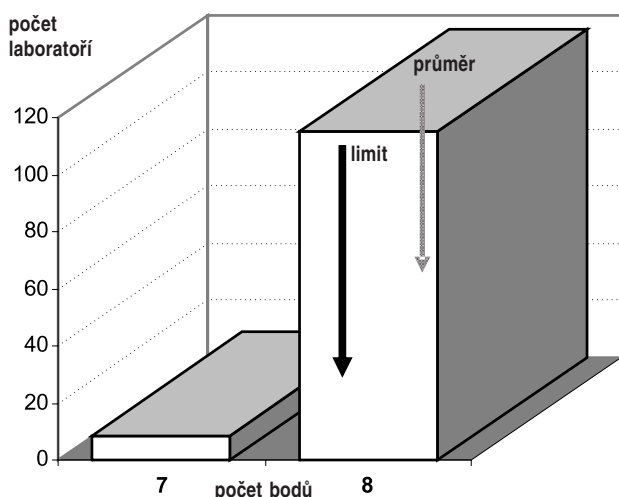


EHK – 709 Bakteriologická diagnostika – vyhodnocení

Helena Žemličková, Renata Kolínská, Monika Marejková, Petr Petráš, Pavla Urbášková

Celkem byly rozeslány vzorky 126 laboratořím. 124 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 6 bodů (vzorek 4 a 5). Bodování pro identifikaci bylo provedeno ve stupnici 2, 1, 0 a –1 bodů.

Graf 1: POČET BODŮ ZA SPRÁVNOU IDENTIFIKACI



Maximálního počtu bodů při identifikaci dosáhlo 115, tj. 92,7 % laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 7,405 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj. $7,927 - (2 \times 0,261) = 7,405$). Tohoto limitu dosáhlo 115 laboratoří, 9 laboratoří tento limit nespĺnilo.

VÝSLEDKY ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

Vzorek 1: Izolát z moče od 80letého polymorbidního pacienta s nokturii
Odpověď: <i>Aerococcus urinae</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Aerococcus urinae</i>	122	2	98,4 %
<i>Aerococcus sp.</i>	1	1	0,8 %
<i>Streptococcus urinae</i>	1	1	0,8 %
Celkem	124		100 %

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

Většina laboratoří (122 ze 124, tj. 98,4 %) identifikovala kmen správně jako *A. urinae*. 1 laboratoř kmen označila pouze jako *Aerococcus sp.*, 1 laboratoř použila nesprávný rodový název, obě tyto laboratoře získaly pouze po jednom bodu.

Podrobnější popis *A. urinae* byl publikován ve Zprávách EM 4/2009 [1]

LITERATURA:

[1] Žemličková H, Kolínská R, Marejková M, Urbášková P. EHK – 599 Bakteriologická diagnostika – vyhodnocení. *Zprávy EM (SZÚ, Praha)* 2009; 18(4):143–145.

Vzorek 2: Hnis od pacienta s perianálním abscesem

**Odpověď: *Clostridium perfringens*
+ *Pseudomonas aeruginosa***

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Clostridium perfringens</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	118	2	95,2 %
<i>Clostridium perfringens</i>	4	1	3,2 %
<i>Clostridium ramosum</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1	0,8 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1	0,8 %
Celkem	124		100 %

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

Vzorek obsahující obě agens správně identifikovalo 118 laboratoří, 4 laboratoře uvedly jako vyvolávající agens pouze *C. perfringens* a získaly tak po bodu, stejně tak jako laboratoř, která uvedla pouze *P. aeruginosa*. Po 1 bodu získala také laboratoř, která uvedla jiný druh rodu *Clostridium*. Kolonie *C. perfringens* (na rozdíl od *C. ramosum*) jsou na krevním agaru obklopeny dvojitou zónou beta-hemolýzy, *C. perfringens* hydrolyzuje želatinu a vykazuje lecitinázovou aktivitu – je proto řazeno do skupiny proteolytických klostridií.

Vzorek 3: Stoličky od pacienta s průjmem, křečemi břicha a horečkou
Odpověď: <i>Shigella sonnei</i> Vzorek dále obsahoval: <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Morganella morganii</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Shigella sonnei</i>	123	2	99,2 %
<i>Shigella sonnei</i> + <i>Salmonella Typhimurium</i>	1	1	0,8 %
Celkem	124		100 %

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

V posledních letech se incidence shigelóz oproti 70. a 80. letům minulého století výrazně snížila, ale stále se pohybuje za celou ČR ve stovkách případů za rok. V loňském roce došlo dokonce ke vzestupu, kdy oproti 178 případům zaznamenaným v EPIDATu v roce 2009 se počet zvýšil o 150 % až na 450 případů. V roce 2010 byly větší epidemie shigelózy v Jihočeském, Moravsko-slezském

a Olomouckém kraji (celkem 326 případů) a dále i ve Středočeském a Plzeňském kraji (celkem 69). 23 případů bacilární úplavice bylo nahlášeno i v hl. městě Praze [1].

Shigella byla zaslána k identifikaci již v EHK–02 v listopadu 1993. Tenkrát to byl kmen *Shigella boydii* a určilo jej správně 75 % z 57 zúčastněných laboratoří. V následujících sériích EHK byla shigela zaslána opakovaně, postupně to byly všechny 4 sérotypy, včetně *S. dysenteriae*. Úspěšnost většinou přesáhla 90 %.

V EHK–709 byl zaslán kmen *Shigella sonnei*, ve vzorku byla dále přítomna *Klebsiella oxytoca* a *Morganella morganii*. Kmen *Shigella sonnei* určilo správně 99,2 % ze 124 zúčastněných laboratoří, přičemž některé z nich správně znamenaly, že se vlastně jedná o kmen *E. coli*. Podle molekulárně-genetických analýz se na základě příbuznosti DNA prokázalo, že *E. coli* a čtyři druhy rodu *Shigella* jsou totožným taxonem, takže jednotlivé druhy shigel jsou vlastně séroskupiny patogenních klonů *E. coli*. Pro snadnou komunikaci a z historických důvodů, i když taxonomicky nesprávně, zůstávají shigely v lékařské mikrobiologii samostatným rodem [2].

LITERATURA:

- [1] Výskyt povinně hlášených infekcí v ČR (EPIDAT), dostupné na: <http://www.szu.cz/publikace/data/infekce-v-cr>
- [2] Sedláček I.: *Escherichia* a *Shigella* – pro klinickou bakteriologii dva dlouho známé rody, přesto taxonomicky stále problematické. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2011; 20(3): 100–103.

Vzorek 4: Izolát z krve od 50letého muže s leukémií v septickém stavu
Odpověď: <i>Staphylococcus haemolyticus</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	124	2	100 %
Celkem	124		100 %

Tabulka 1: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 4 *STAPHYLOCOCCUS HAEMOLYTICUS*

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	%
cefoxitin	EUCAST [1]	30	≥ 25	14 - 15	ND	NV	R	124/124	100,0
	CLSI [2]								
oxacilin	EUCAST [1]	ND	ND	NV	≤ 2	> 32 - > 32			
	CLSI [2]								
klindamycin	EUCAST [1]	2	≥ 22	6 - 6	0,25	> 32 - > 32			
	CLSI [2]		≥ 21		0,5				
ko-trimoxazol	EUCAST [1]	25	≥ 17	6 - 6	2***	> 2 - > 2****			
	CLSI [2]		≥ 16		2/38				

* 5 měření diskovou difuzní metodou; ** 5 měření diluční mikrometodou; *** vztaženo na obsah trimetoprimu v kombinaci (dříve používaný breakpoint pro citlivé kmeny MIC ≤ 32 mg/l byl vztažen na sulfametoxazol); **** odpovídá hodnotě > 32 mg/l vztažen na sulfametoxazol; ND: neudáno; NV: nevyšetřeno; R: rezistentní.

Z 20 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 zjistit jeho citlivost k oxacilinu, klindamycinu a ko-trimoxazolu. Kmen 4 je *Staphylococcus haemolyticus*, rezistentní ke všem vyšetřovaným antibiotikům. Všechny laboratoře identifikovaly a vyšetřily kmen 4 správně. Celkové výsledky vyšetření citlivosti jsou v tabulce 1, která obsahuje limitní hodnoty průměrů inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny koaguláza-negativních stafylokoků, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Koaguláza-negativní stafylokoky (KNS) jsou podmíněnými patogeny, které u oslabených lidí mohou vyvolat (kromě toxikóz) v podstatě stejná onemocnění jako kmeny *Staphylococcus aureus*. Typickým případem jsou infekce krevního řečiště u hospitalizovaných pacientů po imunosupresivní terapii. Kmeny *S. haemolyticus* patří, podle výsledků NRL pro stafylokoky, ke čtyřem nejčastěji izolovaným KNS z humánního klinického materiálu. Od tří dalších (*S. epidermidis*, *S. hominis* subsp. *hominis* a *S. hominis* subsp. *novobiosepticus*) se dají jednoduše odlišit: neprodukují ureázu a mají pozitivní PYRtest. Kmeny *S. haemolyticus*, původci nemocničních infekcí, jsou často rezistentní k oxacilinu i dalším antibiotikům.

Vzorek 5: *Staphylococcus aureus*

Požadavek byl zjistit citlivost kmene 5 k oxacilinu, klindamycinu a ko-trimoxazolu. Všechny 124 zúčastněných laboratoří uvedlo správné výsledky vyšetření citlivosti u klindamycinu a ko-trimoxazolu a 10 laboratoří chybně označilo tento kmen jako citlivý k oxacilinu.

ZÁVĚR

Do této série EHK byly zařazeny kmeny rezistentní k oxacilinu. MIC oxacilinu a průměr inhibiční zóny cefoxitinu u kmene 5 v blízkosti limitu pro citlivé kmeny byly příčinou chybných výsledků u 10 laboratoří. Pro nápravu lze doporučit pečlivé dodržování vyšetřovacího postupu, případně vyšetření *mecA* genu nebo jeho produktu u podobně nejistých výsledků fenotypových testů.

LITERATURA

- [1] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 1,3 January 2011; 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.

Tabulka 2: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 5 STAPHYLOCOCCUS AUREUS

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	%
cefoxitin	EUCAST [1]	30	≥ 22	19 - 21	ND	NV	R	114/124	91,9
	CLSI [2]								
oxacilin	EUCAST [1]	ND	ND	NV	≤ 2	2 - 4	C	124/124	100,0
	CLSI [2]	1	≥ 13						
klindamycin	EUCAST [1]	2	≥ 22	28 - 29	0,25	0,125 - 0,125	C	124/124	100,0
	CLSI [2]		≥ 21		0,5				
ko-trimoxazol	EUCAST [1]	25	≥ 17	32 - 33	2***	0,063-0,063****	C	124/124	100,0

* 5 měření diskovou difuzní metodou; ** 5 měření diluční mikrometodou; *** vztaženo na obsah trimetoprimu v kombinaci (dříve používaný breakpoint pro citlivé kmeny MIC ≤ 32 mg/l byl vztažen na sulfametoxazol); **** odpovídá hodnotě 1 mg/l vztažená na sulfametoxazol; ND: neudáno; NV: nevyšetřeno; R: rezistentní.

MUDr. Helena Žemličková, PhD.
Mgr. Renáta Kolínská
ing. Monika Marejková
RNDr. Petr Petráš, CSc.
RNDr. Pavla Urbášková, CSc.
SZÚ – CEM