

## EHK – 914 Bakteriologická diagnostika

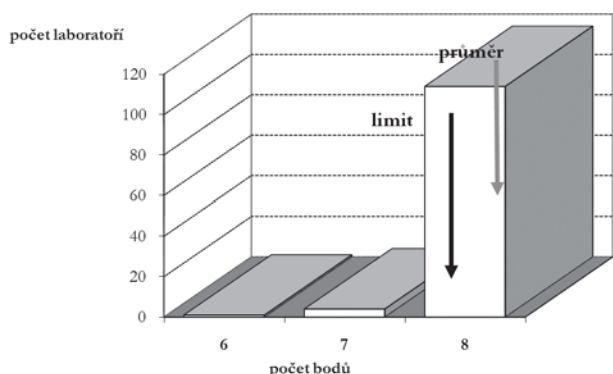
*Renáta Šafránková, Monika Marejková, Petr Petráš, Pavla Urbášková*

### HODNOCENÍ

Celkem byly vzorky rozslány 119 laboratořím, všechny laboratoře odeslaly výsledek identifikace do závěrečného termínu, jedna laboratoř neuvedla výsledky vyšetření citlivosti. Za identifikaci signifikantního patogena ve 4 vzorcích mohly laboratoře získat maximálně 8 bodů; za vyšetření citlivosti mohly laboratoře obdržet celkem 4 body (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. 95,8 % laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 7,44 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj.  $7,95 - (2 \times 0,255) = 7,44$ ). Tohoto limitu dosáhlo 114 laboratoří, 5 laboratoří tento limit nesplnilo.

**Graf 1: POČET BODŮ ZA SPRÁVNOU IDENTIFIKACI**



### VÝSLEDKY ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

<b>Vzorek 1: Výtěr z krku od pacientky s tonzilofaryngitidou</b>
<b>Odpověď: <i>Arcanobacterium haemolyticum</i></b> Vzorek dále obsahoval: <i>Streptococcus oralis</i>

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	118	2	99,2 %
„ <i>Arcanobacter</i> “ <i>haemolyticum</i>	1	1	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.

Všechny laboratoře vyjma jedné odpověděly správně a získaly po dvou bodech. Jedna laboratoř použila nesprávný, i když podobný název, a získala jeden bod.

#### **Vzorek 2: Izolát z hemokultury od pacienta se sepsí**

**Odpověď: *Enterococcus gallinarum***

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Enterococcus gallinarum</i>	118	2	99,2 %
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	1	1	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.

Většina laboratoří (99,2 %) identifikovala správně druh mikroba a získala plný počet bodů. Jedna laboratoř identifikovala kmen jako *Enterococcus casseliflavus*. Oba tyto druhy (*E. gallinarum* i *E. casseliflavus*) jsou pohyblivé, k spolehlivému rozlišení obou druhů slouží u *E. casseliflavus* produkce žlutého pigmentu, která je patrná zejména při prodloužené kultivaci (48 h).

#### **Vzorek 3: Stoličky od 45letého pacienta s řídkou stolicí a dyspepsií**

**Odpověď: Signifikantní bakteriální patogen nepřítomen**

Vzorek dále obsahoval: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
Signifikantní (bakteriální) patogen nepřítomen	118	2	99,2 %
Enteroinvazivní <i>E.coli</i> O136	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.

Jedna ze zúčastněných laboratoří chybně identifikovala vzorek a uvedla nález signifikantního patogena, enteroinvazivní *E.coli* O136. Kmen *E.coli* obsažený ve vzorku tuto charakteristiku nesplňoval jednak po stránce fenotypové, a současně klinický obraz neodpovídal infekci enteroinvazivní *E.coli* (EIEC). Kmen nepatřil k žádné z typických séro skupin průjmových *E.coli*, včetně O136 (EIEC), pro-

dukoval plyn, lysin-dekarboxylázu a okyseloval laktózu. Celkově byl biochemicky aktivní, což dále nepodporuje příslušnost k EIEC. Onemocnění vyvolané enteroinvazivní *E.coli* připomíná bacilární úplavici; typická manifestace je průjem, břišní křeče, zvracení, horečka. Za nesprávnou identifikaci, i v kontextu s vymezenými klinickými příznaky u posuzovaného vzorku, byly laboratoři odebrány 2 body.

**Vzorek 4: Izolát z krve od pacienta po operaci chlopenní náhrady**

**Odpověď:** *Staphylococcus epidermidis*

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	117	2	98,3%
<i>Staphylococcus</i> koaguláza-negativní	1	1	0,8%
<i>Staphylococcus xylosum</i>	1	1	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 a vyšetřit jeho citlivost k oxacilinu a ke klindamycinu. Kmen 4 *Staphylococcus epidermidis* je citlivý k oběma požadovaným antibiotikům. Z celkového počtu 119 zúčastněných laboratoří identifikovalo 117 laboratoří správně kmen ze vzorku 4 do druhu *S. epidermidis*, jedna laboratoř kmen označila jako *Staphylococcus* koaguláza-negativní a jedna jako *S. xylosum*. *Staphylococcus epidermidis* je nejčastěji nalézaným koaguláza-negativním stafylokokem (KNS) v humánním klinickém materiálu. Je hlavním součástí normální mikroflóry kůže a sliznic, ale uplatňuje se i jako podmíněný patogen. Týká se to třech skupin pacientů: a) věkem nebo imunitně oslabených jedinců, b) dlouhodobě hospitalizovaných, c) uživatelů IVD. Často to bývá při použití plastových či kovových pomůcek. Právě implantace umělých srdečních chlopní je typickým případem, kdy může dojít k osídlení, a posléze i k infekci nemocničním, často velice rezistentním kmenem *S. epidermidis*. Důležitým faktorem virulence je schopnost těchto kmenů produkovat sliz, který jim umožní vytvořit na plastovém povrchu biofilm.

*S. epidermidis* se dá jednoduše identifikovat konvenčním biochemickým způsobem a velice dobře jej určí i hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF. *S. xylosum* je na rozdíl *S. epidermidis* je rezistentní k novobiocinu a jako jeden z mála stafylokokových druhů okyseluje monosacharid xylosu. Identifikace „koaguláza-negativní stafylokok“ je opravdu hodně nepřesná.

Výsledky vyšetření citlivosti jedna laboratoř neuvedla, jedna laboratoř kmen chybně označila jako rezistentní k oxacilinu a jedna laboratoř uvedla místo požadované formy odpovědi u oxacilinu i klindamycinu křížek. Celkové výsledky vyšetření citlivosti u kmene 4 jsou v tabulce 1,

kteřá obsahuje breakpointy inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny koaguláza-negativních stafylokoků, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika, a výsledky laboratoří.

**Vzorek 5: *Escherichia coli***

Požadavek byl vyšetřit citlivost ke ceftazidimu a odpovědět na otázku, zda tento kmen je pravděpodobným producentem karbapenemázy. Kmen byl k ceftazidimu citlivý a produkoval karbapenemázu (OXA-48). Správné výsledky vyšetření citlivosti k ceftazidimu uvedlo 115 laboratoří, dvě laboratoře chybně označily kmen jako rezistentní a jedna laboratoř místo odpovědi na citlivost uvedla jméno druhu (*E. coli*). Kmen 5 jako pravděpodobného producenta karbapenemázy označily 103 laboratoře (87,3 %), jedna laboratoř vyšetření neprovedla a 14 laboratoří uvedlo, že kmen pravděpodobně karbapenemázu neprodukuje. Celkové výsledky vyšetření citlivosti k ceftazidimu u kmene 5 jsou v tabulce 2, která obsahuje breakpointy inhibičních zón (IZ) a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) pro citlivé kmeny gramnegativních tyček, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika, a výsledky laboratoří. V tabulce 3 jsou vybrané screeningové předěly pro vyhledávání pravděpodobných producentů karbapenemáz.

**ZÁVĚR**

Vyšetření citlivosti k oxacilinu a klindamycinu u kmene *Staphylococcus epidermidis* ze vzorku 4 a citlivost k ceftazidimu u kmene 5 *Escherichia coli* nečinilo laboratořím potíže a chyby se vyskytly jen ojediněle.

Dotaz na pravděpodobnou produkci u kmene 5 karbapenemázy správně zodpovědělo 87,3 % laboratoří. MIC i průměry inhibičních zón karbapenemů kmene 5 byly v citlivé kategorii, jak je obvyklé u producentů karbapenemázy OXA-48. Pro rutinní vyhledávání producentů karbapenemáz v mikrobiologických laboratořích doporučuje EUCAST použít příslušné metody [3]. Jednou z nich je použití screeningových předělů karbapenemů a temocilinu. Podle výsledků screeningových předělů lze u kmene 5 vyslovit podezření na produkci karbapenemázy, jejíž podrobnou analýzu pak může provést specializovaná laboratoř.

**LITERATURA**

- [1] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 6.0, valid from 2016-01-01 [online]. Dostupný z WWW: [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/), český překlad dostupný z WWW: <http://www.szu.cz/tabulky-breakpointu-eucast>.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. 26th ed. CLSI supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016.
- [3] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

EUCAST guideline for the detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Dostupný z WWW: [http://www.eucast.org/resistance\\_mechanisms/](http://www.eucast.org/resistance_mechanisms/), český překlad dostupný z WWW: <http://www.szu.cz/detekce-mechanismu-rezistence-eucast>.

*Koordinátor: Mgr. Renáta Šafránková  
Tel: 267 082 428*

*Zprávu vypracovali:*

*Mgr. Renáta Šafránková, Ing. Monika Marejková PhD.,  
RNDr. Petr Petráš CSc., RNDr. Pavla Urbášková CSc.*

*Dne: 20. 4. 2016*

*Pracoviště 2 ESPT (AP CEM - Akreditační pracoviště Centra epidemiologie a mikrobiologie): [www.szu.cz/espt](http://www.szu.cz/espt)  
email: [apcem@szu.cz](mailto:apcem@szu.cz)*