

Ćwiczenia 25.11.2019

Rząd Enterobacterales oraz Gram-ujemne pałeczki niefermentujące – określanie wrażliwości na antybiotyki oraz wykrywanie mechanizmów oporności

1. Oznaczenie lekowrażliwości metodą krążkowo-dyfuzyjną na podłożu MH:

- a. Antybiogram podstawowy dla pałeczek z rzędu *Enterobacterales* –
dla szczepu *E.coli* oznaczonego ESBL

ANTYBIOGRAM PODSTAWOWY

ANTYBIOTYK	ZAWARTOŚĆ W KRAŻKU	OZNACZENIE KRAŻKA	WARTOŚĆ GRANICZNA STREFY ZAHAMOWANIA WZROSTU (mm)			KOMENTARZ
			S≥	R<	ATU	
Ampicylina	10	AM-10	14	14		Nie oznaczać wrażliwości dla gatunków naturalnie opornych na aminopenicyliny: <i>Klebsiella</i> spp., <i>Citrobacter</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Hafnia alvei</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Providencia</i> spp., <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Proteus penneri</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> .
Amoksylicyna/kwas klawulanowy Lub Ampicylina/sulbaktam	20/10 10/10	AmC-30 SAM-20	19 14	19 14	19-20	Nie należy oznaczać dla gatunków będących producentami AmpC: <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>Hafnia alvei</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Providencia</i> spp., <i>Serratia marcescens</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> .
Cefuroksym iv ^{HE} <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp. (prócz <i>K. aerogenes</i>) <i>Raoultella</i> spp. i <i>P.mirabilis</i>	30	CXM-30	19	19		
Gentamycyna	10	GM-10	17	14		

- b. Antybiogram podstawowy dla pałeczek z rzędu *Enterobacterales* izolowanych z moczu – dla szczepu *E. coli* z własnych posiewów redukcyjnych

ANTYBIOGRAM PODSTAWOWY DLA SZCZEPÓW IZOLOWANYCH Z MOCZU

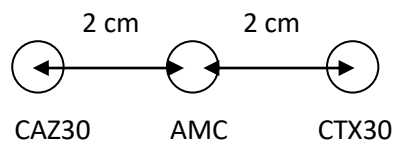
ANTYBIOTYK	ZAWARTOŚĆ W KRAŻKU	OZNACZENIE KRAŻKA	WARTOŚĆ GRANICZNA STREFY ZAHAMOWANIA WZROSTU (mm)		KOMENTARZ
			S \geq	R<	
Ampicylina	10	AM-10	14	14	Nie oznaczać wrażliwości dla gatunków naturalnie opornych na aminopenicyliny: <i>Klebsiella</i> spp., <i>Citrobacter</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Hafnia alvei</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Providencia</i> spp., <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Proteus penneri</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> .
Amoksycylina/kwas klawulanowy	20/10	AmC-30	16	16	Strefy wyłącznie dla niepowikłanych ZUM
Cefuroksym – forma doustna (wyłącznie niepowikłane ZUM) <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp. (prócz <i>K. aerogenes</i>), <i>Raoultella</i> spp. i <i>P. mirabilis</i>	30	CXM-30	19	19	
Norfloksacyna (wyłącznie niepowikłane ZUM) lub Ofloksacyna	10 5	NOR-10 OFX-5	22 24	19 22	
Nitrofurantoina (wyłącznie niepowikłane ZUM) <i>E. coli</i>	100	F/M-100	11	11	Tylko <i>E. coli</i>
Trimetoprim/ sulfametoksazol	1,25/23,75	SXT	14	11	

- c. Antybiogram podstawowy – dla 1) szczepu *P. aeruginosa* z własnych posiewów redukcyjnych oraz dla 2) szczepu podpisanego MBL

ANTYBIOTYK	ZAWARTOŚĆ W KRAŻKU	OZNACZENIE KRAŻKA	WARTOŚĆ GRANICZNA STREFY ZAHAMOWANIA WZROSTU (mm)			KOMENTARZ
			S \geq	R<	ATU	
Tikarcylina ^{HE}	75	TIC-75	18	18		
Piperacylina ^{HE}	30	PIP-30	18	18		
Ceftazydym ^{HE}	10	CAZ-10	17	17		
Gentamycyna ^{HE}	10	GM-10	15	15		
Tobramycyna ^{HE}	10	NN-10	16	16		

2. Wykrywanie wytwarzania enzymów typu ESβL metodą dwóch krążków tzw. metoda DDST dla 1) szczepu oznaczonego ESBL oraz 2) dla szczepu *E. coli* z własnych posiewów redukcyjnych

- Przygotować zawiesinę szczepu w soli fizjologicznej o gęstości 0,5 w skali McFarlanda
- Posiać płytkę MH tak jak do antybiogramu
- Centralnie należy ułożyć krążek z amoksycyliną i kwasem klawulanowym (AMC) a następnie w odległości 2 cm od jego środka umieszczamy krążki z cefalosporynami 3 generacji – ceftazydymem 30 µg CAZ30 i cefotaksymem 30 µg CTX30

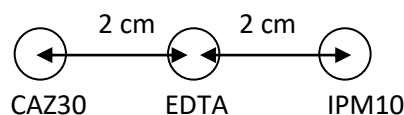


3. Wykrywanie wytwarzania enzymów typu ESβL metodą E-testu dla 1) szczepu oznaczonego ESBL oraz 2) dla szczepu *E. coli* z własnych posiewów redukcyjnych

- Przygotować zawiesinę szczepu w soli fizjologicznej o gęstości 0,5 w skali McFarlanda
- Posiać płytkę MH tak jak do antybiogramu
- Położyć na środku płytki pasek E-testu

4. Wykrywanie szczepów wytwarzających enzymy typu MBL metodą krążkowo dyfuzyjną dla 1) szczepu oznaczonego *P. aeruginosa* MBL oraz dla 2) szczepu *P. aeruginosa* z własnych posiewów redukcyjnych

- W jałowej płytce podpisanej MBL znajduje się jałowy krążek bibułowy, który należy nasączyć 10 µl EDTA (znajduje się w eppendorfie). Krążki suszymy przez 15 minut w komorze laminarnej na Sali ćwiczeń.
- Przygotować zawiesinę szczepu w soli fizjologicznej o gęstości 0,5 w skali McFarlanda
- Posiać płytkę MH tak jak do antybiogramu
- Centralnie należy ułożyć krążek nasączony EDTA, a następnie w odległości 2 cm od jego środka umieszczamy krążki z cefalosporyną 3 generacji – ceftazydymem 30 µg CAZ30 i krążek z imipenemem 10 µg (IPM10)



5. Wykrywanie szczepów wytwarzających enzymy typu MBL metodą E-testu dla 1) szczepu oznaczonego *P. aeruginosa* MBL oraz dla 2) szczepu *P. aeruginosa* z własnych posiewów redukcyjnych

1. Przygotować zawiesinę szczepu w soli fizjologicznej o gęstości 0,5 w skali McFarlanda
2. Posiać płytkę MH tak jak do antybiogramu
3. Położyć na środku płytki pasek E-testu

6. Oznaczenie lekowrażliwości metodą krążkowo-dyfuzyjną na podłożu MH-F dla

H. influenzae

ANTYBIOTYK	ZAWARTOŚĆ W KRAŻKU	OZNACZENIE KRAŻKA	WARTOŚĆ GRANICZNA STREFY ZAHAMOWANIA WZROSTU (mm)			KOMENTARZ
			S \geq	R<	ATU	
Penicylina benzylowa	1 IU	P-1	12			Badanie przesiewowe. Nie rozróżnia między szczepami wytwarzającymi β -laktamazę, a izolatami ze zmienionymi białkami PBP.
Ampicylina	2	AM-2	16	16	16-19	ATU istotne tylko, jeśli badanie przesiewowe z krążkiem z penicyliną benzylową (1 IU) ma wynik dodatni (strefa zahamowania wzrostu < 12mm).
Trimetoprim/sulfametoksazol	1,25/23,75	SXT	23	20		