



**EUCAST** EUROPEAN COMMITTEE  
ON ANTIMICROBIAL  
SUSCEPTIBILITY TESTING

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

# **EUCAST**

## **návod k odečítání bujónové mikrodiluce**

Verze 3.0  
Leden 2021

# Změny od předchozí verze (2.0)

<b>Obrázek</b>	<b>Změna</b>
17-18	Přidány pokyny k odečítání cefiderocolu

# Bujónová mikrodiluce

- Bujónová mikrodiluce je referenční metoda pro vyšetřování citlivosti rychle rostoucích aerobních bakterií, s výjimkou mecilinamu a fosfomycinu, pro které je referenční agarová diluční metoda.
- EUCAST doporučuje testování dle Mezinárodního standardu ISO 20776-1, avšak pro náročné bakterie se použije bujón MH-F (Mueller-Hinton bujón obohacený 5 % lyzované koňské krve a 20 mg/l  $\beta$ -NAD, viz instrukce pro přípravu na [www.eucast.org](http://www.eucast.org)).
- Výsledky se odečítají jako nejnižší koncentrace antibiotika, která inhibuje viditelný růst mikroorganismu - minimální inhibiční koncentrace (MIC), vyjádřená v mg/l nebo  $\mu$ g/ml.

# Odečítání bujónové mikrodiluce

Výsledky platí, splňují-li následující kritéria:

- Dostatečný růst, tzn. zřetelný knoflík (na dně jamky) nebo jednoznačný zákal v pozitivní kontrole růstu.
- Čistá kultura
  - Čistota se kontroluje současnou kultivací neselektivního agaru, naočkovaného z jamky pro kontrolu růstu ihned po její inokulaci.
- Správné inokulum  $5 \times 10^5$  CFU/ml
  - Počet životaschopných kolonií lze zjistit odebráním 10  $\mu$ l z jamky pro kontrolu růstu ihned po inokulaci do 10 ml fyziologického roztoku. Po promíchání se 100  $\mu$ l inokuluje a rozetře na plotnu s neselektivním agarem. Po inkubaci by měl být počet kolonií přibližně 20-80.

# Vzhled růstu

- Růst se projeví zákalem nebo jako usazenina buněk na dně jamky. Vzhled růstu se liší v závislosti na testovaném mikroorganismu a na antibiotiku.
- V jamkách s kulatým dnem se růst projeví jako knoflík/peleta uprostřed jamky. V jamkách s plochým dnem může být růst rozptýlen.
- Růst v jamkách s antibiotiky se může lišit od růstu v jamkách s pozitivní kontrolou růstu, a to i u čistých kultur.

# Odečítání koncových bodů MIC

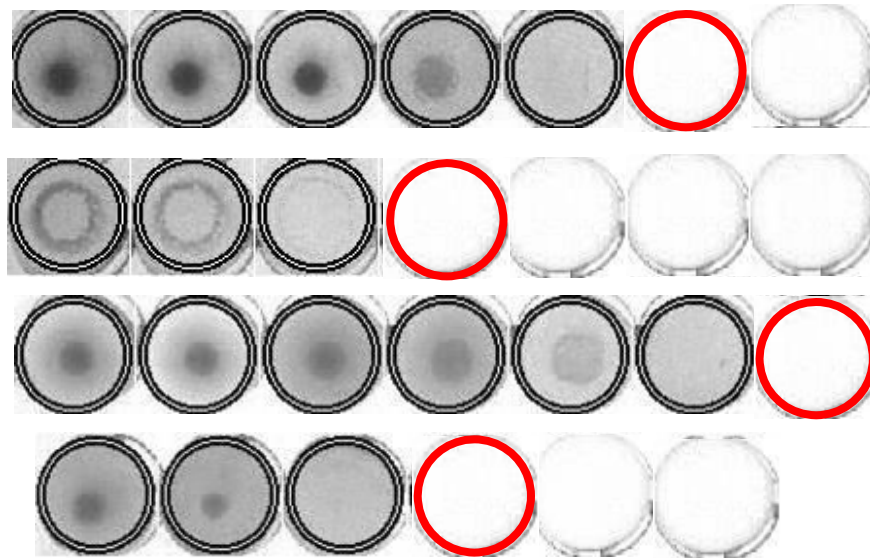
- Výsledky by měly být odečítány manuálně. Odečítání usnadňuje použití zrcadla.
- Jsou-li použity automatické odečítače nebo kamerové systémy, musí být kalibrovány podle manuálního odečítání.
- MIC se odečítá jako nejnižší koncentrace antibiotika, která kompletně inhibuje růst detekovaný pouhým okem. Výjimky, viz obrázky na str. 12-16.

# Vlekoucí se koncové body

- U většiny kombinací antibiotikum-bakterie jsou koncové body zřetelné.
- U některých kombinací antibiotikum-bakterie se koncové body táhnou přes 2-3 jamky s postupným slábnutím růstu.
- Pokud není uvedeno jinak, pak koncové body by měly být odečítány až při úplné inhibici růstu (výjimky, viz str. 12-16).

# Zákal bez knoflíku

- Zastření nebo zákal v jamce bez knoflíku (pelety) se vyskytuje u *Pseudomonas* spp. a *Acinetobacter* spp. Pokládá se za růst a koncový bod se odečítá v první jamce s úplnou inhibicí (čirý bujón).





# Hemolýza

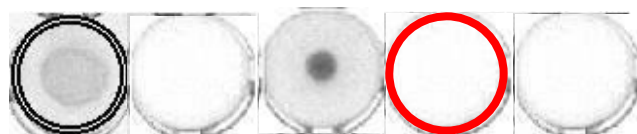
- Náročné bakterie mohou hemolyzovat krev v bujónu MH-F. To je často doprovázeno přítomností zákalu (nebo knoflíku/pelety).
- Při určování koncových bodů by hemolýza nebo zákal měly být považovány za růst.



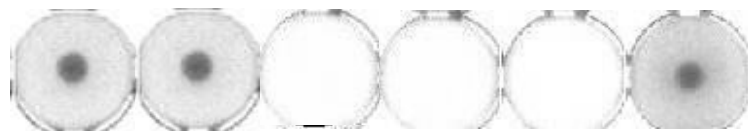
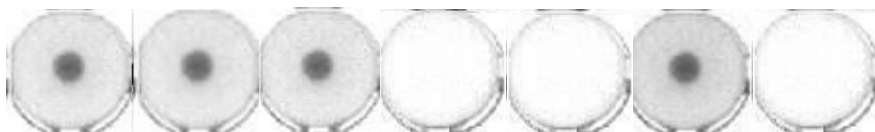
# Vynechané jamky

- Občas může být pozorován přeskok, tj. vynechaná, prázdná jamka, obklopená jamkami vykazujícími růst. Existuje několik možných vysvětlení, včetně nesprávné inokulace, kontaminace, heterogenní rezistence apod.
- Vyskytne-li se jedna prázdná jamka, izolát se retestuje, nebo se odečte nejvyšší hodnota MIC, aby se předešlo hlášení falešné citlivosti.
- Výsledky vyšetření s více než jednou prázdnou jamkou se nehlásí.

# Příklady vynechaných jamek



Retestovat nebo  
odečíst nejvyšší  
hodnotu MIC!



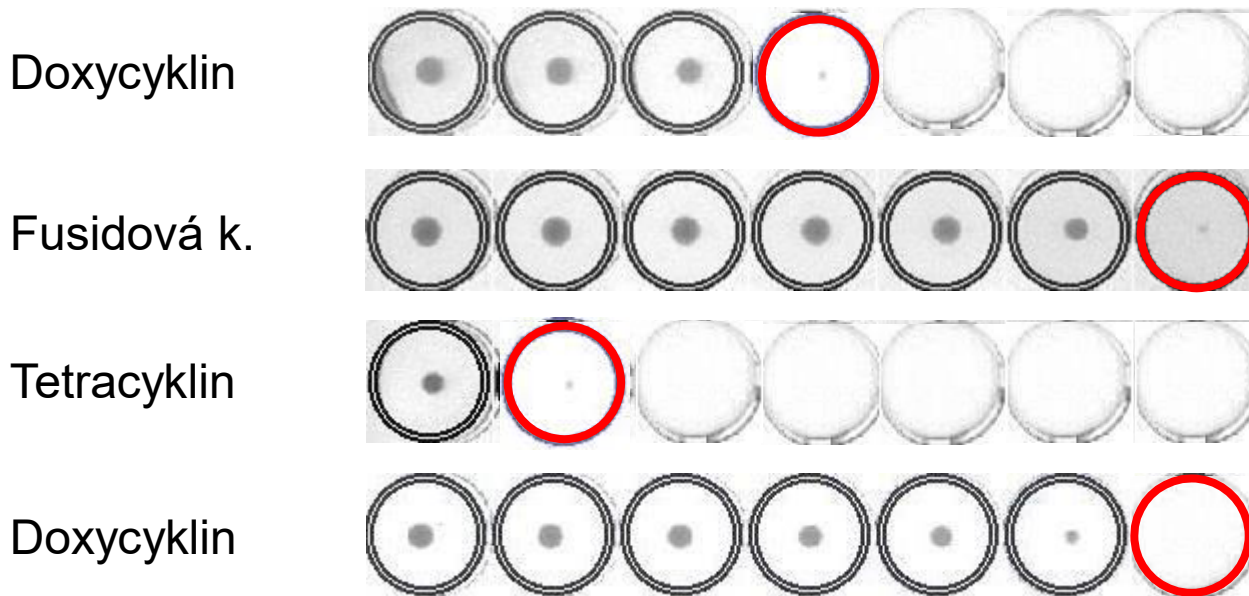
Neplatné výsledky!

# Zvláštní pokyny pro odečítání

- Zvláštní pokyny pro odečítání vyžadují následující kombinace:
  - Bakteriostatická antibiotika u grampozitivních i gramnegativních bakterií
  - Trimetoprim a trimetoprim-sulfametoxazol
  - Cefiderocol

# Grampozitivní koky s bakteriostatickými antibiotiky

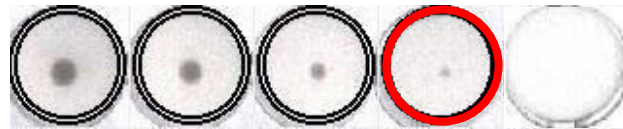
- Tečkovitý růst (drobná tečka) se přehlíží.



# Grampozitivní koky s bakteriostatickými antibiotiky

- Tečkovitý růst (drobná tečka) se přehlíží.

Linezolid



Linezolid



Tedizolid

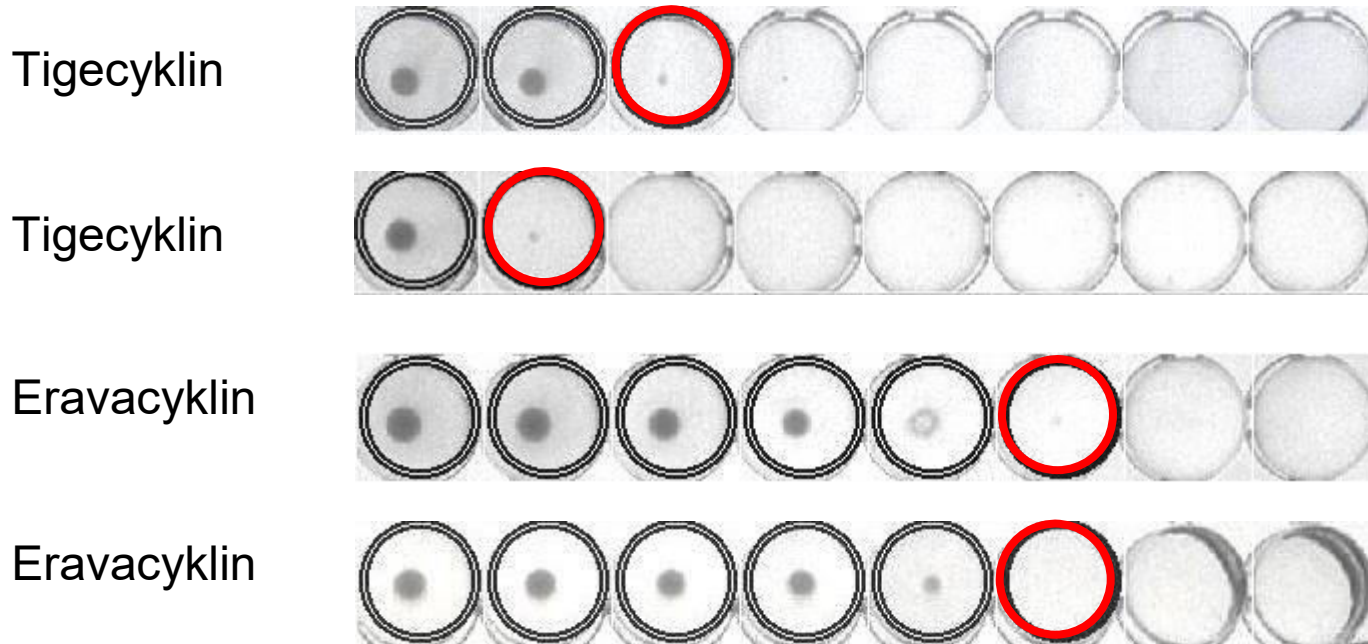


Tedizolid



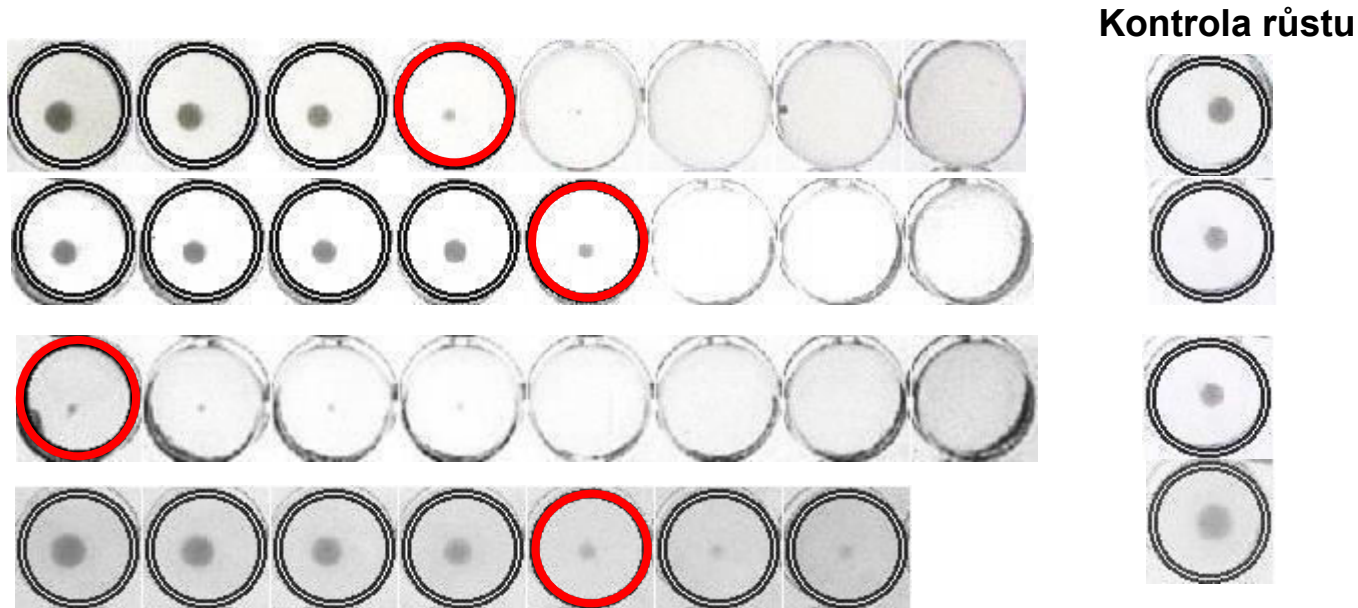
# Gramnegativní bakterie a tigecyklin a eravacyklin

- Tečkovitý růst (drobná tečka) se přehlíží.



# Trimetoprim a trimetoprim-sulfametoxazol

MIC se odečítá jako nejnižší koncentrace, která inhibuje  $\geq 80\%$  růstu ve srovnání s jamkou pro kontrolu růstu.

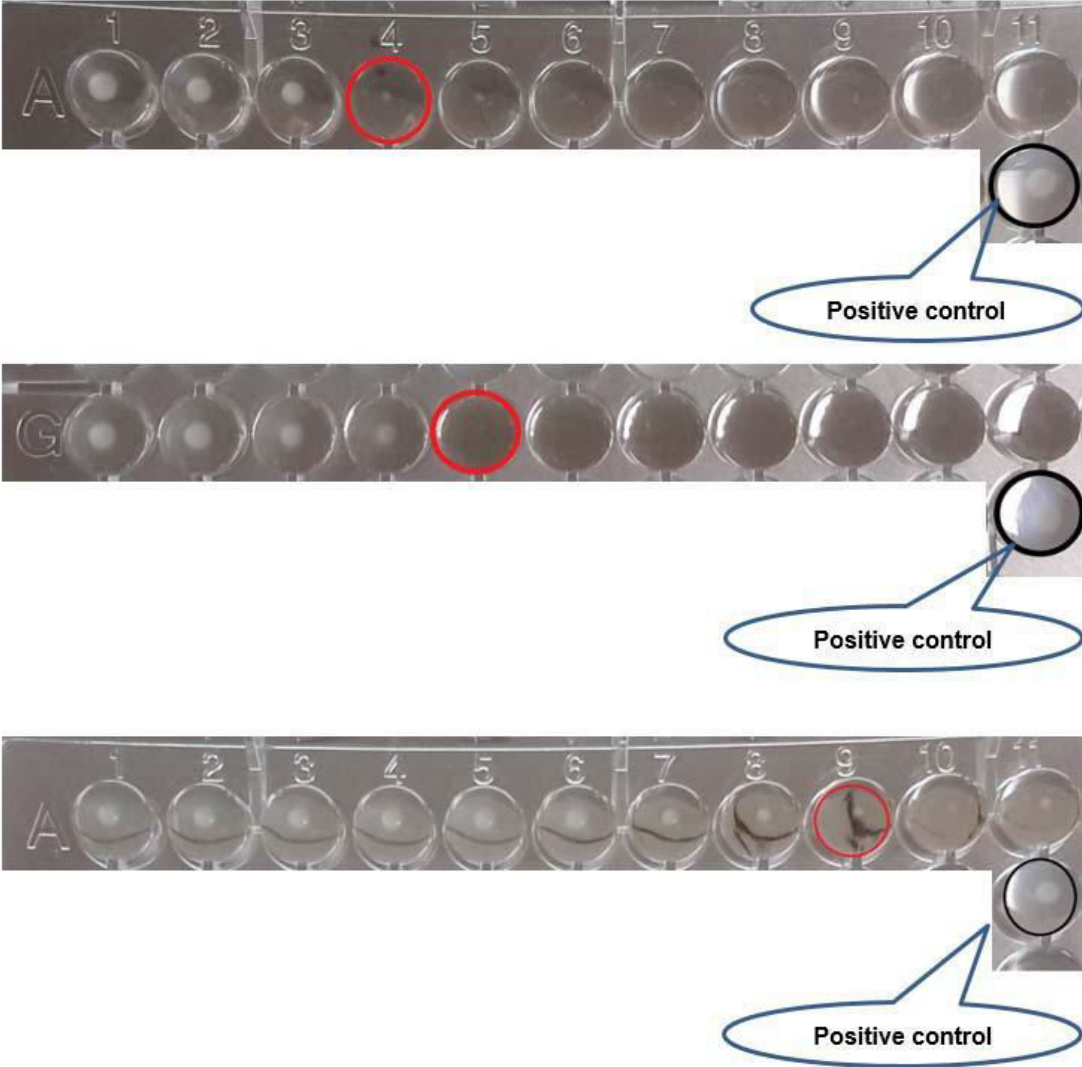




# Cefiderocol

- MIC bujónovou mikrodilucí se musí vyšetřovat v Mueller-Hinton bujónu bez železa a odečítání vyžaduje specifické pokyny, viz [https://www.eucast.org/ast\\_of\\_bacteria/guidance\\_documents/](https://www.eucast.org/ast_of_bacteria/guidance_documents/), český překlad, viz <http://www.szu.cz/dalsi-dokumenty-s-pokyny-pri-testovani-citlivosti-eucast>
- MIC se odečítá v první jamce, v níž je růst potlačen a vytváří tečku < 1 mm, slabý zákal nebo lehký opar.
- Růst pozitivní kontroly musí být silný a vytvářet knoflík > 2 mm, nebo hustý zákal.
- Na následující straně jsou obrázky s příklady odečítání.

# Cefiderocol



# Interpretace výsledků

- Před hlášením výsledků klinických izolátů je zapotřebí se ujistit, že hodnoty MIC příslušných kmenů pro kontrolu kvality jsou v přijatelném rozmezí.
  - viz kritéria pro kontrolu kvality v EUCAST QC Tables ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)), (český překlad [Tabulky pro kontrolu kvality](#) EUCAST).
- Hodnoty MIC se interpretují v kategoriích citlivosti (C, I a R) podle aktuálních EUCAST Breakpoint Tables ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)), (český překlad [Tabulky breakpointů](#) EUCAST).

**X EUCAST** EUROPEAN COMMITTEE  
ON ANTIMICROBIAL  
SUSCEPTIBILITY TESTING

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases