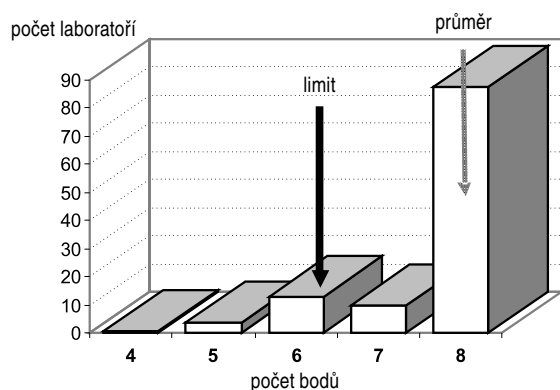

EHK – 579 Bakteriologická diagnostika – vyhodnocení

Helena Žemličková, Petr Petráš, Daniela Dědičová, Pavla Urbášková

CELKOVÉ HODNOCENÍ IDENTIFIKACÍ

Celkem byly rozeslány vzorky 118 laboratořím. 116 laboratoří odeslalo výsledek do závěrečného termínu. Za identifikaci signifikantního patogena ve 4 vzorcích mohly laboratoře získat maximálně 8 bodů, za vyšetření citlivosti 6 bodů (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.

Maximálního počtu bodů při identifikaci dosáhlo 85, tj. 75,9% laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 5,824 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj. $7,56 - (2 \times 0,868) = 5,824$). Tohoto limitu dosáhlo 112 laboratoří, 4 laboratoře tento limit nesplnily. Plný počet bodů (4) při vyšetření citlivosti získalo 106 laboratoří.

Graf 1: POČET BODŮ ZA SPRÁVNOU IDENTIFIKACI**VÝSLEDKY U JEDNOTLIVÝCH VZORKŮ****Vzorek 1: Stěr z rány po pokousání psem**

**Odpověď: *Pasteurella multocida* subsp. *multocida*
+ *Staphylococcus intermedius***

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>P. multocida</i> + <i>S. intermedius</i>	98	2	84,5 %
<i>P. multocida</i> + <i>S. intermedius</i> + <i>S. aureus</i>	1	1	0,9 %
<i>P. multocida</i> + <i>S. aureus</i>	2	1	1,7 %
<i>P. multocida</i>	13	0	11,3 %
<i>S. intermedius</i>	1	0	0,9 %
<i>Pasteurella canis</i>	1	-1	0,9 %
Celkem	116		100 %

Z 20 vybraných laboratoří s nejvyšším dosaženým počtem bodů za minulý rok uvedlo správný výsledek 19 laboratoří. Vzorek je možno hodnotit.

Rezervoárem *P. multocida* jsou domestikovaná i volně žijící zvířata. U člověka jsou pasteurely původci infekcí ran, které vznikly po pokousání zvířaty, nejčastěji psem nebo kočkou. *Staphylococcus intermedius* je vedle kmenů *S. aureus* prakticky jediným koaguláza-pozitivním stafylokokem, který může být zachycen v humánním klinickém materiálu. Nejčastěji se jedná právě o výtěr ze zhněsané rány po kousnutí psem. Kmeny *S. intermedius* jsou charakteristické produkcí stafylokokového beta-hemolyzinu, který vytváří po aerobní kultivaci při 36 °C ostře ohraničenou zónu částečné lýzy. Po inkubaci Petriho misek s kulturou při chladničkové teplotě 4 °C dochází k úplné hemolýze (tzv. chladový efekt). Na rozdíl od toho, kmeny *S. aureus* produkují obvykle hemolyzin alfa, případně delta, zatímco produkce beta-hemolyzinu je u nich velice vzácná.

Kmeny *S. intermedius* mají výsledek reakce volné zkuškové koagulázy opožděný, tj. obvykle až po třech hodinách kultivace. Latexový test na clumping faktor je spíše negativní. V NRL pro stafylokoky se k fenotypovému průkazu kmenů *S. aureus* nejlépe osvědčilo zjištění produkce enzymu hyaluronidáza [1]. Tento test je u všech

koagulázanegativních stafylokoků a též u kmenů *S. intermedius*, negativní. Další testy k odlišení kmenů *S. aureus* a *S. intermedius* jsou uvedeny v tabulce.

Test	zkratka	<i>S. aureus</i>	<i>S. intermedius</i>
Volná koaguláza *)	KOA	+ / + / +	- / + / +
Clumping faktor (latex aglutinace)	CPF	+	spíše -
Hyaluronidáza	HYL	+	-
Žlutý pigment	YEP	často +	-
Pyrrolidonylarylamidáza	PYR	-	+
Acetoin	VPT	+	-
Beta-galaktosidáza	ONPG	-	+
Anaerobní využití manitolu	aMAN	+	-
Rezistence k polymyxinu A **)	POL	R (zóna < 10 mm)	C (zóna > 10 mm)

*) odečítání výsledku po 1, 3 a 20 hodinách

LITERATURA

[1] Andrysík T, Machová I, Petráš P, Votava M. Průkaz hyaluronidázy u kmenů rodu *Staphylococcus*. Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2004; 13(5): 210–212.

Vzorek 2: Izolát z hemokultury od pacienta s hemoblastózou

Odpověď: *Enterococcus casseliflavus*

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	114	2	98,3 %
<i>Enterococcus flavescens</i>	1	2	0,9 %
<i>Enterococcus gallinarum</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.

Jedna laboratoř označila kmen jako *Enterococcus flavescens*, což je pozdější synonym *E. casseliflavus*. *E. flavescens* byl z druhu *E. casseliflavus* nejprve vyčleněn jako samostatný druh, ale později opět reklasifikován do druhu *E. casseliflavus*. Jedna laboratoř identifikovala kmen jako *Enterococcus gallinarum*. *E. casseliflavus* se od rovněž pohyblivého druhu *E. gallinarum* liší produkcí žlutého pigmentu.

Vzorek 3: Stolica od pacienta s průjemem vzniklým po konzumaci salátu

Odpověď: *Salmonella Infantis*

Vzorek dále obsahoval: *Klebsiella pneumoniae*,
Enterobacter cloacae

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Salmonella</i> Infantis	101	2	87,1 %
<i>Salmonella</i> sp. skupina C1 O6,7	1	1	0,9 %
<i>Salmonella</i> sp. O6,7	1	1	0,9 %
<i>Salmonella</i> sp. skupina C1	6	1	5,2 %
<i>Salmonella</i> sp. skupina C1 O7	1	1	0,9 %
<i>Salmonella</i> sp. skupina C	2	1	1,7 %
<i>Salmonella</i> sp. skupina B	1	1	0,9 %
<i>Salmonella</i> Virchow	2	1	1,7 %
<i>Salmonella</i> Thompson	1	1	0,9 %
Celkem	116		100 %

Z 20 vybraných laboratoří s nejvyšším dosaženým počtem bodů za minulý rok uvedlo správný výsledek 18 laboratoří. Vzorek je možno hodnotit.

Signifikantním patogenem byl kmen *Salmonella* Infantis 6,7 : r : 1,5. *S. Infantis* je od roku 1994 třetím nejčastěji cirkulujícím sérovarem v populaci ČR. Jeho identifikace klinickými laboratořemi je proto rutinní záležitostí. Kmen spolehlivě identifikovalo 87% zúčastněných laboratoří, což je o 2% méně než v roce 2004. Tři laboratoře v detailní typizaci chybyly v určení 1. či 2. bičíkové fáze (Thompson, Virchow). Dalších 11 laboratoří se spokojilo s rodovým zařazením doplněným somatickou O antigenní skupinou C1 (O:7). V jednom případě však určení O skupiny (B) nebylo správné.

Celkový výsledek svědčí o dobré úrovni a možnostech identifikace běžných salmonel v terénu. Ovšem vezme-li v úvahu výsledky EHK v roce 2001, kdy byla *Infantis* dobře identifikována více jak 97 % laboratoří, je nutné konstatovat, že dochází k sestupnému trendu v přesné diagnostice salmonel. Systém národního hlášení EPIDAT je postaven na vysoké odborné úrovni a suverénně klinických laboratoří ČR, která by měla být podložena trvalou snahou o její zdokonalování. V oblasti diagnostiky enteropatogenů pak mj. úsilím o zvládnutí sérotypizace pěti nejčastějších sérovarů salmonel, tj. Enteritidis, Typhimurium, Infantis, Agona a Virchow. U těchto 5 sérovarů bude v EHK–Bakteriologická diagnostika bude i nadále hodnocen 2 body pouze kompletní výsledek identifikace, respektive sérotypizace.

Vzorek 4: Izolát z hemokultury od 15letého pacienta s mukoviscidózou
Odpověď: <i>Burkholderia cepacia</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Burkholderia cepacia</i>	115	2	99,1 %
<i>Pseudomonas fluorescens</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.

Požadavek byl identifikovat druh zasláného kmene a vyšetřit jeho citlivost ke ko-trimoxazolu a meropenemu. Kmen 4, který jedna laboratoř chybně identifikovala jako *P. fluorescens*, je *Burkholderia cepacia*, citlivý k oběma požadovaným antibiotikům. Všechny laboratoře správně označily kmen jako citlivý ke ko-trimoxazolu, 4 laboratoře jej chybně označily jako rezistentní k meropenemu. Celkové výsledky vyšetření citlivosti jsou v tabulce 1, která obsahuje obsah limitní hodnoty průměrů inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmene *B. cepacia*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Vzorek 5: *Stenotrophomonas maltophilia*

Požadavek byl na vyšetření citlivosti kmene 5, který byl citlivý ke ko-trimoxazolu a rezistentní k meropenemu. Všechny laboratoře správně označily kmen jako citlivý k meropenemu, 4 laboratoře jej chybně označily jako rezistentní ke ko-trimoxazolu. Celkové výsledky vyšetření citlivosti jsou v tabulce 2, která obsahuje obsah limitní hodnoty průměrů inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmene *S. maltophilia*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Tabulka 1: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 4 BURKHOLDERIA CEPACIA

Antibiotikum	Průměry IZ (mm)		MIC (mg/l)		Správné výsledky		
	limit pro citlivé kmene B.c. [1]	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	limit pro citlivé kmene B.c. [1]	hodnoty naměřené v NRL**	kategorie [1]	počet laboratoří	%
ko-trimoxazol	>= 16	29 - 30	<= 32	<= 1	C	116/116	100,0
meropenem	>= 20	33 - 34	<= 4	<= 0,125	C	112/116	96,5

* 3 měření diskovou difúzní metodou; obsah disků: ko-trimoxazol 25 µg, meropenem 10 µg; ** 3 měření diluční mikrometodou; C – citlivý.

Tabulka 2: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI U KMENE 5 *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA*

Antibiotikum	Průměry IZ (mm)		MIC (mg/l)		Správné výsledky		
	limit pro citlivé kmeny S.m. [1]	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	limit pro citlivé kmeny S.m. [1]	hodnoty naměřené v NRL**	kategorie [1]	počet laboratoří	%
ko-trimoxazol	>= 16	28 - 29	<= 32	1 - 2	C	110/116	94,8
meropenem	nejsou udány	6 - 6	není udána	> 16	R***	116/116	100,0

* 3 měření diskovou difuzní metodou; obsah disků: ko-trimoxazol 25 µg, meropenem 10 µg; ** 3 měření diluční mikrometodou; C – citlivý, R*** – inherentně rezistentní.

KOMENTÁŘ

V této sérii EHK vyhodnotily všechny laboratoře správně citlivost k léku volby ko-trimoxazolu pro infekce způsobené kmeny *B. cepacia* a správně označily *S. maltophilia* jako rezistentní k meropenemu. Chybné výsledky u dalších antibiotik se vyskytly ojediněle.

LITERATURA

[1] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eighteen informational supplement. CLSI Document M100-S18. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, Pa, 2008.

MUDr. Helena Žemličková, Ph.D.
NRL-CNCTC SZÚ
hzemlickova@szu.cz