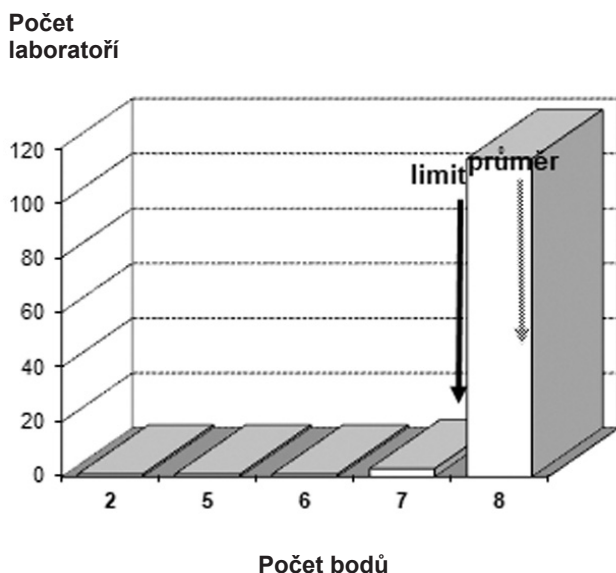


Renáta Šafránková, Pavel Dřevínek, Petra Klimešová, Pavla Urbášková

Celkem byly vzorky rozeslány 122 laboratořím, všechny laboratoře odeslaly výsledek do závěrečného termínu. Za identifikaci signifikantního patogena ve 4 vzorcích mohly laboratoře získat maximálně 8 bodů. 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).

Graf 1: Počet bodů za správnou identifikaci



Maximálního počtu bodů při identifikaci dosáhlo 116, tj. 95,1 % laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 6,595 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj. $7,885 - (2 \times 0,645) = 6,595$). Tohoto limitu dosáhlo 119 laboratoří, 3 laboratoře tento limit nesplnily.

VÝSLEDKY ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

VZOREK 1: BAL od pacienta z JIP, u kterého se zvažuje zařazení na čekací listinu na transplantaci plic
ODPOVĚĎ: *Burkholderia cenocepacia*
 Vzorek dále obsahoval: *Streptococcus oralis*

Identifikace	frekvence	bodů	procento
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	50	2	41,0 %
<i>Burkholderia cepacia</i> komplex	70	2	57,4 %
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2	0	1,6 %
Celkem	122		100 %

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

Burkholderia cenocepacia je jeden z 22 popsanych druhů komplexu *Burkholderia cepacia*; před získáním druhového názvu v roce 2003 byla vedena pod označením genomvar III. V asociaci s diagnózou cystické fibrózy (CF) se jedná o velmi závažného patogena, který způsobuje chronickou infekci dolních cest dýchacích. Navíc se některé kmeny *B. cenocepacia* mohou mezi pacienty snadno šířit, takže bez zavedených režimových opatření panuje v centrech léčby pacientů s CF nebezpečí vzniku epidemie. Tyto určité kmeny *B. cenocepacia* s sebou také nesou riziko rozvoje abscedující pneumonie a sepse, což je perakutně probíhající klinický stav, často končící fatálně. Frekventně se tato fulminantní sepsa objevuje po transplantaci plic, a proto nález *B. cenocepacia*, resp. nález jejích některých kmenů, představuje kontraindikaci k transplantacnímu výkonu. Znalost nejen bakteriálního druhu v rámci komplexu *B. cepacia*, ale i konkrétního kmene je při diagnóze CF zcela zásadní. Protože fenotypové metody nedokáží jednotlivé druhy komplexu *B. cepacia* od sebe odlišit, je pro tento účel potřeba zvolit molekulárně genetické vyšetření ke confirmaci nálezu a pro typizaci. Obě vyšetření zajišťuje referenční pracoviště Ústavu lékařské mikrobiologie FN Motol.

Pozn.: aktualizovaná databáze MALDI-TOF MS z r. 2020 zahrnuje druh *B. cenocepacia*, ovšem protože jej nedovede odlišit od druhu *B. contaminans*, který v databázi chybí a který se může také vyskytovat u pacientů s CF, je vhodnější výsledek z MALDI-TOF MS uzavírat jako komplex *B. cepacia*.

Většina laboratoří (98,4 %) identifikovala správně druh mikroba a získala plný počet bodů. Dvě laboratoře, které kmen identifikovaly jako *Stenotrophomonas maltophilia*, nezískaly žádný bod.

VZOREK 2: Izolát z moče od pacientky z JIP
ODPOVĚĎ: *Serratia marcescens*

Identifikace	frekvence	bodů	procento
<i>Serratia marcescens</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.

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

VZOREK 3: Stoolice od dětského pacienta (2 roky) s průjemem a bolestí břicha
ODPOVĚĎ: <i>Escherichia coli</i> O145
Vzorek dále obsahoval: <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>

Identifikace	frekvence	body	procento
<i>Escherichia coli</i> O145	115	2	94,3%
<i>Escherichia coli</i> *)	4	2	3,2%
<i>Escherichia coli</i> **)	2	1	1,6%
<i>Escherichia coli</i> (= běžná flóra)	1	0	0,8%
Celkem	122		100 %

*) aglutinováno v polyvalentu a zasláno do NRL, zajištěno testování genů pro Shiga toxiny

***) vyloučeny pouze některé séroskupiny „top five“

E. coli O145 patří k původcům průjmu. Tato séroskupina obvykle nese faktory virulence enteropatogenní (EPEC) nebo Shiga toxin-produkující *E. coli* (STEC). EPEC je původcem průjmu především pacientů dětského věku. STEC je závažným původcem průjmů, které mohou být krvavé, a jsou spojené s rizikem rozvoje hemolyticko-uremického syndromu, tzv. HUS (cca u 10 % případů; projevy: trombocytopenie, hemolytická anémie a akutní renální selhání). *E. coli* O145 je v Evropě pátou nejčastější séroskupinou STEC způsobující HUS [1], patří mezi tzv. „top five“ séroskupiny. Suspektní kmeny „top five“ se testují na přítomnost genů pro Shiga toxiny (ke confirmaci sérotypu a otestování *stx* se zasílají do NRL; pokud laboratoř testuje na *stx* sama, pak v případě pozitivity vždy zasílá kmen do NRL) [2].

LITERATURA

1. EFSA BIOHAZ Panel, Koutsoumanis K, Allende A, Alvarez-Ordóñez A, Bover-Cid S, Chemaly M, Davies R, De Cesare A, Herman L, Hilbert F, Lindqvist R, Nauta M, Peixe L, Ru G, Simmons M, Skandamis P, Suffredini E, Jenkins C, Monteiro Pires S, Morabito S, Niskanen T, Scheutz F, da Silva Felício MT, Messens W and Bolton D. Scientific Opinion on the pathogenicity assessment of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the public health risk posed by contamination of food with STEC. *EFSA Journal* 2020; 18(1).
2. Vyhláška 473/2008 Sb., „O systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce“ ve znění novely č. 275/2010 Sb., Příloha 16

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

VZOREK 4: Izolát ze stěrů z postiženého místa v tříslech pacienta se silně svědící hnědě zbarvenou vyrážkou
ODPOVĚĎ: <i>Corynebacterium minutissimum</i>

Identifikace	frekvence	body	procento
<i>Corynebacterium minutissimum</i>	114	2	93,4%
<i>Corynebacterium</i> spp.	4	2	3,3%
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	1	1	0,8%
<i>Corynebacterium striatum</i>	1	1	0,8%
<i>Serratia marcescens</i> + <i>Corynebacterium</i> spp.	1	0	0,8%
<i>Staphylococcus</i> spp.	1	0	0,8%
Celkem	122		100%

Požadavek byl určit signifikantního patogena (stačilo rodové jméno) a vyšetřit jeho citlivost ke klindamycinu a k tetracyklinu. 114 laboratoří správně identifikovalo kmen 4 jako *Corynebacterium minutissimum*, 4 laboratoře uvedly agens jako *Corynebacterium* spp., ostatní 4 laboratoře uvedly 4 různé výsledky, viz výše. Nebyly hodnoceny výsledky vyšetření citlivosti dvou laboratoří, které uvedly jiné signifikantní patogeny (*Staphylococcus* spp., resp. *Serratia marcescens* s poznámkou, že vzorek obsahoval ještě *Corynebacterium* spp.).

Corynebacterium minutissimum je grampozitivní, kataláza pozitivní, nepohyblivá, nesporulující kyjovitá tyčka, původce kožního onemocnění, zvaného erythrasma.

Infekce je obvykle lokalizována v místech, kde dochází k výraznému tření kůže a tím ke vzniku intertriga (opruzení) – tj. v tříslech, v podpaží a pod prsy; vznikají ostře ohraničená, mírně se šupící, světle hnědá až červenohnědá svědivá ložiska. Erythrasma se může vyskytovat i na dolních končetinách v meziprstních prostorech, obvykle mezi 4. a 5. prstem.

Většina případů erythrasmy se vyskytuje u zdravých dospělých, v horkém a vlhkém podnebí bývá častější.

Infekci lze potvrdit vyšetřením tzv. Woodovou lampou se zdrojem ultrafialového záření. Kůže postižená erythrasmou

Tabulka 1: Výsledky vyšetření citlivosti¹ kmene 4 *Corynebacterium minutissimum*

Antibiotikum	Obsah disku µg	Průměry IZ (mm)		MIC (mg/l)		Správné výsledky		
		breakpoint pro citlivé ² kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	breakpoint pro citlivé ² kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL**	kategorie	počet laboratoří	%
klindamycin	2 µg	≥ 20	15–16	≤ 0,5	2–2	R	103/120	85,8
tetracyklin	30 µg	≥ 24	27–29	≤ 2	0,25–≤ 0,25	C	120/120	100,0

¹ metoda vyšetření a interpretace výsledků podle EUCAST 2020 [1]

² citlivé při standardním dávkování

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

Tabulka 2: Výsledky vyšetření citlivosti¹ kmene 5 *Salmonella* Paratyphi

Antibiotikum	Obsah disku µg	Průměry IZ (mm)			MIC (mg/l)			Výsledky ³			
		breakpoint ²		rozmezí hodnot naměřených v NRL [*]	breakpoint ²		rozmezí hodnot naměřených v NRL ^{**}	kategorie/ absolutní počet laboratoří			správné %
		C	R		C	R		C	I	R	
cefotaxim	5 µg	≥ 20	< 17	24–25	≤ 1	> 2	0,125–0,25	122	0	0	100,0
ciprofloxacín	5 µg	≥ 25	< 22	20–21	≤ 0,06	> 0,06	0,5–1	1	1	120	98,4 %
pefloxacín ⁴	5 µg	≥ 24	< 24	12–13	NA	NA	NT	–	–	–	–

¹ metoda vyšetření a interpretace výsledků podle EUCAST 2020 [1]

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

³ správné výsledky jsou zvýrazněny

⁴ screening pro zjištění klinické rezistence k fluorochinolonům u *Salmonella* spp.; výsledky NRL jsou uvedeny pro informaci

IZ: inhibiční zóna; MIC: minimální inhibiční koncentrace; * 5 měření diskovou difúzní metodou, ** 5 měření diluční mikrometodou; C: citlivý, I: citlivý při zvýšené expozici, R: rezistentní i při zvýšené expozici; NA: není dostupné, NT: netestováno.

pod touto lampou korálově červeně fluoreskuje, což je způsobeno produkcí porfyrinů bakterií *C. minutissimum* [2].

Identifikace metodou MALDI-TOF MS je zcela bezproblémová s hodnotou skóre nad 2,3; identifikace pomocí API Coryne je naopak svízelná, s výsledkem *Corynebacterium striatum/amycolatum* na 96,7 % ID, proto byla zvolena možnost identifikace pouze do rodu.

Kmen byl rezistentní ke klindamycinu a citlivý k tetracyklinu (kategorie I pro tato antibiotika u *Corynebacterium* spp. neexistuje). 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 *Corynebacterium* spp., hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

VZOREK 5: *Salmonella* Paratyphi

Kmen 5 je citlivý (C) při standardním dávkování k cefotaximu a k ciprofloxacínu je rezistentní (R) i při zvýšené expozici. Všechny laboratoře udaly správné výsledky u cefotaximu, u ciprofloxacínu chybovaly 2 laboratoře.

Celkové výsledky vyšetření citlivosti u kmene 5 jsou v tabulce 2, která obsahuje breakpointy inhibičních zón (IZ) a MIC cefotaximu a ciprofloxacínu pro izolát *Salmonella* Paratyphi, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

ZÁVĚR

Corynebacterium minutissimum je původcem kožní infekce erythrasma, léčené obvykle keratolytickými přípravky

nebo lokálními antibiotiky. Extrakutánní infekce tímto původcem jsou vzácné, nicméně u osob s predispozičními faktory (např. s HIV/AIDS) může infekce generalizovat. Vyšetření citlivosti má význam i v případě, že se podávají antibiotika lokálně, neboť kmen 4 byl rezistentní ke klindamycinu, jednomu z antibiotik doporučených pro lokální léčbu erythrasma. Vyšetření citlivosti k tomuto antibiotiku činilo potíže 15 % ze 120 hodnocených laboratoří, zatímco výsledky u tetracyklinu měly všechny laboratoře správně. Uspokojivé byly také výsledky laboratoří týkající se vyšetření antibiotické citlivosti u kmene 5.

LITERATURA

- 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/, český překlad <http://www.szu.cz/klinicke-breakpointy>
- Groves JB, Freeman AM. Erythrasma. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513352/>

17. 7. 2020

Koordinátor:
Mgr. Renáta Šafránková
Tel: 267 082 124

Zprávu vypracovali:
Mgr. Renáta Šafránková,
prof. MUDr. Pavel Dřevínek, Ph.D.,
Mgr. Petra Klimešová,
RNDr. Pavla Urbášková, CSc.