

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2007; 16(4): 186 – 188.

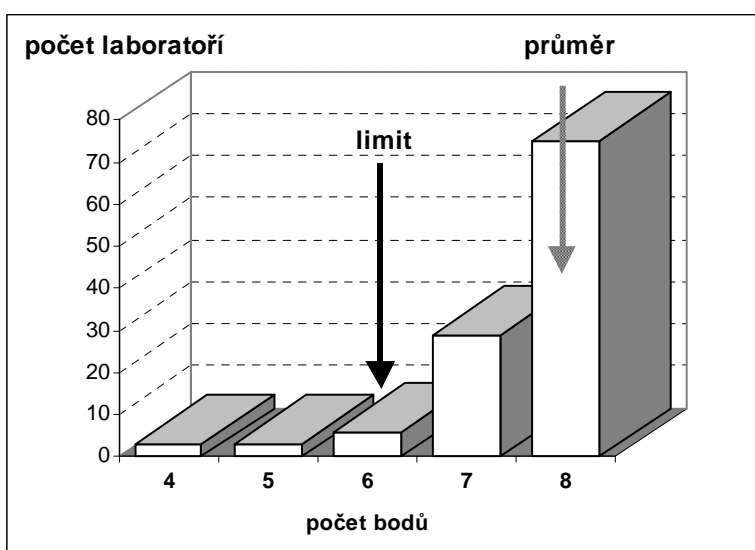
EHK-506 Bakteriologická diagnostika – vyhodnocení

Helena Žemličková, Josef Scharfen, Petr Petráš, Pavla Urbášková

CELKOVÉ HODNOCENÍ IDENTIFIKACÍ

Celkem byly rozeslány vzorky 117 laboratořím. 116 laboratoří odeslalo výsledek do závěrečného termínu. Za identifikaci signifikantního patogena ve 4 vzorcích mohly laboratoře získat maximálně 8 bodů, za vyšetření citlivosti 1 bod (vzorek 4 a 5). Bodování pro identifikaci bylo provedeno ve stupnici 2, 1, 0 a –1 bodů, pro vyšetření citlivosti ve stupnici 1 a 0 bodů. Interpretace vyšetření citlivosti k ciprofloxacinu u vzorku 5 nebyl hodnocena.

Graf 1: Počet bodů za správnou identifikaci.



Maximálního počtu bodů při identifikaci dosáhlo 76, tj. 65,5% laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 5,656 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj. $7,474 - (2 \times 0,909) = 5,656$). Tohoto limitu dosáhlo 110 laboratoří, 6 laboratoří tento limit nesplnilo. Plný počet bodů (3 body) při vyšetření citlivosti získalo 108 laboratoří.

VÝSLEDKY U JEDNOTLIVÝCH VZORKŮ

VZOREK 1: Izolát z mozkového abscesu.

ODPOVĚĎ: *Nocardia asteroides* complex

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Nocardia asteroides</i> complex	80	2	69,0%
<i>Nocardia cyriacigeorgica</i>	1	2	0,9%
<i>Nocardia asteroides</i> VI	1	2	0,9%

<i>Nocardia species</i>	22	1	19,0%
<i>Nocardia asteroides</i>	9	1	7,8%
<i>Nocardia nova</i>	1	1	0,9%
<i>Nocardia complex</i>	1	0	0,9%
<i>Nocardia species complex</i>	1	0	0,9%
Celkem	116		100%

Z 20 vybraných laboratoří s nejvyšším dosaženým počtem bodů za minulý rok uvedlo správný výsledek 16 laboratoří. Vzorek je možno hodnotit.

Kmen nokardie zaslaný v EHK byl *Nocardia cyriacigeorgica*, neboli *Nocardia asteroides* komplex fenotyp rezistence VI. Plným počtem bodů jsou proto hodnoceny pouze první tři odpovědi. Odpověď *Nocardia species*, *Nocardia asteroides* a *N. nova* značí správné zařazení kmene do rodu, přestože poslední název je v rozporu s fenotypem rezistence testovaného kmene (*Nocardia nova* je rezistentní k amoxicilin–klavulanátu a citlivá k ampicilinu; vyšetřovaný kmen byl citlivý na obě tato antibiotika). Názvy *Nocardia complex* a *Nocardia species complex* jsou nomenklaturně zcela chybné názvy a jsou hodnoceny nulou. Podmínkou zjištění fenotypu rezistence je odečítání diskových citlivostí po 24, 48 a 72 hodinách inkubace, diskovou citlivost u rozhodujících antibiotik (AMC, AMP, CTX, CTR, AMI) je vhodné testovat odděleně, tj. každý jednotlivý disk s ATB na jedné plotně MH agarů.

VZOREK 2: Izolát z krve od dlouhodobě hospitalizovaného pacienta.

ODPOVĚĎ: *Staphylococcus haemolyticus*

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	116	2	100%
Celkem	116		100%

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

V humánním klinickém materiálu je *Staphylococcus haemolyticus* druhým nejčastěji se vyskytujícím koagulázanegativním stafylokokem (KNS), hned po nejznámějším druhu *S. epidermidis*. Je podmíněným patogenem, tzn. u oslabeného pacienta (imunitně, věkem, dlouhodobým pobytem v nemocnici ad.) může vyvolat onemocnění. Často bývá původcem infekce krevního řečiště. Izoláty tohoto druhu patří, vedle poddruhu *S. hominis* subsp. *novobiosepticus*, k nejvíce rezistentním KNS. Jsou vybaveny faktory virulence, především produkcí delta-hemolysinu a slizu.

Kmen ve vzorku 2 měl typické fenotypové vlastnosti. Od nejčastějšího druhu KNS *S. epidermidis* lze snadno odlišit neschopností produkovat ureázu a fosfatázu a naopak pozitivním PYRtestem a schopností okyselovat trehalózu.

VZOREK 3: Stolicе od pacienta s vodnatelným průjmem.

ODPOVĚĎ: signifikantní bakteriální patogen nepřítomen

Vzorek dále obsahoval: *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*

identifikace	frekvence	body	procento
signifikantní patogen nepřítomen	105	2	90,5%
<i>Escherichia coli</i> O55	6	0	5,2%
<i>Escherichia coli</i> O111	1	0	0,9%
<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Escherichia coli</i>	1	0	0,9%
<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	1	0	0,9%
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	1	-1	0,9%
<i>Bacillus cereus</i>	1	-1	0,9%
Celkem	116		100%

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

Kmen *Escherichia coli* byl běžný izolát sérotypu O6 nepatřící mezi virulentní *E. coli*. U kmene nebyly metodou PCR prokázány geny *stx1*, *stx2* (kódující Shiga toxiny 1 a 2), ani gen *eae* (kódující další faktor virulence adhezin intimin). Laboratoře, které označily nesprávně *E. cloacae* + *E. coli* a *E. cloacae* + *E. coli* + *E. faecalis*, které vzorek obsahoval jako příčinu popsaného onemocnění, neobdržely žádný bod. Rovněž laboratoře, které uvedly jako příčinu onemocnění *E. coli* O55 či *E. coli* O111 neobdržely žádný bod, neboť ačkoliv vzorek obsahoval *E. coli*, sérotyp nebyl určen správně.

Enterobaktery jsou po kmenech *E. coli* druhým nejčastějším zástupcem normální, fakultativně anaerobní lidské střevní flóry z čeledi *Enterobacteriaceae*. V tomto prostředí prakticky nejsou patogenem, infekce však mohou vyvolat extraintestinálně. Také enterokoky jsou běžnou součástí střevní flóry. Jsou závažným podmíněným patogenem mimostřevních onemocnění, především infekcí močových cest.

VZOREK 4: Izolát z krve od pacientky s urosepsí.

ODPOVĚĎ: *Klebsiella oxytoca*

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Klebsiella oxytoca</i>	116	2	100%
Celkem	116		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 zaslaného kmene a vyšetřit jeho citlivost k ceftazidimu a k ciprofloxacinu. Kmen 4 je *Klebsiella oxytoca* NRL/ATB 1896/05, citlivá k oběma požadovaným antibiotikům. Všech 116 laboratoří účastnících se EHK 506 uvedlo správné výsledky identifikace i

vyšetření citlivosti k ciprofloxacinu; šest laboratoří chybovalo v hodnocení citlivosti ke ceftazidimu a kmen označilo jako rezistentní k tomuto antibiotiku. Celkové výsledky vyšetření citlivosti jsou v tabulce 1, která obsahuje také limitní hodnoty průměrů inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny enterobakterií, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Tabulka 1. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 4 *Klebsiella oxytoca* NRL/ATB 1896/05

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	%
ceftazidim	$\geq 18^{***}$	24 - 26	≤ 4	1 - 1	C	110/116	94,8
ciprofloxacin	≥ 21	25 - 26	≤ 1	$\leq 0,032$	C	116/116	100,0

*) 3 měření diskovou difuzní metodou; obsah disků: ceftazidim 30 ug, ciprofloxacin 50 ug; **) 3 měření diluční mikrometodou; *** při vyhledávání kmenů produkujících ESBL ≥ 22 mm; C: citlivý.

VZOREK 5: *Shigella sonnei*

Kmen 5 je *Shigella sonnei* NRL/ATB 2683/06, izolát ze stolice pacientky s krvavými průjmy po návratu z Asie. Kmen produkoval širokospektrou β -laktamázu a byl tudíž rezistentní keftazidimu, k ciprofloxacinu byl citlivý. Dvě laboratoře chybně označily kmen 5 jako citlivý keftazidimu. Výsledek vyšetření citlivosti k ciprofloxacinu se nehodnotí, neboť jen 51,7% laboratoří označilo kmen jako citlivý a ostatní laboratoře jej hodnotily jako rezistentní (12,1%), středně citlivý (31,9%) nebo intermediárně rezistentní (4,3%). Výsledky vyšetření citlivosti kmene 5 keftazidimu jsou v tabulce 2, která obsahuje také limitní hodnoty průměrů inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny enterobakterií, a výsledky laboratoří.

Tabulka 2. Výsledky vyšetření citlivosti u kmene 5 *Shigella sonnei* NRL/ATB 2683/06.

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	%
ceftazidim	$\geq 18^{***}$	15 - 16	≤ 4	32 - 32	R	114/116	98,3

*) 3 měření diskovou difuzní metodou; obsah disků: ceftazidim 30 ug; **) 3 měření diluční mikrometodou; *** při vyhledávání kmenů produkujících ESBL ≥ 22 mm; R: rezistentní.

Komentář

Klebsiella oxytoca (kmen 4) inherentně produkuje chromozomální β -laktamázy OXY1 a OXY2, které působí na cefalosporiny 3. generace rozdílně: inaktivují cefotaxim, avšak ceftazidim je jejich působení odolává, i když jsou hyperprodukovány [2].

U kmene 5 *Shigella sonnei* jen dvě laboratoře nerozpoznaly produkci ESBL a označily kmen jako citlivý keftazidimu, pravděpodobně pro jeho schopnost vytvořit inhibiční zónu kolem disku s tímto antibiotikem (která však byla menší než limit pro citlivý kmen). Vyšetření citlivosti k ciprofloxacinu u tohoto kmene bylo proto anulováno. Je sice pravda že MIC tohoto antibiotika u kmene 5 byla mimo distribuci normálně citlivé populace (a zvýšenou MIC ciprofloxacinu signalizovala i rezistence k nalidixové kyselině), nicméně hraniční koncentrace ciprofloxacinu pro citlivé kmeny enterobakterií je stále 1 mg/l [3, 4]. Na možné selhání ciprofloxacinu při léčbě infekce způsobené kmenem s nízkým stupněm rezistence k tomuto antibiotiku (MIC 0,125-0,5 mg/l) se

doporučuje upozornit ošetřujícího lékaře pouze v případě extraintestinální salmonelové infekce [3, 4].

LITERATURA

- [1] Urbášková P. Rezistence bakterií k antibiotikům. Vybrané metody. Trios; 1998.
- [2] Livermore D, Brown DJ. Detection of beta-lactamase-mediated resistance. J Antimicrobial Chemother 2001;48(Suppl 1):59-64.
- [3] 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.
- [4] EUCAST clinical MIC breakpoints-fluoroquinolones (2006-06-20). Dostupné na:
<http://www.srga.org/eucastwt/MICTAB/MICquinolones.htm>

*Helena Žemličková, Pavla Urbášková, Petr Petráš; SZÚ – CEM
Josef Scharfen; Oblastní nemocnice Trutnov*