

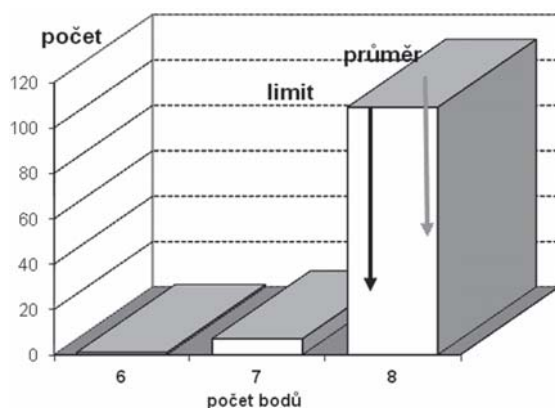
EHK – 824 Bakteriologická diagnostika

Renáta Kolínská, Monika Marejková, Petr Petráš, Pavla Urbášková

HODNOCENÍ

Celkem byly vzorky rozeslány 117 laboratořím, všechny laboratoře odeslaly výsledek do závěrečného termínu. Za identifikaci signifikantního patogena ve 4 vzorcích mohly laboratoře získat maximálně 8 bodů; za vyšetření citlivosti mohly laboratoře obdržet celkem 2 body (vzorek 4). Výsledky vyšetření citlivosti u vzorku 5 se uvádějí pouze v procentech správných odpovědí s komentářem. 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 109, tj. 93,1 % laboratořím. Limit pro úspěšné absolvování byl 7,327 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj. $7,923 - (2 \times 0,298) = 7,327$). Tohoto limitu dosáhlo 109 laboratořím, 8 laboratořím tento limit nesplnilo.

VÝSLEDKY ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

Vzorek 1: Výtěr z krku od 18letého pacienta s bolestí v krku a horečkou
Odpověď: <i>Arcanobacterium haemolyticum</i>
Vzorek dále obsahoval: <i>Streptococcus oralis</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	114	2	97,4 %
<i>Arcanobacter haemolyticum</i>	3	1	2,6 %
Celkem	117		100 %

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

Většina laboratořím (114 ze 117) odpověděla správně a za patogenní agens označila *Arcanobacterium haemolyticum*. Tři laboratoře ale použily nesprávný, i když podobný název, a získaly tak po jednom bodu.

Vzorek 2: Izolát z hemokultury od pacienta v septickém stavu

Odpověď: *Staphylococcus haemolyticus*

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	117	2	100 %
Celkem	117		100 %

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

Staphylococcus haemolyticus byl popsán v roce 1975 v publikaci autorů Schleifer a Kloos [1] spolu se *S. cohnii* a *S. xylosus* jako čtvrtý až šestý koagulázanegativní stafylokok (KNS).

S. haemolyticus patří k nejčastěji izolovaným KNS z humánního klinického materiálu. Podle dlouhodobých tabulek NRL pro stafylokoky je na druhém místě za kmeny *S. epidermidis*, přibližně s 23 % ze všech izolátů KNS. Tyto kmeny, které jsou obvykle značně rezistentní, bývají příčinou nemocničních infekcí. Závažné jsou samozřejmě především infekce krevního řečiště. Na rozdíl od obou dalších nejčastěji izolovaných KNS, t.j. *S. epidermidis* a *S. hominis* subsp. *hominis*, má *S. haemolyticus* pozitivní PYRtest a neprodukuje ureázu. Dá se dobře odlišit i pomocí schématu ORIDES [2]. Také metodou MALDI vychází identifikace těchto kmenů v „zeleném score value“ na tři křížky.

LITERATURA

- [1] Schleifer KH, Kloos WE. Isolation and characterisation of Staphylococci from human Skin. I. *Inter J Syst Bacteriol.* 1975; 25(1): 50–61.
- [2] Petráš P. ORIDES – orientační identifikace koagulázanegativních stafylokoků – verze 2010. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2010; 19(12): 373–378.

Vzorek 3: Stoličice od 3letého s krvavým průjmem a bolestmi břicha

Odpověď: *Escherichia coli* O26

Vzorek dále obsahoval: *Enterococcus faecalis*,
Morganella morganii

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Escherichia coli</i> O26	112	2	95,7 %
<i>Escherichia coli</i> O126	1	1	0,8 %
<i>Escherichia coli</i> O26 + <i>Morganella morganii</i>	1	1	0,8 %
EPEC O26	2	1	1,7 %
<i>Proteus mirabilis</i>	1	0	0,8 %
Celkem	117		100 %

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

E.coli O26 patří ve světě k nejfrekventovanějším séro skupinám Shiga toxin-produkujících *E.coli*, které se vyskytují jako původci průjmu, krvavého průjmu a hemolyticko-uremického syndromu (HUS). Tyto vysoce virulentní kmeny se označují enterohemoragické *E.coli* (EHEC). V České republice séro skupina O26 dominuje mezi kmeny *E.coli* izolovanými od pacientů s HUS, na druhém místě je O157. Na základě vyhlášky 473/2008 Sb. „O systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce“ ve znění novely 275/2010 Sb. mají být suspektní kmeny EHEC, zejména *E.coli* séro skupin O157, O26, O103, O111 a O145, neprodleně zaslány do NRL pro *E.coli* a shigely k průkazu Shiga toxinů.

Upozorňujeme na to, že označení mikroorganismu resp. patogena pouze EPEC je taxonomicky nesprávné a navíc, pokud nebyla vyloučena produkce Shiga toxinů či přítomnost genů kódujících Shiga toxiny, je i zavádějící, proto byl 2 laboratořím udělen pouze jeden bod.

Rovněž laboratoř, která opět bez označení připsala do výsledku komenzála, získala pouze 1 bod.

Vzhledem k tomu, že séro skupina O26 patří mezi nejčastější séro skupiny u kmenů EPEC ale i EHEC, měly by laboratoře příslušné antisérum používat v rutinní diagnostice *E.coli*.

Z bezpečnostních důvodů nebyl do EHK poskytnut kmen s produkcí Shiga toxinů.

Vzorek 4: Izolát ze stolice od pacienta s vodnatým průjmem s příměsí krve

Odpověď: *Campylobacter* spp. (*C.jejuni*)

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Campylobacter</i> spp.	78	2	66,6 %
<i>Campylobacter jejuni</i>	39		33,3 %
Celkem	117		100 %

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

Požadavek byl identifikovat rod zasláného kmene a zjistit jeho citlivost k ciprofloxacinu a tetracyklinu. Kmen 4 je *Campylobacter jejuni*, rezistentní k ciprofloxacinu a citlivý k tetracyklinu. Všechny laboratoře identifikovaly kmen 4 správně, 39 laboratoří uvedlo i druhový název. Rezistenci k ciprofloxacinu potvrdilo 114 laboratoří, dvě kmen označily jako citlivý. Výsledek jedné laboratoře, která uvedla znaménko mínus (-), se nehodnotil. Citlivost k tetracyklinu uvedlo správně 113 laboratoří, tři označily kmen jako rezistentní a výsledek laboratoře, která uvedla znaménko plus (+), se nehodnotil. Celkové výsledky vyšetření citlivosti u kmene 4 jsou v tabulce 1, která obsahuje limitní hodnoty průměrů inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny *C. jejuni*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Vzorek 5: *Campylobacter fetus*

Požadavek byl vyšetřit citlivost k ciprofloxacinu a k erytromycinu a výsledky interpretovat podle breakpointů ciprofloxacinu a erytromycinu pro *Campylobacter jejuni*/*C. coli*. Podle těchto udaných kritérií byl kmen 5 k oběma antibiotikům citlivý. Dvěma laboratořím kmen nevyrostl. Citlivost kmene 5 k ciprofloxacinu potvrdilo 70 laboratoří, 43 laboratoří označilo kmen jako rezistentní, jedna laboratoř citlivost kmene nehodnotila z důvodu neexistujícího breakpointu pro druh *C. fetus*, a výsledek jedné laboratoře, která uvedla znaménko plus (+), se nehodnotil. Citlivost k erytromycinu potvrdilo 105 laboratoří, 6 laboratoří ozna-

Tabulka 1: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 4 *CAMPYLOBACTER JEJUNI*

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	%
ciprofloxacín	EUCAST [1]	5 µg	≥ 26	16 - 17	≤ 0,5	4 - 4	R	114	97,4
	CLSI [2]		ND		≤ 0,1				
tetracyklin	EUCAST [1]	30 µg	≥ 30	37 - 38	≤ 2	≤ 0,12 - ≤ 0,12	C	113	96,6
	CLSI [2]		ND		≤ 4				

IZ: inhibiční zóna; MIC: minimální inhibiční koncentrace; * 5 měření diskovou difúzní metodou, ** 5 měření diluční mikrometodou; ND: neudáno; kmeny, které nevytvářejí žádnou inhibiční zónu, jsou rezistentní, u kmenů, které vytvářejí jakoukoliv zónu > 6 mm je nutno vyšetřit MIC; C: citlivý; R: rezistentní.

Tabulka 2: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 5 *CAMPYLOBACTER FETUS*

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	%
ciprofloxacin	EUCAST [1]	5 µg	≥ 26	26 - 28	≤ 0,5	0,25 - 0,25	C	70	59,8
	CLSI [2]		ND*		≤ 1				
erytromycin	EUCAST [1] <i>C. jejuni</i>	15 µg	≥ 20	31 - 31	≤ 4	0,25 - 0,5	C	105	89,7
	EUCAST [1] <i>C. coli</i>		≥ 24		≤ 8				
	CLSI [2]		ND*		≤ 8				

IZ: inhibiční zóna; MIC: minimální inhibiční koncentrace; * 5 měření diskovou difúzní metodou, ** 5 měření diluční mikrometodou; ND: neudáno; kmeny, které nevytváří žádnou inhibiční zónu, jsou rezistentní, u kmenů, které vytvářejí jakoukoli zónu > 6 mm je nutno vyšetřit MIC; C: citlivý.

čilo kmen jako rezistentní, dvě laboratoře udaly kmen jako citlivý podle breakpointu pro *C. jejuni* a rezistentní podle breakpointu pro *C. coli*, jedna laboratoř citlivost kmene nehodnotila z důvodu neexistujícího breakpointu pro druh *C. fetus*, a výsledek jedné laboratoře, která uvedla znaménko plus (+), se nehodnotil. Celkové výsledky vyšetření citlivosti u kmene 5 jsou v tabulce 2, která obsahuje limitní hodnoty průměrů inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny *C. jejuni/C. coli*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

ZÁVĚR

V EHK-824 nečinila problémy kultivace ani identifikace kmene 4 *Campylobacter jejuni*. Také výsledky vyšetření citlivosti MIC u tohoto kmene byly vysoce uspokojivé (97,4 a 96,6 % správných odpovědí u ciprofloxacinu, resp. u tetracyklinu).

S vyšetřením citlivosti u kmene 5 měla řada laboratoří potíže a to zejména u ciprofloxacinu, pravděpodobně pro příliš koncentrované inokulum. Kmen jako citlivý označily necelé 2/3 laboratoří.

U druhů, u nichž nejsou k dispozici klinické breakpointy antibiotik, jako je tomu např. u *C. fetus*, navrhuje EUCAST 1) vyšetřit MIC daného antibiotika a klinikovi uvést pravděpodobnou interpretaci výsledku podle podobného druhu [3], nebo použít 2) obecné PK/PD breakpointy (farmakokineticko/farmakodynamické breakpointy nevztahované k druhu) [1], a v případě, že 3) PK/PD nejsou uvedeny, pak pro odlišení citlivých kmenů od kmenů se získanou rezistencí použít tzv. epidemiologický předěl (ECOFF, epidemiological cut-off) v populaci podobného druhu [3]. Výsledek se pak sděluje klinikovi s příslušným slovním komentářem, upozorňujícím na případná omezení relevant-

nosti bez ohledu na to, který způsob pro vyšetření laboratoř použije. U kmene 5 byl znám druh a pro interpretaci výsledku byly udány breakpointy *ad hoc*. Proto účastníci EHK mohli vyhodnotit výsledek citlivosti požadovaným způsobem bez jakéhokoli slovního komentáře, který by v rutinní praxi byl nezbytný u antibiotik, pro které u daného druhu neexistují klinické breakpointy.

LITERATURA

- [1] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 4.0, valid from 2014-01-01. Dostupné na http://www.eucast.org/antimicrobial_susceptibility_testing/breakpoints/, český překlad tohoto dokumentu je na: <http://www.szu.cz/tabulky-breakpointu-eucast>
- [2] 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.
- [3] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Frequently asked questions. Dostupné na: http://www.eucast.org/frequently_asked_questions_faq/, český překlad tohoto dokumentu je na: <http://www.szu.cz/casto-kladene-otazky-k-eucast-vysetrovani-citlivosti-k>

Zprávu vypracovali:

Mgr. Renáta Kolínská
 Ing. Monika Marejková
 RNDr. Petr Petráš CSc.
 RNDr. Pavla Urbášková CSc.
 Oddělení bakteriální rezistence
 a alimentárních bakteriálních nákaz
 SZÚ - CEM