

EXTERNÍ HODNOCENÍ KVALITY

EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT

EHK – 1032 Bakteriologická diagnostika

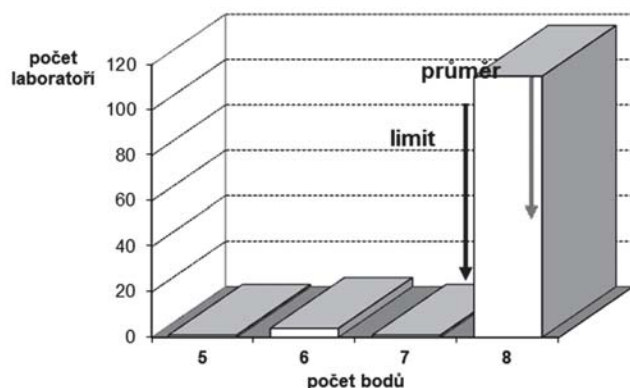
Renáta Šafránková, Monika Marejková, Pavla Urbášková

HODNOCENÍ

Celkem byly vzorky rozeslány 121 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 5 bodů. 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 115, tj. 95% laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 6,991 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj. $7,901 - (2 \times 0,455) = 6,991$). Tohoto limitu dosáhlo 116 laboratoří, 5 laboratoří tento limit nespĺnilo.

Graf 1: POČET BODŮ ZA SPRÁVNOU IDENTIFIKACI



VÝSLEDKY ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

Vzorek 1: Výtěr z krku od 10 letého dítěte s bolestmi v krku
Odpověď: Signifikantní bakteriální patogen nepřítomen
Vzorek dále obsahoval: <i>Haemophilus parainfluenzae</i> , <i>Neisseria lactamica</i> , <i>Streptococcus oralis</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
Signifikantní bakteriální patogen nepřítomen	117	2	96,7 %
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	4	0	3,3 %
Celkem	121		100 %

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

Správný výsledek, tj. signifikantní patogen nepřítomen, uvedlo celkem 117 laboratoří (96,7 %).

Rutinní mikrobiologické vyšetření výtěru z krku slouží k detekci *Streptococcus pyogenes*, jako nejčastějšího původce vyvolávajícího bakteriální tonzilofaryngitidu. Méně často se uplatňují streptokoky skupiny C a G, průběh onemocnění je mírnější než u *S. pyogenes*, komplikace se vyskytují zřídka a nikdy nedochází ke vzniku revmatické horečky [1]. Další vzácnou příčinou tonzilofaryngitidy může být *Arcanobacterium haemolyticum*, *Corynebacterium diphtheriae* a *Neisseria gonorrhoeae*.

Haemophilus parainfluenzae, *Neisseria lactamica* i *Streptococcus oralis*, které byly ve vzorku obsaženy, jsou součástí normální flóry dutiny ústní a horních cest dýchacích, proto byly 4 laboratořím, které určily jako signifikantního patogena *H. parainfluenzae*, odebrány 2 body. Běžnou součástí orální mikroflóry jsou i tzv. patogenní bakterie, např. *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria meningitidis*, které jsou příčinou závažných onemocnění, avšak v této lokalizaci jsou nalézány pouze jako komenzální bakterie a nemají kauzální vztah k základnímu onemocnění (tonzilofaryngitida), pro které je výtěr z krku prováděn.

LITERATURA

[1] Beneš J. Infekční lékařství, Galen, 2009

Vzorek 2: Izolát z hnisu z nitrobršního abscesu

Odpověď: *Bacteroides fragilis*

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Bacteroides fragilis</i>	117	2	96,7 %
<i>Bacteroides fragilis</i> group	1	2	0,8 %
<i>Bacteroides</i> sp.	1	2	0,8 %
<i>Bacteroides fragilis</i> + <i>Granulicatella elegans</i> / <i>/adiacens</i>	1	1	0,8 %
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	1	0	0,8 %
Celkem	121		100 %

Z 20 laboratoří s nejvyšším dosaženým počtem bodů za minulý rok uvedlo správný výsledek 19 laboratoří. Vzorek je možno hodnotit.

119 laboratoří, tj. 98,3%, uvedlo správnou identifikaci (rodová identifikace byla u tohoto vzorku postačující), což je oproti minulé sérii EHK-798 [1], kdy odpověděly správně všechny laboratoře, mírné zhoršení.

V této sérii se jednalo o izolát z hnisu z nitrobršního abscesu; etiologie nitrobršních infekcí je zpravidla smíše-

ná, nejčastěji s podílem *B. fragilis*, enterobakterií, anaerobních koků a enterokoků.

LITERATURA

[1] Kolínská R, Marejková M., Urbášková P, Zavadilová J.: EHK–798, Bakteriologická diagnostika. Zprávy CEM (SZÚ, PRAHA) 2013; 22(8): 270–272.

11th Edition. ASM press, Washington, DC 2015. doi:10.1128/9781555817381.
[2] AHEM, příloha č.4/1987. Metodické a informační materiály pro hygienickou službu. E.Aldová, strana 4.

Vzorek 3: Stoličky od pacienta s vodnatým průjmem
Odpověď: <i>Plesiomonas shigelloides</i>
Vzorek dále obsahoval: <i>Escherichia coli</i> , <i>Morganella morganii</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	120	2	99,2 %
<i>Plesiomonas shigelloides</i> + <i>Morganella morganii</i>	1	1	0,8 %
Celkem	121		100 %

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

Plesiomonas shigelloides je oxidáza-pozitivní tyčka představuje jediný druh rodu *Plesiomonas*. Na nutrient agaru tvoří kolonie se „shigelovým pachem“, je pozitivní na dekarboxylázy a inozitol, jinými biochemickými znaky připomíná *Shigella dysenteriae* 2. Je dobře identifikovatelný jak pomocí komerčních a konvenčních biochemických testů, tak i použitím MALDI-TOF MS.

P. shigelloides se vyskytuje ve vodě, u živočichů, ryb a ptáků a obojživelníků. U lidí je původcem gastroenteritid, ale i mimostřevních infekcí (septikémie, meningitidy, cholecystitidy), a to zejména u imunitně oslabených osob [1,2].

Všechny účastněné laboratoře správně určily *P. shigelloides* jako signifikantního patogena, jediné laboratoře, která připsala nesprávně i *Morganella morganii* jako signifikantní nález, bude odebrán jeden bod.

LITERATURA

[1] Jorgensen JH, Carroll KC, Funke G, Pfaller MA, Landry ML, Richter SS, Warnock DW. Manual of clinical microbiology

Vzorek 4: Izolát z krve u muže s urosepsí
Odpověď: <i>Klebsiella pneumoniae</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	120	2	99,2 %
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	1	2	0,8 %
Celkem	121		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 cefotaximu, ceftazidimu a k meropenemu. Správnou identifikaci uvedlo všech 121 laboratoří.

Celkové výsledky vyšetření citlivosti kmene ze vzorku 4 jsou v tabulce 1, která obsahuje breakpointy inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé izoláty *Enterobacterales*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Vzorek 5: <i>Campylobacter jejuni</i>

Kmen 5 je citlivý k erytromycinu a rezistentní k ciprofloxacinu. Celkové výsledky vyšetření citlivosti u kmene 5 jsou v tabulce 2, která obsahuje breakpointy inhibičních zón (IZ) a MIC pro citlivé izoláty *C. jejuni*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

ZÁVĚR

Kmen 4 byl součástí kontroly kvality, zasláné z UK NEQAS účastníkům EARS-Net pod číslem 4321. Referenční výsledky vyšetření citlivosti UK NEQAS udávají, že kmen

Tabulka 1: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 4 KLEBSIELLA PNEUMONIAE

Antibiotikum	Zdroj	Obsah disku	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	%
cefotaxim	EUCAST [1]	5 µg	≥ 20	16 - 17	≤ 1	4 - 4	I/R***	114/121	94,2
	CLSI [2]	30 µg	≥ 26	24 - 26					
ceftazidim	EUCAST [1]	10 µg	≥ 22	23 - 24	≤ 4	1 - 1	C	115/121	95,0
	CLSI [2]	30 µg	≥ 21	27 - 28					
meropenem	EUCAST [1]	10 µg	≥ 22	26 - 26	≤ 2	0,25 - 0,25	C	117/121	96,7
	CLSI [2]		≥ 23		≤ 1				

IZ: inhibiční zóna; MIC: minimální inhibiční koncentrace; * 5 měření diskovou difúzní metodou EUCAST; ** 5 měření diluční mikrometodou EUCAST; C: citlivý; R: rezistentní; *** intermediární kategorie uvedena na základě výsledků UK NEQAS, blíže viz Závěr.

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

Antibiotikum	Zdroj	Obsah disku	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	%
erytromycin	EUCAST [1]	15 µg	≥ 20	31 - 32	≤ 4	0,5 - 1	C	120/121	99,2
	CLSI [3]		≥ 16		≤ 8				
ciprofloxacín	EUCAST [1]	5 µg	≥ 26	6 - 6	≤ 0,5	> 4 - > 4	R	120/121	99,2
	CLSI [3]		≥ 24		≤ 1				

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

k 4321 je k cefotaximu intermediární/rezistentní a k ceftazidimu a meropenemu citlivý. Výsledky NRL pro antibiotika byly v souladu s výsledky UK NEQAS.

Několik laboratoří hlásilo u kmene 4 výskyt morfologicky odlišných kolonií s rozdílnou citlivostí k cefotaximu (a k aminoglykosidům).

V NRL pro antibiotika byla primokultura i subkultura kmene 4 na MH agaru homogenní, disociované kolonie nebyly pozorovány a citlivost byla vyšetřena obvyklým způsobem. Po upozornění některých účastníků EHK–1032 na disociaci kultury ze vzorku 4 byly morfologicky odlišné kolonie pozorovány až po vyočkování na selektivní McConkey agar. U těchto morfologicky rozdílných kolonií potvrdila NRL pro antibiotika malé odchylky v hodnotách MIC a inhibičních zón u cefotaximu, které však neovlivnily kategorii citlivosti. Rozdíl v kategorii byl zaznamenán u gentamicinu (MIC 0,5 mg/l u světlých kolonií a >16 mg/l u tmavých kolonií), gentamicin však nebyl v EHK–1032 požadován.

Při vyšetření citlivosti z lyofilizátu se po vyočkování na příslušné kultivační, případně selektivní půdy, doporučuje nejvýše jedna pasáž vyrostlých kolonií (viz Průvodní dopis k EKH Bakteriologická diagnostika). Půdy zvolené pro kultivaci musí zahrnovat i neselektivní půdu (agar MH, případně MH-F pro náročné bakterie) pro relevantní vyšetření citlivosti. Nedodržení těchto podmínek (opakované pasáže kultury, vyšetření citlivosti ze selektivní půdy) může

mít vliv na stimulaci disociace kultury s rozdílnými vlastnostmi kolonií včetně odlišné antibiotické citlivosti.

U kmene 5 několik laboratoří nahlásilo problémy s růstem kmene, což mohlo být způsobeno kultivací lyofilizovaného kmene na selektivním medium v kombinaci s nižší teplotou než doporučených 42 °C. Všem dotčeným laboratořím byl zaslán náhradní vzorek na tamponu.

LITERATURA

- [1] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.1, valid from 2018-01-01 [online]. Dostupný z WWW: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
- [2] CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 28th ed. CLSI supplement M100-S. Wayne, Pa. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.
- [3] CLSI. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria. 3rd ed. Wayne, Pa. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015.

Koordinátor:

Mgr. Renáta Šafránková
Tel: 267 082 428

Zprávu vypracovaly:

Mgr. Renáta Šafránková,
Ing. Monika Marejková, Ph.D.,
RNDr. Pavla Urbášková, CSc.
CEM, SZÚ