

## Oznaczanie lekowrażliwości – wyzwania metodyczne i interpretacyjne

*Dr n. med. D. Żabicka*

Zakład Epidemiologii i Mikrobiologii Klinicznej, Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Lekowrażliwości  
Drobnoustrojów (KORLD), Narodowy Instytut Leków, Warszawa;

Adres do kontaktu: [d.zabicka@nil.gov.pl](mailto:d.zabicka@nil.gov.pl)

Wiarygodny wynik oznaczania lekowrażliwości drobnoustroju wyhodowanego z materiału klinicznego pobranego od pacjenta stanowi podstawę do zastosowania skutecznej terapii zakażenia. Warunkiem uzyskania wiarygodnego wyniku jest wybór odpowiedniej metodyki badania i właściwa interpretacja uzyskanych danych. Obecnie w Polsce do oznaczania lekowrażliwości i interpretacji wyników stosowane są rekomendacje Europejskiego Komitetu ds. Oznaczania Lekowrażliwości (ang. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing) oraz dokument „Zalecenia Zespołu Roboczego ds. Oznaczania Lekowrażliwości zgodnie z rekomendacjami EUCAST”.

W laboratorium mikrobiologicznym dostępne są obecnie zarówno metody klasyczne takie jak metoda dyfuzyjno-krażkowa klasyczna i w wersji RAST (szybkiego oznaczania lekowrażliwości bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi) oraz metody oznaczania najmniejszego stężenia hamującego (MIC) (mikrorozcieńczeń w bulionie, rozcieńczeń w agarze, pasków gradientowych i z użyciem systemów automatycznych), ale także metody molekularne (multiplex PCR) i szybkie testy immunochromatograficzne, stosowane do wykrywania klinicznie istotnych genów kodujących mechanizmy oporności. Wszystkie te metody mają swoje zalety i ograniczenia. W przypadku niektórych antybiotyków wiarygodny wynik oznaczania MIC może być uzyskany jedynie w przypadku zastosowania metody rozcieńczeń leku w bulionie Mueller Hinton Cation Adjusted (kolistyna), w bulionie Mueller Hinton Cation Adjusted uzupełnionym odpowiednimi dodatkami (daptomycyna, oritawancyna) lub też w bulionie Mueller Hinton Cation Adjusted zubożonym w żelazo (cefiderokol). Dla innych oznaczenie lekowrażliwości należy wykonać metodą rozcieńczeń leku w agarze lub metodą dyfuzyjno-krażkową (fosfomycyna). Szczególne wyzwanie stanowi oznaczenie lekowrażliwości u gatunków bakterii, dla których w rekomendacjach EUCAST brakuje klinicznych wartości granicznych, ponieważ wymaga to zastosowania specjalnego podejścia interpretacyjnego na każdym etapie badania mikrobiologicznego. Pomimo to, że z punktu widzenia doboru i dawkowania leków najbardziej pożądane jest uzyskanie wyniku MIC, w wielu przypadkach zastosowanie metody dyfuzyjno-krażkowej do jest wystarczające do uzyskania wiarygodnego wyniku i jest testem z wyboru, np. w przypadku zastosowania

metody RAST. Metoda dyfuzyjno-krażkowa jest także uznawana za wiarygodną w wykrywaniu wielu mechanizmów oporności (np. oporność na metycylinę, indukcyjnego mechanizmu oporności  $MLS_B$  na makrolidy, linkozamidy i streptograminy B). Szczególne wyzwanie diagnostyczne stanowi uzyskanie wyniku w obszarze niepewności technicznej (ATU), ponieważ wymaga od mikrobiologa decyzji, jakie działania należy podjąć (oznaczenie lekowrażliwości inną metodą, wykrycie genu oporności), aby zminimalizować ryzyko wydania błędnego wyniku. Wykrywanie mechanizmów oporności z użyciem metod molekularnych pozwala na znacznie przyspieszenie diagnostyki, ale stawia wyzwania interpretacyjne, ponieważ z ich użyciem możliwe jest wykrycie DNA zarówno żywych jak i zabitych komórek bakterii. Jedno z największych wyzwań diagnostycznych stanowi występowanie zjawiska heterooporności (np. wankomycyna, cefiderokol), polegające na tym, że tylko część populacji komórek bakteryjnych ( $1$  na  $10^6$ ) charakteryzuje się wartościami MIC szczepu opornego, co powoduje, że w oznaczeniu lekowrażliwości uzyskuje się wynik MIC właściwy dla szczepu wrażliwego. Występowanie heterooporności stanowi niebezpieczeństwo niepowodzenia terapeutycznego, ale jego wykrycie jest jedynie możliwe z zastosowaniem specjalistycznych metod, dostępnych w laboratoriach referencyjnych.

Interpretacja uzyskanych wyników stanowi największe wyzwanie w pracy mikrobiologa, ponieważ wymaga przeanalizowania uzyskanych wyników oznaczania lekowrażliwości i wykrywania mechanizmów oporności w odniesieniu do zidentyfikowanego gatunku drobnoustroju, z użyciem różnych dokumentów (tabele z klinicznymi wartościami granicznymi, różne dokumenty zawierające wskazówki interpretacyjne). Raport z wynikami oznaczenia lekowrażliwości musi być czytelny, nieprzeładowany, zawierać tylko informacje niezbędne do jego właściwej interpretacji przez lekarza, decydującego o terapii. W wielu przypadkach, w wyniku zastosowania zasad wybiórczego raportowania, raport z wynikami oznaczenia lekowrażliwości będzie zawierał jedynie wyniki dla wybranych spośród wszystkich badanych w laboratorium antybiotyków. Zasady wybiórczego raportowania, uwzględniające np. wskazówki receptariusza szpitalnego powinny zawsze być uzgodnione z Komitetem ds. Zakażeń lub Komitetem Terapeutycznym, działającym w ośrodku, dla którego laboratorium wykonuje badania mikrobiologiczne. Dobra współpraca i stały kontakt mikrobiologów pracujących w laboratorium z lekarzami, dla których to laboratorium wykonuje badania mikrobiologiczne, są niezbędne do stosowania zasad racjonalnej antybiotykoterapii w oparciu o rekomendacje terapeutyczne i tym samym przeciwdziałania narastaniu oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe.