

Jaké breakpointy používat pro interpretaci výsledků vyšetření citlivosti bakterií k antibiotikům?

Which breakpoints to use for the interpretation of antimicrobial susceptibility testing results?

Pavla Urbášková, Helena Žemličková, Jaroslav Hrabák

Souhrn • Summary

V současné době jsou k dispozici dva renomované systémy, stanovující klinické breakpointy antibiotik (CLSI a EUCAST) a existuje také řada národních doporučení pro jejich použití. V zemích bez vlastních standardů byla obvykle užívána kritéria CLSI. Cílem EUCAST je harmonizovat breakpointy v rámci Evropy a stanovit breakpointy nově zavedených antibiotik. Breakpointy EUCAST jsou volně dostupné na webových stránkách <http://eucast.org>

Two internationally accepted systems setting the clinical antimicrobial susceptibility breakpoints, the CLSI and EUCAST, are currently available as well as a wide range of national guidelines for their use. The countries without their own standards usually used the CLSI criteria. The goal of the EUCAST is to harmonize breakpoints for newly introduced agents. The EUCAST breakpoints are freely accessible on its web site at <http://eucast.org>.

Zprávy EM (SZÚ, Praha) 2010; 19(9): 266–267.

Klíčová slova: CLSI, EUCAST, breakpointy antibiotik
Keywords: CLSI, EUCAST, antimicrobial susceptibility breakpoints

Klinické kategorie citlivosti

Účinek antibiotika* na bakterie lze v laboratoři zjistit několika metodami, které mají při pečlivém dodržení postupu srovnatelné výsledky. Základní metodou je vyšetření minimální inhibiční koncentrace (MIC) – nejnižší koncentrace antibiotika v živné půdě, která inhibuje viditelný růst vyšetřované bakterie. MIC lze vyšetřit v bujonu, agaru, nebo E-testem. Od vyšetření MIC se odvozuje disková difuzní metoda, která měří aktivitu antibiotika podle průměru inhibiční zóny vytvořené kmenem bakterie kolem disku s určitým obsahem antibiotika. V rutinní praxi se zjišťování aktivity antibiotika zkráceně nazývá vyšetření citlivosti, a jeho cílem je zařazení vyšetřovaného kmene do kategorie citlivosti k testovanému antibiotiku.

EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) uvádí tři kategorie, v nichž kmen je klinicky

- 1. citlivý**, pokud aktivita antibiotika poskytuje vysokou pravděpodobnost úspěchu léčby;
- 2. rezistentní**, pokud aktivita antibiotika poskytuje vysokou pravděpodobnost selhání léčby;
- 3. intermediárně rezistentní**, pokud je úspěch léčby antibiotikem s danou aktivitou nejistý [1].

* Termín antibiotikum je použit pro látky s antibakteriálním účinkem.

Stanovení klinických breakpointů

Interpretace výsledků do kategorií citlivosti vyžaduje použití tzv. klinických **breakpointů** antibiotik (někde označovaných jako hraniční koncentrace nebo mezní hodnoty). Vyšetřovaný kmen bakterie lze kategorizovat za předpokladu, že příslušné breakpointy jsou použity v definovaném fenotypovém systému. Breakpointy dilučních metod jsou vyjádřeny hodnotou MIC v mg/l, u diskové difuzní metody průměrem inhibičních zón v mm.

Pro stanovení breakpointů je nezbytná a) charakteristika antibiotika *in vitro* (ředidla, rozpustidla, stabilita, podmínky uchování, výběr vhodné metody testování, atd.), b) distribuce citlivosti bakterií (minimálně 500 kmenů zahrnujících klinicky významné druhy včetně rezistentních kmenů, včetně ustanovení tzv. cut-off antibiotika, viz dále, atd.) a c) farmakokinetika (pk) a farmakodynamika (pd) (koncentrace v séru, tělesných tekutinách, případně ve tkáních, biologická dostupnost, AUC, C_{max} , distribuční objem, vazba na bílkoviny a vztah k MIC, pk/pd parametry, (t/MIC, hladina/MIC, AUC/MIC, atd.).

Validita laboratorně stanoveného breakpointu se ověřuje během klinického hodnocení antibiotika, ve kterém se za stanovených podmínek (definovaná populace pacientů, dávky, interval, délka podávání, mikrobiologické a klinické hodnocení, atd.) hodnotí klinická a bakteriologická odpověď na léčbu. Požadavky na stanovení klinických breakpointů jsou podrobně uvedeny v základním dokumentu EUCAST [2].

Změny klinických breakpointů

Na rozdíl od stabilních **hraničních epidemiologických hodnot** daného antibiotika (epidemiological cut-off), které v populaci bakterií jednoho druhu oddělují divokou populaci od kmenů se získanou rezistencí, se klinické break-

pointy mohou měnit. Příslušná instituce (např. EUCAST) je může upravit v souladu s prokazanými změnami okolností a novými poznatky [3] za dodržení předpokladu, že klinický breakpoint nesmí rozdělit divokou populaci bakterií. V nedávné minulosti byl na příklad pro vyhledávání MRSA vyměněn disk oxacilinu za spolehlivější disk s 30 µg cefoxitinu a posléze byl změněn i breakpoint pro průměr inhibiční zóny tohoto disku z původních > 20 mm na > 22 mm [4]. Počátkem tohoto roku změnila americká CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, dříve NCCLS) breakpointy pro interpretaci výsledků vyšetření citlivosti gramnegativních bakterií k některým cefalosporinům a karbapenémům [5] a ve většině případů je uvedla v soulad s breakpointy stanovenými evropskou EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) [4]. V první polovině letošního roku byla v Evropě změněna interpretace výsledků citlivosti u producentů širokospektré β-laktamázy ESBL degradující cefalosporiny, kteří byli dříve bez ohledu na MIC pokládáni za rezistentní ke všem cefalosporinům; od dubna t.r. se podle doporučení EUCAST interpretace citlivosti k cefalosporinům 3. a 4. generace zakládá na hodnotě MIC bez ohledu na produkci ESBL [6]. To jsou jen některé příklady, které zaznamenávají nejvýznamnější změny v breakpointech.

Výběr breakpointů

Je zřejmé, že komplexní problematika stanovení klinických breakpointů vyžaduje rozsáhlou týmovou spolupráci a má vysoké finanční nároky. Naše příručka z roku 1998, která obsahovala podrobné metody vyšetření citlivosti, uváděla i některé breakpointy [7]. Zatímco metody provedení testů uvedené v této příručce stále platí, breakpointy jsou již zastaralé. Americká CLSI vydává breakpointy ve svých každoročně aktualizovaných dokumentech zhruba od konce 50 let minulého století. Evropská EUCAST zveřejňuje hodnoty breakpointů pro vyšetření MIC od roku 2002, a v roce 2009 je doplnila o breakpointy pro diskovou difuzní metodu. Současné změny v breakpointech je nezbytné akceptovat, neboť jsou podepřeny řadou důkazů získaných vyšetřením *in vitro* i klinickým pozorováním. Breakpointy EUCAST jsou součástí evropského registračního procesu léků EMA (European Medicine Agency) [8].

Závěr

CLSI i EUCAST jsou celosvětově akceptované instituce s vysokou autoritou. I když jsou v roce 2010 breakpointy antibiotik publikované EUCAST i CLSI velmi podobné, lze breakpointy EUCAST doporučit z těchto pragmatických důvodů:

1. na rozdíl od breakpointů CLSI, které jsou publikovány jednou ročně v lednu, výlučně písemnou formou a mají přísný copyright, jsou breakpointy EUCAST k dispozici na internetu; při vyšetření citlivosti diskovou difuzní metodou je však zapotřebí respektovat odlišný obsah některých disků;
2. v souvislosti s dynamickým výskytem nových mechanismů rezistence a tudíž vzhledem k možným změnám breakpointů jsou informace poskytované EUCAST aktuální a jsou poskytovány bezplatně;

3. interpretaci daného výsledku vyšetření citlivosti pomocí breakpointů EUCAST lze případně doplnit podle příslušného doporučení „Expert rules“, které je rovněž na internetu [6].

Jednotné breakpointy umožní získat srovnatelné údaje o antibiotické rezistenci bakterií v Evropě a případně revidovat data získaná v minulosti. Lze předpokládat, že breakpointy EUCAST budou vyhovovat pro rutinní interpretaci většiny výsledků vyšetření antibiotické citlivosti. Stále však platí, že při konzultaci volby antibiotika pro určitého pacienta je nutno vzít do úvahy více okolností než jen arbitrární hodnotu breakpointu.

LITERATURA

1. EUCAST European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST definitions of clinical breakpoints and epidemiological cut-off values (online). Dostupné na http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
2. EUCAST. Determination of antimicrobial susceptibility test breakpoints. EUCAST Definitive Document E.DEF 2.1. Clin Microbiol Infect 2000; 6:570-572. Dostupný na: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/4ESCMID_Library/3Publications/EUCAST_Documents/Publications/E_Def_2_1_08_2000.pdf
3. Kahlmeter G, Brown DF, Goldstein FW, MacGowan AP, Mouton JW, Osterlund A, Rodloff A, Steinbakk M, Urbaskova P, and Vatopoulos A. European harmonization of MIC breakpoints for antimicrobial susceptibility testing of bacteria. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52: 145-148.
4. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 1,1 April 2010 (online). Dostupné na http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twentieth informational supplement. CLSI Document M100-S20. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, Pa, 2010.
6. EUCAST European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Expert rules. (online). Dostupné na http://www.eucast.org/expert_rules/
7. Urbášková P. Rezistence bakterií k antibiotikům. Vybrané metody. ISBN 80-238-3106-2. Trios Praha 1998.
8. European Medicines Agency. Standard operating procedure. Interaction between EMEA/CHMP and EUCAST in the harmonisation of European breakpoints (online). Dostupné na: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/4ESCMID_Library/3Publications/EUCAST_Documents/Other_Documents/EUCAST_SOP3043.pdf

Pavla Urbášková

Helena Žemličková

Národní referenční laboratoř pro antibiotika
Státní zdravotní ústav v Praze

Jaroslav Hrabák

Ústav mikrobiologie LF UK a FN v Plzni

Dr. E. Beneše 13, 305 99 Plzeň

Kontaktní adresa: RNDr. Pavla Urbášková, CSc.
NRL pro antibiotika, SZÚ, Šrobárova 48, 100 42 Praha 10
e-mail: purbaskova@szu.cz