

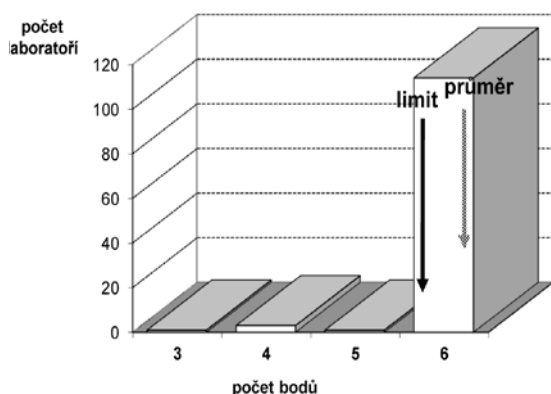
## EHK – 1206 Bakteriologická diagnostika

Renáta Šafránková, Andrea Mančíková, Pavla Urbášková

### VYHODNOCENÍ

Celkem byly vzorky rozeslány 119 laboratořím, všechny laboratoře odeslaly výsledek do závěrečného termínu. Za identifikaci signifikantního patogena ve 3 vzorcích mohly laboratoře získat maximálně 6 bodů, jeden vzorek byl edukativní. Bodování pro identifikaci bylo provedeno ve stupnici 2, 1 a 0 bodů. Hodnocení (resp. bodování) vyšetření citlivosti se z technických důvodů již neprovádí, k dispozici jsou komentované výsledky (vzorek 4 a 5).

Graf 1: Počet bodů za správnou identifikaci



Maximálního počtu bodů při identifikaci dosáhlo 114, tj. 95,8 % laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 5,068 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj.  $5,916 - (2 \times 0,424) = 5,068$ ). Tohoto limitu dosáhlo 114 laboratoří, 5 laboratoří tento limit nesplnilo.

### VÝSLEDKY ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

VZOREK 1: Hnis z oka od pacienta s endoftalmitidou po operaci katarakty
ODPOVĚĎ: <i>Cutibacterium (Propionibacterium) acnes</i> (+ <i>Staphylococcus epidermidis</i> )

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Cutibacterium (Propionibacterium) acnes</i> + <i>Staphylococcus epidermidis</i>	101	2	84,9 %
<i>Cutibacterium (Propionibacterium) acnes</i>	15	2	12,6 %
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	0	1,7 %
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> + <i>Staphylococcus aureus</i>	1	0	0,8 %
<b>Celkem</b>	<b>119</b>		<b>100 %</b>

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

116 laboratoří prokázalo ve vzorku *Cutibacterium (Propionibacterium) acnes*. 101 laboratoří uvedlo současně i druh *S. epidermidis*, který by u oslabeného pacienta mohl být spolupříčinou infekce, nicméně i doprovodnou flórou. Dvě laboratoře, které ve vzorku prokázaly pouze *S. epidermidis*, nezískaly žádný bod, stejně tak laboratoř, která do výsledku identifikace uvedla dvě agens, která ve vzorku nebyla přítomna.

V roce 2016 došlo k reklasifikaci rodu *Propionibacterium* [1] a správný název druhu je dnes *Cutibacterium acnes*.

### LITERATURA

- [1] Scholz CF, Kilian M. The natural history of cutaneous propionibacteria, and reclassification of selected species within the genus *Propionibacterium* to the proposed novel genera *Acidipropionibacterium* gen. nov., *Cutibacterium* gen. nov. and *Pseudopropionibacterium* gen. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2016; 66: 4422–4432

VZOREK 2: Izolát z hemokultury od imunokompromitovaného pacienta se sepsí.

ODPOVĚĎ: *Enterococcus durans*

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Enterococcus durans</i>	117	2	98,3 %
<i>Enterococcus faecium</i>	1	1	0,8 %
<i>Enterococcus</i> spp.	1	1	0,8 %
<b>Celkem</b>	<b>119</b>		<b>100 %</b>

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

Většina laboratoří odpověděla správně a získala po dvou bodech; 2 laboratoře, které identifikovaly jiný druh nebo určily kmen pouze do rodu, získaly po jednom bodu.

Identifikace metodou MALDI-TOF MS je zcela bezproblémová s hodnotou skóre nad 2,3. Též identifikace pomocí API STREP nečiní obtíže s výsledkem 99,8 % ID.

*Enterococcus durans* je původcem velmi vzácných infekcí jako je endokarditida nebo sepse u imunokompromitovaného pacienta [1,2].

### LITERATURA

- [1] Vijayakrishnan R, Rapose A. Fatal *Enterococcus durans* aortic valve endocarditis: a case report and review of the literature. *BMJ Case Rep.* 2012; Jun 8; 2012
- [2] Kenzaka T, Takamura N, Kumabe A, Takeda K. A case of subacute infective endocarditis and blood access infection caused by *Enterococcus durans*. *BMC Infect Dis.* 2013; Dec 17; 13:594.

VZOREK 3: Edukativní vzorek (vzorek se nehodnotí) Stolice od 65letého pacienta s průjemem vzniklým po konzumaci kuřecího salátu
Odpověď: <b>Salmonella enterica subsp. enterica sérovar Infantis 6,7:y:1,5</b> Vzorek obsahoval: <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i>

Identifikace	četnost	četnost (%)
<b>Salmonella Infantis</b>	<b>32</b>	<b>28 %</b>
<b>Salmonella sk. O:7, H:5, H:r</b>	<b>1</b>	
<i>Salmonella</i> spp. O:6,7 H:5	3	3 %
<i>Salmonella</i> sk. C1 O:6,7 H:5	2	2 %
<i>Salmonella</i> Bareilly	4	3 %
<i>Salmonella</i> sk. C1	43	36 %
<i>Salmonella</i> sk. O:7	15	13 %
<i>Salmonella</i> spp. O:7	3	3 %
<i>Salmonella</i> spp. OMB	1	1 %
<i>Salmonella</i> spp. O:6,7,8	1	1 %
<i>Salmonella</i> Enteritidis	1	1 %
<i>Salmonella</i> spp.	12	10 %
neurčeno	1	1 %
<b>celkem</b>	<b>119</b>	<b>100 %</b>

somatický a alespoň jeden bičíkový antigen určený správně – celkem	32 %
somatický antigen určený správně – celkem	88 %

Jako edukativní vzorek byl rozeslán kmen *Salmonella* Infantis antigenní struktury 6,7 : r : 1,5.

Jedná se o třetí nejčastěji se vyskytující sérotyp na území ČR v roce 2020.

Úplnou antigenní strukturu *Salmonella* Infantis 6,7 : r : 1,5 dokázalo určit 33 laboratoří z celkového počtu 119, což je méně než každá třetí ze zúčastněných laboratoří: 28 %.

Alespoň dvě antigenní determinanty určilo správně 9 laboratoří, zde jsou započítány i výsledky „*Salmonella* Bareilly“, která se vyznačuje shodným somatickým antigenem O:7 a shodným bičíkovým antigenem H:1,5 jako sérotyp Infantis. Od sebe se liší v bičíkovém antigenu druhé fáze H:r / H:y.

63 laboratoří (tj. 53 % ze všech zúčastněných) určily pouze somatický antigen a vyhodnotily správně kmen salmonely jako zástupce skupiny C1, případně O:7, ve dvou případech OMB respektive O:6,7,8.

Nesprávně (jak somatické, tak bičíkové antigeny) určila kmen jedna laboratoř a to jako *S. Enteritidis*.

Pouze jediná laboratoř nezařadila kmen do rodu *Salmonella*.

Je třeba zmínit, že se u zasláního kmene nejednalo o typický fenotyp a určení všech antigenních struktur bylo obtížnější.

Pro ilustraci uvádíme přehled nejčastěji hlášených sérotypů salmonel za rok 2020. Stejně jako v předchozích letech největší podíl připadá na *S. Enteritidis* (88 %), *S. Typhimurium* (5 %), monofázickou *S. Typhimurium* (1%) a *S. Infantis* (1 %). Celkem bylo nahlášeno na území ČR 10614 kmenů salmonel.

Zastoupení sérotypů salmonel hlášených v roce 2020 na území ČR (data k 19. 08. 2021, zdroj TESSy)			
		počet	zastoupení z celkového počtu hlášených salmonel
1.	<i>Salmonella</i> Enteritidis	9343	88,03 %
2.	<i>S. Typhimurium</i>	533	5,02 %
3.	monofázická <i>S. Typhimurium</i>	116	1,09 %
4.	<i>S. Infantis</i>	116	1,09 %
5.	<i>S. Coeln</i>	55	0,52 %
6.	<i>S. Kentucky</i>	49	0,46 %
7.	<i>S. Newport</i>	25	0,24 %
8.	<i>S. Bareilly</i>	21	0,20 %
9.	<i>S. Hadar</i>	16	0,15 %
10.	<i>S. Muenchen</i>	15	0,14 %
	<b>celkem tyto sérotypy</b>	<b>10289</b>	<b>96,94 %</b>

Nadále platí, že vhodným postupem k úplnému určení antigenního vzorce *Salmonella* sp. v případě nedostupnosti polyvalentních, monovalentních a faktorových antisér či nemožnosti úplného určení, je její zaslání do NRL pro salmonely s informací o alespoň částečně určené antigenní struktuře, pokud byla stanovena. Taktéž doporučujeme v případě nejistoty u některého z antigenních determinantů sérotyp neuvádět a vzorek zaslat k dourčení do NRL. Výsledná přesná typizace, může přispět při šetření epidemií jak na národní, tak nadnárodní úrovni.

Děkujeme všem zúčastněným laboratořím, které se zapojily do určení patogenního kmene i přesto, že se jednalo pouze o vzorek edukativní.

VZOREK 4: Izolát ze sputa od pacienta s akutní exacerbací CHOPN
ODPOVĚĎ: <b>Streptococcus pneumoniae</b>

identifikace	frekvence	body	procento
<b>Streptococcus pneumoniae</b>	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.

Požadavek byl určit signifikantního patogena izolovaného ze sputa u pacienta s CHOPN a vyšetřit jeho citlivost k penicilinu a cefotaximu. Vzhledem k diagnóze je kmen rezistentní (R) k penicilinu a citlivý, zvýšená expozice (I) k cefotaximu.

Tabulka 1: Výsledky vyšetření citlivostí<sup>1</sup> kmene 4 *Streptococcus pneumoniae*

Antibiotikum	Obsah disku µg	Průměry IZ (mm)			MIC (mg/l)			Výsledky laboratoří (n = 119)			
		breakpoint <sup>2</sup>		rozezní hodnot naměřených v NRL <sup>*</sup>	breakpoint <sup>2</sup>		rozezní hodnot naměřených v NRL <sup>**</sup>	kategorie <sup>3</sup> / absolutní počet <sup>4</sup>			správné %
		C	I/R		C	R		C	I	R	
oxacilin	1 µg	≥ 20	< 20	6–6	ND			0	93	25	21,2
penicilin <sup>***</sup>		ND			≤ 0,06	> 2	4–4				
cefotaxim		ND			≤ 0,5	> 2	2–2	18	101	0	84,9

<sup>1</sup> metoda vyšetření a interpretace výsledků podle EUCAST 2021 [1]

<sup>2</sup> hodnoty mezi breakpointy pro kategorie C a R jsou hodnoty pro kategorii I (citlivý při zvýšené expozici)

<sup>3</sup> kategorie pro indikace jiné než meningitida: C: citlivý při standardním dávkování, I: citlivý při zvýšené expozici; R: rezistentní i při zvýšené expozici

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

IZ: inhibiční zóna; MIC: minimální inhibiční koncentrace; ND: Breakpoint nedefinován, v NRL neprováděno; \* 5 měření diskovou difuzní metodou;

\*\* 5 měření diluční mikrometodou; \*\*\* jedna laboratoř penicilin nevyšetřila (resp. pouze zapsala dva rozdílné výsledky do poznámky)

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

#### VZOREK 5: *Escherichia coli*

Kmen 5 je citlivý při standardním dávkování (C) k ampicilinu i k cefotaximu. Všechny laboratoře udaly správné výsledky u cefotaximu, u ampicilinu chybovaly dvě laboratoře. Celkové výsledky vyšetření citlivosti u kmene 5 jsou v tabulce 2, která obsahuje breakpointy inhibičních zón (IZ) a MIC ampicilinu a cefotaximu pro *Enterobacterales*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

## ZÁVĚR

*Streptococcus pneumoniae* EHK – 1206/kmen 4 byl poslán již po druhé laboratořím ke kontrole kvality vyšetření citlivosti k penicilinu a k cefotaximu, s udáním identické

diagnózy (exacerbace CHOPN) i vzorku (sputum). Poprvé to bylo v roce 2019 v rámci EHK – 1100/kmen 4, kdy byl zaznamenán nízký počet správných výsledků u penicilinu (26,7 %) i u cefotaximu (83,3 %). Přeš podrobný rozbor chyb u EHK – 1100/kmen 4 [2] s uvedením jejich příčiny spočívající v používání nespolehlivé metody gradientních testů k vyšetření MIC místo standardní bujónové mikrodiluční metody [3] jsou výsledky EHK – 1206/kmen 4 u penicilinu ještě méně uspokojivé: správně vyšetřilo toto antibiotikum pouze 21,2 % laboratoří (zhoršení o 5,5 %) zatímco u cefotaximu se výsledky zlepšily nepatrně (o 1,6 %). Výsledky MIC penicilinu u kmene EHK – 1206/kmen 4, vyšetřené v NRL pro antibiotika gradientními testy dvou výrobců nepřesáhly MIC 1,5 mg/l a potvrdily tak, že v souladu s varováním EUCAST [3], nejsou gradientní testy vhodné pro vyšetření MIC penicilinu u pneumokoků.

## LITERATURA

- [1] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 11.0, valid from 2021-

Tabulka 2: Výsledky vyšetření citlivostí<sup>1</sup> kmene 5 *Escherichia coli*

Antibiotikum	Obsah disku µg	Průměry IZ (mm)			MIC (mg/l)			Výsledky laboratoří			
		breakpoint <sup>2</sup>		rozezní hodnot naměřených v NRL <sup>*</sup>	breakpoint <sup>2</sup>		rozezní hodnot naměřených v NRL <sup>**</sup>	kategorie <sup>3</sup> / absolutní počet <sup>4</sup>			správné %
		C	R		C	R		C	I	R	
ampicilin	10 µg	≥ 14	< 14	16–17	≤ 8	> 8	4–8	117	1	1	98,3
cefotaxim	5 µg	≥ 20	< 17 <sup>5</sup>	26–26	≤ 1	> 2 <sup>5</sup>	0,125–0,125	119	0	0	100,0
		< 20 <sup>6</sup>	> 1 <sup>6</sup>								

<sup>1</sup> metoda vyšetření a interpretace výsledků podle EUCAST 2021 [1]

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

<sup>3</sup> kategorie C: citlivý při standardním dávkování, I: citlivý při zvýšené expozici; R: rezistentní i při zvýšené expozici

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

<sup>5</sup> infekce jiné než meningitida

<sup>6</sup> meningitida

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

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>

[2] EHK – 1100 Bakteriologická diagnostika. *Zprávy Centra mikrobiologie a epidemiologie* 2020; 29(3): 129-131. Dostupné z WWW: <http://www.szu.cz/publikace/zpravy-epidemiologie-a-mikrobiologie/zpravy-cem-03-brezen-2020>

[3] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Warning against the use of gradient tests for benzylpenicillin MIC in *Streptococcus pneumoniae*. 21st of November 2019. Dostupné z WWW: <http://www.eucast.org/fileadmin/src/>

[media/PDFs/EUCAST\\_files/Warnings/Warnings\\_docs/Warning\\_-\\_gradient\\_for\\_benzyl\\_and\\_pnc\\_21nov2019.pdf](#)

*Zprávu vypracovaly*

*Mgr. Renáta Šafránková, Ph.D., RNDr. Andrea Mančíková, Ph.D., RNDr. Pavla Urbášková, CSc.*

*Zprávu autorizovala*

*Mgr. Renáta Šafránková, Ph.D.*

*30. 11. 2021*