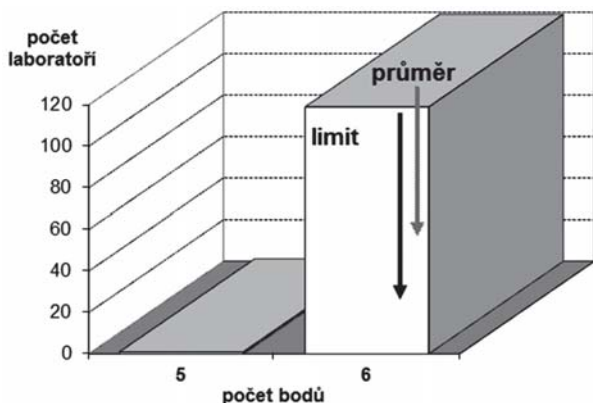


*Renáta Šafránková, Monika Marejková, Petr Petráš, Pavla Urbášková*

**HODNOCENÍ**

Celkem byly vzorky rozeslány 121 laboratořím, 120 laboratoří odeslalo výsledek do závěrečného termínu. Za identifikaci signifikantního patogena ve 4 vzorcích mohly laboratoře získat maximálně 6 bodů, jeden vzorek byl edukativní; 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: POČET BODŮ ZA SPRÁVNOU IDENTIFIKACI**



Maximálního počtu bodů při identifikaci dosáhlo 119, tj. 99,2 % laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 5,81 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj.  $5,992 - (2 \times 0,091) = 5,81$ ). Tohoto limitu dosáhlo 119 laboratoří, 1 laboratoř tento limit nesplnila.

**VÝSLEDKY ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ**

**Vzorek 1:** Edukativní vzorek (vzorek se nehodnotí)  
**Stěr z LDK od 60leté pacientky se sepsí s anamnézou koupání v mořské vodě**

**Odpověď:** *Vibrio vulnificus*

Vzorek dále obsahoval: *Staphylococcus epidermidis*

Identifikace	Frekvence	Procento
<i>Vibrio vulnificus</i>	108	90,0 %
<i>Vibrio vulnificus/ Flavobacterium sp.</i>	1	0,8 %
<i>Vibrio mimicus</i>	1	0,8 %
<i>Vibrio sp.</i>	2	1,7 %
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	1,7 %
patogen nevykultivován	2	1,7 %
předpokládané <i>Vibrio</i> neprokázáno ve vzorku	1	0,8 %
žádný výsledek	3	2,5 %
<b>Celkem</b>	<b>120</b>	<b>100 %</b>

Bezchybná druhová identifikace neobvyklého původce závažných infekcí nečinila obtíže 90 % zúčastněných laboratoří. Osm laboratoří (6,7 %) *Vibrio vulnificus* ze vzorku nevykultivovalo – patrně tento druh vibria hůře snáší lyofilizaci a v kombinaci s přítomností doprovodné flóry mohl být potlačen.

*V. vulnificus*, podobně jako *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus* a *Pseudomonas sp.*, nemají typicky schopnost oky-

selovat sacharózu, proto na selektivní půdě TCŽS (thiosíran-citrát-žluč-sacharóza) rostou v zelených koloniích.

*V. vulnificus* lze identifikovat do druhu metodou MALDI TOF MS. Taktéž komerční sestavy biochemických testů umožňují rozlišit *V. vulnificus* od dalších druhů vibrí či jiných fenotypově podobných oxidáza-pozitivních tyček jako jsou *Aeromonas* sp. nebo *Plesiomonas* sp. Při biochemické identifikaci *V. vulnificus* je pro pozitivitu testu lysin dekarboxyláza vyžadována přítomnost 1% NaCl.

*V. vulnificus* je halofilní bakterie běžně se vyskytující v teplých, mělkých, pobřežních vodách. Nejčastěji vyvolává ranné infekce po kontaktu s vodním prostředím a dále primární sepsy spojené s konzumací syrových ústřic. Predispozici pro septický průběh mají zejména osoby s onemocněním jater a imunokompromitovaní pacienti. Smrtnost se uvádí až do 50 %.

V literatuře jsou popsány případy ranných infekcí *V. vulnificus* po koupání v mořské vodě, včetně letálních na následky sepsy [1,2].

#### LITERATURA

- [1] Ruppert J, Panzig B, Guertler L et al. Two cases of severe sepsis due to *V. vulnificus* wound infection acquired in the Baltic sea. Eur J Clin Microbiol Infect 2004; 23:912-915.  
[2] Ešnerová A, Klazarová H, Večeř J et al. *Vibrio vulnificus* jako původce letální sepsy. Remedia-klinická mikrobiologie 1999; 3(10):335-337.

**Vzorek 2: Izolát z excidované tkáně od veterináře s rannou infekcí ruky**

**Odpověď: *Erysipelothrix rhusiopathiae***

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	120	2	100%
Celkem	120		100 %

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

Všechny zúčastněné laboratoře odpověděly správně a získaly po dvou bodech.

**Vzorek 3: Stolice od dlouhodobě hospitalizovaného pacienta s akutně vzniklým průjmem, horečkou a leukocytózou**

**Odpověď: *Clostridium difficile***

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

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Clostridium difficile</i>	119	2	99,2%
<i>Clostridium subterminale</i>	1	1	0,8%
Celkem	120		100 %

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

Kmen *Clostridium difficile* správně identifikovalo 119 (tj. 99,2 %) laboratoří, jedna laboratoř uvedla do výsledku jiný druh klostridia a získala pouze jeden bod.

*C. difficile* je přítomno ve střevě přibližně u 5 % dospělé populace, u kojenců a i větších dětí je jeho výskyt vyšší. Produkuje 2 termolabilní proteinové toxiny – toxin A je typickým enterotoxinem, který má za následek vznik vodnatých, někdy až mírně hemoragických průjmů, toxin B je nekrotizující cytotoxin.

*C. difficile* produkující toxiny je nejčastějším původcem nozokomiálních střevních infekcí (průjem, kolitida) a primární patogen pseudomembranózní kolitidy. Mezi hlavní rizikové faktory infekce stále patří předchozí nebo současná antibiotická medikace, která navozuje střevní dysmikrobii.

Kromě vyšetření přítomnosti toxinů ve stolici, by měla být rovněž prováděna kultivace, a to z diagnostických (současné testy pro detekci toxinů poskytují i falešně negativní výsledky), ale i epidemiologických důvodů (ribotypizace, genotypizace).

Pozn.: v roce 2016 byl ustanoven nový rod *Clostridioi-*des a stávají druh *C. difficile* reklasifikován na *Clostridioi-*des *difficile* [1]. V tomto čísle Zpráv CEM je tomuto tématu věnována Aktualita.

#### LITERATURA

- [1] Lawson PA, Citron DM, Tyrrell KL and Finegold SM: Reclassification of *Clostridium difficile* as *Clostridioi-*des *difficile* (Hall and O'Toole 1935) Prévot 1938. Anaerobe 2016; 40, 95-99.

**Vzorek 4: Izolát z moče od pacientky s akutní infekcí močových cest**

**Odpověď: *Staphylococcus saprophyticus***

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	110	2	91,7%
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> subsp. <i>saprophyticus</i>	10	2	8,3%
Celkem	120		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, kotrimoxazolu a k nitrofurantoinu. Kmen 4 *Staphylococcus saprophyticus* je izolát z moče, rezistentní k oxacilinu a citlivý ke kotrimoxazolu a k nitrofurantoinu.

Tento druh stafylokoka byl popsán jako třetí nejstarší (po *S. aureus* a *S. epidermidis*) již v roce 1940, efektivní publikace je práce Constance Shaw a spoluautorů z roku 1951. Byl prvním, který narušil do té doby panující názor, že koaguláza-negativní stafylokoky nejsou patogenní. Může být původcem onemocnění močových cest, ale byly též publikovány ranné infekce a septikémie. Když byl v roce 1996 popsán prof. Hájkem z Olomouce druhý poddruh – *S. saprophyticus* subsp. *bovis* (vyskytuje se v bovinních nozdrách),

Tabulka 1: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 4 *STAPHYLOCOCCUS SAPROPHYTICUS*

Antibiotikum	Zdroj	Obsah disku	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	%
cefoxitin	EUCAST [1]	30 µg	≥ 22	17 - 18	nevyšetřuje se		R	120/120	100,0
	CLSI [2]								
oxacilin	EUCAST [1]	nevyšetřuje se			≤ 2	> 8 - > 8	C	120/120	100,0
	CLSI [2]								
kotrimoxazol	EUCAST [1]	25 µg	≥ 17	32 - 32	≤ 2***	≤ 0,125 - ≤ 0,125***	C	120/120	100,0
	CLSI [2]		≥ 16						
nitrofurantoin	EUCAST [1]	100 µg	≥ 13	21 - 22	nevyšetřeno		C	120/120	100,0

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

\*\*\* vztaženo na obsah trimetoprimu; C: citlivý; R: rezistentní.

Tabulka 2: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 5 *ESCHERICHIA COLI*

Antibiotikum	Zdroj	Obsah disku	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	%
ampicilin	EUCAST [1]	10 µg	≥ 14	19 - 19	≤ 8	2 - 2	C	119/120	99,2
	CLSI [2]		≥ 17						
kotrimoxazol	EUCAST [1]	25 µg	≥ 14	12 - 15	≤ 2***	2 - 2***	C	27/120	26,7
	CLSI [2]		≥ 16						

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

\*\*\* vztaženo na obsah trimetoprimu; C: citlivý; R: rezistentní.

byl typový kmen druhu *S. saprophyticus* automaticky reklasifikován jako poddruh *S. saprophyticus* subsp. *saprophyticus*.

Kmeny druhu *S. saprophyticus* subsp. *saprophyticus* patří spolu s kmeny *S. hominis* subsp. *novobiocin* k nejčastěji izolovaným novobiocin-rezistentním stafylokokům z humánního klinického materiálu a jsou poměrně snadno identifikovatelné. Jsou oxidáza a xylóza negativní a sacharóza a trehalóza pozitivní. Od druhého bovinního druhu se dají odlišit negativním PYR-testem, neprodukuje nitrátreduktázu a neokyselují ribózu. Mají i větší kolonie (i více než 5 mm).

Všech 120 laboratoří mělo správné výsledky identifikace a vyšetření antibiotické citlivosti. 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 *Staphylococcus saprophyticus*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika, a výsledky laboratoří.

#### Vzorek 5: *Escherichia coli*

Kmen 5 je citlivý k ampicilinu a ke kotrimoxazolu. Celkové výsledky vyšetření citlivosti u kmene 5 jsou v tabulce 2, která obsahuje breakpointy inhibičních zón (IZ) a MIC ampicilinu a kotrimoxazolu pro Enterobacteriaceae, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a počty laboratoří, které měly správné výsledky.

#### Závěr

Problém byl s interpretací výsledků kotrimoxazolu u kmene 5, který byl citlivý podle breakpointu MIC a intermediární podle breakpointu pro inhibiční zónu. Příčinou byla rezistence kmene k trimetoprimu (MIC > 16 mg/l) při zachované citlivosti k sulfametoxazolu. Výsledky laboratoří kotrimoxazolu u kmene 5 se body nehodnotí.

pokračuje →

**LITERATURA**

[1] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 7.1, valid from 2017-03-10 [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] CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 27th ed. CLSI supplement M100-S. Wayne, Pa. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.

*Dne: 4. 12. 2017*

*Zprávu vypracovali: Mgr. Renáta Šafránková,  
Ing. Monika Marejková, Ph.D., RNDr. Petr Petráš, CSc.,  
RNDr. Pavla Urbášková, CSc.*

*Koordinátor: Mgr. Renáta Šafránková, tel: 267 082 428*