



## FUNKČNÍ VZOREK

---

**Souprava na stanovení minimálních inhibičních  
koncentrací sledovaných antibiotik  
pro *Escherichia coli***

**MVDr. Kateřina Nedbalcová, Ph.D.  
MVDr. Monika Zouharová, Ph.D.  
MVDr. Katarína Matiašková**

3762  
2022

**Funkční vzorek 3762/2022**

**Souprava na stanovení minimálních inhibičních koncentrací sledovaných antibiotik pro *Escherichia coli***

**Autoři:**

MVDr. Kateřina Nedbalcová, Ph.D., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Hudcova 296/70, Brno

MVDr. Monika Zouharová, Ph.D., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Hudcova 296/70, Brno

MVDr. Katarína Matiašková, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Hudcova 296/70, Brno

**Funkční vzorek byl vyvinut v rámci projektů Ministerstva zemědělství ČR (čísla grantů: QK22020066 a RO0518)**

**ISBN 978-80-7672-026-8**

## Obsah

Cíl metodiky vývoje funkčního vzorku	3
Účel použití	3
Popis výrobku	3
Interpretace výsledků	5
Ověření funkčnosti a kontrola kvality	6
Skladování	7
Exspirace	7
Způsob likvidace	7
Srovnání „novosti postupů“	7
Seznam použité literatury	8

## **Cíl vývoje funkčního vzorku**

Cílem vývoje funkčního vzorku diagnostické soupravy na stanovení minimálních inhibičních koncentrací (MIC) sledovaných antibiotik pro *Escherichia coli* – byla snaha o vytvoření spolehlivého diagnostického nástroje pro stanovení citlivosti/rezistence *E. coli* k antimikrobikům, která jsou používána k léčbě koliinfekcí především ve veterinární, ale i v humánní medicíně nebo je sledování jejich rezistence k antimikrobikům důležité z jiných, například epidemiologických důvodů. Diagnostická souprava, umožňuje jednorázově stanovit MIC dvanácti antimikrobiálních látek mikrodiluční metodou a na základě výsledků MIC vyhodnotit citlivost/rezistenci vyšetřovaného kmene k testovaným antimikrobikům.

## **Účel použití**

Laboratorní *in vitro* stanovení citlivosti/rezistence klinických izolátů *E. coli* mikrodiluční metodou k antimikrobiálním látkám, které je nezbytné pro efektivní léčbu a významnou měrou přispívá k omezení nežádoucího šíření rezistencí k antimikrobiálním látkám v bakteriálních populacích.

## **Popis výrobku**

Diagnostický set je mikrotitrační destička s 96 jamkami - 12 sloupců (1-12) a 8 řádků (A-H). Ve sloupcích je v růstovém médiu naředěno dvanáct navržených antimikrobiálních látek v objemu 100 µl, u jedenácti antimikrobiálních látek (sloupce 1-11) je na destičce 8 ředění (řádky A-H), ve sloupci 12 je 7 ředění antimikrobiální látky (řádky B – H) a v řádku A je jamka s 100 µl média bez antimikrobiální látky sloužící jako pozitivní kontrola růstu testovaných bakterií. Počáteční koncentrace jednotlivých antimikrobiálních látek na destičce jsou rozdílné

a jsou voleny tak, aby hodnoty MIC vyšetřovaných bakterií zahrnovaly rozmezí breakpointů citlivosti/rezistence testovaných patogenů podle závazných mezinárodních metodik Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) a European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testiny (EUCAST) a rozmezí hodnot MIC bakteriálních kmenů testovaných v rámci kontroly kvality (Tab. 1).

Tab. 1: Set ke stanovení MIC antimikrobiálních látek u G- bakteriálních patogenů drůbeže

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	AMP	AMC	EFT	COL	ENR	FFC	TET	DOX	TIA	TIL	APR	SXT
A	64	32	32	16	8	128	64	32	64	128	128	PKR
B	32	16	16	8	4	64	32	16	32	64	64	16
C	16	8	8	4	2	32	16	8	16	32	32	8
D	8	4	4	2	1	16	8	4	8	16	16	4
E	4	2	2	1	0,5	8	4	2	4	8	8	2
F	2	1	1	0,5	0,25	4	2	1	2	4	4	1
G	1	0,5	0,5	0,25	0,125	2	1	0,5	1	2	2	0,5
H	0,5	0,25	0,25	0,125	0,06	1	0,5	0,25	0,5	1	1	0,25

AMP    ampicilin  
 AMC    amoxicilin/kyselina klavulanová 2/1  
 EFT    ceftiofur  
 COL    kolistin  
 ENR    enrofloxacin  
 FFC    florfenikol  
 TET    tetracyklin  
 DOX    doxycyklin  
 TIA    tiamulin  
 TIL    tilmikosin  
 APR    apramycin  
 SXT    trimethoprim/sulfamethoxazol 1/19

PKR pozitivní kontrola růstu

Koncentrace antimikrobiálních látek v tabulce je uvedena v mg/l.

Růstové médium, ve kterém jsou ředěna antimikrobika je Mueller Hinton Broth.

## Interpretace výsledků

Interpretace výsledků do kategorií citlivosti vyžaduje použití tzv. klinických breakpointů antimikrobiálních látek (EUCAST, CLSI). Breakpointy rozdělují izoláty na citlivé, intermediární a rezistentní. Vyšetřovaný kmen bakterie lze kategorizovat za předpokladu, že příslušné breakpointy jsou použity v definovaném fenotypovém systému, to znamená, že níže uvedené breakpointy platí pouze pro *E. coli* (Tab. 2). U jednotlivých antibiotik jsou hodnoty MIC pro citlivé izoláty označené zelenou barvou, pro intermediární izoláty modrou barvou a pro rezistentní izoláty oranžovou barvou.

Tab. 2: Breakpointy antimikrobiálních látek pro *E. coli*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	AMP	AMC	EFT	COL	ENR	FFC	TET	DOX	TIA	TIL	APR	SXT
A	64	32	32	16	8	128	64	32	64	128	128	PKR
B	32	16	16	8	4	64	32	16	32	64	64	16
C	16	8	8	4	2	32	16	8	16	32	32	8
D	8	4	4	2	1	16	8	4	8	16	16	4
E	4	2	2	1	0,5	8	4	2	4	8	8	2
F	2	1	1	0,5	0,25	4	2	1	2	4	4	1
G	1	0,5	0,5	0,25	0,125	2	1	0,5	1	2	2	0,5
H	0,5	0,25	0,25	0,125	0,06	1	0,5	0,25	0,5	1	1	0,25

## Ověření funkčnosti a kontrola kvality

Funkčnost vyvíjeného setu byla ověřena stejným způsobem jako je prováděna pravidelná týdenní kontrola kvality vyrobených setů do doby expirace testováním kontrolního kmenu *Escherichia coli* ATCC 25922, který je přesně definován a hodnoty MIC u jednotlivých antimikrobiálních látek jsou u tohoto kmenu uvedeny v laboratorních standardech CLSI a EUCAST. Při správném provedení testu musí být stanovené hodnoty MIC referenčního kmenu u jednotlivých antimikrobik v rozmezí definovaných hodnot MIC dle CLSI a EUCAST.

Referenční rozmezí hodnot MIC kontrolního kmenu *E. coli* (mg/l) je vyznačeno v tabulce 3 šedou barvou. Pokud u některých antimikrobiálních látek není pro některý z kontrolních kmenů vyznačeno šedé rozmezí hodnot MIC, nejsou v současné době ještě stanoveny hodnoty MIC kontrolního kmenu k těmto antimikrobikům.

Tab. 3: Rozmezí MIC u kmene *Escherichia coli* ATCC 25922

AMP	AMC	EFT	COL	ENR	FFC	TET	DOX	TIA	TIL	APR	SXT
64	32	32	16	8	128	64	32	64	128	128	PKR
32	16	16	8	4	64	32	16	32	64	64	16
16	8	8	4	2	32	16	8	16	32	32	8
8	4	4	2	1	16	8	4	8	16	16	4
4	2	2	1	0,5	8	4	2	4	8	8	2
2	1	1	0,5	0,25	4	2	1	2	4	4	1
1	0,5	0,5	0,25	0,125	2	1	0,5	1	2	2	0,5
0,5	0,25	0,25	0,125	0,06	1	0,5	0,25	0,5	1	1	0,25

## **Skladování**

Sety skladovat zamrazené při teplotě – 80. Po rozmrazení a temperování setu na kultivační teplotu je nutné provést inokulaci destičky do 1h. Rozmrazené sety se nesmí opětovně zmrazit (riziko degradace antimikrobiálních látek).

## **Exspirace**

6 měsíců od data výroby

## **Způsob likvidace**

Použité sety se likvidují jako infekční materiál.

## **Srovnání „novosti postupů“**

Souprava ke stanovení minimálních inhibičních koncentrací (MIC) sledovaných antibiotik pro *E. coli* obsahuje speciálně vybrané testované antimikrobiální látky a umožňuje testování citlivosti/rezistence bakteriálních izolátů k antimikrobiálním látkám, které jsou běžně užívány k léčbě koliformních infekcí především ve veterinární, ale i v humánní medicíně nebo je sledování jejich rezistence k antimikrobikům důležité z jiných, například epidemiologických důvodů. Vývoj a výroba nové diagnostické soupravy ke stanovení rezistencí sledovaných antibiotik pro *E. coli* reaguje na potřeby veterinárních diagnostických laboratoří a nabízí řešení problému novým diagnostickým nástrojem, který může v současnosti dostupným podobným výrobkům konkurovat kvalitou provedení, originalitou a příznivou cenou. Diagnostická souprava je navíc vhodná k dlouhodobému sledování rezistencí klinických



izolátů *E. coli*. Její výroba a způsob použití je zcela v souladu s mezinárodními standardizovanými metodami.

### **Seznam použité a související literatury**

CLSI, 2012. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty Second Informational Supplement. M 100-S22, vol. 32, No 3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne 2012: 184 pp.

CLSI, 2020. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals. VET01S, 5th Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne 2020: 216 pp.

EUCAST - Antimicrobial wild type distributions of microorganisms. Version 5.13. [Database online]. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, [cit. 2022-10-21].

Available in <<http://www.eucast.org/>>

Jones,R.,N., et al. 2002; J Clin Microbiol. Feb 2002; 40(2): 461–465.

VÚVeL 

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.  
Hudcova 296/70  
621 00 Brno  
Czech Republic

Tel.: +420 5 3333 1111; [www.vri.cz](http://www.vri.cz); e-mail: [vri@vri.cz](mailto:vri@vri.cz)