




СТАНДАРДНИ ОПЕРАТИВНИ ПОСТУПАК

Институт за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут“
Референтна лабораторија за *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica*

*Испитивање осетљивости *Salmonella* на антимикробне агенсе диск дифузионим тестом према EUCAST стандарду*

Издање:	Страница:	Важи од:	Ауторизација:	Ознака:
I	1//12	01/12/2023	Наташа Галић шеф референтне лабораторије	SOP_F

	СТАНДАРДНИ ОПЕРАТИВНИ ПОСТУПАК				
	Институт за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут“ Референтна лабораторија за <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i>				
Испитивање осетљивости <i>Salmonella</i> на антимикуробне агенсе диск дифузионим тестом према EUCAST стандарду					
	Издање:	Важи од:	Страница:	Ауторизација:	Ознака:
	I	01/12/2023	2/12	Наташа Галић Шеф референтне лабораторије	SOP_DDT_Salm

СТАТУС ДОКУМЕНТА

Документ је препорука Референтне лабораторије за *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica* (даље НРЛ) и нема статус националног водича добре лабораторијске праксе.

Стандардни оперативни поступак су написали стручњаци из НРЛ користећи референтну литературу из предметне области и узимајући у обзир капацитете и потребе микробиолошких лабораторија садржаних у извештају „Мапирање и евалуација националних капацитета за детекцију и карактеризацију хуманих *Salmonella* у локалним и регионалним лабораторијама у Републици Србији“ из септембра 2023. Намена документа је стандардизација свих фаза лабораторијског испитивања у оквиру микробиолошке дијагностике узрочника заразних болести из домена референтности НРЛ.


Документ није обавезујући али предлагемо имплементирање и поштовање СОП док се не објаве национални водичи добре лабораторијске праксе из области микробиологије.

ЗАКОНСКИ ОСНОВ

Према Закону о заштити становништва од заразних болести („Сл. гласник РС“ бр. 15/16, 68/20 и 136/20) обавезно је спровођење епидемиолошког надзора и примене мера за спречавање и сузбијање заразних болести из домена референтности а које се преносе храном, водом и животном средином (салмонелоза, трбушни тифус, паратифус, јерсениоза, шигелоза, колера). У свим случајевима појаве или сумње на појаву заразне болести према чл. 21. Закона обавезно је лабораторијско испитивање ради утврђивања и типизације узрочника.

Према Номенклатури здравствених лабораторијских услуга на примарном, секундарном и терцијарном нивоу („Сл. гласник РС“ бр. 70/19, област VI– микробиолошке анализе, услуге из бактериологије) **лабораторијске услуге „Испитивање осетљивости бактерија на антибиотике, диск дифузионим методом, на прву линију по усвојеном стандарду“ и „Испитивање осетљивости бактерија на антибиотике, диск дифузионим методом, на другу и трећу линију по усвојеном стандарду“** треба спроводити за изолате *Salmonella* spp., *Shigella* и *Yersinia enterocolitica* хуманог порекла у циљу праћења појаве антимикуробне резистенције (AMP), терапијске сврхе на захтев клиничара.

Према Правилнику о ценама лабораторијских здравствених услуга на примарном, секундарном и терцијарном нивоу („Сл. гласник РС“ бр. 132/21) наведене услуге су означене шифрама L020008 (... за прву линију) и L019992 (...за другу и/или трећу линију).

	СТАНДАРДНИ ОПЕРАТИВНИ ПОСТУПАК				
	Институт за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут“ Референтна лабораторија за <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i>				
Испитивање осетљивости <i>Salmonella</i> на антимикробне агенсе диск дифузионим тестом према EUCAST стандарду					
	Издање:	Важи од:	Страница:	Ауторизација:	Ознака:
	I	01/12/2023	3/12	Наташа Галић Шеф референтне лабораторије	SOP_DDT_Salm

1. Наслов

Испитивање осетљивости хуманих изолата *Salmonella* spp. на антимикробне агенсе диск дифузионим тестом према стандарду EUCAST

2. Предмет

СОП описује испитивање осетљивости на антимикробне агенсе диск дифузионим тестом (антибиограм) хуманих изолата *Salmonella* spp. према EUCAST стандарду и референтном документу „EU protocol for harmonised monitoring of antimicrobial resistance in human *Salmonella* and *Campylobacter* isolates“.

Наведена литература препоручује тестирање изолата *Salmonella* на бројне антимикробне агенсе, између осталих и колистин. Тестирање осетљивости на колистин није предмет овог СОП јер се тестира искључиво бујон микродилуционим тестом.

Антибиограм *Salmonella* spp. се првенствено ради у циљу праћења појаве АМР али и у терапијске сврхе на захтев клиничара (инвазивна инфекција, имунокомпромитоване особе, бебе и старе особе са тежом клиничком сликом, пацијенти са основним интестиналним болестима ...).

Тестира се широка палета антимикробних агенаса од значаја за јавно здравље и здравље животиња, агенсе који су маркери АМР и агенсе као резервне лекове код системских инфекција узрокованих мултирезистентним сојевима (нпр. тигециклин, азитромицин).

3. Скраћенице и дефиниције

ATCC	American Type Culture Collection
AMP	резистенција на антимикробне агенсе
CFU	Colony Forming Unit
ESBL	β-лактамазе проширеног спектра
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
РГ	ризична група микроорганизама или група биолошке штетности


4. Безбедно руковање

При раду је обавезно придржавање мера за безбедан рад које важе за лабораторију нивоа 2 биолошког изоловања. Употребљени материјал разврстан према врсти, одлагати у за то предвиђене контејнере за стерилизацију инфективног отпада. *Salmonella* spp. припадају микроорганизмима РГ 2 (изузетак *S. Typhi* 3(*)).

Уколико се ради велики број тестова, због стварања аеросола процедуру треба изводити у биосигурносном кабинету класе II.

5. Подлоге и реагенси

- Mueller-Hinton agar (МНА, плоче Ø 90mm)

	СТАНДАРДНИ ОПЕРАТИВНИ ПОСТУПАК Институт за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут“ Референтна лабораторија за <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i>				
	Исцртавање осетљивости <i>Salmonella</i> на антимикробне агенсе диск дифузионим тестом према EUCAST стандарду				
	Издање:	Важи од:	Страница:	Ауторизација:	Ознака:
	I	01/12/2023	4/12	Наташа Галић Шеф референтне лабораторије	SOP_DDT_Salm

- рН 7.2-7.4
- 4.0±0.5mm

- Антибиограм дискови

1. Амоксицилин или Ампицилин (AM10)
2. Пефлоксацин (PEF 5)
3. Цефотаксим (CTX 5)
4. Меропенем MEM 10)
5. Тетрациклин (TET 30)

ОБАВЕЗНО
Прва линија (1.-5.)

6. Цефтазидим (CAZ 10)
7. Хлорамфеникол (CHL 30)
8. Сулфаметоксазол (RL100) Oхoid
9. Триметоприм (TMP 5)
10. Азитромицин (AZM 15)
11. Тигециклин (TGC 10)
12. Гентамицин (GN 10)
13. Триметоприм-сулфаметоксазол (SXT 23.75/1.25)
14. Налидискинска кис. (NAL 30)
15. Цефокситин (FOX 30)
16. Цефепим (FEP 30)

ОПЦИОНО
Друга и трећа
линија (6.-12.)


ОПЦИОНО

За ESBL/pAmpC фенотипове (15-16)

- Неселективна подлога 5% крвни агар (КА) или хранљиви агар (НА)
- 0.85% NaCl 5 ml (FR)
- 0.5 McFarland стандард (~ 1-2x10⁸ CFU/ml за *Escherichia coli*)

6. Опрема и потрошни материјал

- Инкубатор за аеробну култивацију на 35±1 °С
- Дензитометар
- Вортекс
- Фрижидер са комором за замрзавање
- Калипер или мерач зоне инхибиције
- Тамна подлога за мерење
- Стерилни комерцијални брисеви
- Стерилне езе
- Стерилне епрувете
- Стерилне пинцете или диск диспензер

	СТАНДАРДНИ ОПЕРАТИВНИ ПОСТУПАК				
	Институт за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут“ Референтна лабораторија за <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i>				
Исцртавање осетљивости <i>Salmonella</i> на антимикробне агенсе диск дифузионим тестом према EUCAST стандарду					
	Издање:	Важи од:	Страница:	Ауторизација:	Ознака:
	I	01/12/2023	5/12	Наташа Галић Шеф референтне лабораторије	SOP_DDT_Salm

7. А) Контрола квалитета МН агара


- Обавезна је контрола квалитета сваког новог лота МНА референтним културама *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 и *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 због нестандардизоване концентрације Ca^{2+} и Mg^{2+} и тимина и тимидина у подлози.
- Висока или ниска концентрација двовалентних катјона у подлози се открива смањивањем или повећањем зона инхибиције у односу на стандард тестирањем референтним *P. aeruginosa*. Висока концентрација тимина и тимидина у подлози се открива смањивањем зоне инхибиције у односу на стандард тестирањем референтним *E. faecalis* (Табела 1.)

Табела 1. Контрола квалитета МНА

Антимикробни агенс (диск)	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853		<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	
	Циљана вредност (mm)	Контролни интервал (mm)	Циљана вредност (mm)	Контролни интервал (mm)
Сулфаметоксазол/триметоприм (SXT 25)	/		30	26-34
Гентамицин (GN 10)	20	20-28	/	/
Амикацин (АМК 30)	23	20-26	/	/

В) Контрола диск дифузионог теста

- Придржавати последње верзије стандарда која се обављује почетком јануара текуће године https://www.eucast.org/ast_of_bacteria
- За тестирање *Salmonella* диск дифузионим тестом обавезно спроводити редовну контролу панела антимикробних агенаса тестирањем референтном културом *Escherichia coli* ATCC25922, најмање 4/5 дана недељно 20 узастопних дана
- За контролу потврдног комбинованог диск дифузионог теста за ESBL/pAmpC фенотип користити референтну културу *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (β -лактамаза SHV-18 позитиван)
 - СТХ 5 и ССО 15 (цефотаксим+клавуланат 5+10)
 - CAZ 10 и CAZ 20 (цефтазидим+клавуланат 10+10)
 - FEP 30 и FEP 40 (цефепим + клавуланат 30+10)
- За интерпретацију очитаних вредности (mm) придржавати се контролних интервала за контролни микроорганизам (Прилог 1)
- Контролне плоче очитати ујутро пре клиничких тестова
- Уколико за тестирани антибиотик “искоче“ два неузастопна резултата (зоне инхибиције) од 20 мерења занемарити искакање и очитати клиничке антибиограме
- Уколико за антибиотик “искоче“ два узастопна резултата (зоне инхибиције) не пријављивати осетљивост за тај антибиотик, истражити узрок грешке и поновити тестирање тог агенса

	СТАНДАРДНИ ОПЕРАТИВНИ ПОСТУПАК				
	Институт за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут“ Референтна лабораторија за <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i>				
Исшитавање осетљивости <i>Salmonella</i> на антимикуробне агенсе диск дифузионим тестом према EUCAST стандарду					
	Издање:	Важи од:	Страница:	Ауторизација:	Ознака:
	I	01/12/2023	6/12	Наташа Галић Шеф референтне лабораторије	SOP_DDT_Salm

- Уколико за антибиотик “искочи“ више од два резултата (зоне инхибиције) не пријављивати осетљивост за тај агенс, истражити узрок грешке и поновити тестирање тог агенса
- Разматрати резултате 20 тестова по агенсу, уочити трендове
- Резултате приказати графички

8. Процедура

МНА плоча се инокулише стандардизованим инокулумом тестираног изолата и на њу се постављају антибиотски дискови са стандардизованом потенцијом. Куповати дискове са потенцијама које наводи стандард EUCAST.

Чим дође у контакт са површином агара почиње дифузија антимикуробног агенса са диска због чега се метода изводи у дефинисаном времену. Плоче се инкубирају у стандардизованим условима, за које време агенси дифундују у подлогу и инхибишу раст тестираног изолата формирајући зоне инхибиције.

Измерене зоне инхибиције (mm) за дати агенс код *Salmonella* се према EUCAST интерпретирају према клиничким граничним тачкама (клиничка резистенција, $S \geq$, $R <$) у терапијске сврхе а у сврху надзора према епидемиолошким граничним тачкама (микробиолошка резистенција, „non-wild type“ фенотипски детектабилна резистенција NWT<) (Прилог 2).

Стандардизација сваке фазе тестирања је неопходна јер је тест високо зависан од варијација густине инокулума, формулације, дебљине и влажности подлоге, начина инокулусања плоча, коришћење брисева припремљених у лабораторији, варијације потенције дискова што се најбоље види из пратећих сертификата о анализи дискова, услова чувања дискова, услова инкубације, правилног начина мерења зона инхибиције.

Примењује се правило »15-15-15 минута«!


1. Инокулисати подлогу у року 15 минута од припреме суспензије
2. Поставити дискове на инокулисану подлогу у наредних 15 минута
3. Тест поставити на инкубацију у наредних 15 минута.

8.1. Припрема подлоге МНА

- Подлогу разливати у Петри шоље Ø 90 mm (20-25 ml подлоге) да се добије дебљина 4 mm
- Пре употребе плоче из фрижидера сушити у термостату, али водити рачуна да се избегне пресушивање, не сме бити конденза на подлози или поклопцу јер зоне инхибиције буду недовољно јасне
- Елиминисати танке, дебеле плоче, са дефектима или пресушене

8.2. Чување антибиограм дискова

- Неотворена паковања се чувају према упутству произвођача, нпр. у замрзивачу $\leq -18^\circ\text{C}$ због одржавања стабилности антибиотика (нарочито осетљиви β -лактами) и/или у фрижидеру на $2-8^\circ\text{C}$ до истека рока трајања

	СТАНДАРДНИ ОПЕРАТИВНИ ПОСТУПАК				
	Институт за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут“ Референтна лабораторија за <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i>				
Исцртавање осетљивости <i>Salmonella</i> на антимикуробне агенсе диск дифузионим тестом према EUCAST стандарду					
	Издање:	Важи од:	Страница:	Ауторизација:	Ознака:
	I	01/12/2023	7/12	Наташа Галић Шеф референтне лабораторије	SOP_DDT_Salm

- Отворени кетрици са дисковима се чувају у фрижидеру у затвореним епруветама са десикатором (зрна силика гел), сложени по реду за прву и другу линију
- Пре коришћења дискови се темперирају 30 минута на собној температури
- Користе се искључиво дискови у року трајања

8.3. Стандардизација инокулама, засејавање МНА


Инокулум је вероватно фактор који највише варира у извођењу теста и зато има значајан утицај на величину зоне инхибиције. За тестирање *Enterobacteriales* користи се инокулум густине који одговара густини суспензије 0.5 McFarland (~1-2 x 10⁸ CFU/ml).

Обзиром да су *Salmonella* spp. брзорастући микроорганизми примењује се »метод директне суспензије преконоћне културе«.

- Стерилном езом/брисем покупити најмање 3-4 исте колоније (избегава се селекција мутаната) са преконоћне културе са неселективне подлоге (КР или НА). Ресуспендовати у 5 ml FR да се добије хомогена бактеријска суспензија за инокулум
- Стандарде за калибрацију (McFarland стандарди) дензимата (0.5, 1, 2, 4) неколико пута окренути горе-доле па измерити густину и тако га калибрирати
- Вортексисати бактеријску суспензију
- Измерити густину суспензије дензиматом и подесити на 0.5 додавањем колоније или FR у суспензију зависно од измерене вредности
- Инокулум засејати на потребан број плоча у оптималних 15 минута
- Стерилини брис (искључиво комерцијални) уронити у инокулум, добро га оцедити окретањем бриса о унутрашње зидове епрувете
- Размазивати брис три пута по МНА у три правца под углом 60°
- Исти брис уронити у инокулум и поновити поступак за засејавање друге и треће плоче
- Вишак инокулама са подлоге отклонити повлачењем врха бриса дуж обима подлоге
- Инокулисану подлогу не поклапати наредних 5 минута да би испарио вишак течности

8.4. Постављање дискова на МНА

- У наредних 15 минута поставити дискове на плоче
- Дискове постављати стерилном и охлађеном пинцетом (или диспензером) (прва линија/ 1. плоча; друга линија/ 2. и 3. плоча са 4 и 3 диска, по реду)
- Максисално 4 или 5 дискова на једној плочи да се зоне инхибиције не поклапају
- Сваки диск притиснути на подлогу пинцетом да би цео лежао на подлози
- Не померати диск када је постављен јер одмах започиње дифузија агенса и деформише се зона инхибиције (постаје овална)
- Уколико су дискови близу постављени некад долази до дисторзије зона због антагонизма, синергизма, инхибиције и/или индукције. Ове појаве треба занемарити приликом мерења зона али је важна информација о могућим механизмима резистенције.

	СТАНДАРДНИ ОПЕРАТИВНИ ПОСТУПАК				
	Институт за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут“ Референтна лабораторија за <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i>				
Исцртавање осетљивости <i>Salmonella</i> на антимикуробне агенсе диск дифузионим тестом према EUCAST стандарду					
	Издање:	Важи од:	Страница:	Ауторизација:	Ознака:
	I	01/12/2023	8/12	Наташа Галић Шеф референтне лабораторије	SOP_DDT_Salm

8.5. Инкубација

- Инокулисане подлоге са поклопцима окренутим надоле ставити у инкубатор на аеробну култивацију 35 ± 1 °C 18 ± 2 часова, постављене у стуб висине до 5 плоча

8.6. Мерење зона инхибиције и интерпретација

Уколико је процедура извођења теста испоштована раст културе треба да буде конфлуентан (Слика А). Ако се виде појединачне колоније, инокулум је недовољно густ и тест треба поновити (Слика Б).

- Зоне мерити без коришћења увеличавајућег стакла са задње стране подлоге удаљене 30 cm од тамне подлоге испод, држећи плочу под углом од 45 степени уз упадну светлост (Слика Ц)
- Зона инхибиције се мери на тачкама комплетне инхибиције, (Слика Д) уколико није другачије наведено (нпр. Триметоприм и/или сулфонамиди Слика Е)
- Проверити изглед зона инхибиције, морају бити округле
- Уколико нема зоне раста око диска, уписује се вредност 6 mm (дијаметар диска)
- Код неких брендова МНА појављује се дупла зона инхибиције (бедемаста ивица) око аминопеницилина, унутрашњи прстен у том случају треба занемарити и прочитати спољашњу зону инхибиције
- Код тестирања *Enterobacteriales* се око неких антимикуробних агенаса формира нејасно ограничена зона инхибиције („fuzzy“), треба је читавати на тачкама комплетне инхибиције (Слика Ф)


Уколико се ради антибиограм у терапијске сврхе НРЛ препоручује коришћење клиничких граничних вредности за интерпретацију категорија осетљивости (колоне $S \geq$, $R <$, Прилог 2)

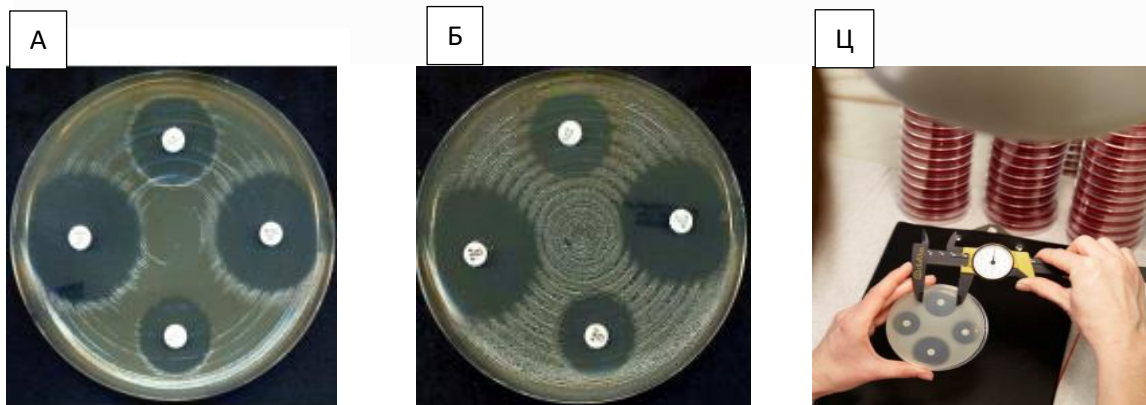
Уколико се ради антибиорам у циљу праћења АМР НРЛ препоручује коришћење епидемиолошких граничних вредности за откривање микробиолошке резистенције односно „non-wild type“ фенотипова (колоне $NWT <$, Прилог 2)

8.7. Правила интерпретација тестирања осетљивости *Salmonella* на неке антибиотике у терапијске сврхе:

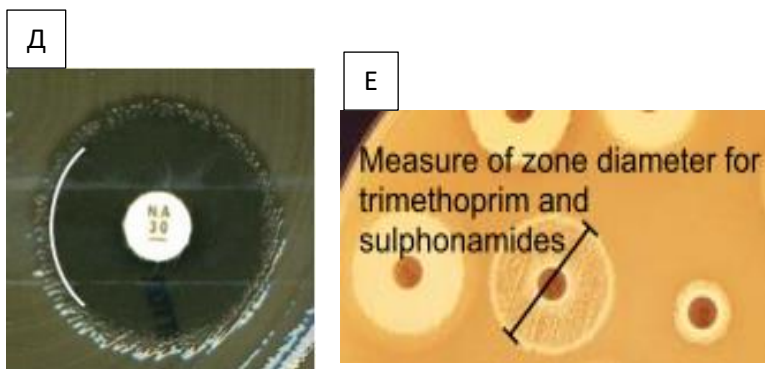
https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Expert_Rules/2019/Salmonella_ExpertRules_V3.2_20190613.pdf

- А) диск **пифлоксацин** се користи за тестирање осетљивости на хинолоне (скрининг ципрофлоксацин): ако је $S \leq 24$ mm известити CIP - S, ако је $R < 24$ mm известити CIP - R
- Б) ако је тестиран **аминогликозид (гентамицин)** не извештавати резултат због недоказане ефикасности *in vivo* код људи
- В) не тестирати осетљивост на **цефалоспорине 2. генерације** или ако се тестира известити као R

	СТАНДАРДНИ ОПЕРАТИВНИ ПОСТУПАК Институт за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут“ Референтна лабораторија за <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i>				
	Исцртавање осетљивости <i>Salmonella</i> на антимикуробне агенсе диск дифузионим тестом према EUCAST стандарду				
	Издање:	Важи од:	Страница:	Ауторизација:	Ознака:
	I	01/12/2023	9/12	Наташа Галић Шеф референтне лабораторије	SOP_DDT_Salm




Слика А, лево: конфлуентан раст културе, исправан тест
 Слика Б, у средини: није конфлуентан раст културе, неисправан тест
 Слика Ц, десно: правилно мерење зоне инхибиције



Слика Д, лево: мерење голим оком видљиве зоне потпуне инхибиције (унутрашња зона)
 Слика Е, десно: мерење зона инхибиције око бактериостатског триметоприма и/или сулфонамида са занемаривањем $\leq 20\%$ раста у виду вела (јер не делују момонетално инхибиторно већ дозвољавају размножавање одређеног броја генерација пре коначне инхибиције)




Слика Φ: мерење нејасно оивичене зоне инхибиције

	СТАНДАРДНИ ОПЕРАТИВНИ ПОСТУПАК				
	Институт за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут“ Референтна лабораторија за <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i>				
Исцртавање осетљивости <i>Salmonella</i> на антимикробне агенсе диск дифузионим тестом према EUCAST стандарду					
	Издање:	Важи од:	Страница:	Ауторизација:	Ознака:
	I	01/12/2023	10/12	Наташа Галић Шеф референтне лабораторије	SOP_DDT_Salm

9. Референце

1. Antimicrobial susceptibility testing. EUCAST, 2023, ver.11
https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/2023_manuals/Manual_v_11.0_EUCAST_Disk_Test_2023.pdf
2. EU protocol for harmonised monitoring of antimicrobial resistance in human *Salmonella* and *Campylobacter* isolates“. ECDC, 2016. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/eu-protocol-harmonised-monitoring-antimicrobial-resistance-human-salmonella-and-0>
3. Правиник о превентивним мерама за безбедан и здрав рад при излагању биолошким штетностима. Службани гласник РС. Бр 96/20 и 115/20.
4. Laboratory biosafety manual, fourth edition. Geneva: World Health Organization; 2020 (Laboratory biosafety manual, fourth edition and associated monographs). Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/337956/9789240011311-eng.pdf?sequence=1>
5. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 13.2, 2023.
https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/QC/v_13.2_EUCAST_QC_tables_routine_and_extended_QC.pdf

	СТАНДАРДНИ ОПЕРАТИВНИ ПОСТУПАК Институт за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут“ Референтна лабораторија за <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> Исцртавање осетљивости <i>Salmonella</i> на антимикуробне агенсе диск дифузионим тестом према EUCAST стандарду				
	Издање:	Важи од:	Страница:	Ауторизација:	Ознака:
I	01/12/2023	11/12	Наташа Галић Шеф референтне лабораторије	SOP_DDT_Salm	

Прилог 1. Интерна контрола квалитета теста - величина зона инхибиције за *E. coli* ATCC 25922

Routine QC

EUCAST QC Tables v. 13.2, valid from 2023-06-29


***Escherichia coli* ATCC 25922**

(NCTC 12241, CIP 76.24, DSM 1103, CCUG 17620, CECT 434)

Test according to EUCAST methodology for non-fastidious organisms (MH broth and agar). See EUCAST Breakpoint Tables for short descriptions of MIC and disk diffusion methodology.

Antimicrobial agent	MIC (mg/L)		Disk content (µg)	Inhibition zone diameter (mm)	
	Target ¹	Range ²		Target ¹	Range ²
Amikacin	1-2	0.5-4	30	22-23	19-26
Amoxicillin	4	2-8	-	-	-
Amoxicillin-clavulanic acid ^{3,4}	4	2-8	20-10	21	18-24 ⁵
Ampicillin	4	2-8	10	18-19	15-22 ⁵
Ampicillin-sulbactam ^{4,6}	2	1-4	10-10	21-22	19-24 ⁵
Azithromycin	-	-	15	17	14-20 ⁷
Aztreonam	0.125	0.06-0.25	30	32	28-36
Cefadroxil	-	-	30	17	14-20
Cefalexin	8	4-16	30	18	15-21
Cefazolin	2	1-4	30	24	21-27
Cefepime	0.03-0.06	0.016-0.125	30	34	31-37
Cefiderocol ⁸	0.125-0.25	0.06-0.5	30	27	24-30
Cefixime	0.5	0.25-1	5	23	20-26
Cefotaxime	0.06	0.03-0.125	5	28	25-31
Cefoxitin	4	2-8	30	26	23-29
Cefpodoxime	0.5	0.25-1	10	25-26	23-28
Ceftaroline	0.06	0.03-0.125	5	27	24-30
Ceftazidime	0.125-0.25	0.06-0.5	10	26	23-29
Ceftazidime-avibactam ^{4,9}	0.125-0.25	0.06-0.5	10-4	27	24-30
Ceftibuten	0.25-0.5	0.125-1	30	31	27-35
Ceftobiprole	0.06	0.03-0.125	5	28	25-31
Ceftolozane-tazobactam ^{4,10}	0.25	0.125-0.5	30-10	28	24-32
Ceftriaxone	0.06	0.03-0.125	30	32	29-35
Cefuroxime	4	2-8	30	23	20-26
Chloramphenicol	4	2-8	30	24	21-27
Ciprofloxacin	0.008	0.004-0.016	5	33	29-37
Colistin ¹¹	0.5-1	0.25-2	-	-	-
Delafloxacin	0.016	0.008-0.03	IP	IP	IP
Doripenem	0.03	0.016-0.06	10	31	27-35
Eravacycline	0.06	0.03-0.125	20	21	18-24
Ertapenem	0.008	0.004-0.016	10	32-33	29-36
Fosfomicin ¹²	1	0.5-2	200 ¹³	30	26-34 ¹⁴
Gentamicin	0.5	0.25-1	10	22-23	19-26
Imipenem	0.125-0.25	0.06-0.5	10	29	26-32
Imipenem-relebactam ^{4,15}	0.125-0.25	0.06-0.5	10-25	30	27-33
Levofloxacin	0.016-0.03	0.008-0.06	5	33	29-37
Mecillinam ¹⁶	0.06-0.125	0.03-0.25	10	27	24-30
Meropenem	0.016-0.03	0.008-0.06	10	31-32	28-35
Meropenem-vaborbactam ^{4,17}	0.016-0.03	0.008-0.06	20-10	34	31-37
Moxifloxacin	0.016-0.03	0.008-0.06	5	31-32	28-35
Nalidixic acid	2	1-4	30	25	22-28
Neomycin	Note ¹⁸	Note ¹⁸	10	17	14-20
Netilmicin	-	≤0.5-1	10	21	18-24
Nitrofurantoin	8	4-16	100	20	17-23
Nitroxoline	4	2-8	30	21	18-24
Norfloxacin	0.06	0.03-0.125	10	31-32	28-35
Ofloxacin	0.03-0.06	0.016-0.125	5	31	29-33
Pefloxacin	-	-	5	29	26-32
Piperacillin	2	1-4	30	24	21-27
Piperacillin-tazobactam ^{4,10}	2-4	1-8	30-6	24	21-27
Temocillin	16	8-32	30	19	16-22 ¹⁴
Ticarcillin	8	4-16	75	27	24-30
Ticarcillin-clavulanic acid ^{3,4}	8	4-16	75-10	27	24-30
Tigecycline ¹⁹	0.06-0.125	0.03-0.25	15	23-24	20-27
Tobramycin	0.5	0.25-1	10	22	18-26
Trimethoprim	1	0.5-2	5	24-25	21-28
Trimethoprim-sulfamethoxazole ²⁰	≤0.5	-	1.25-23.75	26	23-29

Овај документ је власништво референтне лабораторије и не сме се умножавати и репродуковати без писане дозволе наведене лабораторије

	СТАНДАРДНИ ОПЕРАТИВНИ ПОСТУПАК Институт за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут“ Референтна лабораторија за <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> Исцртавање осетљивости <i>Salmonella</i> на антимикуробне агенсе диск дифузионим тестом према EUCAST стандарду				
	Издање:	Важи од:	Страница:	Ауторизација:	Ознака:
I	01/12/2023	12/12	Наташа Галић Шеф референтне лабораторије	SOP_DDT_Salm	

Прилог 2. Интерпретација величине зона инхибиције за клиничке граничне вредности (црвени правоугаоник) за хумане изолате *Salmonella* у складу са EUCAST стандардом

EU protocol for harmonised monitoring of AMR in human *Salmonella* and *Campylobacter* isolates

ANNEX 1

Annex 1. EUCAST clinical breakpoints and epidemiological cut-off values for the priority list of antimicrobials to be tested for *Salmonella enterica* as of 31 August 2021

Kliničke граничне вредности

Antimicrobial	Criteria based on MIC dilution (mg/L)			Recommended concentration range ¹ (mg/L) (number of wells)	Criteria based on disk diffusion (mm)			Disk load (µg)
	S ≤	R >	NWT >		S ≥	R <	NWT <	
First priority								
Ampicillin (AMP)	8.0	8.0	4.0	1-32 (6)	14	14	18	10
Azithromycin (AZM)	ND	ND	16	2-64 (6)	ND	ND	12	15
Cefotaxime (CTX)	1.0	2.0 (1.0) ²	0.5	0.25-4 (5), 0.25-64 (9) ³	20	17 (21) ²	20	5
Ceftazidime (CAZ)	1.0 ²	4.0 (1.0) ²	2.0	0.25-8 (6), 0.25-128 (10) ³	22 ³	19	20	10
Chloramphenicol (CHL)	8.0	8.0	16.0	8-64 (4)	17	17	19	30
Ciprofloxacin (CIP)	0.06	0.06	0.064	0.015-8 (10)	NA	NA	NA	NA
Colistin (COL)	2.0	2.0	NA	1-16 (5)	NA	NA	NA	NA
Gentamicin (GEN)	2.0	2.0	2.0	0.5-16 (6)	17	17	17	10
Meropenem (MEM)	2.0	8.0	0.06 (0.125) ²	0.03-16 (10)	22	16	27 (28) ²	10
Pefloxacin	NA	NA	NA	NA	24	24	24	5
Sulfamethoxazole (SMX)	ND	ND	ND	8-512 (7)	ND	ND	ND	100
Tetracycline (TCY)	ND	ND	8.0	2-32 (5)	ND	ND	17	30
Tigecycline (TGC)	ND	ND	ND	0.25-8 (6)	ND	ND	16	15
Trimethoprim (TMP)	4.0	4.0	2.0	0.25-16 (7)	15	15	23	5
Second level testing ESBL-producers								
Cefepime (FEP)	1.0	4.0	ND		27	24	ND	30
Cefoxitin (FOX)	ND	ND	8.0 ²	0.5-64 (8)	19	19 ²	21	30
Optional								
Amoxicillin (AMX)	8.0	8.0	4.0		ND	ND	ND	10
Ceftriaxone (CRO)	1.0	2.0 (1.0) ²	0.25		25	22 (23) ²	ND	30
Ertapenem (ETP)	0.5	0.5	ND (0.125) ²	0.015-2 (8)	25	25 ³	ND	10
Nalidixic acid (NAL)	ND	ND	8.0	4-64 (5)	ND	ND	16	30
Trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT)	2.0	4.0	ND		14	11	22	1.25-23.75

S – clinically susceptible, standard dosing regimen; R – clinically resistant; NWT – non-wild type according to epidemiological cut-off; ND – not determined; NA – not applicable as test method unsuitable for this antimicrobial

1. From Commission Implementing Decision (EU) 2020/1729 on the monitoring and reporting of antimicrobial resistance in zoonotic and commensal bacteria and repealing Implementing Decision 2013/652/EU

2. Please note that these interpretive criteria should be used when screening for ESBL-production or carbapenemase-production, according to EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance

3. Test wider range if first test indicates resistance/non-wild type with the screening breakpoint

Овај документ је власништво референтне лабораторије и не сме се умножавати и репродуковати без писане дозволе наведене лабораторије