

EXTERNÍ HODNOCENÍ KVALITY

EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT

EHK – 941 Bakteriologická diagnostika

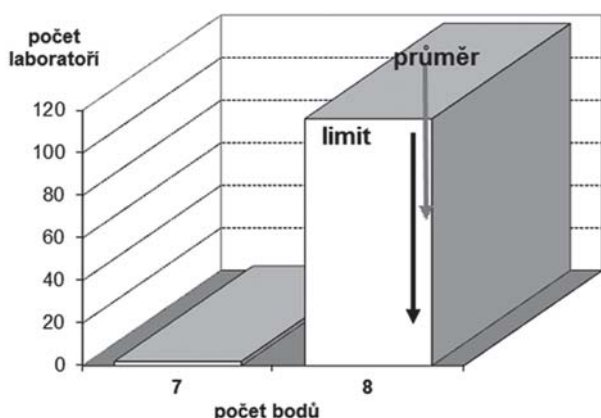
Renáta Šafránková, Věra Lebedová, Pavla Urbášková, Jana Zavadilová

HODNOCENÍ

Celkem byly vzorky rozeslány 118 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 4 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.

Maximálního počtu bodů při identifikaci dosáhlo 116, tj. 98,3 % laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 7,72 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj. $7,98 - (2 \times 0,13) = 7,72$). Tohoto limitu dosáhlo 116 laboratoří, 2 laboratoře tento limit nesplynily.

Graf 1: POČET BODŮ ZA SPRÁVNOU IDENTIFIKACI



VÝSLEDKY ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

Vzorek 1: Nasofaryngeální výtěr od dítěte s dlouhotrvajícím kašlem
Odpověď: <i>Bordetella pertussis</i>
Vzorek dále obsahoval: <i>Streptococcus oralis</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Bordetella pertussis</i>	116	2	98,3 %
<i>Bordetella</i> spp.	2	1	1,7 %
Celkem	118		100 %

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

Bordetella pertussis roste na Charcoal agaru nebo Bordet-Gengou agaru. K médiu se přidává cefalexin (40 mg/l), který inhibuje růst běžné flóry nosohltanu. Kultivovat je třeba vždy jak na médiu s cefalexinem, tak i na médiu bez cefalexinu z důvodu možné inhibice růstu některých kmenů *B. pertussis* na médiu s cefalexinem, v normální atmosféře při teplotě 35–36 °C po dobu 7 dnů.

B. pertussis vyrůstá za 48 až 72 hodin, vytváří drobné stříbřité polokulovité kolonie, při doteku klíčkou se roztřou (nepohybují se), po 3–4 dnech inkubace jsou kolonie větší a lesklé, připomínají „kapky rosy“, na Bordet-Gengou agaru je viditelná zóna hemolýzy. Je identifikovatelná do druhu, jak použitím MALDI-TOF MS, tak pomocí diagnostického séra (aglutinační séra *B. pertussis*/parapertussis; Remel).

Většina laboratoří (98,3%) identifikovala kmen správně a získala plný počet bodů, dvě laboratoře kmen nedourčily a získaly po jednom bodu.

Vzorek 2: Izolát z krve od pacienta s chronickým zánětem průdušek

Odpověď: *Haemophilus influenzae*

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Haemophilus influenzae</i>	118	2	100 %
Celkem	118		100 %

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, pět laboratoří dále doplnilo identifikaci tím, že vyloučilo typ „b“. Všechny zúčastněné laboratoře získaly po 2 bodech.

Pro EHK byl vybrán neopouzdřený (= netyrovatelný) kmen *H. influenzae* (HiNT). Tyto kmeny bývají součástí normální mikroflóry nosohltanu. Příležitostně mohou vyvolat lokální infekci (otitida, sinusitida, konjunktivitida či bronchitida) a výjimečně i závažné onemocnění (sepsa nebo meningitida). V současné době patří HiNT k hlavním původcům hemofilových invazivních onemocnění v České republice.

Chtěli bychom připomenout, že po rozšíření programu surveillance *H. influenzae* b (Hib) invazivního onemocnění koncem roku 2008 se od roku 2009 začala sledovat závažná onemocnění způsobená kromě Hib i ostatními opouz-

dřenými kmeny *H. influenzae* (sérotypy a, c, d, e, f) a nepouzdřenými kmeny *H. influenzae*. Izoláty *H. influenzae* z těchto invazivních onemocnění mají být předány do NRL pro hemofilové nákazy k ověření identifikace (viz Vyhláška MZ ČR č. 473/2008 Sb. o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce, Příloha č. 7).

Vzorek 3: Stoličky od pacienta s akutním průjemem vzniklým po požití drůbežního masa
Odpověď: <i>Campylobacter jejuni</i> Vzorek dále obsahoval: <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Campylobacter jejuni</i>	113	2	95,8 %
<i>Campylobacter</i> sp.	5	2	4,2 %
Celkem	118		100 %

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

Signifikantního patogena správně identifikovaly všechny zúčastněné laboratoře a získaly po dvou bodech. Spolehlivé rozlišení obou druhů poskytuje pouze PCR a metoda MALDI-TOF, založená na analýze hmotových spekter druhově specifických proteinů [1].

LITERATURA

[1] Kolínská R., Dřevínek M., Jakubů V., Žemličková H.: Species identification of *Campylobacter jejuni* ssp. *jejuni* and *C. coli* by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and PCR. *Folia Microbiol.* 2008; 53: 403-411

Vzorek 4: Izolát z krve septického pacienta léčeného pro malignitu
Odpověď: <i>Enterococcus faecalis</i> Vzorek dále obsahoval: <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Enterococcus faecalis</i>	118	2	100 %
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 ampicilinu a vankomycinu. Kmen 4 *Enterococcus faecalis* je citlivý k ampicilinu a rezistentní k vankomycinu. Všechny 118 zúčastněných laboratoří identifikovalo správně kmen jako *E. faecalis*. Všechny laboratoře měly správné výsledky vyšetření citlivosti k vankomycinu a jedna chybovala u ampicilinu. Celkové výsledky vyšetření citlivosti kmene ze vzorku 4 jsou v tabulce 1, která

Tabulka 1: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 4 ENTEROCOCCUS FAECALIS

Antibiotikum	Zdroj CLSI [2]	Obsah disku µg	Průměry IZ (mm)		MIC (mg/l)		Správné výsledky		
			breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL**	kategorie	počet laboratoří	%
ampicilin	EUCAST [1]	2	≥ 10	15-16	≤ 4	2-4	C	117/118	99,2
	CLSI [2]	10	≥ 17	21-22	≤ 8				
vankomycin	EUCAST [1]	5	≥ 12	9-10	≤ 4	16-16	R	118/118	100,0
	CLSI [2]	30	≥ 17	12-12					

IZ: inhibiční zóna; MIC: minimální inhibiční koncentrace; * 5 měření diskovou difúzní metodou; ** 5 měření diluční mikrometodou; C: citlivý; R: rezistentní.

Tabulka 2: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 5 PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Antibiotikum	Zdroj	Obsah disku µg	Průměry IZ (mm)		MIC (mg/l)		Správné výsledky		
			breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL**	kategorie	počet laboratoří	%
piperacilin/tazobaktam	EUCAST [1]	30-6	≥ 18	11-11	≤ 16	64-64	R	117/118	99,2
	CLSI [2]	100-10	≥ 21	19-20					
meropenem	EUCAST [1]	10	≥ 24	9-10	≤ 2	16 - 16	R	118/118	100,0
	CLSI [2]		≥ 19						
imipenem	EUCAST [1]	10	≥ 20	9-10	≤ 4	> 32 ***			
	CLSI [2]		≥ 19		≤ 2				

IZ: inhibiční zóna; MIC: minimální inhibiční koncentrace; * 5 měření diskovou difúzní metodou; ** 5 měření diluční mikrometodou; *** Etest; R: rezistentní.

obsahuje breakpointy inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) ampicilinu a vankomycinu pro citlivé kmeny *E. faecalis*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika, a výsledky laboratoří.

Vzorek 5: *Pseudomonas aeruginosa*

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene ze vzorku 5 k piperacilinu/tazobaktamu a ke karbapenemům. Kmen byl v obou případech rezistentní. Všechny laboratoře měly správné výsledky vyšetření citlivosti ke karbapenemům, jedna laboratoř chybovala u piperacilinu/tazobaktamu. Celkové výsledky vyšetření citlivosti u kmene 5 jsou v tabulce 2, která obsahuje breakpointy inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) piperacilinu/tazobaktamu, meropenemu a imipenemu, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika, a výsledky laboratoří.

ZÁVĚR

V této sérii EHK se vyskytly chybné výsledky vyšetření citlivosti celkem v 0,4 %, respektive jen ve 2 případech z celkového počtu 472 měření (dvě vyšetřovaná antibiotika ve 118 laboratořích). Tento velmi uspokojivý výsledek lze přičíst dobré práci laboratoří.

LITERATURA

- [1] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 6.0, valid from 2016-01-01 [online]. Dostupný z WWW: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints, český překlad dostupný z WWW: <http://www.szu.cz/tabulky-breakpointu-eucast>.
- [2] CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 26th ed. CLSI supplement M100-S. Wayne, Pa. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2016.

Zprávu vypracovaly:

*Mgr. Renáta Šafránková
MUDr. Věra Lebedová
RNDr. Pavla Urbášková, CSc.
Mgr. Jana Zavadilová
CEM – SZÚ, Praha*