

EHK – 1045 Bakteriologická diagnostika

Renáta Šafránková, Monika Marejková, Petr Petráš, Pavla Urbášková

HODNOCENÍ

Celkem byly vzorky rozeslány 121 laboratořím, všechny laboratoře odeslaly výsledek do závěrečného termínu. Za identifikaci signifikantního patogena ve 4 vzorcích mohly laboratoře získat maximálně 8 bodů; za vyšetření citlivosti mohly laboratoře obdržet celkem 4 body. 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 (graf 1).

Maximálního počtu bodů při identifikaci dosáhlo 118, tj. 97, 5 % laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 7,417 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj. $7,959 - (2 \times 0,271) = 7,417$). Tohoto limitu dosáhlo 118 laboratoří, 3 laboratoře tento limit nesplnily.

Výsledky zúčastněných laboratoří

VZOREK 1:

Výtěr z krku od 10letého dítěte s bolestí v krku a horečkou.

Odpověď: *Streptococcus pyogenes*

Vzorek dále obsahoval: *Neisseria lactamica*, *Streptococcus oralis*

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Streptococcus pyogenes</i>	121	2	100 %
Celkem	121		100 %

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

Izolace a identifikace signifikantního patogena nečinila laboratořím obtíže. Všechny laboratoře správně identifikovaly jako původce onemocnění *Streptococcus pyogenes* a získaly po 2 bodech.

VZOREK 2:

Izolát z krve od pacienta s podezřením na endokarditidu.

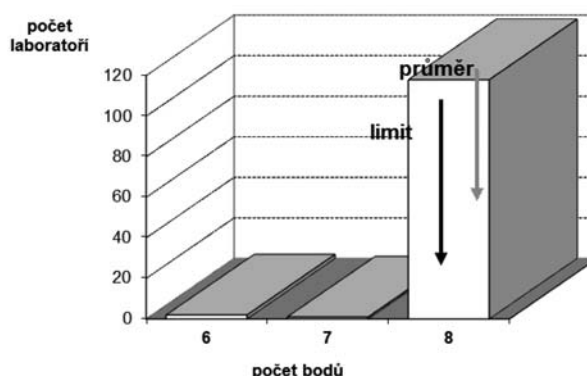
Odpověď: *Staphylococcus lugdunensis*

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	121	2	100 %
Celkem	121		100 %

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

S. lugdunensis (lat. Lugdunum = dnešní Lyon) byl popsán v r. 1988. Náleží k novobiocin citlivým, koaguláza negativním stafylokokům, nicméně může mít (asi ze 60 %) pozitivní test na clumping-faktor. Z tohoto důvodu může být zaměněn za druh *S. aureus*. Další diskriminující fenotypové testy (volná koaguláza, hyaluronidáza,

Graf 1: Počet bodů za správnou identifikaci



termonukleáza) jsou negativní. Dobře jde identifikovat metodou MALDI-TOF MS.

Je podmíněným patogenem, který u imunitně oslabených osob, intravenózních narkomanů a dlouhodobě hospitalizovaných pacientů může být příčinou vážných onemocnění. Především jsou závažné infekce krevního řečiště. Podle výsledků NRL/ST patří *S. lugdunensis* mezi 10 nejčastějších koaguláza negativních druhů, které jsou z humánního klinického materiálu k identifikaci zasílány.

Jednoduchou reakcí, která tento druh snadno potvrdí, je pozitivní reakce na ornitin-dekarboxylázu. Tento enzym produkují kmeny *S. lugdunensis* (s výjimkou asi 10 % kmenů *S. epidermidis*) jako jediný druh stafylokoků. Všechny 121 laboratoří odpovědělo správně.

VZOREK 3:

Stolice od pacienta s nauzeou, dyspepsií a řídkou stolicí.

Odpověď: Signifikantní bakteriální patogen nepřítomen

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

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
Signifikantní patogen nepřítomen	119	2	98,4 %
<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Enterobacter cloacae</i>	1	0	0,8 %
<i>Escherichia coli</i> O111	1	0	0,8 %
Celkem	121		100 %

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

Vzorek kromě komensálních bakterií *E. faecalis* a *E. cloacae* obsahoval kmen *E. coli* také patřící k běžné střevní flóře, u kterého byly vyloučeny jak faktory virulence enteropatogenní (EPEC) a Shiga toxin-produkující *E. coli* (STEC), tak i nejčastější sérotypy, které se na tyto patotypy vážou, včetně O111.

Správně odpovědělo 119 laboratoří, 2 laboratoře zadání nesplnily a byly jim odebrány 2 body.

VZOREK 4:

Aspirát z paranazální dutiny od pacienta s akutní sinusitidou.

Odpověď: *Haemophilus influenzae*

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Haemophilus influenzae</i>	118	2	97,5 %
<i>Haemophilus influenzae</i> non b	2	2	1,7 %
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	1	0,8 %
Celkem	121		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 ampicilinu a ke kotrimoxazolu. Kmen 4 byl k oběma antibiotikům citlivý. Správnou identifikaci uvedlo 120 laboratoří, jedna laboratoř chybovala v rodovém i druhovém jméně, všechny laboratoře správně vyhodnotily citlivost k oběma požadovaným antibiotikům.

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 hemofilů, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Tab. 1: Výsledky vyšetření citlivosti kmene 4 *Haemophilus influenzae*

Antibiotikum	Zdroj	Obsah disku µg	Průměry IZ (mm)		MIC (mg/l)		Správné výsledky		
			breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL**	kategorie	počet laboratoří	%
penicilin	EUCAST [1]	1J	≥ 12	6–6	ND	NT	R	121/121	100,0
ampicilin	EUCAST [1]	2 µg	≥ 16	6–6	≤ 1	> 8– > 8			
	CLSI [2]	10 µg	≥ 22	11–12					
kotrimoxazol***	EUCAST [1]	25 µg	≥ 23	37–39	≤ 0,5	≤ 0,06	C	121/121	100,0
	CLSI [2]		≥ 16			≤ 0,06			

IZ: inhibiční zóna; MIC: minimální inhibiční koncentrace; * 5 měření diskovou difuzní metodou EUCAST, ** 5 měření diluční mikrometodou EUCAST; C: citlivý, *** hodnoty jsou vztaženy na obsah trimetoprimu.

Tab. 2: Výsledky vyšetření citlivosti kmene 5 *Staphylococcus aureus*

Antibiotikum	Zdroj	Obsah disku µg	Průměry IZ (mm)		MIC (mg/l)		Správné výsledky		
			breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL**	kategorie	počet laboratoří	%
oxacilin	EUCAST [1]	ND	ND	NT	≤ 2	> 8– > 8	R	121/121	100,0
	CLSI [2]								
cefoxitin	EUCAST [1]	30 µg	≥ 22	16–17	ND	NT	C	121/121	100,0
	CLSI [2]								
gentamicin	EUCAST [1]	10 µg	≥ 18	23–23	≤ 1	0,5–1	C	121/121	100,0
	CLSI [2]		≥ 15		≤ 4				

IZ: inhibiční zóna; MIC: minimální inhibiční koncentrace; * 5 měření diskovou difuzní metodou EUCAST, ** 5 měření diluční mikrometodou EUCAST; ND: neudáno; NT: netestováno; R: rezistentní, C: citlivý.

VZOREK 5:

Staphylococcus aureus

Kmen 5 je rezistentní k oxacilinu a citlivý ke gentamicinu. Celkové výsledky vyšetření citlivosti u kmene 5 jsou v tabulce 2, která obsahuje breakpointy inhibičních zón (IZ) a MIC pro citlivé izoláty *S. aureus*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

ZÁVĚR

Všechny laboratoře správně vyšetřily citlivosti k požadovaným antibiotikům u obou kmenů v EHK – 1045.

LITERATURA

1. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.1, valid from 2018-01-01 [on-line]. Dostupný z WWW: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
2. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 28th ed. CLSI supplement M100-S. Wayne, Pa. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.

Koordinátor: Mgr. Renáta Šafránková
Tel: 267 082 428
Zprávu vypracovali: Mgr. Renáta Šafránková,
 Ing. Monika Marejková, Ph.D.,
 RNDr. Petr Petráš, CSc.,
 RNDr. Pavla Urbášková, CSc.,
 CEM, SZÚ