

EXTERNÍ HODNOCENÍ KVALITY

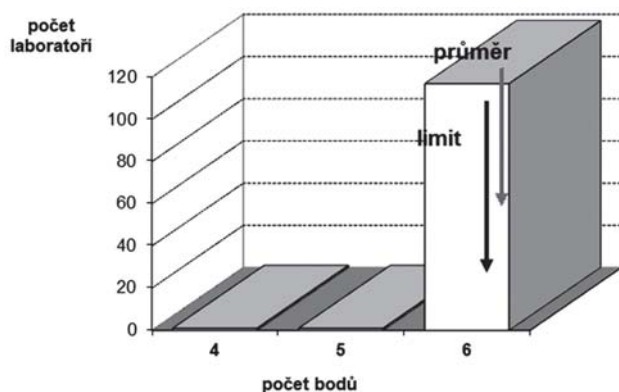
EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT

EHK – 959 Bakteriologická diagnostika

Renáta Šafránková, Daniela Dědičová, Pavla Urbášková

Celkem byly vzorky rozeslány 120 laboratořím, 119 laboratoří odeslalo výsledek do závěrečného termínu. Za identifikaci signifikantního patogena ve 3 vzorcích mohly laboratoře získat maximálně 6 bodů, jeden vzorek byl edukativní; 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.

Graf 1: POČET BODŮ ZA SPRÁVNOU IDENTIFIKACI



Maximálního počtu bodů při identifikaci dosáhlo 117, tj. 98,3 % laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 5,891 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj. $5,975 - (2 \times 0,042) = 5,891$). Tohoto limitu dosáhlo 117 laboratoří, 2 laboratoře tento limit nesplnily.

VÝSLEDKY ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

Vzorek 1: Sputum pacienta s cystickou fibrózou s podezřením na pneumonii

Odpověď: *Burkholderia cepacia* komplex

Vzorek dále obsahoval: *Streptococcus oralis*

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Burkholderia cepacia</i> komplex	30	2	25,2 %
<i>Burkholderia cepacia</i>	19	2	16,0 %
<i>Burkholderia</i> sp./spp.	66	2	55,5 %
<i>Burkholderia</i> sp. (<i>Burkholderia vietnamiensis</i>)	2	2	1,7 %
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	1	2	0,8 %
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	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.

B. cepacia komplex (BCC) je skupina úzce příbuzných druhů, které jsou v přírodě všudypřítomné, nachází se zejména v půdě a ve vodě. Klinický význam BCC souvisí především s chronickou plicní infekcí u pacientů s cystickou fibrózou, mohou však také způsobit infekce u imunokompromitovaných jedinců včetně pacientů s chronickým granulomatózním onemocněním. [1]

Ve vzorku 1 byl – dle výsledků sekvenční analýzy – druh *B. vietnamiensis*, který patří do komplexu *B. cepacia*. Všechny laboratoře zařadily kmen do rodu, jak bylo i v zadání, a získaly tak po 2 bodech. *B. cenocepacia* je druh náležející též do komplexu *B. cepacia*, nicméně pokud si nejsme jisti druhem, je vždy lepší agens označit pouze *B. cepacia* komplex.

LITERATURA

[1] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial susceptibility testing of *Burkholderia cepacia* complex (BCC). Valid from 2013-07-19, [on-line]. Dostupný z WWW: http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/guidance_documents/, český překlad dostupný z WWW: <http://www.szu.cz/dalsi-dokumenty-s-pokyny-pri-testovani-citlivosti-eucast>

Vzorek 2: Izolát z hemokultury od pacienta s hemoblastózou

Odpověď: *Enterococcus casseliflavus*

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	118	2	99,2 %
žádný výsledek	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.

Všechny laboratoře vyjma jedné odpověděly správně a získaly po dvou bodech. Laboratoř, která do výsledku identifikace neuvědla žádný výsledek, zůstala bez bodů.

Vzorek 3: Edukativní vzorek (vzorek se nehodnotí)
Salmonella sp., určete antigenní strukturu, event. též název sérovaru

Odpověď: *Salmonella enterica* subsp. *enterica*
sérovár Manhattan
6,8 : d : 1,5

fázické varianty - viz tabulka). Kdybychom jako kritérium úspěšnosti zvolili dourčení alespoň dvou antigenních komplexů, penzum by splnilo 60% účastníků (71 pracovišť).

V dalších 26 případech se klinické laboratoře spokojily se zařazením do skupiny O8 (C2-C3) nebo více obecně do skupiny O6,7,8 (C) – 7 laboratoří. Jedenkrát byla chybně stanovena skupina B.

Upozorňujeme na význam přesného rozlišení skupiny O 6,8 (C2) a O 8,20 (C3), od nichž se odvíjí název sérovaru: Manhattan 6,8 : d : 1,5 nebo Yovokome 8,20 : d : 1,5. Z našich zkušeností se k detailní typizaci somatického antigenu jeví jako optimální - kromě O8 a O20 – užití monofázického séra 6,14,24 BioRad (pozitivní aglutinace jen v případě Manhattan). Je zajímavé, že zatímco v roce 2014, kdy byla předmětem EHK *S. Newport* 6,8 : e,h : 1,2, určilo O antigen 6,8 více než 99% účastníků, v této sérii přesáhl podíl chybných či nedourčených O antigenů 8%.

Identifikace	Frekvence	Celkem	Procento	Celkem %		
<i>Salmonella</i> Manhattan 6,8 : d : 1,5	55	65	46,0 %	55,0 %		
<i>Salmonella</i> 6,8 : - : 1,5	7		6,0 %			
<i>Salmonella</i> 6,8 : d : -	3		2,5 %			
<i>Salmonella</i> 6,7,8 : - : 1,5	2	14	1,5 %	12,0 %		
<i>Salmonella</i> Muenchen 6,8 : d : 1,2	5					
<i>Salmonella</i> Utah 6,8 : c : 1,5	1					
<i>Salmonella</i> Virginia (8 : d : 1,2)*	1					
<i>Salmonella</i> 8 : d : 7	1					
<i>Salmonella</i> 8 : e,h : 1,5 (Ferruch)*	1					
<i>Salmonella</i> 6,8 : - : 1,2	1					
<i>Salmonella</i> 6,8 : w	1					
<i>Salmonella</i> 6,8 : i	1					
<i>Salmonella</i> Virchow 6,7 : r : 1,2	1					
<i>Salmonella</i> sk. B	1					
<i>Salmonella</i> sk. O8 (C2-C3)	26		33		22,0 %	28,0 %
<i>Salmonella</i> sk. O6,7,8 (C)	7				6,0 %	
žádný výsledek	5				4,0 %	
Celkem	119		100 %			

* poznámka NRL

Jako edukativní vzorek byl zaslán kmen *Salmonella* Manhattan 6,8 : d : 1,5 se zadáním stanovit antigenní strukturu, případně také název sérovaru podle zařazení ve White-Kauffmann-Le Minor schématu antigenních formulí. Tento sérovár nebývá notifikován často, ale výhodou je jeho antigenní struktura, kterou je možné typovat běžnými antiséry, která si laboratoře pořizují pro identifikaci *S. Typhi* či nejfrekventovanějších sérovarů netyfoidních salmonel.

Požadavky zadání splnilo 55 (46%) zúčastněných laboratoří. Uvedly název sérovaru, jehož nedílnou součástí byla ve většině případů antigenní struktura, přičemž byly tolerovány i nevhodné formy zápisu: (6,8:d:5), (6,8;d;1,5), (8:d:5) atd. Pětkrát byl uveden jen název *S. Manhattan* bez antigenní struktury.

Naší snahou bylo vybrat kmen s vyváženými oběma H antigenními komplexy, přesto byl antigen Hd exprimován slaběji a první bičíková fáze se obtížněji dařila identifikovat laboratořím, které rutinně neprovádějí anti-H fázovou inverzi (Sven-Gardova metoda). Následně tedy 7 laboratoří uzavřelo s výsledkem *S. 6,8 : - : 1,5* a dvě laboratoře *S. 6,7,8 : - : 1,5*. Proti očekávání 3 laboratoře typizovaly s výsledkem *S. 6,8 : d : -*. V identifikaci bičíkových antigenů jsme pozorovali poměrně značnou diverzitu. 14 laboratoří dospělo plně či částečně k nesprávnému antigennímu vzorci (*S. Muenchen*, *Utah*, *Virginia*, *Virchow* a další mono-

Vzorek 4: Izolát z moči od pacienta s nozokomiální infekcí močových cest

Odpověď: *Acinetobacter baumannii* komplex

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Acinetobacter baumannii</i>	102	2	85,7 %
<i>Acinetobacter baumannii</i> komplex	8	2	6,7 %
<i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i>	4	2	3,4 %
<i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i> komplex	4	2	3,4 %
<i>Acinetobacter</i> spp.	1	1	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 určit signifikantního patogena a vyšetřit jeho citlivost k amikacinu a k meropenemu. Kmen 4 *Acinetobacter baumannii* komplex je izolát z moči, citlivý k oběma vyšetřovaným antibiotikům. 118 zúčastněných laboratoří uvedlo druhové jméno kmene 4 a bylo ohodnoceno

Tabulka 1: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 4 *ACINETOBACTER BAUMANNII* KOMPLEX

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	%
amikacin	EUCAST [1]	30	≥ 19	19 - 19	≥ 8	8 - 8	C	118/119	99,2
	CLSI [2]		≥ 17		≥ 16				
meropenem	EUCAST [1]	10	≥ 21	21 - 21	≤ 2	1 - 1	C	115/119	96,6
	CLSI [2]		≥ 18						

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

Tabulka 2: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 5 *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

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	%
cefoxitin	EUCAST [1]	30	≥ 22	14 - 16	nevyšetřuje se		R	115/119	96,6
	CLSI [2]								
oxacilin	EUCAST [1]	nevyšetřuje se			≥ 22	2 - 4	C	119/119	100,0
	CLSI [2]								
klindamycin	EUCAST [1]	2	≥ 22	25 - 26	$\leq 0,25$	0,125 - 0,125	C	119/119	100,0
	CLSI [2]		≥ 21		$\leq 0,5$				

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

dvěma body, jedna získala jen jeden bod za rodové jméno. S výjimkou jedné označily ostatní laboratoře kmen správně jako citlivý k amikacinu, čtyři laboratoře kmen chybně označily jako rezistentní k meropenemu. Celkové výsledky vyšetření citlivosti kmene ze vzorku 4 jsou v tabulce 1, která obsahuje breakpointy inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) amikacinu a meropenemu pro citlivé izoláty *A. baumannii* komplex, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika, a výsledky laboratoří.

Vzorek 5: *Staphylococcus aureus*

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene ze vzorku 5 k oxacilinu a ke klindamycinu. Kmen je rezistentní k oxacilinu a citlivý ke klindamycinu. Všechny laboratoře odpověděly správně na otázku o citlivosti kmene ke klindamycinu, čtyři chybovaly u oxacilinu. Celkové výsledky vyšetření citlivosti u kmene 5 jsou v tabulce 2, která obsahuje breakpointy inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) oxacilinu a klindamycinu pro *S. aureus*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika, a výsledky laboratoří.

ZÁVĚR

V současnosti se pro označení skupiny kmenů acinetobakterů s podobnými vlastnostmi používá název *Acinetobacter baumannii* komplex (podobně tomu je u *Burkholderia cepacia* komplex). U tohoto kmene, stejně jako u kmene 5, dosáhly laboratoře velmi dobrých výsledků vyšetření citlivosti (> 96 % správných výsledků). Rezistence k oxacilinu u kmene 5 *Staphylococcus aureus* byla způsobena genem *mecC* (homolog genu *mecA*) a spolehlivější než vyšetření MIC oxacilinu je vyšetření disku s cefoxitinem.

LITERATURA

- [1] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 7.1, valid from 2017-03-10 [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.

Dne: 17. 5. 2017

Koordinátor:

Mgr. Renáta Šafránková
Tel: 267 082 428

Zprávu vypracovaly:

Mgr. Renáta Šafránková
MUDr. Daniela Dědičová, CSc.
RNDr. Pavla Urbášková, CSc.