

# EXTERNÍ HODNOCENÍ KVALITY

## EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT

### EHK – 1113 Bakteriologická diagnostika

PT#M/5-1/2020

*Renáta Šafránková, Ondřej Daniel, Pavla Urbášková*

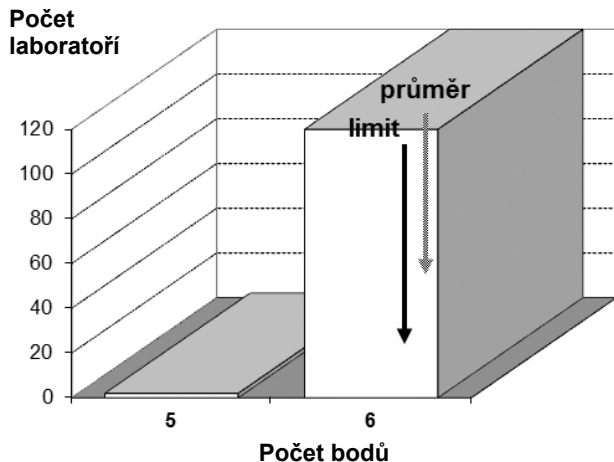
#### HODNOCENÍ

Celkem byly vzorky rozeslány 122 laboratořím, všechny laboratoře odeslaly výsledek do závěrečného termínu. Za identifikaci signifikantního patogena ve 3 vzorcích mohly laboratoře získat maximálně 6 bodů, 1 vzorek byl edukativní a nehodnotil se. Bodování pro identifikaci bylo provedeno ve stupnici 2, 1 a 0 bodů. Hodnocení (resp. bodování) vyšetření

citlivosti se z technických důvodů již neprovádí (přechod na elektronické výsledky), k dispozici jsou komentované výsledky (vzorek 4 a 5).

Maximálního počtu bodů při identifikaci dosáhlo 120, tj. 98,4% laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 5,728 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj.  $5,984 - (2 \times 0,128) = 5,728$ ). Tohoto limitu dosáhlo 120 laboratoří, 2 laboratoře tento limit nesplnily.

Graf 1: Počet bodů za správnou identifikaci



#### VÝSLEDKY ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

**VZOREK 1:** Výtěr z krku od 19letého pacienta s bolestí v krku a horečkou

**ODPOVĚĎ:** *Arcanobacterium haemolyticum*

Vzorek dále obsahoval: *Streptococcus oralis*

Identifikace	frekvence	body	procento
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	122	2	100 %
Celkem	122		100 %

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

*Arcanobacterium haemolyticum* (dříve *Corynebacterium haemolyticum*) je nepříliš častým původcem ranných infekcí a faryngitid převážně u mladých lidí; tato bakterie může být vzácně izolována jako příčina endokarditid, osteomyelitid i sepsí [1].

*A. haemolyticum* je koryneformní, grampozitivní tyčička, na rozdíl od korynebakterií je kataláza negativní a má pozitivní reverzní (inverzní) CAMP test se *Staphylococcus aureus*. Identifikace pomocí API Coryne je spolehlivá stejně jako identifikace metodou MALDI-TOF MS.

Jméno *Arcanobacterium* (z latin. „*arcanus*“ = tajemný, záhadný) znamená „záhadná bakterie“ a váže se ke skutečnosti, že tento mikrob je v laboratořích klinické mikrobiologie často přehlížen, protože je považován za kontaminující nebo běžnou flóru [2].

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

#### LITERATURA

1. Wong V, Turmezei T, Cartmill M, Soo S. Infective endocarditis caused by *Arcanobacterium haemolyticum*: a case report. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2011; 10:17.
2. Meyer DK, Rebolí AC. In: Principles and Practice of Infectious Diseases. sixth. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editor. Vol. 2. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone; 2005. Other Coryneform Bacteria and *Rhodococcus*; pp. 2465–2478.

<b>VZOREK 2:</b> Izolát z hemokultury od pacienta z JIP			
<b>ODPOVĚĎ:</b> <i>Enterococcus casseliflavus</i>			
Identifikace	frekvence	body	procento
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	120	2	98,4 %
<i>Enterococcus faecium</i>	1	1	0,8 %
<i>Enterococcus</i> spp.	1	1	0,8 %
Celkem	122		100 %

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

Většina laboratoří (98,4 %) identifikovala správně druh mikroba a získala plný počet bodů. Jedna laboratoř kmen identifikovala jako *Enterococcus faecium* a další zařadila kmen pouze do rodu, tyto dvě laboratoře obdržely po jednom bodu. *E. casseliflavus* je na rozdíl od *E. faecium* pohyblivý; k rozlišení od rovněž pohyblivého druhu *E. gallinarum* slouží u *E. casseliflavus* spolehlivě produkce žlutého pigmentu, která je patrná zejména při prodloužené kultivaci (48 h). Spolehlivá je i identifikace metodou MALDI-TOF MS.

<b>VZOREK 3:</b> Edukativní vzorek (vzorek se nehodnotí) Stolice od 55leté pacientky s průjmem a bolestmi břicha	
<b>ODPOVĚĎ:</b> <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> sérovar Bareilly 6,7:y:1,5	

Identifikace	četnost	celkem	frekvence v %	celkem v %
<i>Salmonella</i> Bareilly (6,7:y:1,5)	53		43,4	
<i>Salmonella</i> (6,7:y:-)	6	62	4,9	50,8
<i>Salmonella</i> (7:y:-)	3		2,5	
<i>Salmonella</i> (6,7,8:y:-)	1	1	0,9	0,9
<i>Salmonella</i> Mikawasima (6,7:y:e,n,z <sub>16</sub> )	2	2	1,6	1,6
<i>Salmonella</i> Enteritidis (9,12:g,m:-)	1	1	0,9	0,9
<i>Salmonella</i> sk. C1	27	27	22,1	22,1
<i>Salmonella</i> sk. C	16	16	13,1	13,1
<i>Salmonella</i> OMB (C, F, G, H)	2	2	1,6	1,6
<i>Salmonella</i> spp.	11	11	9,0	9,0
Celkem	122	122	100,0	100,0

Jako edukativní vzorek byl rozeslán kmen *Salmonella* Bareilly 6,7:y:1,5 se zadáním určit antigenní vzorec nebo také název sérovaru podle zařazení dle White-Kauffmann-Le Minor schématu. Jedná se o sérovar, který byl v letech 2017 a 2018 evidován jako třetí a šestý nejčastější v České republice. Jeho zvýšený výskyt byl též zaznamenán i na Slovensku. Důvodem zvýšeného výskytu byla epidemie, jejímž zdrojem byly sušené vaječné hmoty distribuované v obou státech.

Požadavky zadání splnilo 53 (43,4 %) zúčastněných laboratoří, které uvedly název sérovaru či plný antigenní vzorec. Kdybychom jako kritérium úspěšnosti zvolili identifikaci alespoň dvou antigenních struktur, úspěšnost by se zvýšila na 65 (53,3 %) pracovišť.

V identifikaci bičíkových antigenů jsme pozorovali skoro nulovou rozmanitost. Pouze dvě laboratoře dospěly k částečně nesprávnému antigennímu vzorci, nepřesně identifikovaly bičíkové antigeny druhé fáze (*S. Mikawasima*). Jedna laboratoř chybně stanovila somatické i bičíkové antigeny (*S. Enteritidis*).

V dalších 43 případech se klinické laboratoře spokojily se zařazením do skupiny C1 (přítomnost O:6,7 epitopů) nebo více obecně do skupiny C (přítomnost O:6,7; O:6,8 či O:8 epitopů). Právě O somatické antigeny *S. Bareilly* je možné určit antiséry, která si laboratoře pořizují pro identifikaci jednoho z dlouhodobě nejfrekventovanějších sérovarů a to *S. Infantis*. Dvakrát byla stanovena příslušnost prostřednictvím OMB polyvalentního O antiséra.

Závěrem je potřeba zmínit, že vhodným postupem k úplnému určení antigenního vzorce *Salmonella* sp., konkrétně v případech nedostupnosti polyvalentních, monovalentních a faktorových antisér či nemožnosti úplného určení, je její zaslání do NRL pro salmonely. Optimálně alespoň s částečně určenou antigenní strukturou, jak někteří účastníci uvedli.

Dále je potěšující, že oproti předešlým sériím EHK se v letošním roce všechny laboratoře zapojily do identifikace patogena, i když se jednalo o vzorek edukativní.

<b>VZOREK 4:</b> Izolát z výtěru krku od dítěte (9 let) s akutní infekcí HCD			
<b>ODPOVĚĎ:</b> <i>Streptococcus pyogenes</i>			
Identifikace	frekvence	body	procento
<i>Streptococcus pyogenes</i>	121	2	99,2 %
<i>Streptococcus</i> sk. A	1	2	0,8 %
Celkem	122		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 erytromycinu a ke klindamycinu. 121 laboratoří správně identifikovalo kmen 4 jako *Streptococcus pyogenes*, jedna laboratoř jako *Streptococcus* sk.A.

Kmen byl rezistentní (R) k oběma antibiotikům. U klindamycinu byly sice výsledky MIC i diskové metody v citlivé kategorii, ale kmen vykazoval rezistenci po indukci erytromycinem.

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 *S. pyogenes*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

**VZOREK 5: *Pseudomonas aeruginosa* z moči**

Kmen 5 je citlivý (C) k amikacinu a k ceftazidimu je citlivý při zvýšené expozici (I). Jedna laboratoř chybovala u amikacinu, a 15 u ceftazidimu (14 laboratoří označilo kmen jako citlivý a jedna jako rezistentní).

Celkové výsledky vyšetření citlivosti u kmene 5 jsou v tabulce 2, která obsahuje breakpointy inhibičních zón (IZ) a MIC amikacinu a ceftazidimu pro izolát *P. aeruginosa* z moči, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

**Tabulka 1: Výsledky vyšetření citlivosti<sup>1</sup> kmene 4 *Streptococcus pyogenes***

Antibiotikum	Obsah disku µg	Průměry IZ (mm)		MIC (mg/l)		Správné výsledky		
		breakpoint pro citlivé kmene	rozmezí hodnot naměřených v NRL <sup>*</sup>	breakpoint pro citlivé kmene	rozmezí hodnot naměřených v NRL <sup>**</sup>	kategorie	počet laboratoří	%
erytromycin	15 µg	≥ 21	6–6	≤ 0,25	> 4–> 4	R	122/122	100
klindamycin	2 µg	≥ 17	22–24	≤ 0,5	≤ 0,03–≤ 0,03	R <sup>2</sup>	120/122	98,4

<sup>1</sup> metoda vyšetření a interpretace výsledků podle EUCAST 2020 [1]

<sup>2</sup> indukovaná rezistence

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

**Tabulka 2: Výsledky vyšetření citlivosti<sup>1</sup> kmene 5 *Pseudomonas aeruginosa***

Antibiotikum	Obsah disku µg	Průměry IZ (mm)			MIC (mg/l)			Výsledky <sup>4</sup>			
		breakpoint <sup>2</sup>		rozmezí hodnot naměřených v NRL <sup>*</sup>	breakpoint <sup>2</sup>		rozmezí hodnot naměřených v NRL <sup>**</sup>	kategorie/ absolutní počet laboratoří			správné %
		C	R		C	R		C	I	R	
amikacin <sup>3</sup>	30 µg	≥ 15	< 15	23–23	≤ 16	> 16	4–8	121	1	0	99,2
ceftazidim	10 µg	≥ 50	< 17	24–25	≤ 0,001	> 8	4–8	14	107	1	87,7

<sup>1</sup> metoda vyšetření a interpretace výsledků podle EUCAST 2020 [1]

<sup>2</sup> hodnoty mezi breakpointy pro kategorie C a R jsou hodnoty pro kategorii I (citlivý, zvýšená expozice)

<sup>3</sup> breakpointy pro infekce pocházející z močových cest

<sup>4</sup> správné výsledky jsou zvýrazněny

IZ: inhibiční zóna; MIC: minimální inhibiční koncentrace; \* 5 měření diskovou difuzní metodou, \*\* 5 měření diluční mikrometodou; C: citlivý, I: citlivý při zvýšené expozici, R: rezistentní i při zvýšené expozici.

## ZÁVĚR

V této sérii EHK chybovaly dvě laboratoře u interpretace výsledků citlivosti ke klindamycinu u *S. pyogenes* (kmen 4) a 15 laboratoří chybovalo u *Pseudomonas aeruginosa* (kmen 5).

Léčba infekcí *P. aeruginosa* vyžaduje vysoké dávky některých antibiotik [1], u aminoglykosidů (s výjimkou močových infekcí) také kombinaci s jinými antibiotiky nebo léčebnými postupy. Podrobnosti ohledně nové kategorizace citlivosti k aminoglykosidům v závislosti na původu vzorků lze nalézt na webové stránce EUCAST ([http://www.eucast.org/ast\\_of\\_bacteria/guidance\\_documents/](http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/guidance_documents/)) nebo v českém překladu tohoto dokumentu (Pokyny k zavádění a používání revidovaných breakpointů aminoglykosidů (<http://www.szu.cz/dalsi-dokumenty-s-pokyny-pri-testovani-citlivosti-eucast>)).

Patnáct laboratoří chybovalo u ceftazidimu, 14 z nich označilo kmen jako C, čili citlivý při standardním dávkovacím režimu. Všechny kmeny inhibované koncentrací

$\leq 8$  mg/l ceftazidimu jsou však řazeny do kategorie I (citlivé při zvýšené expozici), neexistují tudíž kmeny *P. aeruginosa* citlivé při standardním dávkovacím režimu. Nové kategorie citlivosti se týkají také jiných druhů bakterií a antibiotik [1].

## LITERATURA

1. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0, valid from 2020-01-01 [on-line]. Dostupný z WWW: [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/), český překlad <http://www.szu.cz/klinicke-breakpointy>

**Dne:** 11. 5. 2020

*Koordinátor:*

*Mgr. Renáta Šafránková*

*Zprávu vypracovali:*

*Mgr. Renáta Šafránková, Mgr. Ondřej Daniel,*

*RNDr. Pavla Urbášková, CSc.*