé skupiny bakterií a antimikrobní látky EUCAST nestanovil breakpointy. Breakpointy pro nové látky se stanoví v případě, že daný přípravek prošel registrací EMA a byl schválen. Existují-li pádné důvody, pak mohou být stanoveny breakpointy i pro některé starší látky (např. nitroxolin nebo temocilin). Breakpointy mohou být případně stanoveny i pro některé vzácně se vyskytující mikroby (např. pro <i>Nocardia</i> spp.).</p> <p>Existuje několik látek a skupin mikrobů, pro něž breakpointy nebudou stanoveny. Týká se to především starších látek, které nahradily modernější látky patřící do téže skupiny, avšak se zřetelnými výhodami (vyšší aktivitou, zlepšenou farmakokinetikou nebo nižší toxicitou). Jedná se například o aminoglykosid kanamycin, chinolon sparfloxacin, makrolid josamycin a cefalosporiny cefalotin a cefazolin. Je také nepravděpodobné, že budou stanoveny breakpointy pro vzácnější izoláty jako <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>, jiné <i>Campylobacter</i> spp. než <i>C. jejuni</i> a <i>C. coli</i>, a pro skupiny mikrobů, u nichž je obtížné zajistit reprodukovatelné podmínky vyšetření, jako je tomu u <i>Acinetobacter</i> spp. a cefalosporinů, nebo u <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> a většiny antibiotik.</p> <p>Pokud nejsou k dispozici příslušné breakpointy, pak lze posoudit citlivost založenou na vyšetření fenotypu podle výsledků reprodukovatelných a věrohodných hodnot MIC. Naměřené hodnoty MIC mohou být interpretovány podle zdůvodňujících dokumentů EUCAST (EUCAST Rationale Documents) nebo podle EUCAST Breakpoint Table (http://www.eucast.org/) kde jsou uvedeny breakpointy PK-PD.</p> <p>Pokud nejsou breakpointy PK-PD k dispozici (protože nebyly stanoveny při počátečním hodnocení dané látky), je vhodné ověřit, zda u daného izolátu je MIC v souladu s distribucí MIC u divokého typu tohoto druhu. Na webové stránce s distribucí MIC EUCAST je (http://www.eucast.org/mic_distributions_and_ecoffs/) lze vyhledat potřebné údaje podle jména druhu nebo antibiotika. Podle distribuce MIC daného antibiotika u příslušného druhu pak lze posoudit, zda podle naměřené MIC patří vyšetřovaný kmen k divokému typu či nikoli. Pokud jeho MIC odpovídá divokému typu, pak lze přihlídnout k breakpointům daného antibiotika stanovených u jiných druhů, a s opatrností interpretovat výsledek. Jako příklad lze uvést posouzení, zda izolát <i>Arcanobacterium haemolyticum</i> je či není citlivý k erytromycinu. Vyšetřená MIC je 0,5 mg/l. Na stránce EUCAST s distribucí MIC nejsou žádné údaje pro <i>Arcanobacterium haemolyticum</i>, nicméně všechny</p>	▲

	<p>grampozitivní bakterie považované za citlivé k erytromycinu vykazují pro divoký typ distribuci MIC nižší než 1 mg/l, a většinou nižší než 0,5 mg/l. Izolát je tudíž pravděpodobně citlivý k erytromycinu. Podrobnější vysvětlení je v dokumentu "What to do when there are no breakpoints in the EUCAST Breakpoint Table" (http://www.eucast.org/guidance_documents/), český překlad "Jak postupovat, nejsou-li k dispozici breakpointy", dostupný na http://www.szu.cz/dalsi-dokumenty-s-pokyny-pri-testovani-citlivosti-eucast, viz také Breakpointy- obecně, otázka 9</p>	
39	<p>Proč jsou breakpointy pro ceftazidim-avibaktam vyšší než pro samotný ceftazidim?</p> <p>Všechny breakpointy jsou vztaženy k dávkovacímu režimu daného antibiotika. Mezi ceftazidimem a kombinací ceftazidimu s avibaktamem jsou rozdíly v dávkování: standardní dávka samotného ceftazidimu, podávaného infuzí po dobu 0,5 h je 1 g 3 krát denně (vysoká dávka je 2 g 3 krát denně), zatímco standardní režim pro ceftazidim-avibaktam je 2 g+0,5 g v prodloužené infuzi na dobu 2 h. Podávání dvojnásobné dávky v prodloužené infuzi zvedne hladiny oproti nižší dávce o dvě další koncentrace MIC.</p>	▲
40	<p>Proč EUCAST nedoporučuje vyšetřit β-laktamázový test předtím, než hlásí enterokoky jako citlivé k penicilinům, zatímco CLSI na tom trvá?</p> <p>Breakpointy EUCAST jsou určeny k odhalení přítomnosti významného mechanismu rezistence, a proto pokud není podle breakpointu detekován enterokok rezistentní k penicilinu/ampicilinu, není třeba provést beta-laktamázový test.</p>	▲
41	<p>Jaký je rozdíl mezi kategorií "citlivý, zvýšená expozice" a "citlivost závislá na dávce" (susceptibility dose dependent, SDD), kterou definuje CLSI pro cefepim?</p> <p>Všechny breakpointy závislí na dávce (nebo spíše expozici). Proto „citlivý, zvýšená expozice“ je vhodnější termín než SDD a od roku 2019 tato kategorie nahrazuje kategorii „intermediární“.</p>	▲
42	<p>Jak se vyšetřuje citlivost a interpretují výsledky u <i>Staphylococcus saccharolyticus</i>?</p> <p><i>Staphylococcus saccharolyticus</i> je anaerobní, koaguláza-negativní stafylokok a měl by být testován podle metodologie pro anaerobní bakterie, tj. vyšetření MIC. Při použití komerční metody je zapotřebí postupovat podle pokynů výrobce. MIC by se měla interpretovat podle breakpointů EUCAST pro grampozitivní anaeroby.</p>	▲
43	<p>Co znamená nová kategorie interpretace výsledků vyšetření citlivosti "I" a jak s ní zacházet v laboratoři?</p> <p>Rozhodnutí EUCAST o změně definice kategorií citlivosti C, I a R je uvedeno níže. Výsledky několika konzultací nových definic jsou k dispozici na internetových stránkách EUCAST v části „Konzultace“.</p> <p>C – Citlivý, standardní dávkovací režim: Mikroorganismus je definován jako citlivý při standardním dávkovacím režimu, je-li úroveň aktivity antimikrobního přípravku podávaného ve standardním dávkování spojená s vysokou pravděpodobností léčebného úspěchu.</p> <p>I – Citlivý, zvýšená expozice*: Mikroorganismus je definován jako citlivý při zvýšené expozici*, je-li úroveň aktivity antimikrobního přípravku spojená s vysokou pravděpodobností léčebného úspěchu pouze při zvýšené expozici přípravku úpravou dávkovacího režimu nebo při koncentrování tohoto přípravku v místě infekce.</p> <p>R – Rezistentní: Mikroorganismus je definován jako rezistentní, je-li úroveň aktivity antimikrobního přípravku spojená s vysokou pravděpodobností selhání</p>	▲

	<p>léčby i při zvýšené expozici*.</p> <p>* expozice mikroorganismu v místě infekce závisí na způsobu podávání, dávce, dávkovacím intervalu a době infúze antimikrobního přípravku, a rovněž na jeho distribuci, metabolismu a exkreci.</p> <p>Nové definice jasně souvisejí s expozicí původce antibiotiku, která zase souvisí s dávkou, frekvencí dávkování (včetně změny z opakovaného podání na intravenózní infuzi), způsobem podání a farmakokinetikou a někdy s typem infekce (infekce močových cest vs. meningitida).</p> <p>Dávkování a způsoby podávání ve vztahu ke kategoriím C, I a R uvádí poslední tabulka v Tabulkách breakpointů EUCAST.</p> <p>Viz web EUCAST (http://www.eucast.org/newsiandr/).</p>	
44	<p>Co znamená Area of Technical Uncertainty (ATU, Oblast technické nejistoty) a jak s ní zacházet v laboratoři?</p> <p>ATU upozorňuje laboratoře na nejistotu, kterou je třeba řešit před nahlášením výsledků klinickým lékařům. ATU se týkají oblastí s nejistými výsledky a nesoúvisejí s „kategorií I“. ATU se mohou týkat průměrů zón, hodnot MIC nebo obou.</p> <p>Jak se zachází s výsledky v rámci ATU záleží na dané situaci. Přijatá opatření závisí na typu vzorku (hemokultura vs. kultivace moči), počtu dostupných alternativních antibiotik, závažnosti onemocnění, nebo na možnosti konzultace s klinickými kolegy. Další pokyny lze nalézt v Tabulkách breakpointů EUCAST (ve sloupcích označených ATU v tabulkách pro jednotlivé bakterie) a v pokynech EUCAST pro ATU (http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/guidance_documents/).</p>	▲
45	<p>Jak se interpretují výsledky testování tigecyklinu u jiných Enterobacterales než je <i>Escherichia coli</i> a <i>Citrobacter koseri</i>?</p> <p>Hodnoty MIC tigecyklinu u populace divokého typu těchto druhů nelze dosáhnout standardním dávkovacím režimem. Rovněž neexistuje žádná schválená vysoká dávka, ale pro ty, kteří se chtějí zaměřit na léčbu infekcí způsobených těmito druhy lze nalézt další postup v pokynech EUCAST ohledně dávkování tigecyklinu: http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/guidance_documents/.</p>	▲
46	<p>Proč EUCAST stanovil breakpointy pro orální aplikaci amoxicilinu a kombinace amoxicilinu s kyselinou klavulánovou u <i>Streptococcus pneumoniae</i> a <i>Haemophilus influenzae</i>?</p> <p>Antimikrobní expozice amoxicilinu a ampicilinu se značně liší v závislosti na tom, zda jsou podávány perorálně nebo intravenózně. Přestože breakpointy pro perorální i intravenózní těchto antibiotik jsou shodné, je důležité uvést, na kterých dávkovacích režimech jsou breakpointy stanoveny. V současnosti se prověřují situace, v nichž se breakpointy pro perorální a intravenózní aplikaci mohou lišit. Tento proces je důležitý, protože zatím není zcela jasné, zda breakpoint bude v obou případech stejný, a mohou také existovat situace, kdy breakpoint bude definován pouze pro intravenózní podávání.</p>	▲
<h2>7. Breakpointy – průměry zón</h2>		
1	<p>Má EUCAST breakpointy průměrů zón, které odpovídají breakpointům PK/PD?</p> <p>V tabulce PK/PD breakpointů jsou pouze breakpointy MIC. Neexistují žádné ekvivalentní breakpointy průměru zón.</p>	▲
2	<p>EUCAST neuvádí breakpointy jiných makrolidů než erytromycinu. Jak se k nim vyšetřuje citlivost?</p>	▲

	Citlivost jiných makrolidů se odvozuje od citlivosti k erytromycinu.	
3	<p>Co znamená zkratka "IP" v tabulkách breakpointů?</p> <p>V tabulkách breakpointů EUCAST je několik breakpointů průměrů zón nahrazeno zkratkou "IP" (v přípravě). To znamená, že breakpointy budou uvedeny v pozdější verzi tabulky breakpointů.</p>	▲
4	<p>Proč je u některých antibiotik breakpoint průměrů inhibičních zón pro citlivé kmeny ≥ 50 mm?</p> <p>Breakpoint pro $C \geq 50$ mm u diskového difuzního testu je arbitrární průměr zóny "mimo rozsah" ("off scale") a označuje, že podle klinických breakpointů EUCAST neobsahuje daný druh bakterie žádné citlivé jedince, tzn., že izoláty divokého typu jsou kategorizovány jako "citlivý, zvýšená expozice".</p>	▲
5	<p>Mohou být výsledky screeningu s pefloxacinem u <i>Salmonella</i> spp. použity k odvození citlivosti k jiným fluorochinolonům než k ciprofloxacinu?</p> <p>Screening s pefloxacinem u <i>Salmonella</i> spp detekuje rezistenci k fluorochinolonům v důsledku mutací QRDR a plazmidy zprostředkovanou rezistenci, jako je <i>qnr</i> a <i>aac6</i>. Avšak ciprofloxacin je jediný, u něhož EUCAST stanovil specifické breakpointy pro <i>Salmonella</i> spp.</p>	▲
6	<p>Lze použít screening s pefloxacinem u jiných druhů než <i>Salmonella</i> spp. pro screening rezistence k fluorochinolonům?</p> <p>Screening s pefloxacinem byl doposud validován pouze pro <i>Salmonella</i> spp. Klinické breakpointy pro Enterobacterales a fluorochinolony byly přezkoumány a validovány v roce 2017 (EUCAST Breakpoint Tables v 7.1). U ostatních Enterobacterales by měla být vyšetřena citlivost k příslušnému fluorochinolonu.</p>	▲
7	<p>Lze breakpointy průměru zón EUCAST pro <i>Campylobacter jejuni</i> a <i>C. coli</i> použít pro jiné druhy rodu <i>Campylobacter</i>?</p> <p>Nikoli. Breakpointy průměrů inhibičních zón EUCAST pro <i>Campylobacter</i> spp. platí pouze pro <i>Campylobacter jejuni</i> a <i>C. coli</i>. U ostatních druhů se vyšetřuje MIC.</p>	▲
8	<p>Proč změnil EUCAST screening cefoxitinu u <i>Staphylococcus epidermidis</i> a koaguláza-negativních stafylokoků?</p> <p>V tabulce EUCAST Breakpoint Tables verze 7.0 byla zveřejněna nová kritéria průměru zón kolem disku s 30 μg cefoxitinu pro kategorizaci citlivosti a rezistence koaguláza-negativních stafylokoků (KNS) k meticilinu a k ostatním β-laktamům. Tato doporučení předpokládají druhovou identifikaci KNS, což vedlo k dotazům při interpretaci výsledků. Řídící výbor EUCAST přezkoumal data a rozhodl se revidovat kritéria průměru zóny pro <i>S. epidermidis</i>, jakož i znění doprovodné poznámky B. Revidovaná verze byla zveřejněna v EUCAST Breakpoint Tables verze 7.1.</p> <p>Pro laboratoře, které KNS neidentifikují do druhů, se řídící výbor EUCAST rozhodl sladit kritéria průměru zón pro všechny KNS s kritérii pro <i>S. epidermidis</i> ($C \geq 25$ mm, $R < 25$ mm). Jedná se o kompromis, který sice správně kategorizuje citlivé <i>S. epidermidis</i>, avšak kategorizuje malé procento <i>S. epidermidis</i> obsahujících <i>mecA</i> jako citlivé. Při další analýze těchto izolátů bylo zjištěno, že většinou obsahují neexprimované <i>mecA</i> geny, fenomén dříve prokázáný u <i>S. aureus</i>. Pro laboratoře, které KNS identifikují do druhů, musí pro všechny KNS s výjimkou <i>S. epidermidis</i> používat breakpointy pro $C \geq 22$ mm a pro $R < 22$ mm.</p>	▲
9	<p>Stanoví EUCAST breakpointy průměrů zón kolem disku s fosfomycinem pro jiné Enterobacterales než pro <i>Escherichia coli</i>?</p> <p>Probíhá ověřování reprodukovatelné metody difuzního disku a stanovení breakpointu průměrů zón kolem fosfomycinu u <i>Klebsiella pneumoniae</i> a <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	▲

10	<p>Bude EUCAST stanovovat breakpointy průměrů zón RAST pro jiné Enterobacterales než <i>Escherichia coli</i> a <i>Klebsiella pneumoniae</i>?</p> <p>Metoda RAST byla vyvinuta pro nejdůležitější a nejčastěji izolované patogeny a původce infekce krevního řečiště. Metoda RAST byla zveřejněna v listopadu 2018 a později byly přidány breakpointy pro <i>Acinetobacter baumannii</i>. Zvažují se breakpointy pro další antibiotika a další druhy, metoda RAST však nikdy nepokryje všechny druhy a antibiotika s breakpointy uvedenými ve standardní metodologii.</p>	▲
<h2>8. Kontrola kvality</h2>		
1	<p>Kde lze získat kmeny pro kontrolu kvality EUCAST?</p> <p>Kmeny pro kontrolu kvality lze získat z národních sbírek kontrolních kmenů ATCC, NCTC, CIP, atd. (u nás CNCTC, CCM). Prodávají je také firmy dodávající materiál pro vyšetřování citlivosti.</p>	▲
2	<p>Jak často by měla být prováděna kontrola kvality s kontrolními kmeny?</p> <p>Kontrolní kmeny by měly být testovány denně, nebo nejméně 4 krát týdně. Mimo kontrolní limit může být nanejvýš 1 z 20 po sobě následujících testů.</p> <p>Časté rutinní kontroly jsou zapotřebí pro používané materiály a zařízení (půdy, disky, inkubátory apod.) a pro postupy (příprava inokula, očkování ploten, inkubaci a odečítání zón). Nepravidelná nebo méně častá kontrola kvality neodhalí problémy související s půdami, disky nebo inkubátory, a negativně ovlivní výsledky vyšetření klinických izolátů.</p>	▲
3	<p>Lze používat kmeny pro kontrolu kvality EUCAST pro kontrolu kvality automatizovaných systémů?</p> <p>Účinná kontrola kvality vyžaduje kmeny s MIC v rozmezí ředění používaném v automatizovaném systému. Vhodné kmeny by měl dodat výrobce.</p>	▲
4	<p>Kde lze nalézt referenční distribuce citlivostí pro srovnání s distribucemi citlivostí v naší laboratoři?</p> <p>Referenční distribuci MIC a průměrů zón obsahující data z různých zdrojů lze nalézt na webu EUCAST (www.eucast.org) pod "MIC distributions & ECOFFs" nebo "Zone diameter distributions & ECOFFs".</p>	▲
5	<p>Většina automatizovaných systémů doporučuje kontrolní kmeny, jejichž MIC je mimo rozmezí v daném antibiotickém panelu. ISO doporučuje, aby nejméně u jednoho kontrolního kmene mohlo být měřeno MIC v rozmezí panelu. Je obtížné akceptovat u kontrolního kmene výsledky < nebo >, protože jeho MIC je mimo rozmezí MIC na panelu.</p> <p>EUCAST souhlasí s touto připomínkou. Všechny systémy, i automatizované, by měly obsahovat koncentrace antibiotika zahrnující rozmezí MIC kontrolního kmene, jinak je kontrola neúčinná. Pokud je rozsah koncentrací omezen, jako je tomu u některých komerčních systémů pro vyšetření citlivosti, pak pro kontrolu kvality by měly být zvoleny kmeny s MIC v testovaném rozmezí koncentrací. V praxi to může být problém, protože bude nutno vybrat více kontrolních kmenů pro pokrytí různých antibiotik. V současnosti má taková kontrola mimo rozsah nedefinovatelnou citlivost pro detekci chyb, a proto je to velmi špatná kontrola.</p>	▲
6	<p>Proč jsou v některých případech nesrovnatelnosti mezi CLSI a EUCAST u stejného kontrolního kmene v rozmezí MIC?</p> <p>V zásadě by neměly být žádné rozdíly mezi rozmezím kontrolních kmenů udávaným EUCAST a CLSI. Obě instituce používají standard ISO 2077-1, a nyní EUCAST a CLSI spolupracují na aktualizaci kontroly kvality tam kde je to zapotřebí. Zveřejňování aktualizací není koordinováno a to může být příčinou</p>	▲

	diskrepancí. Nicméně liší-li se podmínky testů, liší se i rozmezí MIC a průměrů zón. Hlavní rozdíly u diskové difuzní metody jsou způsobeny rozdílným obsahem disků a v některých případech rozdílným složením pūd (např. pro náročné bakterie).	
7	<p>Jak by se měly kontrolovat disky s kombinacemi β–laktamů s inhibitory β–laktamázy?</p> <p>Pro kontrolu inhibitoru β–laktamázy jsou zapotřebí kmeny produkující β–laktamázu. Účinná složka je kontrolována standardně citlivým kmenem. Aktuální doporučení uvádí EUCAST QC Tables (český překlad viz Kontrola kvality EUCAST).</p>	▲
8	<p>Kdy by se měla provádět kontrola kvality EUCAST u rychlého vyšetření citlivosti z pozitivních hemokultur (RAST)?</p> <p>Kontrola kvality u metody EUCAST RAST by měla být prováděna při zavádění metody RAST v laboratoři, při školení nových zaměstnanců a při jakékoli změně systému (např. změně systému hemokultivací, výrobce disků nebo pūd). U standardní diskové difúze EUCAST se provádí kontrola kvality použitých materiálů, zařízení a postupů v laboratoři. Další informace, viz http://www.eucast.org/rapid_ast_in_blood_cultures/.</p>	▲
9. Ostatní dotazy		
1	<p>Breakpointy EUCAST uvádí fixní koncentraci inhibitoru β–laktamázy pro piperacilin-tazobactam, amoxicilin-klavulanát a ampicilin-sulbactam. Platí to pouze pro MIC, a jaký je pro to důvod?</p> <p>Fixní koncentrace inhibitoru platí jen pro MIC. Pro disky tento požadavek pochopitelně nelze použít.</p> <p>Testování kombinací inhibitoru s β–laktamovým antibiotikem se v minulosti lišilo podle toho, zda byla použita fixní koncentrace inhibitoru, nebo jeho poměrná koncentrace vzhledem ke koncentraci příslušného antibiotika v kombinaci. U amoxicilinu-klavulanátu a ampicilinu-sulbactamu se používala poměrná koncentrace, zatímco u piperacilinu-tazobactamu a tikarcilinu-klavulanátu fixní koncentrace. Pro tento rozdílný přístup není žádný logický důvod a nyní se všeobecně považuje fixní kombinace za vhodnější, a tento přístup bude použit u nových kombinací s inhibitory. Některé skupiny sice pro kontinuitu dat ponechávají poměrnou koncentraci u kombinace ampicilinu se sulbaktamem a amoxicilinu s klavulanovou kyselinou, nicméně EUCAST nechce pokračovat v opakování této chyby a důrazně nabádá k testování fixní koncentrace inhibitoru. Cílem je zjistit, zda MIC aktivní složky antibiotika se mění podle přítomnosti inhibitoru. Poměr látek v kombinaci amoxicilin-klavulanát se v různých farmaceutických přípravcích liší a v místě infekce není fixován v poměru 2:1. Při poměrné koncentraci se spolu se zvyšující se MIC účinné složky v kombinaci, zvyšují i koncentrace inhibitoru - a to daleko za klinicky dosažitelné koncentrace.</p> <p>Platí to i pro testy s gradientem antibiotika, a pouze gradientní test s fixní koncentrací inhibitoru lze použít pro vyšetření MIC podle EUCAST.</p> <p>Viz také Ostatní dotazy, otázka 5.</p>	▲
2	<p>Bude EUCAST doporučovat standardizované fenotypové/genotypové metody pro confirmaci producentů karpapenemázy?</p> <p>Od roku 2013 je na webové stránce EUCAST k dispozici dokument "EUCAST guideline for the detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance" (http://www.eucast.org/resistance_mechanisms/, český překlad</p>	▲

	http://www.szu.cz/detekce-mechanismu-rezistence-eucast .	
3	<p>Jak často bude EUCAST zveřejňovat aktualizace?</p> <p>EUCAST od roku 2012 zveřejňuje aktualizace každoročně. Předběžná verze tabulek je ke komentování zveřejněna od začátku prosince a konečná verze je k dispozici každoročně 1. ledna. Všechny změny proti předchozí verzi jsou světle žlutě zvýrazněny. Je zapotřebí sledovat EUCAST News, případně se přihlásit k jejich bezplatnému odběru prostřednictvím News (RSS) na EUCAST website.</p>	▲
4	<p>Co znamená zkratka ND na webových stránkách průměrů zón a MIC EUCAST?</p> <p>ND znamená, že hodnota ECOFF „Není Definována“ ("Not Defined"). Příčinou může být skutečnost, že údaje distribuce MIC nutné ke stanovení ECOFF jsou známy u malého počtu izolátů, nebo jsou pokládány za nereprodukovatelné, nebo nejsou jednoznačné. Průběžně jsou do databáze distribucí MIC přidávána další data a distribuce jsou posuzovány ve světle nových dat. Po takovém přezkoumání může být namísto ND definován příslušný ECOFF.</p> <p>Viz také EUCAST SOP 10.0, http://www.eucast.org/documents/sops/.</p>	▲
5	<p>Podle tabulky breakpointů EUCAST musí být MIC kombinace amoxicilinu/klavulanové kyseliny testována s fixní koncentrací klavulanové kyseliny (2 mg/l). Jak je tomu u gradientních testů?</p> <p>Není žádný důvod, proč by gradientní testy MIC amoxicilinu nemohly být provedeny s fixní koncentrací kyseliny klavulanové, stejně jako je kombinace piperacilin-tazobactam testována s fixní koncentrací tazobactamu. V současné době nejsou gradientní proužky s amoxicilinem/klavulanovou kyselinou s fixní koncentrací kyseliny klavulanové k dispozici od všech výrobců. Gradientní proužky, v nichž je poměr amoxicilinu a kyseliny klavulanové 2:1 nemohou být použity místo proužků, v nichž je fixní koncentrace klavulanové kyseliny, protože u rezistentnějších izolátů může být výsledná MIC falešně nižší. Gradientní testy s fixní koncentrací inhibitoru pro amoxicilin-klavulanát a ampicilin sulbactam jsou k dispozici přinejmenším od jednoho výrobce.</p>	▲
6	<p>Proč skupinu "jiné streptokoky" nahradila "skupina viridujících streptokoků", a jak se vypořádat s nehemolytickými izoláty?</p> <p>V tabulkách breakpointů EUCAST byl název "Ostatní streptokoky" nahrazen odbornějším názvem "Skupina viridujících streptokoků". Bakterie, které jsou do této skupiny zařazeny, se nemění. Skupina viridujících streptokoků je velká (zahrnuje více než 30 druhů), včetně skupin <i>S. salivarius</i>, <i>S. bovis</i>, <i>S. mitis</i>, <i>S. mutans</i> a <i>S. anginosus</i>, z nichž některé obsahují více druhů. Několik druhů zařazených do skupiny viridujících může být nehemolytických. Jiní jsou převážně alfa-hemolytičtí a několik ze skupiny anginosus je β-hemolytických. Většina klinicky významných nehemolytických streptokoků patří do skupiny viridujících. Do EUCAST Breakpoint Table (V.6, 2016), (český překlad viz Tabulky breakpointů EUCAST) byla přidána informace o druzích zařazených do skupiny viridujících streptokoků.</p>	▲
7	<p>Má EUCAST nějakou poradní roli ve vývoji u výrobců automatizovaných systémů pro vyšetřování citlivosti?</p> <p>EUCAST nemá poradní roli ve vývoji komerčních systémů pro vyšetření citlivosti. Nicméně EUCAST tyto systémy komentuje a dává jasně najevo, že je povinností obchodních společností zajistit, aby jejich systémy byly v souladu s návody EUCAST, včetně referenčních metod.</p>	▲
8	<p>Používání zkratk koncentrací v ředění dvojnásobně geometrickou řadou v dokumentech EUCAST není důsledné. Jak se má správně interpretovat ve výsledku MIC antibiotika 0,125 mg/l, udává-li EUCAST breakpoint pro citlivost $C \leq 0,12$ mg/l?</p>	▲

	<p>Podle mezinárodní zvyklosti je série ředění pro MIC založena na dvojnásobné řadě se základem 1 směrem nahoru a dolů. Ředění nižší než 0,25 mg/l mají mnohonásobná desetinná místa. Pro některá tato ředění existují různé zkratky, které se většinou odvíjejí od toho, jakým způsobem se série ředění pro MIC připravuje. EUCAST se rozhodl používat následující, matematicky správné zkratky. Dohodnutá terminologie je začleněna do dokumentů EUCAST.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Koncentrace (mg/l)</th> <th>Terminologie EUCAST</th> <th>Alternativy používané jinde</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0,125</td> <td>0,125</td> <td>0,12</td> </tr> <tr> <td>0,0625</td> <td>0,06</td> <td>0,064</td> </tr> <tr> <td>0,03125</td> <td>0,03</td> <td>0,032</td> </tr> <tr> <td>0,015625</td> <td>0,016</td> <td>0,015</td> </tr> <tr> <td>0,0078125</td> <td>0,008</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>0,00390625</td> <td>0,004</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>0,001953125</td> <td>0,002</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table>	Koncentrace (mg/l)	Terminologie EUCAST	Alternativy používané jinde	0,125	0,125	0,12	0,0625	0,06	0,064	0,03125	0,03	0,032	0,015625	0,016	0,015	0,0078125	0,008	-	0,00390625	0,004	-	0,001953125	0,002	-	
Koncentrace (mg/l)	Terminologie EUCAST	Alternativy používané jinde																								
0,125	0,125	0,12																								
0,0625	0,06	0,064																								
0,03125	0,03	0,032																								
0,015625	0,016	0,015																								
0,0078125	0,008	-																								
0,00390625	0,004	-																								
0,001953125	0,002	-																								
9	<p>V tabulce breakpointů EUCAST se udává, že u viridujících streptokoků má být do vyšetření citlivosti zahrnut i erytromycin, a to pro detekci indukované rezistence ke klindamycinu, i když breakpoint pro erytromycin není uveden. Jak je to možné?</p> <p>Disk erytromycinu o obsahu 15 µg je použit v tomto testu pouze za účelem vyšetření indukované rezistence ke klindamycinu, určované podle zploštění inhibiční zóny kolem klindamycinu v blízkosti disku s erytromycinem. Citlivost k erytromycinu nelze podle průměru inhibiční zóny interpretovat.</p>	▲																								
10	<p>EUCAST doporučuje pro mikrodiluční metodu u streptokoků MH-F bujón, ale norma ISO 20776-1 uvádí, že by měl být použit Mueller-Hinton bujón s 2,5-5 % lyzátem koňské krve. Proč je zde tento rozdíl?</p> <p>EUCAST se rozhodl použít stejný bujón pro streptokoky a pro <i>Haemophilus influenzae</i> (a analogicky pevnou půdu MH-F). MH-F bujón pro kultivaci náročných bakterií obsahuje Mueller-Hinton bujón s 5 % lyzátem koňské krve (LHB) a 20 mg/l β-NAD (http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/media_preparation/). β-NAD pro streptokoky není potřeba a nemá na ně vliv, a 5 % LHB je v rámci doporučení ISO. Neexistuje žádný důkaz, že přidání 20 mg/l β-NAD jakkoli ovlivňuje MIC u streptokoků a pneumokoků. Různá koncentrace LHB (2,5 nebo 5 %) sice může mít určitý vliv, ale toto nebylo dále hodnoceno. EUCAST si je vědom, že nižší koncentrace LHB (2,5 %) usnadňuje odečítání výsledků u většiny automatizovaných nebo poloautomatizovaných systémů, ale vyšší koncentrace LHB (5 %) je výhodná pro podporu růstu náročných organismů, jako je <i>H. influenzae</i>, a manuální odečítání testů s půdou MH-F bujón není obtížné. Stručně řečeno, doporučení EUCAST je použít MH-F bujón pro všechny náročné organismy. Rozdíly v MIC pro streptokoky při použití MH-F nebo CAMHB s 2,5 % LHB dosud nebyly významné.</p>	▲																								
11	<p>Jak se vyšetřuje <i>Staphylococcus aureus</i>, který při použití standardní diskové difuzní metody (neobohacený Mueller-Hinton agar) neroste na vzduchu?</p> <p>Vzácné kmeny <i>S. aureus</i> (nebo jiných bakterií), které nerostou při vyšetření standardní metodologií, lze testovat v CO₂ na agarech MH a MH-F (MH s 5 % defibrinovanou krví a 20 mg/l β-NAD), ale je třeba si uvědomit, že u několika antibiotik mohou existovat určité rozdíly v průměrech zón. Inkubace v CO₂ například ovlivňuje pH. Aminoglykosidy a makrolidy jsou méně účinné při nižším pH, zatímco tetracyklin a kyselina fusidová jsou při nižším pH aktivnější. Zóny pro antibiotika s vysokou vazbou na proteiny (kyselina fusidová) mohou být na MH-F menší, ale pro většinu antibiotik jsou zóny velmi málo ovlivněny krví. Pokud při použití nestandardních doporučení (jako např. CO₂ nebo MH-F) jsou průměry</p>	▲																								

	inhibičních zón v blízkosti hraničních hodnot, je třeba opatrnosti při interpretaci.	
12	<p>Proč EUCAST nedoporučuje používání gradientních testů pro vyšetření MIC kolistinu?</p> <p>Existuje několik zpráv o nedostatečnosti gradientních testů pro správnou předpověď citlivosti a rezistence ke kolistinu. EUCAST vyhodnotil metody vyšetření MIC kolistinu na sbírce 75 gramnegativních bakterií (<i>Escherichia coli</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a <i>Acinetobacter</i> spp.). Byly použity tyto metody: gradientní testy dvou výrobců, bujónové mikrodiluční metody (BMD) komerčních výrobců a disková difúze. Na základě výsledků této studie EUCAST vydal varování před použitím gradientních testů pro stanovení MIC kolistinu (http://www.eucast.org/warnings/).</p> <p>Souhrnné výsledky:</p> <ul style="list-style-type: none"> • mikrodiluční metody, které byly použity, poskytly správné výsledky u citlivých i rezistentních kmenů, ačkoli tyto metody od některých výrobců by se mohly ještě zlepšit, • diskovou difúzní metodu nelze pro vyšetření citlivosti ke kolistinu použít, neboť nerozliší mezi citlivými a rezistentními izoláty, • gradientní testy dostupné v současnosti poskytují snížené hodnoty MIC a tudíž nižší počty rezistentních kmenů, i když výsledky kontroly kvality jsou v přípustném rozmezí, • kontrola kvality kolistinu musí být provedena s citlivým kmenem QC (<i>E. coli</i> ATCC 25922 nebo <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853) i s kmenem rezistentním ke kolistinu <i>E. coli</i> NCTC 13846 (pozitivní mcr-1). Pro <i>E. coli</i> NCTC 13846 je cílová hodnota MIC kolistinu 4 mg/l, někdy může být 2 nebo 8 mg/l. 	▲
13	<p>Je známo, že průměr zóny se může mezi různými laboratořemi lišit. Bere EUCAST tuto skutečnost v úvahu při stanovení kritérií pro kontroly kvalitu (QC), breakpointů průměrů zón a pro data v referenční databázi EUCAST?</p> <p>EUCAST při stanovení kritérií pro QC a breakpointů průměru zón používá data získaná s disky a půdami od více než jednoho výrobce a údaje poskytované různými laboratořemi k potvrzení robustnosti kritérií. Postupy EUCAST pro stanovení breakpointů průměru zón a kritérií QC pro nová antibiotika jsou k dispozici v SOP 9.0 (http://www.eucast.org/documents/sops/).</p> <p>Veškeré referenční distribuce průměrů zón v databázi EUCAST (http://www.eucast.org/mic_distributions_and_ecoffs/) vycházejí z údajů získaných při vyšetření, při nichž byly použity materiály několika výrobců a které byly prováděny několika laborantů. Pro některé kombinace bakterií a antibiotik byly získány údaje několika laboratoří a údaje z dalších laboratoří se přidávají, pokud jsou k dispozici.</p>	▲
14	<p>Platí stále tabulky v expertních pravidlech (expert rules v 2.0) uvádějící přirozenou rezistenci a výjimečné rezistentní fenotypy (v 3.1)?</p> <p>Rozsáhlá revize Expertních pravidel byla zveřejněna v červnu 2019 jako verze 3.2. Český překlad Expertních pravidel v. 3.2 naleznete na http://www.szu.cz/expertni-pravidla-eucast-v3-0</p>	▲
15	<p>Jak je definován "výjimečný fenotyp rezistence" a proč v poslední verzi expertních pravidel (v3.1) byly odstraněny "výjimečně citlivé fenotypy"?</p> <p>EUCAST si je vědom toho, že to, co se v jednom okamžiku považuje za "výjimečný fenotyp", nemusí být v pozdějším okamžiku výjimečné a že to, co se v jedné zeměpisné oblasti považuje za výjimečné, nemusí být výjimečné v jiné. Potřeba opakované revize dokumentu je tedy zřejmá.</p>	▲