

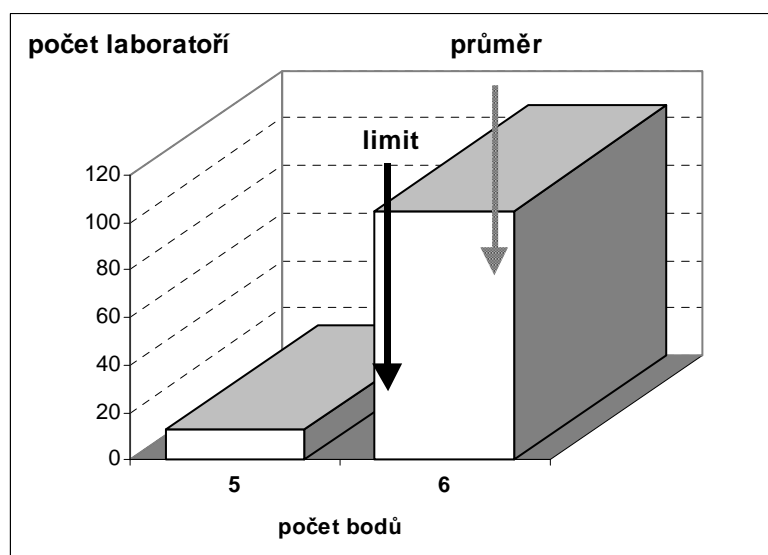
EHK – 533 Bakteriologická diagnostika – vyhodnocení

Helena Žemličková, Daniela Dědičová, Pavla Urbášková

CELKOVÉ HODNOCENÍ IDENTIFIKACÍ

Celkem byly rozeslány vzorky 118 laboratořím. 118 laboratoří odeslalo výsledek do závěrečného termínu. Za identifikaci signifikantního patogena ve 3 vzorcích mohly laboratoře získat maximálně 6 bodů, za vyšetření citlivosti 5 bodů (vzorek 4 a 5), interpretace vyšetření citlivosti k ceftazidium u vzorku 4 nebyla hodnocena. Bodování pro identifikaci bylo provedeno ve stupnici 2, 1, 0 a –1 bodů, pro vyšetření citlivosti ve stupnici 1 a 0 bodů.

Graf 1: Počet bodů za správnou identifikaci.



Maximálního počtu bodů při identifikaci dosáhlo 105, tj. 89,0% laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 5,262 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj. $5,890 - (2 \times 0,314) = 5,262$). Tohoto limitu dosáhlo 105 laboratoří, 13 laboratoří tento limit nesplnilo. Plný počet bodů (5 bodů) při vyšetření citlivosti získalo 110 laboratoří.

VÝSLEDKY U JEDNOTLIVÝCH VZORKŮ

VZOREK 1: Edukativní vzorek

ODPOVĚĎ: *Clostridium baratii*

V současnosti je známo 6 fenotypicky/fylogeneticky distinktních skupin klostridií, které jsou schopny produkovat botulotoxin [1, 2]. Vyjma *Clostridium botulinum* skupin označených I až III, které se liší typem produkováného neurotoxinu, proteolytickou a sacharolytickou aktivitou i optimální růstovou teplotou, patří mezi neurotoxické druhy i *C. argentinense* (dříve *C. botulinum* skupina IV) produkující jako jediný dosud popsáný druh botulotoxin typu G a dále *C. butyricum* produkující toxin typu E a *C. baratii* produkující toxin typu F, tabulka 1.

Tabulka 1. Fenotypové rozdíly botulotoxin produkujících kmenů klostridií

	<i>C. botulinum</i> skupiny			<i>C. argentinense</i>	<i>C. butyricum</i>	<i>C. baratii</i>
	I	II	III			
typ toxinu	A, B, F*	B, E, F*	C, D*	G	E	F
proteolýza	+	-	-	+	-	-
želatina	+	+	+	+	-	-
glukóza	+	+	+	-	+	+
fruktóza	/-	+	/-	-	+	+
mannóza	-	+	+	-	+	+
maltóza	/-	+	/-	-	+	+
sacharóza	-	+	-	-	+	+
trehalóza	-	+	-	-	+	-
lipáza	+	+	+	-	-	-
optimální růstová teplota	35-40°C	18-25°C	40°C	37°C	30-37°C	30-45°C

* Kmeny mohou produkovat některý z uvedených typů toxinů; případně produkují 2 typy toxinu současně.

Případy botulismu vyvolaného kmenem *C. baratii* produkujícím toxin typu F byly zaznamenány jak u kojenců, tak dospělých [2, 3]. Zdrojem infekce byla intestinální kolonizace, v jednom případě byl potvrzen přenos kontaminovaným jídlem [2]. Doložené případy botulismu vyvolané tímto organismem jsou vzácné. Problémem může být dosavadní rutinní postup při laboratorní diagnostice botulismu, při které je používán žloutkový agar pro záchyt kmenů *C. botulinum* produkujících lipázu a nepodchycení jiných druhů klostridií, které tento enzym neprodukují, přesto však mohou být původcem onemocnění v důsledku produkce některého neurotoxinu.

LITERATURA

- [1] Collins MD and AK East. Phylogeny and taxonomy of the food-borne pathogen *Clostridium botulinum* and its neurotoxins. *J Applied Microbiol* 1998; 84: 5-17.
- [2] Harvey SM, Sturgeon J, Dassey DE. Botulism due to *Clostridium baratii* type F toxin. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2260-2262.
- [3] McCroskey LM, Hatheway CL, Woodruff BA, Greenberg JA, Jurgenson P. Type F botulism due to neurotoxicogenic *Clostridium baratii* from an unknown source in an adult. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 2618-2620.

VZOREK 2: Izolát z krve od 50 letého muže pracujícího v zemědělství.

ODPOVĚĎ: *Listeria ivanovii*

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Listeria ivanovii</i>	105	2	89,0%
<i>Listeria monocytogenes</i>	12	1	10,2%
<i>Listeria seeligeri</i>	1	1	0,8%
Celkem	118		100%

Z 20 vybraných laboratoří s nejvyšším dosaženým počtem bodů za minulý rok uvedlo správný výsledek 20 laboratoří. Vzorek je možno hodnotit.

Kmen *Listeria ivanovii* správně identifikovalo 89% laboratoří. V identifikaci tohoto patogena došlo ke značnému zlepšení ve srovnání s EHK–111, kde *L. ivanovii* určilo pouze 62% laboratoří. *L. ivanovii* má oproti *L. monocytogenes* zřetelně větší zónu betahemolýzy na krevním agaru, CAMP test se *Staphylococcus aureus* je u *L. ivanovii* negativní. Z dalších testů k rozlišení *L. ivanovii* od *L. monocytogenes* lze použít test okyselování ramnózy, která je u *L. ivanovii* negativní, naopak oproti *L. monocytogenes* je pozitivní test okyselování xylózy a ribózy. *L. seeligeri* má pozitivní CAMP test se *S. aureus*, neokyseluje ribózu.

VZOREK 3: Stolice od pacienta s průjmem vzniklým po konzumaci domácích vajec.

ODPOVĚĎ: *Salmonella enteritica* subsp. *enterica* sérovar Enteritidis
Vzorek dále obsahoval: *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Salmonella enteritica</i> subsp. <i>enterica</i> sérovar Enteritidis	118	2	100,0%
Celkem	118		100%

Z 20 vybraných laboratoří s nejvyšším dosaženým počtem bodů za minulý rok uvedlo správný výsledek 20 laboratoří. Vzorek je možno hodnotit.

Jednalo o klasického původce dosud nejčastějšího alimentárního onemocnění: salmonelu s antigenní strukturou 9,12 : gm : - . Všechny laboratoře určily vzorek bezchybně, tedy se stejným výsledkem jako v roce 2002 (EHK –286).

Zácht sérovaru Enteritidis v populaci ČR se pohybuje dlouhodobě okolo 96% (94,8% v roce 2006). Tento podíl na etiologii salmonelóz je pravděpodobně jedním z nejvyšších v Evropě a možná i ve světovém srovnání.

VZOREK 4: Izolát z krve od pacienta z ARO.

ODPOVĚĎ: *Stenotrophomonas maltophilia*

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	118	2	100,0 %
Celkem	118		100%

Z 20 vybraných laboratoří s nejvyšším dosaženým počtem bodů za minulý rok uvedlo správný výsledek 20 laboratoří. Vzorek je možno hodnotit.

Požadavek byl identifikovat druh zasláného kmene a vyšetřit jeho citlivost k chloramfenikolu a k ceftazidimu. Kmen 4 je *Stenotrophomonas maltophilia* WHO41, v roce 2006 poslaný z CDC (Atlanta, USA) k mezinárodní kontrole kvality mj. také do NRL/ATB (a dalších 17 laboratoří v ČR). Kmen byl k oběma požadovaným antibiotikům citlivý. Ze 118 laboratoří účastnících se této série EHK všechny správně správně označily kmen 4 jako citlivý k chloramfenikolu a 61 laboratoří označilo nesprávně kmen jako rezistentní k ceftazidimu. Výsledky vyšetření citlivosti k ceftazidimu nebyly hodnoceny. Celkové výsledky vyšetření

citlivosti jsou v tabulce 1, která obsahuje také limitní hodnoty minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny, referenční hodnoty WHO/CDC a výsledky laboratoří.

Tabulka 1. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 4 *Stenotrophomonas maltophilia* WHO41

Antibiotikum	MIC (mg/l)*		Správné výsledky		
	limit pro citlivé kmeny [1]	referenční hodnoty WHO/CDC	kategorie [1]	počet laboratoří	%
chloramfenikol	<= 8	8	C	117/118	100,0
ceftazidim	<= 8	4	C	57/118	48,3**

*) 3 měření diluční mikrometodou; C: citlivý; **) výsledky nehodnoceny

VZOREK 5: *Klebsiella pneumoniae*

Kmen 5 je *Klebsiella pneumoniae* NRL/ATB 1609/07, izolovaný z krve pacienta se sepsí. Kmen produkoval β -laktamázu ESBL (a také AmpC) a byl tudíž rezistentní k cefalosporinům všech generací, a dále byl rezistentní ke gentamicinu. Sedm laboratoří (5,9%) nerozpoznalo produkci ESBL a jedna laboratoř označila chybně kmen jako citlivý ke gentamicinu. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 5 ke gentamicinu jsou v tabulce 2, která obsahuje limitní hodnoty průměrů inhibičních zón (IZ) a minimální inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny enterobakterií, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Tabulka 2. Výsledky vyšetření citlivosti u kmene 5 *Klebsiella pneumoniae* NRL/ATB 1609/07.

Antibiotikum	Průměry IZ (mm)		MIC (mg/l)		Správné výsledky		
	limit pro citlivé enterobakterie [1]	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	limit pro citlivé enterobakterie [1]	hodnoty naměřené v NRL**	kategorie [1]	počet laboratoří	%
gentamicin	>= 15	6 - 6	<= 4	> 32 - > 32	R	117/118	99,2

*) 3 měření diskovou difuzní metodou; obsah disku 10 μ g; **) 3 měření diluční mikrometodou; R: rezistentní.

Komentář

U kmene 4 nebyl hodnocen ceftazidim, neboť většina laboratoří měla chybné výsledky, pravděpodobně v důsledku použití diskové difuzní metody. Z důvodů závažných diskrepancí CLSI [1] tuto metodu u *Stenotrophomonas maltophilia* nedoporučuje, a neuvádí ani interpretační kritéria. Nerozpoznání produkce ESBL sedmi laboratořemi u kmene 5 mohla způsobit současná produkce β -laktamázy AmpC, zejména při použití koncentrovaného inokula tohoto kmene. Podrobnosti o průkazu ESBL v přítomnosti AmpC na půdě s oxacilinem uvádí metoda, zveřejněná letos ve Zprávách CEM [2].

LITERATURA

- [1] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement. CLSI Document M100-S17. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, Pa, 2007.
- [2] Hrabák J, Vaniš V, Bergerová T, Urbášková P. Průkaz β -laktamáz širokého spektra (ESBL) a typu AmpC u enterobakterií. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2007; 16(1): 31-36.

Helena Žemličková, Pavla Urbášková
Odborná skupina SZÚ - CEM 5, Bakteriální rezistence k antibiotikům a sbírka kultur

Daniela Dědičová
NRL pro salmonely, SZÚ – CEM