

# Návod pro vyšetření MIC cefiderokolu bujónovou mikrodilucí

Leden 2024

## Úvod

Cefiderokol je sideroforový cefalosporin účinný proti aerobním gramnegativním bakteriím. Je schválen pro léčbu aerobních gramnegativních infekcí u dospělých s omezenými terapeutickými možnostmi. EUCAST stanovil klinické breakpointy (MIC a průměr zóny) pro *Enterobacterales* a *Pseudomonas aeruginosa*. Cefiderokol vykazuje výraznou aktivitu proti *Acinetobacter baumannii* a *Stenotrophomonas maltophilia*, chybí však dostatečné klinické podklady pro stanovení breakpointů.

Aktivita cefiderokolu zahrnuje mnohé izoláty s vysokými hodnotami MIC a rezistencí k jiným beta-laktamům, cefalosporinům i karbapenemům. Vyskytuje se však i rezistence k cefiderokolu, kterou lze prokázat vyšetřením antibiotické citlivosti pomocí MIC nebo diskové difúzní metody.

Disková difúze s diskem cefiderokolu o obsahu 30 µg se provádí podle standardního doporučení pro nenáročné bakterie [EUCAST Disk Diffusion Manual](#) (český překlad, viz Příručka EUCAST Disková difúzní metoda, [Vyšetření antibiotické citlivosti bakterií - SZÚ | Oficiální web Státního zdravotního ústavu v Praze \(szu.cz\)](#)).

## Metoda testování cefiderokolu bujónovou mikrodilucí

Cefiderokol vyžaduje k optimální účinnosti nízkou hladinu železa. Vyšetření MIC bujónovou mikrodilucí se musí provádět v bujónu Mueller-Hinton ochuzeném o železo. Koncentrace železa v tekutém médiu by měla být přísně definována, neboť ovlivňuje reprodukovatelnost. K ochuzení o železo se používá metoda chelatace, ta však odstraňuje také další kationty (tj. vápník, hořčík a zinek). Proto se tyto kationty přidávají do půdy zpět na koncentrace vápníku 20–25 mg/l, hořčíku 10–12,5 mg/l a zinku 0,5–1,0 mg/l. Postup potřebný k výrobě bujónu je popsán v **Příloze A**.

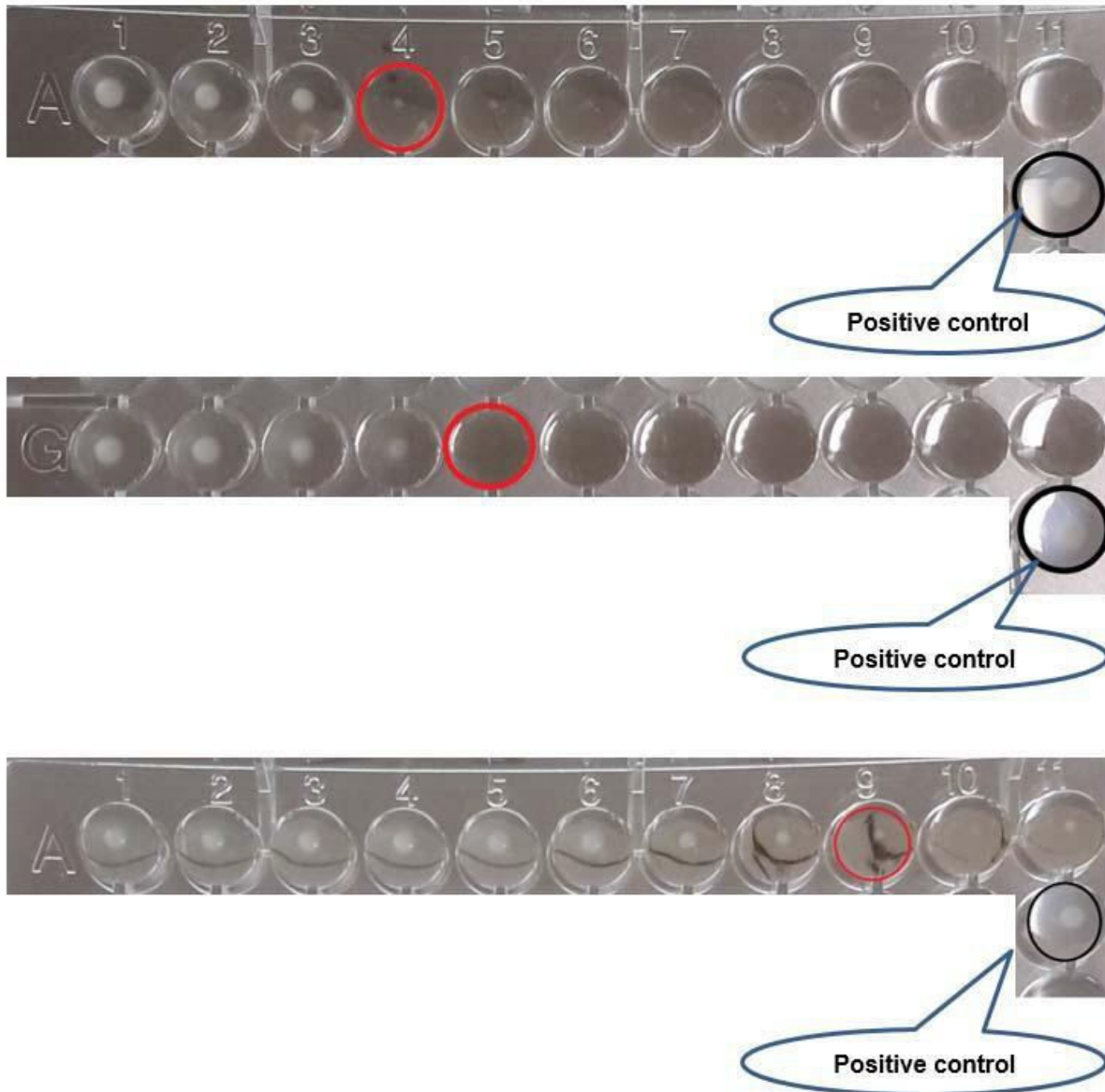
## Odečítání koncových bodů MIC bujónově-naředěného cefiderokolu

- MIC se odečítá jako první jamka, ve které snížení růstu odpovídá knoflíku <1 mm, nebo je nahrazeno růstem ve formě lehkého oparu nebo slabého zákalu (≥80% snížení zákalu ve srovnání s kontrolou růstu).
- Pozitivní kontrola by měla vykazovat silný růst ve formě knoflíku >2 mm nebo silného zákalu. **Viz obrázky s příklady odečítání na další stránce.**

**Obrázky s ukázkami odečítání najdete na další straně.**

### Příklady odečítání koncových bodů MIC cefiderokolu

MIC cefiderokolu se odečítá jako jamka, ve které je pozorováno snížení růstu odpovídajícího knoflíku <1 mm, nebo přítomnost lehkého zákalu (červený kroužek). Pozitivní kontrola by měla vykazovat silný růst (knoflík >2 mm nebo silný zákal). Koncentrace cefiderokolu se zvyšují dvojnásobně sériově od sloupce 1 (X mg/l) po sloupec 11 (Y mg/l).



## Příloha A

### Příprava kationtově upraveného Muleler-Hinton média ochuzeného o železo (ID-CAMHB)<sup>1</sup>

1. Přidejte 100 g Chelex100® (Bio-Rad) do 1 l autoklávovaného Mueller-Hintonon bujónu (místo Chelexu lze použít jinou kationt vázající pryskyřici).
2. Míchejte při pokojové teplotě přibližně 6 hodin.
3. Filtrujte pomocí 0,2 mikronového filtru (koncentrace kationtů Mg, Ca, Zn a Fe by měla být při těchto úpravách pod mezí detekce).
4. Přidejte vápník (konečná koncentrace 20-25 µg/ml, hořčík (konečná koncentrace 10-12,5 µg/ml) a zinek (konečná koncentrace 0,5-1,0 µg/ml) do média ošetřeného Chelexem.
5. Upravte pH na 7,2-7,4 pomocí HCl.
6. Filtrujte pomocí 0,2 mikronového filtru (volitelně).

#### Definované koncentrace kationtů v ID-CAMHB

Ca	20-25 µg/ml
Mg	10-12,5 µg/ml
Zn	0,5-1,0 µg/ml
Fe	0,03 µg/ml nebo méně

Koncentraci železa lze zjistit pomocí VISOCOLOR® HE Iron (Machere Nagel, Německo), s detekčním limitem 0,01 µg/ml.

<sup>1</sup>Na základě postupu popsání Hacketem et al [1] s úpravou míchání s Chelexem po dobu 6 hodin místo 2 hodin.

#### Odkazy

1. Hackel MA, Tsuji M, Yamano Y, Echols R, Karlowsky JA, Sahm DF. Reproducibility of broth microdilution MICs for the novel siderophore cephalosporin, cefiderocol, determined using iron-depleted cation-adjusted Mueller-Hinton broth. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2019 Aug;94(4):321-325.