

Návod k odečítání

Disková difuzní metoda EUCAST pro vyšetřování antibiotické citlivosti

Verze 9.0
Leden 2022

Změny proti předchozí verzi (v 8.0)

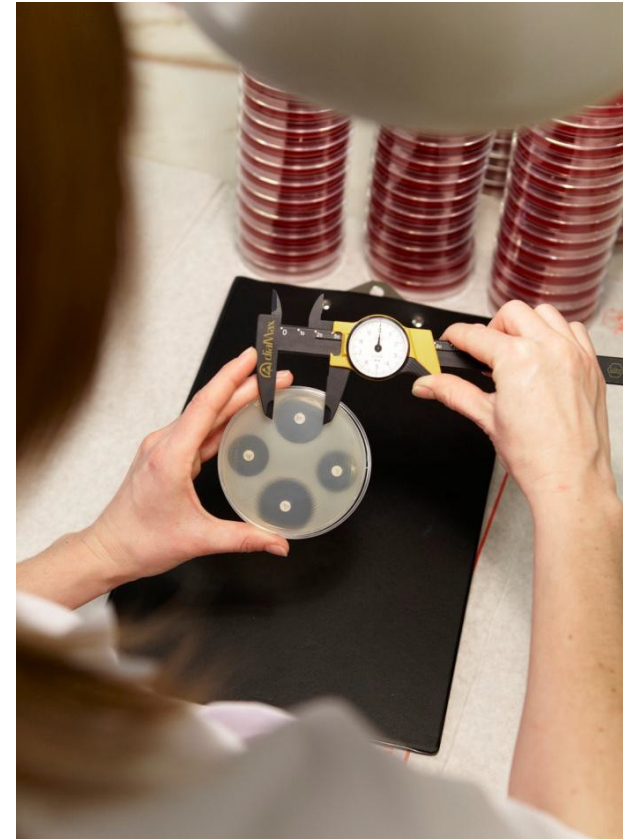
Obrázek	Změna
11	Vysvětlení jak odečíst nezřetelné okraje zón u <i>S. pneumoniae</i>
26	Vysvětlení jak odečíst okraj zóny kolem benzylpenicilinu u <i>S. aureus</i> .

Odečítání zón

- Následující pokyny pro odečítání průměrů inhibičních zón jsou součástí diskové difuzní metody EUCAST.
- Okraj zóny se odečítá od okraje, od bodu úplné inhibice růstu, na plotně držené zhruba 30 cm od oka (výjimky a speciální pokyny jsou na obrázcích 15-29).
- Naklonění plotny do úhlu 45 ° proti desce pracovního stolu usnadní odečítání nezřetelně ohraničených zón.
- Průměry inhibičních zón se měří na nejbližší milimetr pravítkem nebo posuvným měřítkem. Pokud se použije automatický odečítač zón, musí být kalibrován podle manuálního odečítání.

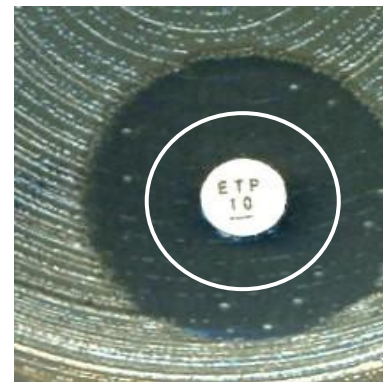
Odečítání zón

- Plotny **MH** se odečítají na spodní straně, v odraženém světle proti tmavému pozadí.
- Plotny **MH-F** se odečítají zepředu po odstranění víčka, v odraženém světle.



Kolonie uvnitř zóny

- Odlišné kolonie uvnitř zóny se vyizolují, ověří se jejich čistota a případně se retestují.
- Je-li kultura čistá, je zapotřebí při odečítání zón vzít tyto kolonie do úvahy.



odečítání zón s koloniemi uvnitř zóny.

Kolonie uvnitř zóny

- Odlišné kolonie uvnitř zóny se vyizolují, ověří se jejich čistota a případně se retestují.
- Je-li kultura čistá, je zapotřebí při odečítání zón vzít tyto kolonie do úvahy.

E. coli
s ESBL



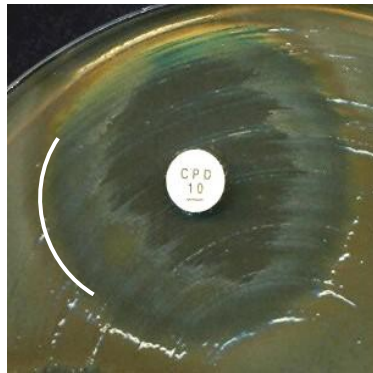
H. influenzae
s mutací PBP



odečítání zón s koloniemi uvnitř zóny.

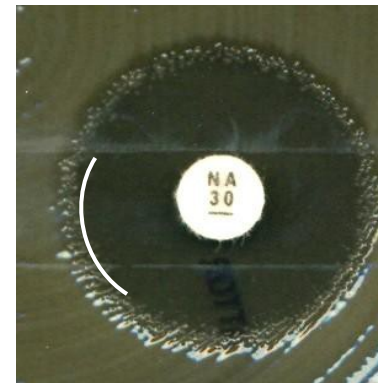
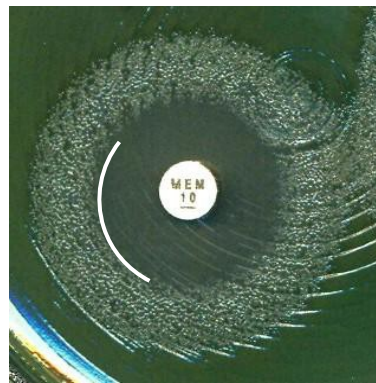
Plazivé kolonie

- U *Proteus* spp se odečítá inhibice růstu a plazení se přehlíží.



Dvojité zóny

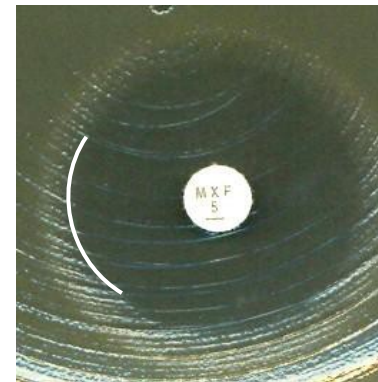
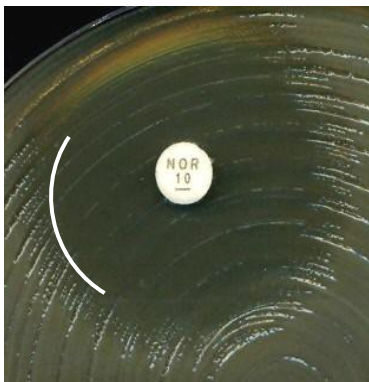
- Ověří se čistota a vyšetření se případně opakuje.
- Je-li kultura čistá, odečítá se od vnitřní zóny.



odečítání dvojitých zón

Neostré okraje zón *Enterobacterales*

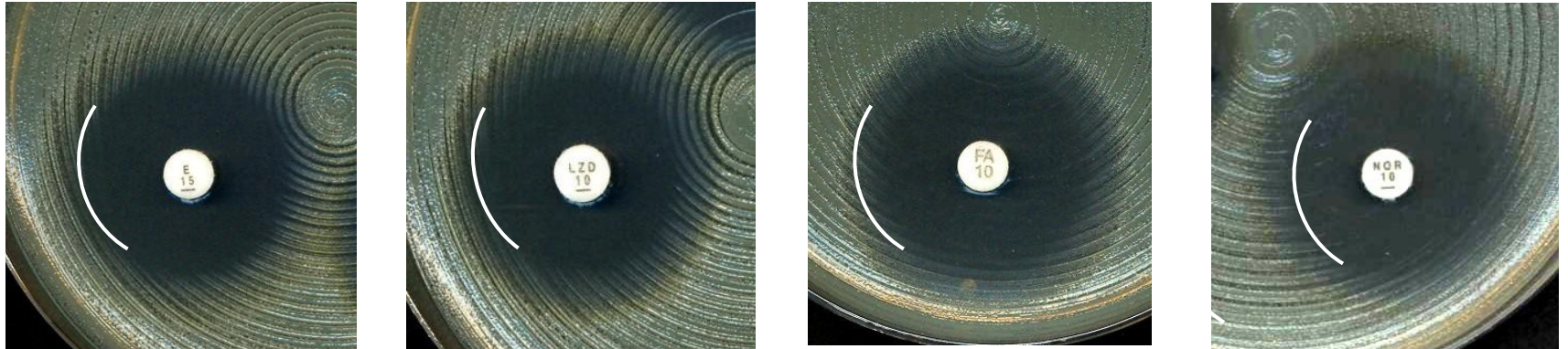
- Plotna se drží proti tmavému pozadí zhruba 30 cm od oka a pátrá se po okraji zóny. Plotna se nedrží proti (procházejícímu) světlu a lupa se nepoužívá.



odečítání zón s neostrými okraji u *Enterobacterales*

Neostré okraje zón Stafylokoky

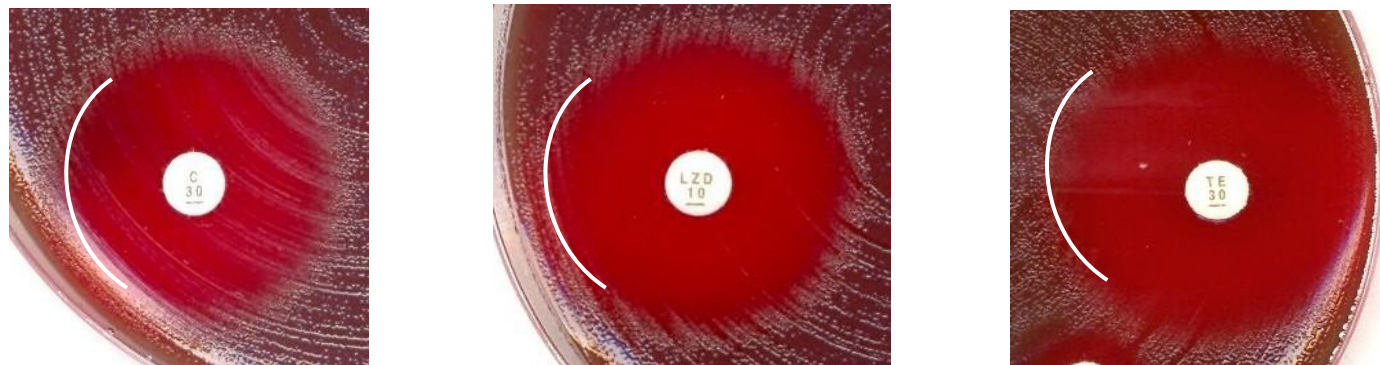
- Plotna se drží proti tmavému pozadí zhruba 30 cm od oka a pátrá se po okraji zóny. Plotna se nedrží proti (procházejícímu) světlu a lupa se nepoužívá.



odečítání zón s neostrými okraji u stafylokoků

Neostré okraje zón *S. pneumoniae*

- Malé kolonie viditelné na plotně, která je vzdálená zhruba 30 cm od oka a držena v úhlu 45 ° proti pracovnímu stolu, se při odečítání zón berou do úvahy.
- Malé kolonie v blízkosti okraje zóny, které mohou vznikat na příliš vlhké půdě MH-F, lze potlačit usušením půd před použitím.



odečítání zón s neostrými okraji u *S. pneumoniae*

Růst nebo hemolýza?

- Odečítá se inhibice růstu, nikoli inhibice hemolýzy.
- Někdy je obtížné rozlišit mezi hemolýzou a růstem.
 - β -hemolyziny difundují do agaru. Z toho důvodu růst uvnitř β -hemolýzy obvykle není přítomen.
 - α -hemolyziny do agaru nedifundují. V oblasti α -hemolýzy může být přítomen růst.
 - U *S. pneumoniae* a β -laktamových antibiotik jsou okraje zón obvykle provázeny α -hemolýzou.

β -hemolýza

- Hemolýzu od růstu lze při odečítání snadněji odlišit nakláněním plotny dopředu a dozadu.
- β -hemolýza je obvykle bez růstu.



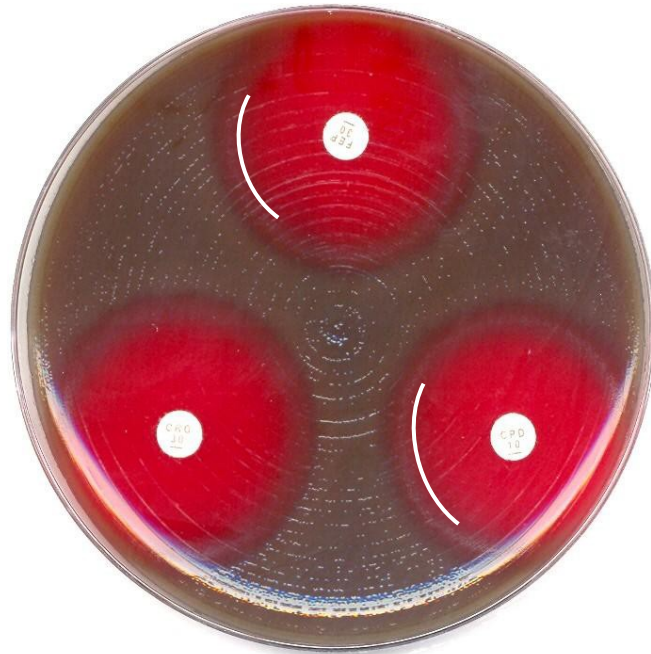
S. pyogenes



streptokoky sk. C

α -hemolýza

- Hemolýzu od růstu lze při odečítání snadněji odlišit nakláněním plotny dopředu a dozadu.



růst je obvykle přítomen v celé oblasti α -hemolýzy.



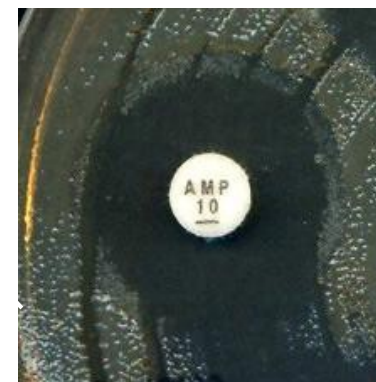
u některých kmenů se vyskytuje další α -hemolýza bez růstu. K odlišení růstu pomůže naklonění plotny.

Speciální pokyny k odečítání

- *Enterobacterales* a ampicilin, ampicilin-sulbaktam a amoxicilin-klavul. kys.
- *Enterobacterales* a temocilin
- *Enterobacterales* a mecilinam
- *E. coli* a fosfomycin
- Trimetoprim a trimetoprim-sulfametoxazol obecně
- *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Burkholderia pseudomallei* a trimetoprim-sulfametoxazol
- *Aeromonas* spp. a trimetoprim-sulfametoxazol
- Enterokoky a vankomycin
- *S. aureus* a benzylpenicilin
- Detekce indukované rezistence ke klindamycinu u stafylokoků a streptokoků
- *H. influenzae* a beta-laktamy

Enterobacterales a ampicilin, ampicilin-sulbaktam, amoxicilin- klavulanová kys.

- Přehlíží se jemný růst, který se u některých šarží MH může vyskytnout jako vnitřní zóna. Na některých šaržích se vnitřní zóna nevyskytuje, a pokud se odečítá vnější zóna, pak není mezi šaržemi rozdíl.



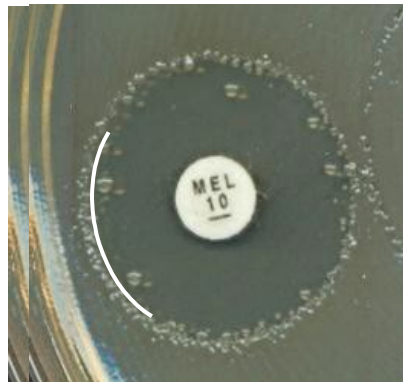
Enterobacterales a temocilin

- Izolované kolonie uvnitř inhibiční zóny se přehlížejí a odečítá se od vnějšího okraje zóny



Enterobacterales a mecilinam

- Izolované kolonie uvnitř inhibiční zóny se přehlížejí a odečítá se od vnějšího okraje zóny.



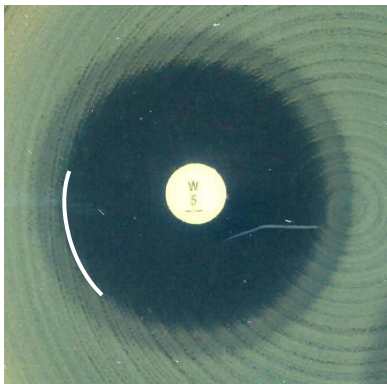
E. coli a fosfomycin

- Izolované kolonie uvnitř inhibiční zóny se přehlížejí a odečítá se od vnějšího okraje zóny.



Trimetoprim a trimetoprim-sulfametoxazol

- Při odečítání vnitřních a dvojitých zón se postupuje následovně (viz obrázky níže).
- Jemný, nepatrný růst kolem disku uvnitř zóny s jasnými okraji se přehlíží.



E. coli



KNS



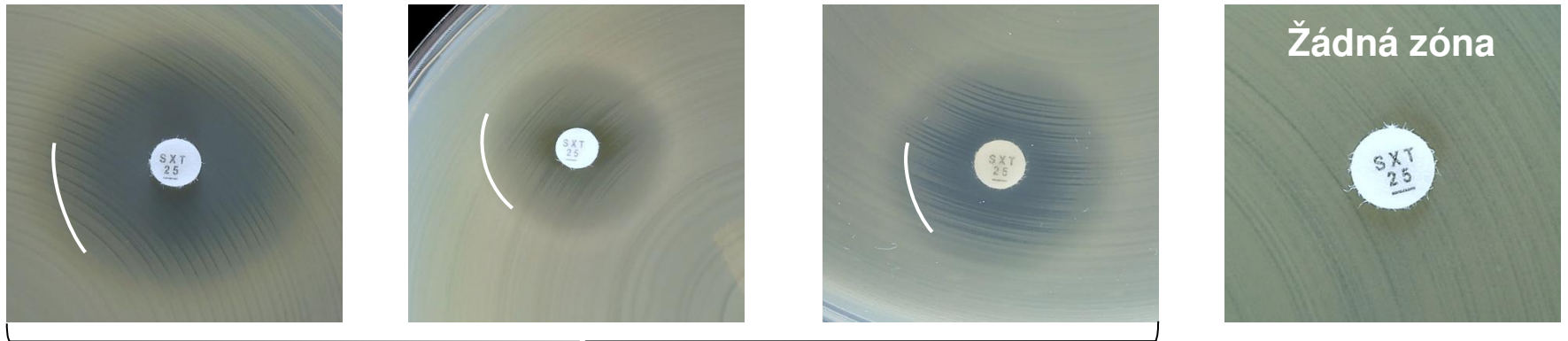
Moraxella



Haemophilus

Stenotrophomonas maltophilia a trimetoprim-sulfametoxazol

- Je-li viditelný jakýkoli okraj zóny, růst uvnitř zóny se přehlídí i v případě, že je masivní.
 - Odečítá se od vnějšího okraje zóny a interpretuje se podle breakpointů.
- Rezistence se hlásí při růstu k disku bez známek inhibice



vnější zóna by měla být viditelná

růst k disku

B. pseudomallei a trimetoprim-sulfametoxazol

- Je-li viditelný jakýkoli okraj zóny, růst uvnitř zóny se přehlíží i v případě, že je masivní.
 - Odečítá se od vnějšího okraje zóny a interpretuje se podle breakpointů.
- Rezistence se hlásí při růstu k disku bez známek inhibice



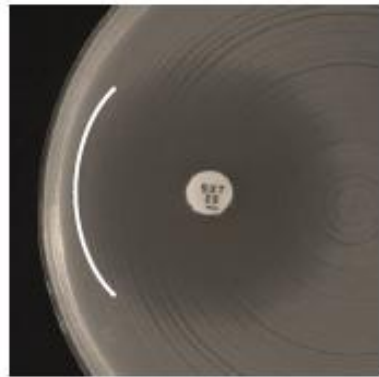
vnější zóna by měla být viditelná



růst k disku

A. xylosoxidans a trimetoprim-sulfametoxazol

- Je-li viditelný jakýkoli okraj zóny, růst uvnitř zóny se přehlíží i v případě, že je masivní.
 - Odečítá se od vnějšího okraje zóny a interpretuje se podle breakpointů.
- Rezistence se hlásí při růstu k disku bez známek inhibice.



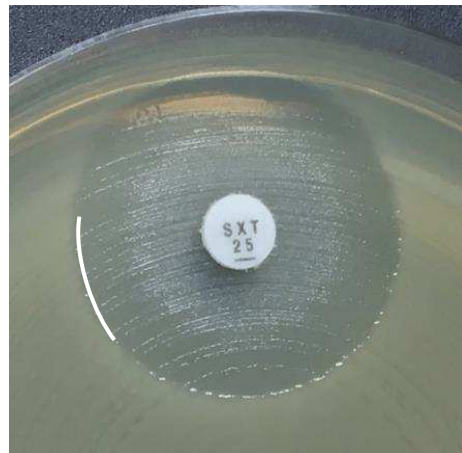
vnější zóna by měla být viditelná



růst k disku

Aeromonas spp. a trimetoprim-sulfametoxazol

- Odečítá se od zřetelného okraje a zastření nebo růst v zóně se přehlíží.
- Je-li vytvořen zřetelný okraj vnitřní zóny, odečítá se zóna od tohoto okraje.



Enterokoky a vankomycin

- Zóny se prohlíží zepředu proti procházejícímu světlu.
 - Je-li okraj zóny ostrý, hlásí se citlivost.
 - Je-li okraj zóny nezřetelný nebo uvnitř zóny rostou kolonie nebo při nejistotě je podezření na VRE a i když je průměr zóny ≥ 12 mm, provede se konfirmační test.
 - Izoláty nesmí být hlášeny jako citlivé dříve než za 24 h inkubace.



ne-VRE



VRE

S. aureus a benzylpenicilin

- Zóny se prohlíží zepředu proti procházejícímu světlu.
 - K detekci produkce penicilinázy se změří průměr a pečlivě prohlédne okraj.
 - Zóna ≥ 26 mm s ostrým okrajem (žádné snížení růstu směrem k okraji zóny, jako "útes") : producent penicilinázy, hlásí se jako rezistentní.
 - Zóna ≥ 26 mm s nezřetelným okrajem (snížení růstu směrem k okraji zóny, jako "pláž"): hlásí se jako citlivý.



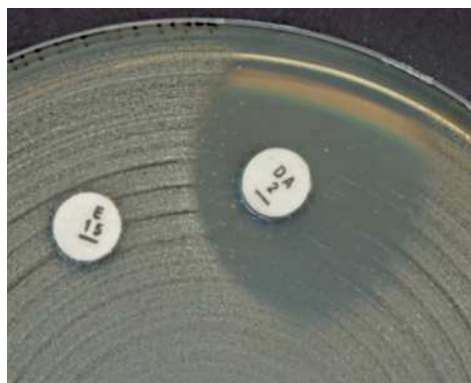
zóna ≥ 26 mm
ostrý okraj zóny = rezistence



zóna ≥ 26 mm
nezřetelný okraj zóny = citlivost

Detekce indukované rezistence ke klindamycinu u stafylokoků

- Indukovanou rezistenci ke klindamycinu lze detekovat průkazem antagonizmu mezi klindamycinem a makrolidem.
- Disky erytromycinu a klindamycinu se umístí ve vzdálenosti **12-20 mm mezi okraji disků** a pozoruje se antagonizmus (D fenomén).



příklady D fenoménu u stafylokoků

Detekce indukované rezistence ke klindamycinu u streptokoků

- Indukovanou rezistenci ke klindamycinu lze detekovat průkazem antagonizmu mezi klindamycinem a makrolidem.
- Disky erytromycinu a klindamycinu se umístí ve vzdálenosti **12-16 mm mezi okraji disků** a pozoruje se antagonizmus (D fenomén).



příklady D fenoménu u streptokoků

H. influenzae a β -laktamy

- U *H. influenzae* a beta-laktamů se průměr zóny odečítá od vnějšího okraje i v případě, kdy jasná inhibiční zóna obsahuje oblast růstu kolem disku.



X EUCAST EUROPEAN COMMITTEE
ON ANTIMICROBIAL
SUSCEPTIBILITY TESTING

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases