

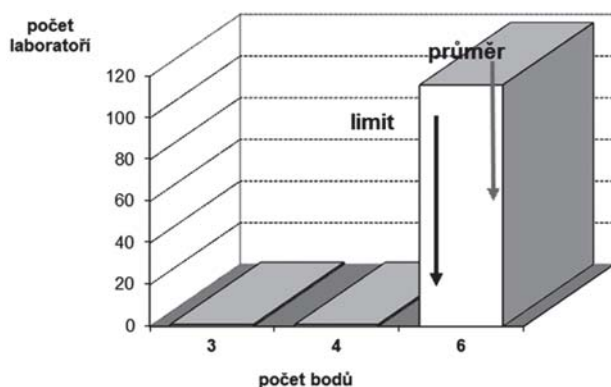
# EHK – 909 Bakteriologická diagnostika

PT#M/5-4/2015

**Renáta Šafránková, Daniela Dědičová, Pavla Urbášková**

Celkem byly vzorky rozeslány 119 laboratořím, 118 laboratoří odeslalo výsledek do závěrečného termínu, 1 laboratoř vzorky nevyšetřila. Za identifikaci signifikantního patogena ve 3 vzorcích mohly laboratoře získat maximálně 6 bodů, jeden vzorek byl edukativní; za vyšetření citlivosti mohly laboratoře obdržet celkem 3 body (vzorek 4 a 5). Hodnocení vyšetření citlivosti je pouze orientační a toto bodové ohodnocení se nezapočítává do limitu nutného pro úspěšné absolvování série EHK. 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 116, tj. 98,3% laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 5,296 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj.  $5,958 - (2 \times 0,331) = 5,296$ ). Tohoto limitu dosáhlo 116 laboratoří, 2 laboratoře tento limit nesplnily.

## VÝSLEDKY ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

<b>Vzorek 1: Výtěr z krku od pacienta s bolestí v krku a horečkou</b>
<b>Odpověď:</b> <i>β hemolytický streptokok sk. G/ Streptococcus dysgalactiae ssp. equisimilis</i>
Vzorek dále obsahoval: <i>Streptococcus oralis</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>β hemolytický streptokok sk. G</i>	70	2	59,3 %
<i>β hemolytický streptokok sk. G/ Streptococcus dysgalactiae</i>	3	2	2,5 %
<i>β hemolytický streptokok sk. G/ Streptococcus dysgalactiae ssp. equisimilis</i>	5	2	4,2 %
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	15	2	12,7 %
<i>Streptococcus dysgalactiae ssp. equisimilis</i>	4	2	3,4 %
streptokok sk. G	4	2	3,4 %
streptokok sk. G/ <i>Streptococcus dysgalactiae</i>	8	2	6,8 %
streptokok sk. G/ <i>Streptococcus dysgalactiae ssp. equisimilis</i>	7	2	5,9 %
hemolytický streptokok sk. G	1	2	0,8 %
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	1	0,8 %
<b>Celkem</b>	<b>118</b>		<b>100 %</b>

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

V této sérii se u vzorku 1 sešlo množství různorodých odpovědí (viz tabulka). Většina laboratoří vyhověla zadání a získala po 2 bodech. Laboratoř, která označila jako patogena *S. agalactiae* (sk. B), získala jeden bod.

### Vzorek 2: Výtěr z cervixu při podezření na cervicitidu

**Odpověď:** *Neisseria gonorrhoeae*

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	118	2	100 %
<b>Celkem</b>	<b>118</b>		<b>100 %</b>

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

Všechny zúčastněné laboratoře identifikovaly signifikantního patogena správně a získaly po 2 bodech.

<b>Vzorek 3:</b> Edukativní vzorek (vzorek se nehodnotí) <i>Salmonella</i> sp., určete antigenní strukturu, event. též název sérovaru
<b>Odpověď:</b> <i>Salmonella enterica</i> susp. <i>enterica</i> serovar Heidelberg 1,4,[5],12 : r : 1,2

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Salmonella</i> Heidelberg 1,4,[5],12 : r : 1,2	39	-	33,0 %
<i>Salmonella</i> Heidelberg	23	-	19,5 %
<i>Salmonella</i> sk. B ( 4,5; Hr)	23	-	19,5 %
<i>Salmonella</i> sk. O:4 (B)	20	-	17,0 %
<i>Salmonella</i> Typhimurium	3	-	2,5 %
<i>Salmonella</i> sk. C1	1	-	0,8 %
<i>Salmonella</i> sk. B; (Hv; Hz15)	1	-	0,8 %
žádný výsledek	8	-	6,9 %
Celkem	118		100 %

Jako edukativní vzorek byl rozeslán kmen *Salmonella* Heidelberg 4,12 : r : 1,2 s požadavkem stanovení antigenní struktury, případně také názvu sérovaru podle zařazení ve White-Kauffmann-Le Minor schématu antigenních formulí. Jednalo se o představitele, který náleží do Top 10 (v roce 2013 bylo do Epidatu hlášeno 24 izolátů, tzn. desátý sérovar podle četnosti), ale který je charakterizován nejběžnějšími antigenními komplexy (O:4,12; H:r; a H:1,2), které se v ČR dlouhodobě vyskytují. Problém činila druhá bičíková fáze, kde byl antigen H:2 exprimován slabě a stal se komplikací pro laboratoře, které rutinně neprovádějí anti-H fázovou inverzi (Sven-Gardova metoda).

Požadavky perfektně splnilo 39 (33%) zúčastněných laboratoří. Uvedly název, jehož nedílnou součástí je antigenní struktura, přičemž byly tolerovány i nevhodné formy zápisu: (4,5,12,r,1,2), (4,12:r:2), (O4,5,i:r,2), (4:r: 2), (4+5+r+1), které prezentovaly spíše výčet provedených aglutinačních reakcí. V mezinárodním EHK by takový výsledek byl ale shledán jako částečný a došlo by k bodové srážce. Stejně tak při uvedení pouze názvu bez antigenní struktury – v tomto případě tak odpovědělo 23 účastníků (19,5%). Připomínáme, že název sérovaru se píše s velkým počátečním písmenem.

V dalších 23 případech byla uvedena pouze O antigenní skupina a H antigen 1. fáze. Takový výsledek lze považovat v tomto případě rovněž za dostačující, jednak z výše uvedeného důvodu a také proto, že někteří účastníci uváděli, že pozorují zhoršenou účinnost antiséra H:2 u jednoho z výrobců. NRL pro salmonely nemá přímou pravomoc v kontrole kvality antisér, ani volnou kapacitu v této oblasti, ale jestliže někteří máte důvodnou pochybnost o citlivosti určité konkrétní šarže, můžeme vzájemně v této oblasti spolupracovat a zprostředkovat tyto informace dodavatelům.

20 laboratoří (17%) zařadilo kmen pouze do O skupiny, 8 laboratoří (6,8%) se k izolátu nevyjádřilo. Ve třech případech byla chybně identifikována *S. Typhimurium*, v jednom případě skupina C1 a jednou skup. B s dalšími antigeny Hv a Hz15 (dohromady 4%).

#### Vzorek 4: Izolát z krve od pacientky s bronchopneumonií, hospitalizované na JIP

**Odpověď:** *Pasteurella multocida*

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Pasteurella multocida</i>	114	2	96,6 %
<i>Pasteurella multocida</i> ssp. <i>multocida</i>	2	2	1,7 %
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1	0	0,8 %
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1	0	0,8 %
Celkem	118		100 %

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

Požadavek byl určit signifikantního patogena a vyšetřit jeho citlivost k penicilinu a k tetracyklinu. Kmen 4 *Pasteurella multocida* je citlivý k oběma požadovaným antibiotikům. S výjimkou dvou laboratoří, které kmen 4 identifikovaly jako *Haemophilus parainfluenzae*, resp. *Moraxella catarrhalis*, ostatních 116 laboratoří správně identifikovalo druh *Pasteurella multocida*. Laboratoř, která kmen identifikovala jako *Moraxella catarrhalis*, chybovala i v obou výsledcích vyšetření citlivosti. Celkové výsledky vyšetření citlivosti u kmene 4 jsou v tabulce 1, která obsahuje breakpointy inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních kon-

Tabulka 1: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 4 PASTEURELLA MULTOCIDA

Antibiotikum	Zdroj	Průměry IZ (mm)			MIC (mg/l)		Správné výsledky		
		obsah disku µg	breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL**	kategorie	počet laboratoří	%
penicilin	EUCAST [1]	1 J	≥ 17	19-20	≤ 0,5	0,125 - 0,25	C	117/118	99,2
	CLSI [3]	10 J	≥ 25	23-24					
tetracyklin	EUCAST [1]	30	≥ 24	23-24	≤ 1***	≤ 0,125 - 0,25	C	114/118	96,6
	CLSI [3]		≥ 21		≤ 1				

IZ: inhibiční zóna; MIC: minimální inhibiční koncentrace; \* 5 měření diskovou difuzní metodou; \*\* 5 měření diluční mikrometodou; \*\*\* doxycyklin (EUCAST); C: citlivý.

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

Antibiotikum	Zdroj	Průměry IZ (mm)			MIC (mg/l)		Správné výsledky		
		obsah disku $\mu\text{g}$	breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL**	kategorie	počet laboratoří	%
penicilin meningitida	EUCAST [1]	ND			$\leq 0,06$	0,5 - 0,5	R	118/118	100,0
	CLSI [2]								
oxacilin	EUCAST [1]	1	$\geq 20$	12 - 12	ND				
	CLSI [2]								

IZ: inhibiční zóna; MIC: minimální inhibiční koncentrace; \* 5 měření diskovou difuzní metodou; \*\* 5 měření diluční mikrometodou; ND: neudáno; R: rezistentní.

centrací (MIC) pro citlivé kmeny pasteurel, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika, a výsledky laboratoří.

tracyklinu byly podle breakpointů EUCAST i CLSI výsledky jednoznačně v citlivé kategorii.

**Vzorek 5: *Streptococcus pneumoniae***

Požadavek byl vyšetřit citlivost k penicilinu u izolátu z mozkomíšního moku. Izolát byl k penicilinu rezistentní. Celkové výsledky vyšetření citlivosti u kmene 5 jsou v tabulce 2, která obsahuje breakpointy inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny pneumokoků izolovaných z mozkomíšního moku, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika, a výsledky laboratoří.

**ZÁVĚR**

Citlivost k penicilinu u kmene 5 správně vyšetřily všechny laboratoře. U kmene 4 byl počet chybných výsledků nízký. Čtyři laboratoře označily kmen 4 jako rezistentní k tetracyklinu. Příčinou snad mohl být přísnější breakpoint pro citlivost u diskové metody EUCAST ( $\geq 24$  mm) ve srovnání s breakpointem CLSI ( $\geq 21$  mm). Při vyšetření MIC te-

**LITERATURA**

- [1] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 5.0, valid from 2015-01-01 [online]. Dostupný z WWW: [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/) český překlad dostupný z WWW: <http://www.szu.cz/tabulky-breakpointu-eucast>
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fifth informational supplement. CLSI Document M100-S25. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, Pa, 2015.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria: approved guideline-second edition. CLSI Document M45-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, Pa, 2010

*Renáta Šafránková  
Daniela Dědičová  
Pavla Urbášková  
SZÚ-CEM*