
EHK – 590 Bakteriologická diagnostika – vyhodnocení

Helena Žemličková, Pavla Urbášková

CELKOVÉ HODNOCENÍ IDENTIFIKACÍ

Celkem byly rozeslány vzorky 117 laboratořím. 117 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). 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 dosáhly všechny laboratoře, tj. 117, 100%. Plný počet bodů (4) při vyšetření citlivosti získalo 106 laboratoří.

VÝSLEDKY U JEDNOTLIVÝCH VZORKŮ

Vzorek 1: <i>Corynebacterium ulcerans</i>
Odpověď: Edukativní vzorek

Corynebacterium ulcerans je fylogeneticky vysoce příbuzné s *Corynebacterium diphtheriae* a kmeny tohoto druhu mohou také produkovat difterický toxin. Toxigenní kmeny *C. ulcerans* jsou vzácnými původci onemocnění připomínající klasickou diftérii (faryngeální či kožní for-

mu) [1, 2, 3]. Kolonie *C. ulcerans* jsou suché, našedlé, velikosti 1-2 mm po 24h inkubaci. *C. ulcerans* lze od *C. diphtheriae* odlišit pozitivní ureázovou reakcí a pozitivním reverzním CAMP testem.

Literatura

[1] von Hunolstein C, Alfarone G, Scopetti F, et al. Molecular epidemiology and characteristics of *Corynebacterium diphtheriae* and *Corynebacterium ulcerans* strains isolated in Italy during the 1990s. J Clin Microbiol 2003; 52: 181-188.

[2] Wagner J, Ingnatius R, Voss S, et al. Infection of the skin caused by *Corynebacterium ulcerans* and mimicking classical cutaneous diphtheria. Clin Infect Dis 2001; 33: 1598-1600.

[3] De Zoysa A, Hawkey PM, Engler K. Characterization of toxigenic *Corynebacterium ulcerans* strains isolated from humans and domestic cats in the United Kingdom. J Clin Microbiol 2005; 43: 4377-4381.

Vzorek 2: Izolát z moče (signifikantní bakteriurie)
Odpověď: <i>Morganella morganii</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Morganella morganii</i>	117	2	100%
Celkem	117		100 %

Vzorek 3: Stolice od 6-letého dítěte s podezřením na apendicitidu
Odpověď: <i>Yersinia enterocolitica</i>
Vzorek dále obsahoval: <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Yersinia enterocolitica</i>	117	2	100%
Celkem	117		100 %

Vzorek 4: Štěr z kůže od dětského pacienta s impetigem
Odpověď: <i>Streptococcus pyogenes</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Streptococcus pyogenes</i>	117	2	100%
Celkem	117		100 %

Požadavek byl identifikovat druh zasláného kmene a vyšetřit jeho citlivost k erytromycinu a ke klindamycinu. Kmen 4 byl *Streptococcus pyogenes*, rezistentní k oběma antibiotikům. Všechny 117 laboratoří zúčastněných v této sérii EHK správně identifikovalo druh a rezistenci kmene 4 k erytromycinu, tři laboratoře chybně označily kmen 4 jako citlivý ke klindamycinu. Celkové výsledky vyšetření citlivostí jsou v tabulce 1, která obsahuje obsah limitních hodnot průměrů inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny *S. pyogenes*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Vzorek 5: *Streptococcus pneumoniae*

Požadavek byl vyšetřit u kmene 5 citlivost k penicilinu, tetracyklinu a k ciprofloxacinu. Kmen 5 byl citlivý k penicilinu a rezistentní k tetracyklinu. U ciprofloxacinu, ke kterému tento kmen nebyl rezistentní, byla za správnou považována odpověď „citlivý“ nebo „intermediálně rezistentní“. Jedna laboratoř tento kmen z lyofilizátu nevykultivovala. Všechny 116 laboratoří, které hodnotily citlivost, správně označily kmen 5 jako citlivý k penicilinu, jedna laboratoř jej chybně označila jako citlivý k tetracyklinu. Dvě laboratoře výsledek vyšetření ciprofloxacinu neuvěděly, 13 laboratoří kmen označilo chybně jako rezistentní k ciprofloxacinu. Celkové výsledky vyšetření citlivostí jsou v tabulce 2, která obsahuje obsah limitních hodnot průměrů inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny *S. pneumoniae*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

KOMENTÁŘ

U kmene 4 *Streptococcus pyogenes* byla po indukci erytromycinem inhibována inhibiční zóna kolem klindamycinu. Kmeny streptokoků s indukovanou rezistencí se pokládají za klinicky rezistentní ke všem makrolidům, linkosamidům a streptograminům [1]. Tři laboratoře, které chybně hodnotily kmen 4 jako citlivý ke klindamycinu, pravděpodobně nevyšetřily D-test, jehož provedení je nezbytné u všech streptokoků (a stafylokoků) rezistentních k erytromycinu [2].

U kmene 5 zhruba 11% laboratoří neporozumělo důvodu pro vyšetření ciprofloxacinu, nebo výsledek vyšetření citlivosti neinterpretovalo správně. Tento starší fluo-

Tabulka 1: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 4 *STREPTOCOCCUS PYOGENES*

Antibiotikum	Průměry IZ (mm)		MIC (mg/l)		Správné výsledky		
	limit pro citlivé kmeny streptokoků [1]	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	limit pro citlivé kmeny streptokoků [1]	hodnoty naměřené v NRL**	kategorie [1]	počet laboratoří	%
erytromycin	>= 21	12 - 14	<= 0,25	2 - 4	R	117/117	100,0
klindamycin	>= 19	21 - 21	<= 0,25	<= 0,063	R***	114/117	97,4

* 3 měření diskovou difúzní metodou; obsah disků: erytromycin 15 µg, klindamycin 2 µg; ** 3 měření diluční mikrometodou; R – rezistentní; *** D-test [2] pozitivní.

Tabulka 2: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI U KMENE 5 *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

Antibiotikum	Průměry IZ (mm)		MIC (mg/l)		Správné výsledky		
	limit pro citlivé kmeny pneumokoků [1]	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	limit pro citlivé kmeny pneumokoků [1]	hodnoty naměřené v NRL**	kategorie	počet laboratoří	%
oxacilin [1]	>= 20	22 - 24	ND	NT	C [1]	116/116	100,0
penicilin [1]	ND	NT	<= 0,063	0,032 - 0,032			
tetracyklin [1]	>= 23	6 - 6	<= 2	>16 - >16	R [1]	115/116	99,1
norfloxacin [3]	>= 11	14 - 16	ND	NT	C, I [3,4]	103/116	88,6
ciprofloxacín [4]	ND	NT	<= 2	1 - 1			

* 3 měření diskovou difuzní metodou; obsah disků: oxacilin 1 µg, tetracyklin 30 µg, norfloxacin 10 µg; ** 3 měření diluční mikrometodou; C – citlivý, I – intermediárně rezistentní, R – rezistentní; ND – neudáno, NT – nevyšetřováno; *** break- point k odlišení přirozené populace pneumokoků od kmenů se získanou rezistencí k fluorochinolonům [3,4].

rochinolon, stejně jako ofloxacin, se k léčbě pneumokokových infekcí pro nízkou nebo žádnou klinickou účinnost nepoužívá. Výsledek MIC ciprofloxacínu však slouží k odlišení přirozené populace pneumokoků od kmenů, které získaly rezistenci (MIC ciprofloxacínu > 2 mg/l), a u nichž se předpokládá úplná rezistence, nebo rezistence v nízkém stupni k novějším fluorochinolonům, jako je moxifloxacin, levofloxacin, a další. Laboratoře, které běžně nevyšetřují MIC antibiotik u pneumokoků, mohou při vyšetření citlivosti k fluorochinolonům v první fázi použít vyhledávací metodu pro rezistentní kmeny s diskem norfloxacinu, a teprve pokud kmen vytvoří inhibiční zónu menší než je stanovený limit, vyšetřuje se MIC ciprofloxacínu [3]. Podobně se u pneumokoků používá disk s oxacilinem k vyhledání kmenů necitlivých k penicilinu.

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.
- [2] Streptokoky - průkaz fenotypu rezistence k antibiotikům ze skupiny makrolidů, linkosamidů a streptograminů. Dostupné na <http://www.szu.cz/tema/prevence/streptokoky-prukaz-fenotypu-rezistence-k-antibiotikum-ze>
- [3] EARSS. European Antimicrobial Resistance Surveillance System. EARSS Manual 2005. EARSS protocol for testing of *Streptococcus pneumoniae*, str. 15-17. Dostupný na <http://www.rivm.nl/earss/tools/> (EARSS Manual 2005).
- [4] EUCAST. European Committee for Clinical Laboratory Testing. Clinical breakpoints. Fluoroquinolones. Dostupné na <http://www.srga.org/eucastwt/MICTAB/MICquinolones.htm>

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