

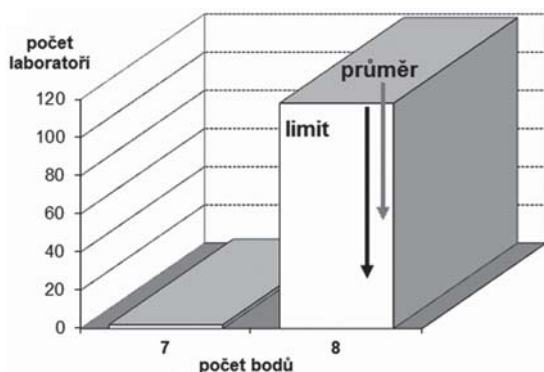
Renáta Šafránková, Monika Marejková, Pavla Urbášková

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 8 bodů; za vyšetření citlivosti mohly laboratoře obdržet celkem 2 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.

Maximálního počtu bodů při identifikaci dosáhlo 118, tj. 98,3% laboratoří. Limit pro úspěšné absolvování byl 7,725 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj. $7,983 - (2 \times 0,129) = 7,725$). Tohoto limitu dosáhlo 118 laboratoří, 2 laboratoře tento limit nesplynily.

Graf 1: POČET BODŮ ZA SPRÁVNOU IDENTIFIKACI



VÝSLEDKY ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

Vzorek 1: Izolát z moče (signifikantní bakteriurie)			
Odpověď: <i>Morganella morganii</i>			
Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Morganella morganii</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 2: Hemokultura od pacientky s pyelonefritidou			
Odpověď: <i>Klebsiella pneumoniae + Escherichia coli</i>			

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Klebsiella pneumoniae + Escherichia coli</i>	119	2	99,2 %
<i>Escherichia coli</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.

Vzorek obsahující obě agens správně vyšetřilo 119 laboratoří, 1 laboratoř uvedla jako vyvolávající agens pouze *E. coli* a získala 1 bod.

Vzorek 3: Stoolice od dospělého muže s podezřením na apendicitidu			
Odpověď: <i>Yersinia enterocolitica</i>			
Vzorek dále obsahoval: <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>			

Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Yersinia enterocolitica</i>	49	2	40,8 %
<i>Yersinia enterocolitica</i> O9	65	2	54,2 %
<i>Yersinia enterocolitica</i> non O3	5	2	4,2 %
<i>Yersinia rohdei</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.

Y. enterocolitica je gramnegativní tyčka rostoucí při teplotách od 4 do 43 °C. Virulenní faktory zahrnují termostabilní toxin (Yst), adhezin invA, dále yersiniabactin a na plasmidu kódované faktory virulence.

Y. enterocolitica byla nalezena v gastrointestinálním traktu prasat, hlodavců a psů [1]. K přenosu nákazy dochází primárně fekálně-orální cestou; vehikulem může být kontaminované vepřové maso [2].

Biochemicky se *Y. enterocolitica* rozlišuje do 6 biotypů. Biotyp 1A (indol, eskulin a salicin pozitivní) je považován za nepatogenní, biotyp 1B (indol pozitivní, eskulin a salicin negativní) za nejvirulentnější. Biotypy 2 až 5 jsou

indol negativní. K bio/sérotypům nejčastěji spojovaným s humánním onemocněním patří 1B/O8; 2/O5, O27, O9; 3/O3 a 4/O3, přičemž poslední je dominující v Evropě a USA [1, 3].

V roce 2016 bylo v ČR hlášeno přes 600 případů yersiniózy, nejvíce ve věkové skupině 0–4 a 5–14 let [4].

Klinické formy yersiniózy zahrnují gastroenteritidu, mezenteriální lymfadenitidu, erythema nodosum, septikemie, infekční artritidy.

Izolace kmene *Y. enterocolitica* byla popsána v EHK–761. Při vyšetření kontaktů a u kontrolních odběrů je nutné pomnožení vzorku stolice ve fyziologickém roztoku s fosfátovým puftrem po dobu 4–5 týdnů při 4 °C [3].

Izolát *Y. enterocolitica* lze identifikovat do druhu, vedle bioch. testů, i metodou MALDI-TOF MS nebo použitím molekulárních technik.

Pozn.: Při sérotypizaci je možné se případné spontánní aglutinace zbavit pasáží přes obyčejný agar.

Zaslaný kmen *Y. enterocolitica* O9 biotyp 4 bezchybně identifikovalo do druhu 119 ze 120 zúčastněných laboratoří. Laboratoři, která nesprávně zařadila kmen do druhu *Y. rohdei*, bude odebrán jeden bod.

LITERATURA

- [1] Jorgensen JH, Carroll KC, Funke G, Pfaller MA, Landry ML, Richter SS, Warnock DW. Manual of clinical microbiology 11th Edition. ASM press, Washington, DC 2015. doi:10.1128/9781555817381.
- [2] Moravcová R. Epidemie gastroenteritidy, vyvolaná kmenem *Yersinia enterocolitica* v Dětské psychiatrické léčebně Opařany. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2012; 21(10): 342–345.
- [3] AHEM, příloha č. 6/1981. Standardní metody laboratorní diagnostiky nálezů vyvolaných druhem *Yersinia enterocolitica*.
- [4] <https://ecdc.europa.eu/en/yersiniosis/surveillance-and-disease-data/atlas>

Vzorek 4: Izolát z krve od pacientky se zhoubným onemocněním konečnicku			
Odpověď: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
Identifikace	Frekvence	Body	Procento
<i>Pseudomonas aeruginosa</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.

Požadavek byl určit signifikantního patogena a vyšetřit jeho citlivost k piperacilinu/tazobaktamu a k meropenemu. Všechny 120 laboratoří správně identifikovalo kmen 4 jako *Pseudomonas aeruginosa*. V NRL pro antibiotika při standardním vyšetření bylo k oběma antibiotikům citlivých všech 5 testovaných lyofilizátů *Pseudomonas aeruginosa*.

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 *Pseudomonas aeruginosa*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika, a počet laboratoří které uvedly výsledek v kategorii „citlivý“.

Dvě laboratoře hlásily přítomnost rezistentních variant u obou vyšetřovaných antibiotik, jedna laboratoř neuvedla kategorii citlivosti, přidala však komentář, dvě laboratoře zhodnotily kmen jako rezistentní k oběma antibiotikům; k samotnému meropenemu uvedla jedna laboratoř kmen jako intermediární a pět jako rezistentní. Výsledek kmene 4 se pro nejednoznačnost nehodnotí (viz Závěr).

Vzorek 5: *Klebsiella pneumoniae*

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

ZÁVĚR

Po upozornění některých laboratoří účastnících se EHK na (hetero)rezistenci u kmene 4 bylo v NRL přetestováno dalších pět lyofilizátů kmene 4/EHK 999. V jednom případě byly zachyceny dvě kolonie v inhibiční zóně meropenemu. Vyšetřením jejich citlivosti byly zjištěny redukované zóny inhibice kolem meropenemu (24 mm, resp. 18 mm) ve srovnání s inhibičními zónami původní kultury (rozmezí 33–35 mm, viz tab. 1). Průměry inhibičních zón kolem piperacilinu/tazobaktamu vytvářené kulturou z kolonií ros-

Tabulka 1: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 4 *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Antibiotikum	Zdroj	Obsah disku µg	Průměry IZ (mm)		MIC (mg/l)		Kategorie „citlivý“	
			breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL**	počet laboratoří	%
piperacilin/tazobaktam	EUCAST [1]	30/6	≥ 16	26 - 26	≥ 16	4 - 4	115/120	95,8
	CLSI [2]	100/10	≥ 21	31 - 32				
meropenem	EUCAST [1]	10	≥ 24	33 - 35	≤ 2	0,25 - 0,25	109/120	90,8
	CLSI [2]		≥ 19					

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

Tabulka 2: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI KMENE 5 *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

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	%
ampicilin/sulbaktam	EUCAST [1]	10/10	≥ 14	18 - 18	≤ 8	1 - 1	C	120/120	100,0
	CLSI [2]		≥ 15						
kotrimoxazol	EUCAST [1]	25	≥ 14	24 - 25	≤ 2***	0,125 - 0,125***	C	120/120	100,0
	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.

toucích v inhibiční zóně zůstaly stejné jako u původní kultury.

Jako heterorezistence se označuje přítomnost subpopulací buněk bakterií s rozdílnými úrovněmi citlivosti vůči antibiotikům ve stejné kultuře. Je popsána u mnoha gramnegativních i grampozitivních bakterií a týká se především tzv. baktericidních antibiotik. Stabilita stupně rezistence jednotlivých subpopulací se liší, typicky se po několika pasážích v půdě bez antibiotik některé vysoce rezistentní subpopulace vrací k heterorezistenci, některé si však zachovávají vysokou úroveň rezistence. Na vzniku heterorezistentních populací se uplatňují genetické i negenetické faktory. V současné době neexistuje standardní metoda k prokázání heterorezistence populace. Používaná populační analýza je velmi pracná a její výsledky ovlivňují technické podmínky. Doposud chybějící standardní definice heterorezistence může vést k chybné identifikaci homogenních kmenů jako heterozistentní (význam má i pečlivé dodržování standardních podmínek vyšetření citlivosti, zejména koncentrace inokula) a znemožňuje tak řádné posouzení klinického významu tohoto fenoménu. Předpokládá se, že heterorezistence se může uplatnit u opakujících se nebo chronických

infekcí a u život ohrožujících infekcí, u nichž podávaná antibiotika mohou vyselektovat rezistentní populace [3].

LITERATURA

- [1] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.0, valid from 2018-01-01 [online]. Dostupný z WWW: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
- [2] CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 27th ed. CLSI supplement M100-S. Wayne, Pa. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.
- [3] El-Halfawy OM, Valvano MA. Antimicrobial heteroresistance: an emerging field in need of clarity. Clin Microbiol Rev 2015; 28:191–207. doi:10.1128/CMR.00058-14.

Dne: 17. 1. 2018

Koordinátor:

Mgr. Renáta Šafránková

Zprávu vypracovaly:

Mgr. Renáta Šafránková
Ing. Monika Marejzková, Ph.D
RNDr. Pavla Urbášková, CSc.