

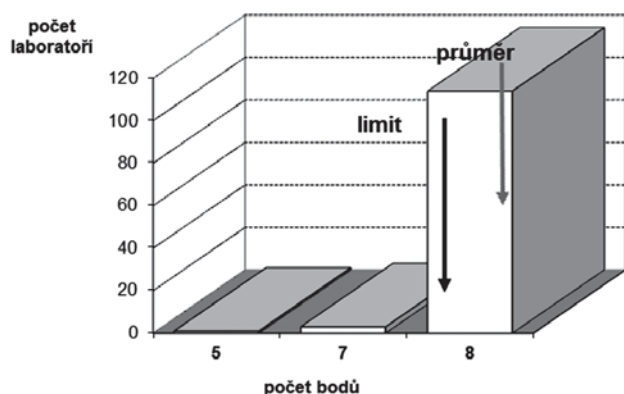
EHK – 896 Bakteriologická diagnostika

Renáta Šafránková, Monika Marejková, Petr Petráš, Pavla Urbášková, Jana Zavadilová

Celkem byly vzorky rozeslány 119 laboratořím, 118 laboratoří odeslalo výsledek do závěrečného termínu. Za identifikaci signifikantního patogena ve 4 vzorcích mohly laboratoře získat maximálně 8 bodů; za vyšetření citlivosti mohly laboratoře obdržet celkem 6 bodů (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.

Maximálního počtu bodů při identifikaci dosáhlo 114, tj. 96,6 % laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 7,317 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj. $7,949 - (2 \times 0,316) = 7,317$). Tohoto limitu dosáhlo 114 laboratoří, 4 laboratoře tento limit nesplynily.

Graf 1: POČET BODŮ ZA SPRÁVNOU IDENTIFIKACI



VÝSLEDKY ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

Vzorek 1: Výtěr z tonsil u pacienta s bolestí v krku (podezření na záškrt)
Odpověď: <i>Corynebacterium ulcerans</i>
Vzorek dále obsahoval: <i>Streptococcus oralis</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Corynebacterium ulcerans</i>	118	2	100 %
Celkem	118		100 %

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

Všechny zúčastněné laboratoře (118, tj. 100 %) identifikovaly kmen správně jako *Corynebacterium ulcerans*, 12 laboratoří (tj. 10,2 %) též správně uvedlo, že by kmen odeslali do NRL pro pertusi a difterii na ověření produkce toxinu.

C. ulcerans je fylogeneticky vysoce příbuzné s *Corynebacterium diphtheriae* a může produkovat difterický toxin.

Toxigenní kmeny *C. ulcerans* jsou vzácnými původci onemocnění připomínající klasickou difterii (faryngeální či kožní formu). Kmeny neprodukující toxin se podílí na patogenezi různých zánětů především kožních.

Roste na krevním agaru (vytváří malou zónu hemolýzy) a na agaru obohaceném teluričitanem draselným (suché, naředlé, neprůhledné kolonie).

C. ulcerans lze od *C. diphtheriae* odlišit pozitivní ureázovou reakcí a pozitivním reverzním CAMP testem.

Vzorek 2: Izolát z krve od pacienta s podezřením na katérovou infekci

Odpověď: *Staphylococcus lugdunensis*

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	117	2	99,2 %
<i>Staphylococcus petrasii</i>	1	1	0,8 %
Celkem	118		100 %

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

Staphylococcus lugdunensis byl popsán francouzskými bakteriology v r. 1988. Jméno dostal podle římského města Lugdunum, předchůdce dnešního Lyonu, kde byly první kmeny izolovány. Náleží k novobiocinu citlivým, koaguláza-negativním stafylokokům. Je podmíněným patogenem, který u oslabených osob, intravenózních narkomanů a dlouhodobě hospitalizovaných pacientů může být příčinou vážných onemocnění. Závažné jsou především infekce krevního řečiště. Podle výsledků NRL pro stafylokoky patří *S. lugdunensis* mezi 10 nejčastějších koaguláza-negativních druhů, které jsou z humánního klinického materiálu k identifikaci zasílány.

Zaslaný kmen měl naprosto typické vlastnosti svého druhu. Byl citlivý k novobiocinu a měl pozitivní PYRtest a latexový test na clumping-faktor. Kmeny *S. lugdunensis* mají často tento test pozitivní, a tak mohou být mylně považovány za kmeny *S. aureus*. Navíc někdy mají podobně pigmentované kolonie. Neprodukují však alfa-hemolysin, ale jsou producenty delta-hemolysinu, mají negativní testy na volnou koagulázu, hyaluronidázu i termonukleázu.

Kmeny druhu *S. petrasii* patří rovněž ke stafylokokům koaguláza-negativním, k novobiocinu citlivým, PYR pozitivním. Kmeny poddruhu *S. petrasii* subsp. *petrasii* mají s některými kity pozitivní latexový test na clumping-faktor.

Jednoduchou reakcí, která tyto druhy snadno odliší, je pozitivní reakce na ornitin-dekarboxylázu. Tento enzym produkují kmeny *S. lugdunensis* (s výjimkou asi 10 % kmenů *S. epidermidis*) jako jediný stafylokok.

Vzorek 3: Stoolice od pacienta s krvavým průjmem a horečkou
Odpověď: *Shigella dysenteriae* typ 2

Vzorek dále obsahoval: *Escherichia coli*,
Enterococcus faecalis

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Shigella dysenteriae</i>	99	2	83,9 %
<i>Shigella dysenteriae</i> A2	10	2	8,5 %
<i>Shigella dysenteriae</i> A	4	2	3,4 %
<i>Shigella dysenteriae</i> typ 2	2	2	1,7 %
<i>Shigella</i> sp.	3	1	2,5 %
Celkem	118		100 %

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

Výskyt shigelóz v roce 2014 oproti předchozím letům výrazněji poklesl, v loňském roce bylo v ČR zaznamenáno 92 případů, zatímco v letech 2008–2013 se počty pohybovaly v rozmezí 164 až 450 hlášených onemocnění ročně [1].

V Evropě je trend v počtu potvrzených shigelóz v letech 2008–2012 setrvalý (cca 7000 notifikovaných onemocnění ročně), více než polovina případů s uvedenou informací jsou importované infekce, a každoročně nejčastěji identifikovaným původcem shigelóz zůstává *Shigella sonnei* [2]. Ve stejném období tento druh dominuje u potvrzených případů onemocnění i v České republice a situace u nás je neměnná i v letech 2013 a 2014 [zdroj Epidat, nepublikovaná data].

Shigelóza patří k 7 prioritním onemocněním monitorovaných ECDC v rámci surveillance programu Food-and Waterborne Diseases. Při hlášení případů shigelóz do evropského systému je druh *Shigella* sp. jedním ze sledovaných ukazovatelů, který uvádí většina členských zemí.

Je velice potěšující, že 97,5 % laboratoří účastnících EHK správně identifikovalo zaslaný vzorek *S. dysenteriae* typ 2 do druhu, přičemž 2 z nich bezchybně určily i sérotyp.

Identifikace izolátů *Shigella* pouze na úrovni rodu je nedostatečná zejména z epidemiologických důvodů, třem laboratořím bude uděleno za neúplný výsledek po jednom bodu. Prosíme klinické laboratoře, aby v rámci diagnostického minima nadále používaly polyvalentní antiséra k ověření druhové příslušnosti izolátů shigel a hlásily nálezy včetně identifikace do druhu patogena. Z hlášení v Epidatu je patrné, že druhová typizace shigel v laboratořích je prováděna v maximálním počtu případů a chceme tímto poděkovat všem mikrobiologům za úsilí a pečlivou diagnostiku.

Izolované kmeny shigel možno v případě zájmu zasílat k podrobné sérotypizaci do NRL pro *E. coli* a shigely. Kmeny suspektních shigel s nejasnou identifikací (sporné výsledky biochemických testů a aglutinace) a záchyt *S. dysenteriae* typ 1 odesílat k podrobné typizaci a konfirmaci do NRL.

Zde připomínáme typické biochemické vlastnosti *S. dysenteriae* významné z hlediska diferenciální diagnos-

tiky druhů/podskupin shigel: manitol negativní (s výjimkou *S. dysenteriae* typ 3); většinou indol negativní (výjimka *S. dysenteriae* typ 2, 7, 8); laktóza, sacharóza a rafinóza negativní; dulcitol negativní (s výjimkou *S. dysenteriae* typ 5) [3].

LITERATURA

- [1] NRC pro analýzu epidemiologických dat SZÚ. Výskyt vybraných hlášených infekcí v ČR v letech 2005 – 2014. Zpráva CEM (SZÚ, Praha) 2015; 24(1): 6 – 7.
- [2] ECDC SURVEILLANCE REPORT. Surveillance of seven priority food- and waterborne diseases in the EU/EEA 2010–2012. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/food-and-waterborne-diseases-surveillance-report-2015.pdf>
- [3] AHM, příloha č.9/80. Standardní metody vyšetřování nákaz vyvolaných rodem *Shigella*

Vzorek 4: Izolát z krve od dlouhodobě hospitalizovaného pacienta
Odpověď: *Enterobacter cloacae*

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Enterobacter cloacae</i>	116	2	98,3 %
<i>Enterobacter cloacae</i> komplex	1	2	0,8 %
<i>Serratia marcescens</i>	1	0	0,8 %
Celkem	118		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, vyšetřit jeho citlivost k cefotaximu, ceftazidimu, gentamicinu a určit, zda produkuje ESBL. Kmen 4 *Enterobacter cloacae* je rezistentní k oběma cefalosporinům, citlivý ke gentamicinu a ESBL neprodukuje. Jedna laboratoř kmen chybně identifikovala jako *Serratia marcescens*. Všechny laboratoře správně označily kmen 4 jako rezistentní k ceftazidimu a citlivý ke gentamicinu, jedna laboratoř jej chybně kategorizovala jako citlivý k cefotaximu a pět laboratoří jej chybně označilo jako producenta ESBL. Celkové výsledky vyšetření citlivosti u kmene 4 jsou v tabulce 1, která obsahuje breakpointy inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny enterobakterií, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika, a výsledky laboratoří.

Vzorek 5: *Streptococcus sanguinis*

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 5 k penicilinu a ke klindamycinu. Kmen byl k oběma antibiotikům citlivý. S výjimkou jedné laboratoře, která označila kmen 5 jako rezistentní k penicilinu, všechny ostatní laboratoře kategorizovaly citlivost kmene 5 k požadovaným antibiotikům správně. Celkové výsledky vyšetření citlivosti u kmene 5 jsou v tabulce 2, která obsahuje breakpointy inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny viridujících streptokoků, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika, a výsledky laboratoří.

Tabulka 1: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 4 *ENTEROBACTER CLOACAE*

Antibiotikum	Zdroj	Průměry IZ (mm)			MIC (mg/l)		Správné výsledky		
		obsah disku μg	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	≥ 20	6-6	≤ 1	8 - 8	R	117/118	99,2
	CLSI [2]	30	≥ 26	20-21					
ceftazidim	EUCAST [1]	10	≥ 22	10-12	≤ 1	8 - 8	R	118/118	100,0
	CLSI [2]	30	≥ 21	17-18	≤ 4				
gentamicin	EUCAST [1]	10	≥ 17	19-20	≤ 2	$\leq 0,25 - \leq 0,25$	C	118/118	100,0
	CLSI [2]		≥ 15		≤ 4				

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

Tabulka 2: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 5 *STREPTOCOCCUS SANGUINIS*

Antibiotikum	Zdroj	Průměry IZ (mm)			MIC (mg/l)		Správné výsledky		
		obsah disku μg	breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL**	kategorie	počet laboratoří	%
penicilin	EUCAST [1]	1 J	≥ 18	23-24	$\leq 0,25$	0,12 - 0,12	C	117/118	99,2
	CLSI [2]	neudáno			$\leq 0,12$				
klindamycin	EUCAST [1]	2	≥ 19	25-26	$\leq 0,5$	0,06 - 0,12	C	118/118	100,0
	CLSI [2]				$\leq 0,25$				

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

ZÁVĚR

V sérii EHK–896 byly jen ojediněle zaznamenány chyby ve vyšetření citlivosti k antibiotikům. Pět laboratoří, chybujících ve výsledku vyšetření produkce širokospektré betalaktamázy, by mělo prověřit metodu, kterou pro tento účel používají.

LITERATURA

[1] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 5.0, valid from 2015-01-01. Dostupné na http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/, český překlad tohoto dokumentu je na: <http://www.szu.cz/tabulky-breakpointu-eucast> (verze 5.0, platná od 01. 01. 2015).

[2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI Document M100-S25. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, Pa, 2015.

Dne: 20. 11. 2015

Koordinátor: *Mgr. Renáta Šafránková*

Zprávu vypracovali: *Mgr. Renáta Šafránková*
Ing. Monika Marejková, PhD.
RNDr. Petr Petráš CSc.
RNDr. Pavla Urbášková CSc.
Mgr. Jana Zavadilová
 CEM - SZÚ