

EHK – 599 Bakteriologická diagnostika – vyhodnocení

Helena Žemličková, Renata Kolínská, Monika Marejková, Pavla Urbášková

CELKOVÉ HODNOCENÍ IDENTIFIKACÍ

Celkem byly rozeslány vzorky 117 laboratořím. 116 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 dosáhlo 113, tj. 97,4 % laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 5,405 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj. $5,957 - (2 \times 0,276) = 5,405$). Tohoto limitu dosáhlo 113 laboratoří, 3 laboratoře tento limit nespĺnily. Plný počet bodů (4) při vyšetření citlivosti získalo 20 laboratoří. Z 20 vybraných laboratoří s nejvyšším dosaženým počtem bodů za minulý rok uvedlo správný výsledek plný počet laboratoří u všech hodnocených vzorků.

VÝSLEDKY U JEDNOTLIVÝCH VZORKŮ

Vzorek 1: <i>Aerococcus urinae</i>
Odpověď: Edukativní vzorek

Aerococcus urinae patří mezi Gram pozitivní, kataláza negativní koky, roste aerobně a na krevním agaru tvoří alfa-hemolytické kolonie. *A. urinae* je příbuzný s již dříve popsáným *A. viridans* a lze ho od něj odlišit negativním testem PYR (pyrrolidonyl-arylamydáza) a pozitivním testem LAP (leucin-aminopeptidáza). Vykazuje růst na BHI půdě s 6,5 % NaCl, je citlivý na vankomycin. *A. urinae* je popsán z nálezů převážně u starších lidí, kde je nepříliš častým původcem infekcí močových cest [1], endokarditid [2, 3], infekcí měkkých tkání – balanitidy, flegmóny [3]. Je zaznamenán i případ pyelonefritidy u 12letého chlapce [4].

LITERATURA

- [1] Zhang Q, Kwok C, Attorri S, and Clarridge JE III: *Aerococcus urinae* in urinary tract infection. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 1703–1705
- [2] Ebnöther C, Altwegg M, Gottschalk J, Seebach JD, Kronenberg A.: *Aerococcus urinae* endocarditis: case report and review of the literature. *Infection* 2002; 30: 310–313
- [3] Schuur PM, Sabbe L, van der Wouw AJ, Montagne GJ, Buiting AG.: Three cases of serious infection caused by *Aerococcus urinae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1999; 18: 368–371
- [4] Murray TS, Muldrew KL, Finkelstein R, Hampton L, Edberg SC, Cappello M.: Acute pyelonephritis caused by *Aerococcus urinae* in a 12-year-old boy. *Pediatr Infect Dis J*. 2008; 27: 760–762

Vzorek 2: Výtěr z krku od 8letého dítěte s bolestí v krku a horečkou
Odpověď: <i>Streptococcus pyogenes</i>
Vzorek dále obsahoval: <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Neisseria flavescens</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Streptococcus pyogenes</i>	115	2	99,1 %
Betahemolytický streptokok sk. G	1	1	0,9 %
Celkem	116		100,0 %

Naprostá většina laboratoří správně identifikovala jako původce onemocnění *Streptococcus pyogenes*. Pouze jedna laboratoř, která nesprávně označila skupinu beta-hemolytického kmene jako G, obdržela v hodnocení jeden bod.

Vzorek 3: Stoliice od 3letého dítěte s krvavým průjmem a horečkou
Odpověď: <i>Escherichia coli</i> O157
Vzorek dále obsahoval: <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter asburiae</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Escherichia coli</i> O157	115	2	99,1 %
<i>Escherichia coli</i>	1	1	0,9 %
Celkem	116		100,0 %

Escherichia coli O157:H7 patří k hlavním sérotypům enterohemoragických *E. coli* (EHEC). Kmeny EHEC, jako podskupina shigatoxigenních *E. coli* (STEC), jsou původci hemoragických i nekrvavých průjmů a hemolyticko-uremického syndromu (HUS). *E. coli* O157:H7 je dominantním, ale zdaleka ne jediným sérotypem, který je popisován ve světě jako původce HUS. Hlavním rezervoárem kmenů *E. coli* O157:H7 je dobytek, dále ovce, kozy, prasata a drůbež. Jsou známé dvě cesty přenosu: kontaminovaná potravina a fekálně-orální přenos. Kontaminované maso, nepasterizované mléko patří mezi hlavní vehikula, kterými se tyto patogeny dostávají do potravinového řetězce.

Jako základní selektivní půda pro kultivaci typických *E. coli* O157:H7 (tj. sorbitol nefermentujících) se používá Sorbitol MacConkey Agar (SMAC), který využívá neschopnosti těchto kmenů štěpit sorbitol. Na této půdě rostou tyto kmeny v bílých koloniích. Pro účely EHK byl poskytnut netoxigenní kmen *E. coli* O157:H7. Je potěšu-

jící, že naprostá většina laboratoří určila správně séroskupinu těchto potenciálně nebezpečných kmenů.

Vzorek 4: Izolát z krve od dlouhodobě hospitalizovaného pacienta
Odpověď: <i>Enterobacter cloacae</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Enterobacter cloacae</i>	114	2	98,3 %
<i>Enterobacter sakazakii</i>	1	1	0,9 %
<i>Serratia liquefaciens</i>	1	0	0,9 %
Celkem	116		100,0 %

Požadavek byl identifikovat druh zaslaného kmene a vyšetřit jeho citlivost ke kombinaci aminopenicilinů s inhibitory β -laktamáz (ko-aminopenicilinům) a k ceftazidimu. Kmen 4 je *Enterobacter cloacae*, rezistentní ke ko-aminopenicilinům a citlivý k ceftazidimu. Všechny laboratoře s výjimkou jedné označily správně kmen 4 jako rezistentní ke ko-aminopenicilinům, 23 laboratoří (téměř 20 %) však chybovalo v interpretaci výsledku vyšetření citlivosti k ceftazidimu. Celkové výsledky vyšetření citlivosti jsou v tabulce 1, která obsahuje obsah limitní hodnoty průměru inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny *Enterobacter cloacae*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Vzorek 5: *Escherichia coli*

Požadavek byl vyšetřit citlivost ke kombinaci aminopenicilinů s inhibitory β -laktamáz (ko-aminopenicilinům) a k ceftazidimu. Pět laboratoří chybovalo ve výsledku vyšetření citlivosti ke ko-aminopenicilinům, citlivost k ceftazidimu vyšetřily všechny laboratoře správně. Celkové výsledky vyšetření citlivosti jsou v tabulce 2, která obsahuje obsah limitní hodnoty průměru inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny *Escherichia coli*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Komentář

Kmen 4 *Enterobacter cloacae* produkuje β -laktamázu po indukci, avšak účinek ceftazidimu by inaktivovala až konstitutivní produkce tohoto enzymu. Induktivní produkce (obvyklá u většiny enterobakterů) byla zřejmě příčinou chybné interpretace výsledku citlivosti u kmene 4, kterou uvedla zhruba jedna pětina laboratoří.

Kmen 5 je *Escherichia coli* CNCTC 3521 (kopie *E. coli* ATCC 35218), užívaný pro kontrolu kvality inhibitorů β -laktamázy. CLSI [1] u tohoto kmene udává přípustné rozmezí hodnot MIC pro kombinaci ampicilin/sulbaktam 8/4–32/16 mg/l, pro kombinaci amoxicilin/klavulanová kys. 4/2–16/8 mg/l. Horní hodnoty rozmezí jsou již mimo limit pro citlivé kmeny (v obou případech 8/4 mg/l). TEM-laktamáza produkovaná tímto kmenem je totiž schopna inaktivovat sulbaktam v tekutém prostředí v jamkách mikrotitračních destiček starších než 4 týdny nebo

Tabulka 1: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 4 *ENTEROBACTER CLOACAE*

Antibiotikum	Průměry IZ (mm)		MIC (mg/l)		Správné výsledky		
	limit pro citlivé kmeny středních tyček [1]	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	limit pro citlivé kmeny středních tyček [1]	hodnoty naměřené v NRL**	kategorie [1, 2]	počet laboratoří	%
ampicilin/sulbaktam	≥ 15	6 - 6	$\leq 8/4$	> 32	R	115/116	99,1
amoxicilin/klavul. kys.	≥ 18	7 - 7	$\leq 8/4$	NT			
ceftazidim	≥ 18	28 - 29	≤ 4 [2]	1 - 2	C	93/116	80,2

* 3 měření diskovou difúzní metodou; obsah disků: ampicilin/sulbaktam 10/10 μ g, amoxicilin/klavul. 20/10 μ g, ceftazidim 30 μ g; ** 3 měření diluční mikrometodou; C – citlivý, R – rezistentní; NT – netestováno.

Tabulka 2: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI U KMENE 5 *ESCHERICHIA COLI* CNCTC 3521

Antibiotikum	Průměry IZ (mm)		MIC (mg/l)		Správné výsledky		
	limit pro citlivé kmeny středních tyček [1]	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	limit pro citlivé kmeny středních tyček [1]	hodnoty naměřené v NRL**	kategorie [1, 2]	počet laboratoří	%
ampicilin/sulbaktam	≥ 15	16 - 16	8/4	8/4 - 16/8	C	111/116	95,7
amoxicilin/klavul. kys.	≥ 18	21 - 22	8/4	NT			
ceftazidim	≥ 18	30 - 32	≤ 4 [2]	$\leq 0,25$	C	116/116	100,0

* 3 měření diskovou difúzní metodou; obsah disků: ampicilin/sulbaktam 10/10 μ g, amoxicilin/klavul. kys. 20/10 μ g, ceftazidim 30 μ g; ** 3 měření diluční mikrometodou; C – citlivý; NT – netestováno.

i dříve, nejsou-li uloženy v $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (klavulanovou kyselinu v tekuté půdě nelze uchovávat vůbec). Klavulanová kyselina nebo sulbaktam obsažené v discích v kombinaci s peniciliny jsou stabilnější a tyto disky při dodržení podmínek uchování a provedení testu poskytují spolehlivější výsledky než vyšetření MIC v mikrotitračních desíčkách. U možných producentů TEM-laktamázy (např. *E. coli*, *Haemophilus influenzae*, ap). lze doporučit vyšetření MIC ampicilinu/sulbaktamu mikrometodou, a v případě kmene s MIC $>8/4\text{ mg/l}$ (u hemofilů $2/1\text{ mg/l}$) vyšetřit disk ko-aminopenicilinu.

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] Urbášková P. Rezistence bakterií k antibiotikům. Vybrané metody. ISBN 80-238-3106-2. TRIOS Praha 1998.

*Helena Žemličková
Renata Kolínská
Monika Marejková
Pavla Urbášková
Oddělení bakteriální rezistence
a střevních bakteriálních infekcí
CLČ v OPVZ, SZÚ*