



**EUCAST** EUROPEAN COMMITTEE  
ON ANTIMICROBIAL  
SUSCEPTIBILITY TESTING

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

# Návod k odečítání

## Disková difuzní metoda EUCAST pro vyšetřování antibiotické citlivosti

Verze 10.0  
Leden 2023

# Změny proti předchozí verzi (v 9.0)

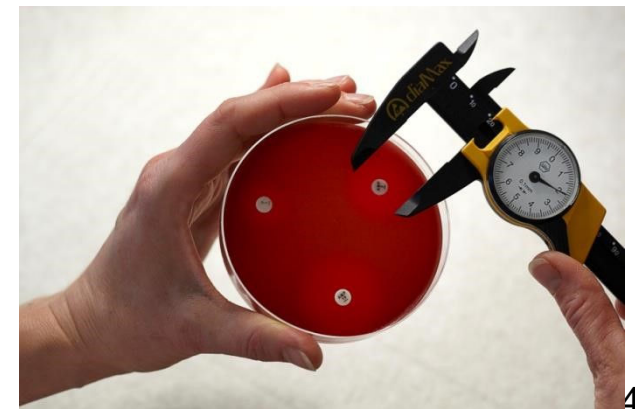
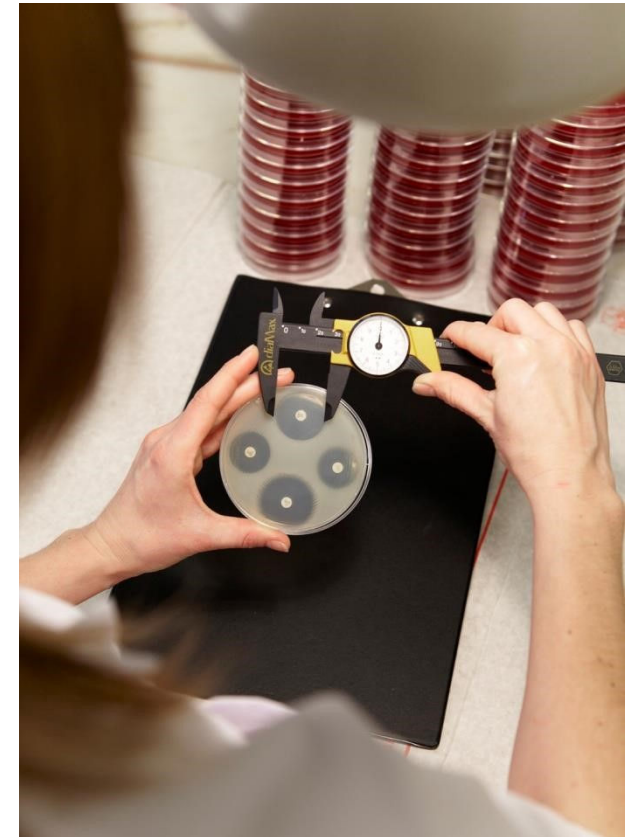
<b>Strana</b>	<b>Změna</b>
25	Objasnění, že okraje zón pro enterokoky a vankomycin musí být zkoumány pouze pro zóny $\geq 12$ mm.
26	Objasnění, že okraje zón pro <i>S. aureus</i> a benzylpenicilin musí být zkoumány pouze pro zóny $\geq 26$ mm.

# Odečítání zón

- Následující pokyny pro odečítání průměrů inhibičních zón jsou součástí diskové difuzní metody EUCAST.
- Okraje zón by se měly odečítat od bodu úplné inhibice růstu, pouhým okem, na plotně držené zhruba 30 cm od oka (výjimky a specifické pokyny jsou na slidu 15-29).
- Naklonění plotny do úhlu 45° proti desce pracovního stolu usnadní odečítání nezřetelně ohraničených zón.
- Průměry inhibičních zón se měří s přesností na milimetry pravítkem nebo posuvným měřítkem. Pokud se použije automatický odečítač zón, musí být kalibrován podle manuálního odečítání.

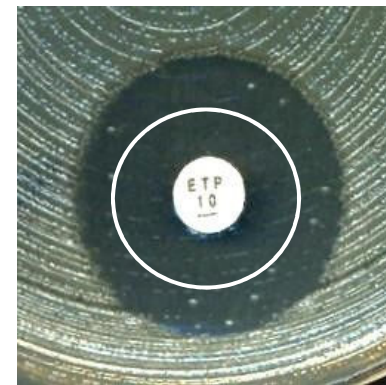
# Odečítání zón

- Plotny **MH** se odečítají ze spodní strany, 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



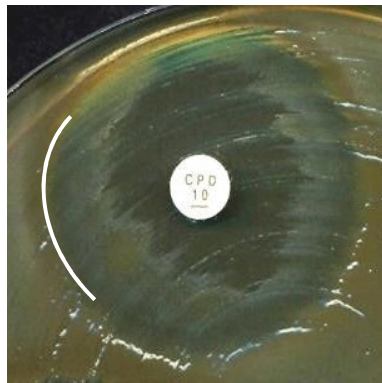
*H. influenzae* s  
PBP mutací



Odečítání zón s koloniemi uvnitř zóny.

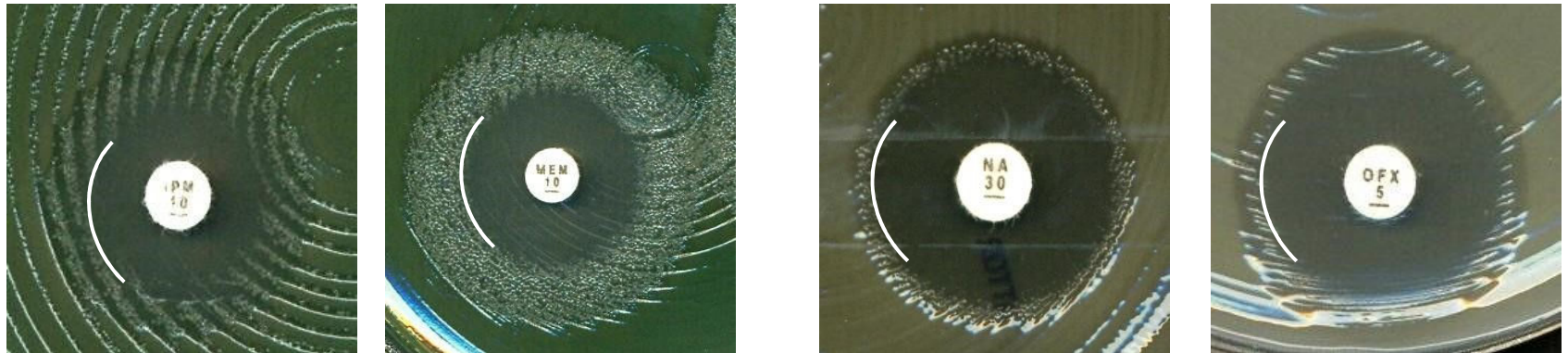
# Plazivé kolonie

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



# Dvojité zóny

- V případě dvojitých zón se ověří čistota a případně se zopakuje test.
- Je-li kultura čistá, odečítá se vnitřní zóna.

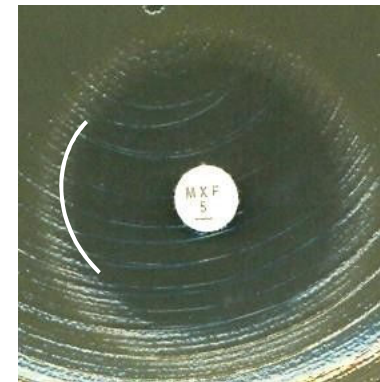
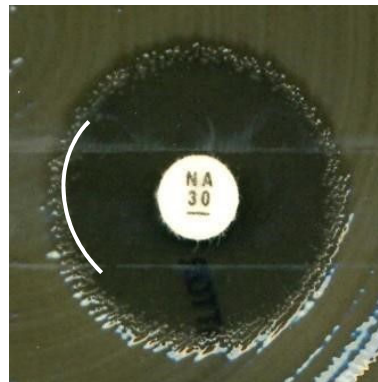


Odečítání dvojitých zón.



# 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 zhruba 30 cm od oka držena v úhlu 45° proti pracovnímu stolu, se při odečítání zón berou v potaz.
- Malé kolonie v blízkosti okraje zóny, které mohou vzniknout 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.
  - $\beta$ -hemolyziny difundují do agaru. Z toho důvodu růst uvnitř  $\beta$ -hemolýzy obvykle není přítomen.
  - $\alpha$ -hemolyziny nedifundují. V oblasti  $\alpha$ -hemolýzy může být přítomen růst.
  - U *S. pneumoniae* a  $\beta$ -laktamových antibiotik jsou okraje zón obvykle doprovázeny  $\alpha$ -hemolýzou.

# $\beta$ -hemolýza

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



*S. pyogenes*

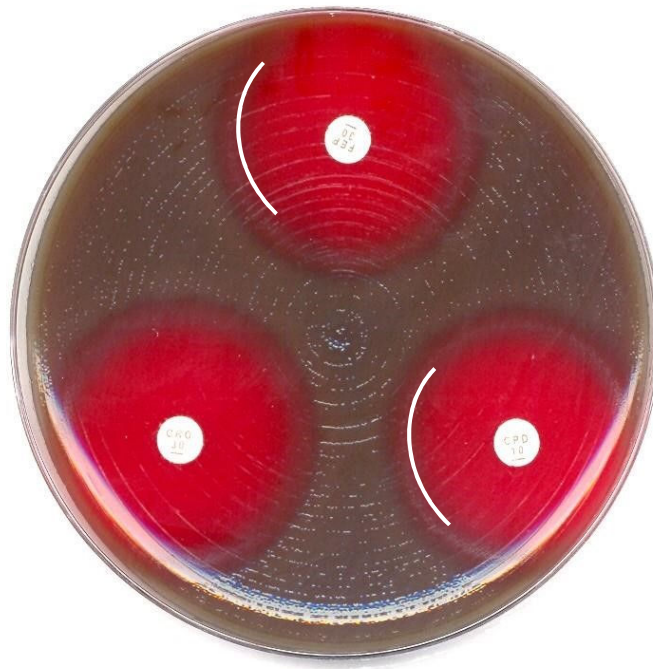


streptokok skupiny C

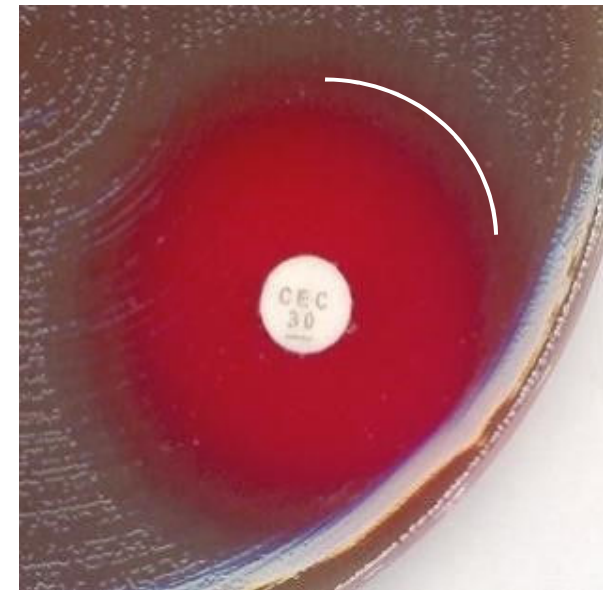


# $\alpha$ -hemolýza

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



Růst je obvykle přítomen v celé oblasti  $\alpha$ -hemolýzy.



U některých kmenů dochází k další  $\alpha$ -hemolýze bez růstu. K odlišení růstu a hemolýzy pomůže naklonění plotny.

# Specifické pokyny k odečítání

- *Enterobacterales* a ampicilin, ampicilin-sulbaktam a amoxicilin-klavulanová kyselina
- *Enterobacterales* a temocilin
- *Enterobacterales* a mecilinam
- *E. coli* a fosfomicin
- Trimetoprim a trimetoprim-sulfametoxazol obecně
- *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans* a *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 a amoxicilin-klavulanová kyselina

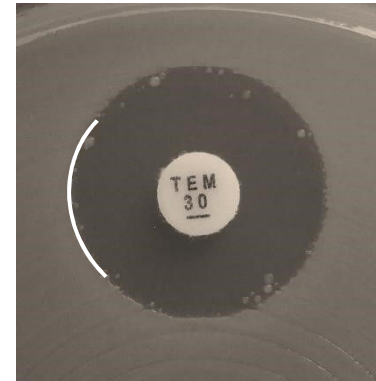
- Přehlíží se růst, který se u některých šarží Mueller-Hintonova agaru může vyskytnout jako tenká vnitřní zóna. U některých šarží není vnitřní zóna vidět a při odečtu vnější zóny není mezi šaržemi žádný rozdíl.





# *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 nebo zastřený růst kolem disku uvnitř zóny s jasnými okraji se přehlíží.



*E. coli*



KNS



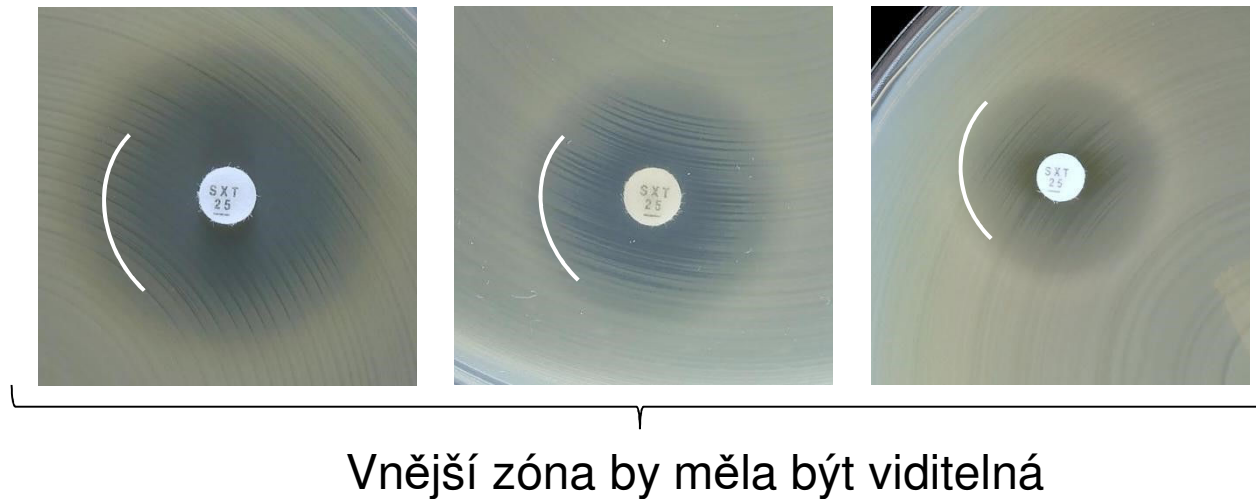
*Moraxella*



*Haemophilus*

# *S. maltophilia* a trimetoprim-sulfametoxazol

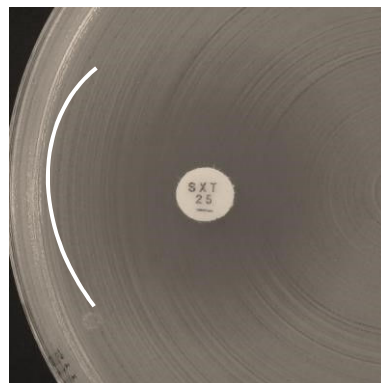
- Je-li viditelný jakýkoli okraj zóny, růst uvnitř zóny (i když je masivní) se přehlíží.
  - Odečítá se od vnějšího okraje zóny a interpretuje se podle breakpointů.
- Je-li růst až k disku bez známek inhibice, hlásí se rezistence.



Růst až k disku

# *A. xylosoxidans* a trimetoprim-sulfametoxazol

- Je-li viditelný jakýkoli okraj zóny, růst uvnitř zóny (i když je masivní) se přehlíží.
  - Odečítá se od vnější okraje zóny a interpretuje se podle breakpointů.
- Je-li růst až k disku bez známek inhibice, hlásí se rezistence.



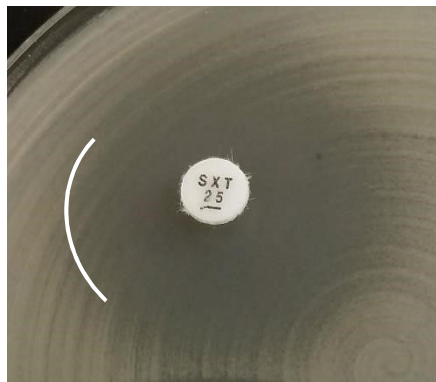
Vnější zóna by měla být viditelná.



Růst až k disku.

# *B. pseudomallei* a trimetoprim-sulfametoxazol

- Je-li viditelný jakýkoli okraj zóny, růst uvnitř zóny (i když je masivní) se přehlídí.
  - Odečítá se od vnější okraje zóny a interpretuje se podle breakpointů.
- Je-li růst až k disku bez známek inhibice, hlásí se rezistence.



Vnější zóna by měla být viditelná.

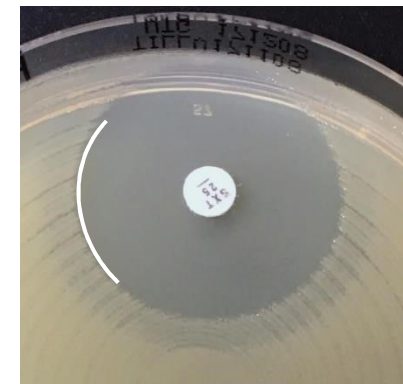
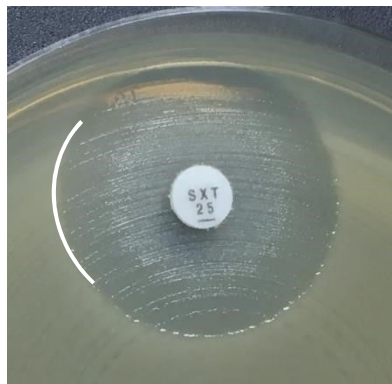


Růst až k disku.



# *Aeromonas* spp. a trimetoprim-sulfametoxazol

- Odečítá se od zřetelného okraje zóny a zamlžení nebo růst uvnitř zóny se přehlíží.
- Je-li vytvořen zřejmý okraj vnitřní zóny, odečítá se od tohoto okraje.



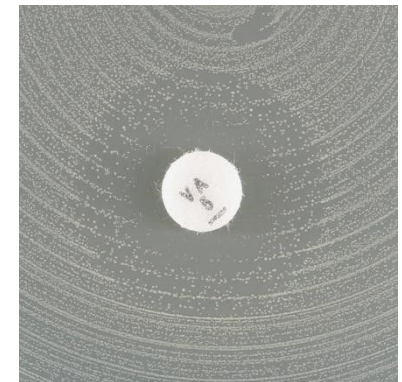
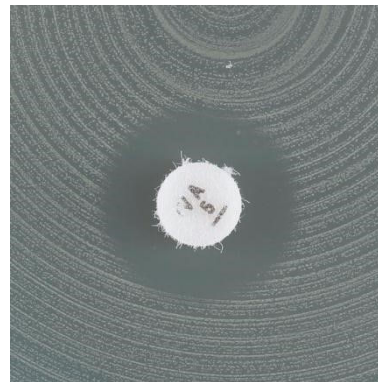


# Enterokoky a vankomycin

- **Izoláty s průměrem zóny  $\geq 12$  mm:** Okraje zóny se zkoumají z přední strany plotny v procházejícím světle (plotna se drží proti světlu).
  - Je-li okraj zóny ostrý, hlásí se citlivost.
  - Je-li okraj zóny nezřetelný, uvnitř zóny rostou kolonie nebo si nejste jistí, je podezření na VRE a provede se konfirmační test, i když je průměr zóny  $\geq 12$  mm.
  - Izoláty nesmí být hlášeny jako citlivé dříve než za 24 h inkubace.



ne-VRE



VRE

# *S. aureus* a benzylpenicilin

- **Izoláty s průměrem zóny  $\geq 26$  mm:** Okraje zóny se zkoumají z přední strany plotny v procházejícím světle (plotna se drží proti světlu).
  - Je-li zóna  $\geq 26$  mm a okraje zóny jsou ostré (žádné snížení růstu směrem k okraji, jako „útes“), pak je izolát producent penicilinázy, hlásí se jako rezistentní.
  - Je-li zóna  $\geq 26$  mm a okraje zóny jsou nezřetelné (snižování růstu směrem k okraji, jako „pláž“), hlásí se jako citlivý.



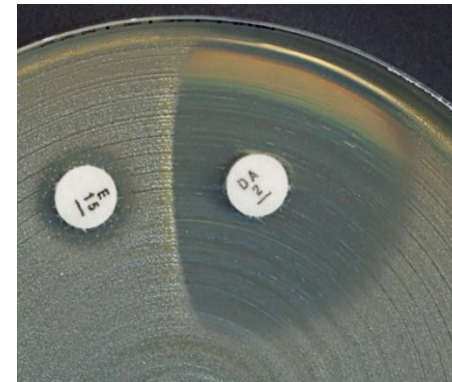
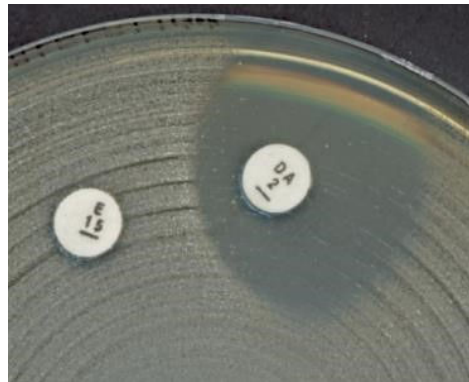
Zóna  $\geq 26$  mm a ostrý okraj zóny = rezistence



Zóna  $\geq 26$  mm a nezřetelný okraj zóny = citlivost

# Detekce indukované rezistence ke klindamycinu u stafylokoků

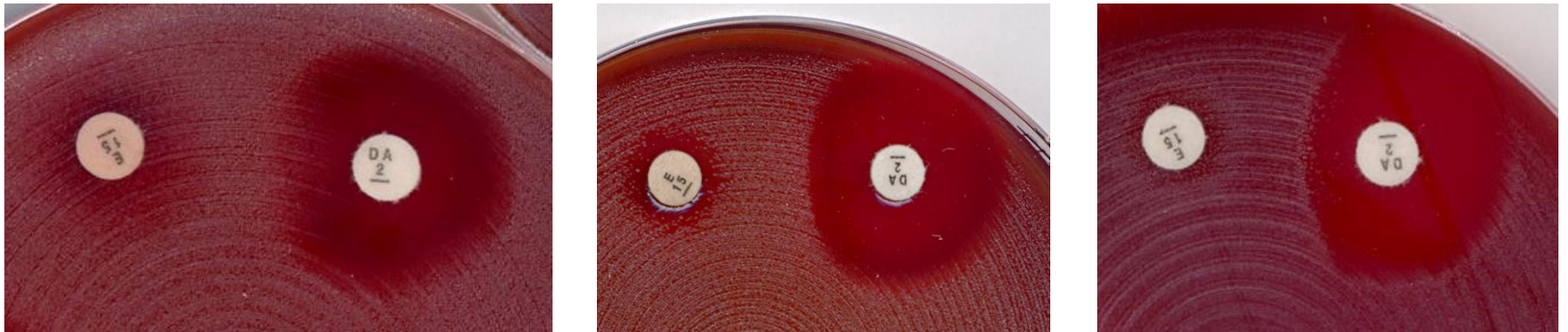
- Indukovanou rezistenci ke klindamycinu lze detekovat průkazem antagonizmu mezi klindamycinem a makrolidem.
- Disky erytromycinu a klindamycinu se umístí ve vzdálenosti **12-20 mm** (mezi okraji disků) a hledá se antagonizmus (D-fenomém).



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 hledá se antagonizmus (D-fenomén).



Příklady D-fenoménu u streptokoků.

# *H. influenzae* a beta-laktamy

- Odečítá se vnější okraj zón i v případě, kdy jasná inhibiční zóna obsahuje oblast růstu kolem disku.





**EUCAST**

EUROPEAN COMMITTEE  
ON ANTIMICROBIAL  
SUSCEPTIBILITY TESTING

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases