

EXTERNÍ HODNOCENÍ KVALITY

EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT

EHK – 685 Bakteriologická diagnostika – vyhodnocení

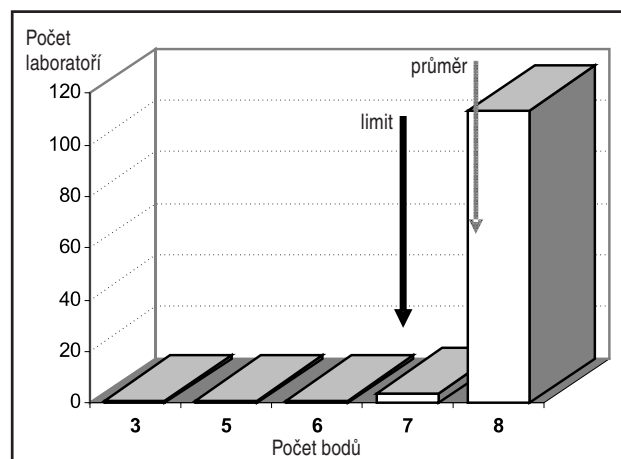
Helena Žemličková, Renáta Kolínská, Daniela Dědičová, Pavla Urbášková

HODNOCENÍ

Celkem byly rozeslány vzorky 120 laboratořím. 120 laboratoří odeslalo výsledek do závěrečného termínu. Za identifikaci signifikantního patogena ve 4 vzorcích mohly laboratoře získat maximálně 8 bodů, za vyšetření citlivosti mohly laboratoře obdržet celkem 4 body (vzorek 4 a 5). Bodování pro identifikaci bylo provedeno ve stupnici 2, 1, 0 a –1 bodů.

Maximálního počtu bodů při identifikaci dosáhlo 113, tj. 94,2 % laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 6,719 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj. $7,883 - (2 \times 0,582) = 6,719$). Tohoto limitu dosáhlo 117 laboratoří, 3 laboratoře tento limit nesplnily.

Graf 1: POČET BODŮ ZA SPRÁVNOU IDENTIFIKACI



VÝSLEDKY ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

Vzorek 1: Stoličky novorozence s hypotonií a respiračním selháním (podezření na botulismus)

Odpověď: *Clostridium baratii*
 Vzorek dále obsahoval: *Escherichia coli*

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Clostridium baratii</i>	117	2	97,5%
<i>Clostridium sp.</i>	2	1	1,7%
<i>Escherichia coli</i>	1	0	0,8%
Celkem	120		100 %

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

Druh *Clostridium baratii* správně identifikovalo 97,5 % laboratoří. Dvě laboratoře určily pouze rod a získaly tak po 1 bodu, 1 laboratoř uvedla do výsledku identifikace komensální bakterii. *C. baratii* patří do skupiny klostridií produkujících botulotoxin a je producentem toxinu typu F, podrobný návod na identifikaci těchto kmenů klostridií byl publikován ve Zprávách CEM 10-11/2007 [1].

Laboratorní diagnostika se opírá především o průkaz toxinu, proto při podezření na *C. baratii* je na místě doplnit identifikaci potvrzením produkce toxinu F zasláním kmene do příslušné referenční laboratoře.

LITERATURA

[1] Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2007; 16(10-11): 511–513.

Vzorek 2: Sputum od 60letého pacienta – kuřáka s respirační insuficiencí, bolestmi hlavy a stavem zmatenosti

Odpověď: *Legionella pneumophila*
 Vzorek dále obsahoval: *Streptococcus mutans*

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Legionella pneumophila</i>	104	2	86,7%
<i>Legionella sp.</i>	14	2	11,7%
<i>Nocardia asteroides complex</i>	1	0	0,8%
patogen neprokázán	1	0	0,8%
Celkem	120		100 %

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

Legionářská nemoc, jejímž původcem jsou kmeny *Legionella species* (*L.pneumophila* se podílí na více než 90% všech případů), je závažné plicní onemocnění, často s postižením dalších orgánů. Toto onemocnění bylo popr-

vé popsáno v r. 1976 ve Filadelfii v USA, kde při sjezdu účastníků Americké Legie vznikla rozsáhlá epidemie akutní pneumonie s vysokou smrtností; zdrojem infekce byl aerosol z hotelové klimatizace. Mírnější formou legionelózy je tzv. Pontiacká horečka, která má celkově lehčí průběh a plíce nejsou zasaženy. V současnosti existuje již 50 validně popsanych druhů, každý s 1 až 2 sérotypy, výjimkou je *L. pneumophila* se 16 sérotypy.

Identifikace legionel při rutinním vyšetřování klinického materiálu je prakticky nemožná, legionely nerostou na krevním agaru ani na ostatních běžně používaných půdách. Při podezření na legionelózu se identifikace opírá především o kultivaci primárního materiálu (sputum, tracheální aspirát, sekční materiál) na speciální půdě na tzv. BCYE agaru, který kromě kvasničného extraktu, aktivního uhlí a pyrofosfátu železitého musí obsahovat aminokyselinu L-cystein, bez jehož přídavku legionela neroste. Na BCYE agaru v 5 % CO₂ rostou kolonie minimálně po dobu 5 dní, některé kmeny mohou vyrůstat ale až po 10 dnech. Další možností identifikace je průkaz antigenu v moči. Test je pozitivní 4–5 den po vzniku onemocnění a je validován pro *L.pneumophila* sg.1. Je možný i nepřímý průkaz tj. vzestup hladiny protilátek v séru. Test je pozitivní asi u 80 % pacientů; vzestup protilátek může trvat 2 až 3 týdny, proto se pro včasnou diagnostiku příliš nedoporučuje.

Druhá identifikace bývá obtížná. Legionely jsou biochemicky poměrně inertní a není možné určení s použitím komerčních biochemických testů, proto pro bližší identifikaci je vhodné zaslat kmen do NRL pro legionely.

Plného počtu bodů dosáhlo 98,4 % všech laboratoří (postačující byla identifikace do rodu), v jednom případě bylo nesprávně identifikováno agens a jedna laboratoř patogen nevykultivovala. Je potěšitelné, že oproti EHK v roce 2005, kdy toto agens určilo pouze 78 % všech laboratoří, došlo k výraznému zlepšení úspěšnosti.

Vzorek 3: Stoličky od pacienta s vodnatým průjmem a bolestmi břicha

Odpověď: *Salmonella Newport*
 Vzorek dále obsahoval: *Escherichia coli*,
Enterococcus faecalis

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Salmonella Newport</i>	114	2	95%
<i>Salmonella sp. sk. C2</i>	2	1	1,7%
<i>Salmonella Fillmore</i>	2	1	1,7%
<i>Salmonella sk. C2</i>	1	1	0,8%
<i>Salmonella spp.</i>	1	1	0,8%
Celkem	120		100 %

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

Přestože v České Republice počet vykazovaných salmonelóz klesá, nedochází k redukci spektra prevalujících sérotypů. Od roku 2008 dochází k postupnému nárůstu některých salmonel ze skupiny O:8 (C2-C3) mezi 5 nejčastějších serotypů. Typickým představitelem, který byl zvolen k simulaci vzorku č. 3 poprvé, je *Salmonella* Newport.

Z výsledků je patrné, že pro převážnou většinu klinických laboratoří není identifikace tohoto sérotypu problémem. Jednalo se o kmen vykazující typické biochemické i sérologické vlastnosti, který spolehlivě identifikovalo 95 % zúčastněných laboratoří.

Jediná laboratoř nedokázala zařadit kmen ani do O skupiny (0,8 %), tři laboratoře (2,5 %) zařadily kmen podle somatického antigenu do skupiny C2.

Ve dvou zbylých případech – *S. Fillmore* – se jedná o blízké, nicméně chybné, určení bičíkových antigenů 2. fáze (H enx), čímž došlo k vyhodnocení sérotypu, který dosud nebyl v ČR zaznamenán. Mohlo to být způsobeno nedostatečnou sérovou inverzí nebo užitím nekvalitních polyvalentních resp. faktorových sér. I v případě pečlivého provádění sérotypizace, které při zpracování vzorků EHK předpokládáme, je vidět, že lze dojít k chybnému závěru, který vrcholil v běžné rutinní činnosti nahlášením případu do Epidat. Zde má opodstatnění požadavek NRL pro salmonely, aby jí všechny méně běžné izoláty byly zaslány k ověření.

Celkový výsledek přesto svědčí o dobré úrovni a možnostech identifikace salmonel v terénu.

Vzorek 4: Izolát ze sputa od pacienta s cystickou fibrózou
Odpověď: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	120	2	100%
Celkem	120		100 %

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

Požadavek byl identifikovat druh zasláního kmene a zjistit jeho citlivost k piperacilinu (v kombinaci s tazobaktamem) a k ceftazidimu. Kmen 4 je *Pseudomonas aeruginosa* rezistentní k piperacilinu a citlivý k ceftazidimu. Ze 120 zúčastněných laboratoří uvedlo správné výsledky vyšetření citlivosti k piperacilinu (v kombinaci s tazobaktamem) 111 (92,5 %) a k ceftazidimu 117 (97,5 %). Celkové výsledky vyšetření citlivosti jsou v tabulce 1, která obsahuje limitní hodnoty průměrů inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny *P. aeruginosa*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Vzorek 5: *Pseudomonas aeruginosa*

Požadavek byl zjistit citlivost kmene 5 k piperacilinu (v kombinaci s tazobaktamem) a k ceftazidimu. Kmen byl citlivý k oběma antibiotikům. Ze 120 zúčastněných laboratoří uvedlo správné výsledky vyšetření citlivosti k piperacilinu (v kombinaci s tazobaktamem) 119 (99,2 %) a k ceftazidimu 118 (98,3 %). Celkové výsledky vyšetření citlivosti jsou v tabulce 2, která obsahuje limitní hodnoty průměrů inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny *P. aeruginosa*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

ZÁVĚR

Oba kmeny *P. aeruginosa* získala NRL pro antibiotika v rámci kontroly kvality evropských laboratoří začleněných do systému EARS-Net (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network). Podle těchto výsledků, které NRL/ATB respektuje, byl kmen 4 (původní číslo 9451) rezistentní k piperacilinu (v kombinaci s tazobaktamem) a citlivý k ceftazidimu, a kmen 5 (původní číslo 9452) byl k oběma těmto antibiotikům citlivý.

Kritéria EUCAST [1], použitá k hodnocení v rámci evropské kontroly kvality, akceptuje také European Medicines Agency [3], instituce odpovědná za registraci léků v Evropě. Podle kritérií CLSI [2], je kmen 4 sice citlivý, zjištěná MIC piperacilinu (s tazobaktamem) v hodnotě 64/4 mg/l je však hraniční.

Tabulka 1: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 4 *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Antibiotikum	Zdroj	Průměry IZ (mm)			MIC (mg/l)		Správné výsledky		
		obsah disku µg	limit pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL**	limit pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL***	kategorie	počet laboratoří	%
piperacilin/ tazobaktam	EUCAST [1]	30/6*	>= 19	16 - 17	<= 16/4*	64/4 – 64/4*	R	111/120	92,5
	CLSI [2]	100/10*	>= 18	21 - 22	<= 64/4*				
ceftazidim	EUCAST [1]	10	>= 16	27 - 29	<= 8	4 - 4	C	117/120	97,5
	CLSI [2]	30	>= 18	32 - 32	<= 8				

* poměr piperacilinu a tazobactamu, při vyšetření MIC je tazobactam přidáván k piperacilinu ve fixní koncentraci 4 mg/l;

** 5 měření diskovou difuzní metodou; *** 5 měření diluční mikrometodou; C: citlivý, R: rezistentní.

Tabulka 2: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 5 PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Antibiotikum	Zdroj	Průměry IZ (mm)			MIC (mg/l)		Správné výsledky		
		obsah disku µg	limit pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL**	limit pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL***	kategorie	počet laboratoří	%
piperacilin/tazobaktam	EUCAST [1]	30/6*	>= 19	26 - 28	<= 16/4*	8 - 8	C	119/120	99,2
	CLSI [2]	100/10*	>= 18	30 - 31	<= 64/4*				
ceftazidim	EUCAST [1]	10	>= 16	26 - 28	<= 8	4 - 4	C	118/120	98,3
	CLSI [2]	30	>= 18	32 - 33	<= 8				

* poměr piperacilinu a tazobactamu, při vyšetření MIC je tazobactam přidáván k piperacilinu ve fixní koncentraci 4 mg/l;

** 5 měření diskovou difuzní metodou; *** 5 měření diluční mikrometodou; C: citlivý, R: rezistentní.

LITERATURA

[1] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 1,1 April 2010; dostupné na http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/

[2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twentieth informational supplement. CLSI Document M100-S20. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, Pa, 2010.

[3] Interaction between EMEA/CHMP and EUCAST in the harmonisation of European breakpoints. Dostupné na: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/4ESCMID_Library/3Publications/EUCAST_Documents/Other_Documents/EMEA_CHMP_EUCAST_SOP_on_Harmonising_European_Breakpoints_2007.pdf

*MUDr. Helena Žemličková, PhD.
Česká národní sbírka typových kultur
OML CLČ SZÚ*