

EXTERNÍ HODNOCENÍ KVALITY

EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT

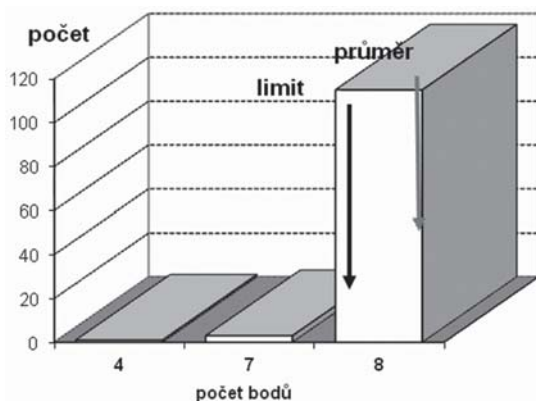
EHK – 798 Bakteriologická diagnostika

Renáta Kolínská, Monika Marejková, Pavla Urbášková, Jana Zavadilová

HODNOCENÍ

Celkem byly rozeslány vzorky 120 laboratořím, 119 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.

Graf 1: POČET BODŮ ZA SPRÁVNOU IDENTIFIKACI



Maximálního počtu bodů při identifikaci dosáhlo 115, tj. 96,6 % laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 7,147 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj. $7,941 - (2 \times 0,397) = 7,147$). Tohoto limitu dosáhlo 115 laboratoří, 4 laboratoře tento limit nespĺnily.

VÝSLEDKY ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

Vzorek 1: Výtěr z krku od pacienta s povlakovou angínou
Odpověď: <i>Corynebacterium diphtheriae</i> gravis netoxické
Vzorek dále obsahoval: <i>Streptococcus oralis</i> , <i>Neisseria lactamica</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> gravis	16	2	13,4%
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	103	2	86,6%
Celkem	119		100%

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

Všechny laboratoře (119, tj. 100 %) identifikovaly kmen správně jako *Corynebacterium diphtheriae*. Na úroveň biotypu určilo kmen 16 laboratoří (tj. 13,4 %), 25 laboratoří (tj. 21 %) správně poznamenalo, že by kmen odeslali do NRL pro pertusi a diftérii na ověření produkce toxinu.

Od roku 1995 se laboratoře velmi zlepšily v identifikaci *Corynebacterium diphtheriae*.

Podíly správných odpovědí jsou následující:

V roce 1995 – 76 %

V roce 1999 – 95 %

V roce 2006 – 99 %

V roce 2013 – 100 %

Výrazně stoupající úspěšnost laboratoří v identifikaci *C. diphtheriae* je vítanou skutečností, a to i přesto, že poslední záchyt záškrtu u nás byl v roce 1995.

Toxinogenní formy *C. diphtheriae* v současnosti v naší populaci necirkulují. Nicméně to neznamená, že jejich cirkulace se nedá vyloučit. V případě, že by došlo k importu toxinogenního kmene a jeho náhodnému setkání s našimi kmeny, mohl by jim předat gen kódující produkci toxinu. To bylo v minulosti opakovaně prokázáno. Je tedy třeba věnovat nálezům *C. diphtheriae* pozornost.

C. diphtheriae roste na Columbia krevním agaru (kolonie se podobají koloniím koagulázanegativních stafylokoků) a na Claubergově agaru obohaceným teluricitanem draselným (kolonie tmavě až černě zbarvené). K potvrzení druhové identifikace a k určení typu se používají biochemické testy. *Corynebacterium diphtheriae* může produkovat difterický toxin, proto každý izolovaný kmen *C. diphtheriae* je třeba posílat do NRL pro pertusi a diftérii na ověření toxinogenity.

Vzorek 2: Izolát z hnisu z jaterního abscesu
Odpověď: <i>Bacteroides fragilis</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Bacteroides fragilis</i>	118	2	99,2%
<i>Bacteroides</i> sp.	1	2	0,8%
Celkem	119		100%

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

Všechny laboratoře odpověděly správně (rodová identifikace byla u tohoto vzorku postačující), a získaly tak po 2 bodech.

Vzorek 3: Stoolice od dětského pacienta s krvavým průjmem a horečkou

Odpověď: *Escherichia coli* O157

Vzorek dále obsahoval: *Escherichia coli*,
Enterococcus faecalis

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Escherichia coli</i> O157	88	2	74,0%
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	26	2	22,0%
verotoxin <i>Escherichia coli</i> O157	1	2	0,8%
<i>Escherichia coli</i>	1	1	0,8%
<i>Escherichia coli</i> O55, hemolytické	1	1	0,8%
<i>Escherichia coli</i> v.s.O128, hemolytické	1	1	0,8%
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	0	0,8%
Celkem	119		100%

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

E.coli O157:H7 patří k hlavním sérotypům enterohemoragických *E.coli* (EHEC). Toto nebezpečné agens, produkující Shiga toxiny, vyvolává u lidí hemoragické i nekrvavé průjmy a hemolyticko-uremický syndrom (HUS). *E.coli* O157:H7 je dominantním, ale zdaleka ne jediným sérotypem EHEC, který je popisován ve světě jako původce HUS.

V České republice jim konkurují kmeny EHEC séroskupiny O26.

Řada laboratoří správně uvedla, že kmen by bylo nutné poslat do NRL ke zjištění toxigenity. (Pro účely EHK byl poskytnut netoxinogenní kmen *E.coli* O157:H7).

U *E.coli* O157 jsou známy i jiné bičíkové („H“) antigeny, nikoliv pouze H7, který je nejobvyklejší. Proto doporučujeme uvádět antigenní strukturu ve formě „O:H“ pouze v případě, že i bičíkový antigen byl aglutinací potvrzen.

Hemolytický kmen *E. coli*, přidáný do vzorku jako komenzál, byl séroskupiny O6.

Oproti předchozím sériím EHK, kdy byla *E. coli* O157 určena v 99 % (v r. 2009), resp. ve 100 % (v r. 2005) se v této sérii úspěšnost poněkud snížila na 96,8 %.

Vzorek 4: Izolát z krve od staršího pacienta se sepsí

Odpověď: *Listeria monocytogenes*

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Listeria monocytogenes</i>	118	2	99,2%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	0	0,8%
Celkem	119		100%

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

Požadavek byl identifikovat kmen *Listeria monocytogenes*, signifikantního patogena obsaženého ve vzorku 4, a zjistit jeho citlivost k ampicilinu a ke kotrimoxazolu. Kmen 4 je citlivý k oběma antibiotikům. Výsledek vyšetření citlivosti k ampicilinu uvedlo správně 117 laboratoří, dvě laboratoře neinterpretovaly výsledek vyšetření citlivosti požadovaným způsobem. Sedm laboratoří označilo kmen 4 chybně jako rezistentní ke kotrimoxazolu a další dvě laboratoře neinterpretovaly výsledek vyšetření citlivosti požadovaným způsobem. Tabulka 1 uvádí limitní hodnoty průměrů inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny listérií, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Vzorek 5: *Streptococcus agalactiae*

Vzorek 5 obsahoval kmen *Streptococcus agalactiae*, citlivý k penicilinu a rezistentní k erytromycinu. Tento kmen chybně označila jedna laboratoř jako rezistentní k penicilinu a tři laboratoře jako citlivý k erytromycinu. Další dvě laboratoře neinterpretovaly výsledek vyšetření citlivosti požado-

Tabulka 1: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 4 *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Antibiotikum	Zdroj	Průměry IZ (mm)			MIC (mg/l)		Správné výsledky		
		obsah disku	limit pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	limit pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL**	kategorie	počet laboratoří	%
ampicilin	EUCAST [1]	2 µg	≥ 18	19 - 21	≤ 0,25	0,25 - 0,25	C	117	98,3
	CLSI [2]	ND	ND	NT	≤ 0,25				
kotrimoxazol	EUCAST [1]	25 µg***	≥ 29	31 - 31	≤ 0,25****	0,032 - 0,032****	C	110	92,4
	CLSI [2]	ND	ND	NT	≤ 0,5****				

IZ: inhibiční zóna; MIC: minimální inhibiční koncentrace; * 5 měření diskovou difúzní metodou, ** 5 měření diluční mikrometodou; *** 1,25 mg trimethoprimu a 23,75 mg sulfamethoxazolu; **** MIC kotrimoxazolu je vztaženo na obsah trimethoprimu v kombinaci, ve které je poměr trimethoprim/sulfamethoxazol 1/19 (MIC trimethoprimu 0,032 mg/l odpovídá MIC sulfamethoxazolu 0,5 mg/l, MIC trimethoprimu 0,25 odpovídá MIC sulfamethoxazolu 4 mg/l a MIC trimethoprimu 0,5 mg/l odpovídá MIC sulfamethoxazolu 8 mg/l; hodnoty sulfamethoxazolu jsou zaokrouhleny podle koncentrací dvojnásobně geometrické řady); ND: neudáno; NT: nevyšetřeno; C: citlivý.

Tabulka 2: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 5 *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE*

Antibiotikum	Zdroj	Průměry IZ (mm)			MIC (mg/l)		Správné výsledky		
		obsah disku	limit pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	limit pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL**	kategorie	počet laboratoří	%
penicilin	EUCAST [1]	1 J	≥ 18	18 - 19	≤ 0,25	0,063 - 0,063	C	116	97,5
	CLSI [3]	10 J	24		≤ 0,125				
erytromycin	EUCAST [1]	15 µg	≥ 21	19 - 19	≤ 0,25	0,5 - 0,5	R	114	95,8
	CLSI [3]								

IZ: inhibiční zóna; MIC: minimální inhibiční koncentrace; * 5 měření diskovou difúzní metodou, **) 5 měření mikrodiluční metodou; C: citlivý, R: rezistentní.

vaným způsobem. Tabulka 2 uvádí limitní hodnoty průměrů inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny hemolytických streptokoků, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

ZÁVĚR

Chybné výsledky u kmene 4 a kotrimoxazolu mohlo způsobit příliš koncentrované inokulum, nebo vyšetření na půdě obsahující antagonisty trimethoprimu a sulfamethoxazolu. Tento kmen byl ke kotrimoxazolu velmi dobře citlivý a nízké hodnoty MIC, resp. velký průměr inhibiční zóny byly tudíž ve zřetelné vzdálenosti od příslušných breakpointů kotrimoxazolu. V souladu s praxí užívanou v mezinárodních kontrolách kvality práce mikrobiologických laboratoří, prováděných renomovanými institucemi (např. Colindale, Velká Británie, nebo CDC, USA), byly také jako chybné označeny výsledky dvou laboratoří uvedené v jiné než předepsané formě.

LITERATURA

- [1] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 3.1, valid from 2013-02-11. Dostupné na: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/Breakpoint_table_v_3.1.pdf český překlad tohoto dokumentu je na: http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/atb/EUCAST/Tabulka_breakpointu_EUCAST_v_3.1.xls
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; approved guideline. CLSI Document M45-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, Pa, 2006
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-third informational supplement. CLSI Document M100-S23. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, Pa, 2013.

Zprávu vypracovaly:

Mgr. Renáta Kolínská
Ing. Monika Marejková
RNDr. Pavla Urbášková, CSc.
Mgr. Jana Zavadilová
SZÚ–CEM