

Ocena poprawności identyfikacji i oznaczania antybiotykowrażliwości *Streptococcus pneumoniae* w laboratoriach mikrobiologicznych w Polsce

Assessment of the correctness of identification and determination of antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* in microbiological laboratories in Poland

Ewa Młodzińska, Waleria Hryniewicz

Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Mikrobiologicznej, Warszawa

Streszczenie

Wzrost oporności bakterii na antybiotyki stanowi jeden z najpoważniejszych problemów medycyny, dlatego ważna jest ich wiarygodna identyfikacja w laboratoriach mikrobiologicznych. Ogólnopolski Sprawdzian Wiarygodności Badań Mikrobiologicznych POLMICRO jest organizowany przez Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Mikrobiologicznej (COBJDM) umożliwia ocenę kompetencji polskich laboratoriów mikrobiologicznych w zakresie identyfikacji, oznaczania lekowrażliwości i wykrywania mechanizmów oporności na leki. Niniejsza praca przedstawia ocenę wyników identyfikacji i oznaczania antybiotykowrażliwości *S. pneumoniae*, uzyskiwanych przez polskie laboratoria w trakcie już 20-letniego doświadczenia programu POLMICRO.

Summary

The increase in bacterial resistance to antimicrobials is one of the most serious medical problems, therefore reliable identification in microbiological laboratories is important. The Polish National External Quality Assessment Scheme in Microbiological Diagnostics – POLMICRO programme is organized by the Centre of Quality Control in Microbiology (CQCM) enables the assessment of the competence of Polish microbiological laboratories in the field of identification, determination of susceptibility and detection of drug resistance mechanisms. This work presents the assessment of the results of identification and determination of *S. pneumoniae* antimicrobial susceptibility obtained by Polish laboratories during the 20 years of experience of the POLMICRO programme.

Słowa kluczowe: zewnętrzny sprawdzian wiarygodności, identyfikacja, lekowrażliwość *S. pneumoniae*

Key words: external quality assessment scheme, identification, susceptibility to antimicrobials *S. pneumoniae*

Wstęp

Wzrost oporności bakteryjnych patogenów na antybiotyki stosowane w leczeniu stanowi jeden z najpoważniejszych problemów współczesnej medycyny, dlatego niezwykle ważna jest ich niezłoczna i wiarygodna identyfikacja w laboratoriach mikrobiologicznych. Ogólnopolski Sprawdzian Wiarygodności Badań Mikrobiologicznych POLMICRO ocenia kompetencje polskich laboratoriów mikrobiologicznych w zakresie identyfikacji, oznaczania lekowrażliwości i wykrywania mechanizmów oporności na leki bakteryjnych patogenów człowieka. Organizatorem programu jest Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Mikrobiologicznej (COBJDM). Ciągła i systematyczna ocena jakości badań mikrobiologicznych przyczynia się do poprawy poziomu diagnostyki w medycznych laboratoriach mikrobiologicznych i jest wymogiem prawnym. Kolejne coroczne edycje Programu POLMICRO poświęcane są identyfikacji i ocenie wrażliwości na leki różnych czynników etiologicznych zakażeń u ludzi. Bakterie otoczkowe

odpowiedzialne są za szereg zakażeń, w tym ciężkich, nabywanych poza szpitalem. Kluczową rolę odgrywa *Streptococcus pneumoniae* (dwoinka zapalenia płuc, pneumokok) który odpowiada za większość zakażeń dróg oddechowych w tym zapaleń płuc. Jest także wiodącą przyczyną ostrych zapaleń ucha środkowego i zatok. Patogen ten jest odpowiedzialny również za zakażenia inwazyjne – zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, sepsę, zapalenie płuc z bakteriami i zapalenie otrzewnej. Lekami z wyboru w leczeniu tych zakażeń są antybiotyki β – laktamowe – penicylina i cefalosporyny, a u osób uczulonych makrolidy. Pojawienie się szczepów *S. pneumoniae* o obniżonej wrażliwości na penicylinę – PNSP (ang. penicillin-non-susceptible *S. pneumoniae*) stało się zagrożeniem dla skutecznej terapii zakażeń pneumokokowych. Coraz częściej izoluje się szczepy *S. pneumoniae* odporne na penicylinę i cefalosporyny. Według danych Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Ośrodkowego Układu Nerwowego (KOROUN) za 2018 rok, w Polsce odsetek pneumokoków niewrażliwych na penicylinę

odpowiedzialnych za inwazyjną chorobę pneumokokową (ICHP), wyniósł w grupie dzieci (< 5 r.ż.) – 28,2%, a w pozostałej populacji 16%. Najwięcej zakażeń występuje w skrajnych grupach wiekowych tj. wśród małych dzieci <2 roku życia i osób w wieku > 65. r.ż. ICHP może mieć piorunujący przebieg i powodować wysoką śmiertelność oraz może być przyczyną nieodwracalnych powikłań. Oporności na β -laktamy może towarzyszyć oporność na inne grupy leków [1]. Szczególnie wysoka jest oporność na makrolidy tj. 24,9% [2].

Jednym z poważnych wyzwań dla laboratoriów diagnostycznych jest wiarygodna i szybka diagnostyka zakażeń pozwalająca na wykrycie czynnika etiologicznego zakażenia. Prawidłowe rozpoznanie gatunku czynnika etiologicznego zakażenia i określenie lekowrażliwości pozwala na podejmowanie właściwych decyzji zarówno terapii empirycznej, jak i celowanej.

Pneumokoki należą do grupy drobnoustrojów „wymagających” stanowią szczególne wyzwanie diagnostyczne ze względu na konieczność zapewnienia odpowiednich warunków do wzrostu. W związku ze znaczącą rolą *S. pneumoniae* w zakażeniach człowieka gatunek ten od samego początku funkcjonowania COBJDM znalazł się w programie kontroli zewnątrzlaboratoryjnej POLMICRO. W jego edycjach pierwsze izolaty *Streptococcus pneumoniae* zostały wysłane do uczestników programu już w 1998 roku i do

chwili obecnej przedstawiciele gatunku stanowią objekty badań w programie POLMICRO.

Celem niniejszej pracy była retrospektywna ocena wyników identyfikacji do poziomu gatunku i oznaczania lekowrażliwości na antybiotyki zalecane w leczeniu zakażeń o etiologii *S. pneumoniae*, uzyskiwanych przez polskie laboratoria w trakcie już 20 – letniego doświadczenia programu POLMICRO.

Materiały i metody

Liczby laboratoriów uczestniczących w programie POLMICRO zmieniały się w poszczególnych latach (ryc. 1). W tabeli I uwzględniono liczbę uczestników wszystkich edycji programu poświęconym pneumokokom. Szczepy *Streptococcus pneumoniae* były obiektami badań sprawdzianu POLMICRO dwanaście razy. Łącznie wysłano 20 szczepów o różnych fenotypach wrażliwości na antybiotyki w tym 15 niewrażliwych na penicylinę, ze zróżnicowaną opornością na cefalosporyny, w tym odporne na penicylinę – PRP (ang. *penicillin-resistant S. pneumoniae*) i średniowrażliwe na penicylinę – PIP (ang. *penicillin-intermediate S. pneumoniae*) oraz penicylino wrażliwe – PSP (ang. *penicillin-susceptible S. pneumoniae*). Niektóre prezentowały różne mechanizmy oporności na makrolidy, linkozamidy i streptograminy B o charakterze indukcyjnym lub konstytutywnym MLS_B (ang. *resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin B*).

Szczepy wykorzystane do badań biegłości pochodziły z kolekcji szczepów POLMICRO COBJDM przechowywanej w głębokim zamrożeniu i były scharakteryzowane w Centralnym Ośrodku pod kątem cech morfologicznych i biochemicznych z zastosowaniem różnych metod diagnostycznych. W identyfikacji gatunku *S. pneumoniae* oceniano morfologię komórek bakteryjnych w preparacie mikroskopowym barwionym metodą Grama, wzrost na podłożu Columbia agar z dodatkiem 5% krwi baraniej w temperaturze 35 – 37°C z dodatkiem 5 – 10% CO₂, hemolizę, wrażliwość na optochinę oraz rozpuszczalność w solach żółci. Przeprowadzano identyfikację, w zależności od

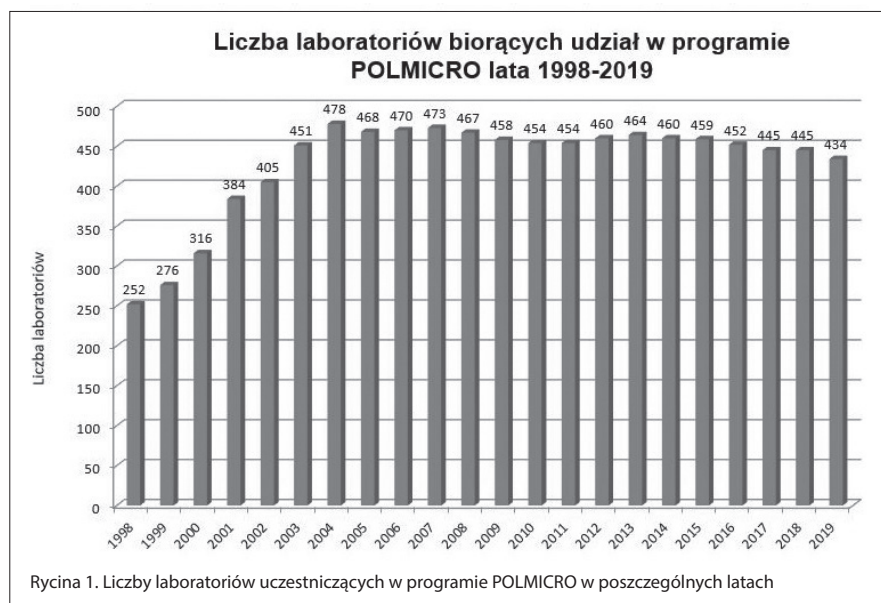


Tabela I. Zestawienie liczby uczestników i uzyskiwanych przez nich wyników oznaczeń w poszczególnych latach programu POLMICRO

ROK	1998	2001	2005	2008	2009	2011	2014	2015	2016	2017	2018	2019
liczba uczestników	252	341	162	304	444	439	442	442	445	441	438	432
Odsetek prawidłowych odpowiedzi												
identyfikacja gatunku	99,2%	99,4%	98,1%	76,9%	99,1%	99,3%	99,1%	99,8%	100%	100%	100%	100%
PRP	48,4%	87%	74,5%	-	86,3%	97,7%	-	85,6%	-	99,5%	90,6%	-
PIP	-	69,5%	67,6%	-	-	65,8%	55,6%	92,1%	95%	-	-	97,5%
PSP	-	88,8%	-	75,9%	74,1%	87,1%	-	-	-	-	-	-
MLS _B indukcyjny	-	-	97,5%	-	-	96,8%	-	-	-	-	-	-
MLS _B konstytutywny	-	-	-	-	-	96,5%	-	-	99,5%	99,1%	-	-

PRP – *S. pneumoniae* odporne na penicylinę (ang. *penicillin-resistant S. pneumoniae*); PIP – *S. pneumoniae* średniowrażliwe na penicylinę (ang. *penicillin-intermediate S. pneumoniae*); PSP – *S. pneumoniae* wrażliwe na penicylinę (ang. *penicillin-susceptible S. pneumoniae*); MLS_B – mechanizm oporności na makrolidy, linkozamidy i streptograminy B – indukcyjny lub konstytutywny (ang. *resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin B*).

roku, wykorzystując różne testy biochemiczne np.: testy RapidID Strep, RapidID STR system, karty i panele do identyfikacji w systemach automatycznych VITEK, Phoenix i WalkAway.

Fenotypy wrażliwości szczepów na leki badano różnymi metodami jakościowymi i ilościowymi, metodą dyfuzyjno – krążkową, metodami rozcieńczeniowymi oraz automatycznymi wraz z określeniem mechanizmów oporności. Do roku 2010 postępowano według zaleceń amerykańskich Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI (wcześniej National Committee for Clinical Laboratory Standards NCCLS) [3]. Obecnie oznaczenia przeprowadzane są zgodnie z zaleceniami Europejskiego Komitetu ds. Oznaczania Lekowrażliwości – EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) [4]. Badanie przesiewowe umożliwiające wykrycie oporności na antybiotyki β -laktamowe przeprowadzono z zastosowaniem krążka z zawartością 1 μ g oksacyliny na podłożu Mueller Hinton Agar z dodatkiem 5% odwłóknionej krwi baraniej (wg. CLSI) lub Mueller Hinton Agar z dodatkiem 5% odwłóknionej krwi końskiej i 20mg/L NAD (wg. EUCAST) [3, 5]. Dla izolatów opornych w teście z oksacyliną, oznaczano wartość najmniejszego stężenia hamującego MIC (ang. minimal inhibitory concentrations) penicyliny i cefalosporyn.

Na podstawie strefy zahamowania wzrostu i/lub wartości MIC leku kwalifikowano szczepy do odpowiedniej kategorii wrażliwości: „wrażliwy”, „średniowrażliwy” lub „oporny” według wymienionych powyżej zaleceń CLSI oraz EUCAST. Interpretacja kliniczna wyników oznaczeń wrażliwości na penicylinę jest uzależniona od miejsca zakażenia, dla zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych jest odmienna interpretacja kliniczna wyników od zakażenia innego niż zapalenie opon mózgowo – rdzeniowych.

Kontrolę jakości oznaczeń przeprowadzano zgodnie z zaleceniami, zarówno według zaleceń CLSI, jak i EUCAST. Szczepem zalecanym do kontroli jakości oznaczeń lekowrażliwości jest *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 [3, 4].

Przed dystrybucją do uczestników Programu szczepy były w COBJDM powtórnie badane z wykorzystaniem metod diagnostycznych przytoczonych powyżej – przeprowadzono ich identyfikację i oznaczano ich wrażliwość na leki zaplanowane do danej rundy z zastosowaniem podłoży, krążków i pasków z gradientem stężeń antybiotyków oraz testów różnych producentów. Następnie, zgodnie z harmonogramem programu POLMICRO na dany rok, wysyłano różne zestawy szczepów do losowo wybranych uczestników.

Zadaniem laboratoriów była identyfikacja szczepów do poziomu gatunku i określenie wrażliwości na antybiotyki, wykrycie i identyfikacja mechanizmów oporności oraz interpretacja kliniczna uzyskanych wyników z wykorzystaniem metod rutynowo stosowanych w laboratoriach. Uczestnicy programu wprowadzali wyniki oznaczeń do ankiety elektronicznej dostępnej na stronie COBJDM (do 2006 roku wykorzystywano ankiety w wersji papierowej), laboratoria w ankiecie wpisywały również metody wykorzystane w identyfikacji i oznaczaniu lekowrażliwości. Ocenie podlegały identyfikacja i lekowrażliwość prawidłowo zidentyfikowanych izolatów. Ocena interpretacji klinicznej wyników oznaczeń lekowrażliwości przekazywanych przez uczestników do roku 2014 była prowadzona w oparciu o zalecenia Centers for Disease Control and

Prevention (CDC), błędy były podzielone na trzy kategorie małe, duże i bardzo duże. W zależności od kategorii błędu i ich liczby, były przyznawane oceny pozytywne bądź negatywne. Od 2015 roku ocena jest przeprowadzana zgodnie z wymaganiami normy PN-EN ISO/IEC 17043:2011 „Ocena zgodności – Ogólne wymagania dotyczące badania biegłości” zgodnie z którą za kryterium przyznania oceny pozytywnej bądź oceny negatywnej, przyjęto wskaźnik „z” (z – score). Po zakończeniu każdej rundy Programu POLMICRO uczestnicy oprócz indywidualnych ocen uzyskanych wyników, otrzymywali zbiorcze sprawozdania z komentarzem do wyników i ewentualnymi propozycjami rozwiązań problemów diagnostycznych występujących w danym roku.

Wyniki

W początkowych edycjach programu POLMICRO, poświęconych diagnostyce drobnoustrojów należących do gatunku *S. pneumoniae* dużym wyzwaniem dla laboratoriów było uzyskanie wzrostu bakterii z nadesłanych próbek. W roku 2005, aż 306 spośród 468 laboratoriów (65,4%) nie uzyskało wzrostu przesłanych szczepów. Następnie w 2008 roku ponad 40% laboratoriów nie wyhodowało izolatów *S. pneumoniae*. Laboratoria, które miały trudności z uzyskaniem wzrostu pneumokoka najczęściej stosowały nieodpowiednie warunki do hodowli i opóźniały czas rozpoczęcia badania lub zgłaszały fakt długiego oczekiwania na próbki. W celu wyeliminowania trudności z ożywianiem szczepów spowodowanej zbyt długim czasem transportu próbek do laboratorium, od 2009 roku wydzielono edycje dla bakterii wymagających i od tamtej pory szczepy dostarczane są do laboratoriów w ciągu 24 godzin. Laboratoria otrzymały również w komentarzu do programu szczegółowe wytyczne dotyczące hodowli i sposobu postępowania w diagnostyce szczepów *S. pneumoniae*. Obecnie tylko pojedyncze laboratoria mają trudności z uzyskaniem wzrostu pneumokoka.

Błędy w identyfikacji szczepów do poziomu gatunku popełniały pojedyncze laboratoria, procent prawidłowych wyników wynosił od najniższego tj. 77% w roku 2008 do 100% uzyskiwanych w latach 2016 – 2019. Wyniki identyfikacji otrzymane przez uczestników w kolejnych latach programu POLMICRO przedstawiono w Tabeli I.

Pneumokoki niewrażliwe na penicylinę PRP i PIP były wysyłane piętnaście razy do laboratoriów uczestniczących w programie POLMICRO. W Tabeli I przedstawiono procentowo prawidłowe wyniki oznaczeń szczepów opornych na penicylinę uzyskiwane przez laboratoria w kolejnych latach programu. Pierwszy szczep PM-16 „oporny” na penicylinę (wartość MIC 4 mg/L) trafił do laboratoriów w 1998 roku, tylko 48,4% (n=122/252) uczestników oznaczyło wartość MIC penicyliny i cefalosporyn III generacji i uzyskało prawidłowy wynik „oporny”. W 2009 roku szczep PM-16 został ponownie wysłany do laboratoriów i prawidłowe wyniki oznaczeń uzyskało 86,3% (277/321).

Kolejny szczep dwukrotnie wysłany do laboratoriów to szczep *S. pneumoniae* PM-24 „oporny” na penicylinę (MIC 8 mg/L) i cefalosporyny (MIC 8 mg/L). Prawidłowe wyniki oznaczeń wartości MIC penicyliny i cefalosporyn w roku 2001 uzyskało 87% (n = 101/116) laboratoriów, a w roku 2005 – 74,5 % (n = 38/51) laboratoriów.

Następny szczep oporny na penicylinę *S. pneumoniae* PM-182 (MIC 8 mg/L) uczestnicy programu otrzymali w roku 2011. Prawidłowe wyniki oznaczeń uzyskało wtedy 97,7% laboratoriów (n = 429/439).

W 2015 roku czterysta trzydzieści osiem laboratoriów (99,1%) poprawnie oceniło kliniczną oporność na penicylinę szczepu PM-244 (wartość MIC 4 mg/L). Prawidłową ocenę lekowrażliwości szczepu na cefalosporyny III generacji (MIC 4 mg/L) – „oporny” podało trzystu dziewięćdziesięciu dwóch uczestników (89,1%). Szczep PM-346 oporny na penicylinę (MIC 4 mg/L) i cefalosporyny (MIC 4 mg/L) przesłano do laboratoriów uczestniczących w programie w roku 2018. Interpretację kliniczną „oporny” dla penicyliny podało 397 laboratoriów (90,6%). Oznaczenie wrażliwości szczepu PM-346 na cefotaksym przeprowadziło trzysta trzydzieści jeden uczestników i trzysta piętnaście (95,2%) uzyskało prawidłowy wynik „oporny”. Wrażliwość szczepu na ceftriakson przetestowało sto sześć laboratoriów i osiemdziesiąt trzy (78,3%) z nich uzyskały poprawny wynik [6].

Szczep PM-312 o obniżonej wrażliwości na penicylinę (wartość MIC 1 mg/L) i cefalosporyny – MIC cefotaksymu 1 mg/L, MIC ceftriaksonu 0,75 mg/L otrzymały laboratoria w 2017 roku. Wynik „oporny” uzyskało 99,5% (n = 439/441) uczestników. Oznaczenie wrażliwości na cefotaksym przeprowadziło trzysta trzy laboratoria i dwieście sześćdziesiąt sześć z nich tj. 87,8% uzyskało wynik prawidłowy. Wrażliwość szczepu na ceftriakson oznaczyło sto trzydzieści osiem laboratoriów i sto piętnaście – 83,3% uzyskało wynik prawidłowy [7].

Szczep *S. pneumoniae* PM-374 przesłany w programie w 2019 roku był niewrażliwy na penicylinę (wartość MIC 1 mg/L) i „wrażliwy” na cefalosporyny (cefotaksym MIC 0,5 mg/L, ceftriakson MIC 0,38 mg/L). Czterysta dwadzieścia jeden laboratoriów (97,5%) uzyskało wartości MIC penicyliny w zakresie akceptowalnym tj. 0,25 – 2 mg/L. Oznaczenie wrażliwości szczepu PM-374 na cefotaksym przeprowadziło trzysta dwudziestu uczestników programu i stu osiemdziesięciu trzech (57,2%) z nich uzyskało prawidłowy wynik „wrażliwy”. Prawidłowy wynik oznaczenia wrażliwości szczepu PM-374 na cefuroksym uzyskały siedemdziesiąt cztery spośród stu jedenastu uczestników (66,7%).

S. pneumoniae PM-243 wysłany do laboratoriów w 2015 roku charakteryzował się obniżoną wrażliwością na penicylinę (MIC 0,5 mg/L). Prawidłowej odpowiedzi udzieliło 407 z 442 laboratoriów (92,1%). Szczep PM-243 był „wrażliwy” na ceftriakson i cefotaksym (MIC 0,06 mg/L), czterysta trzydzieści laboratoriów uczestników (97,3%) uzyskało poprawny wynik.

Szczep PM-279 o obniżonej wrażliwości na penicylinę (wartość MIC 0,25 mg/L) otrzymały laboratoria uczestniczące w programie POLMICRO w roku 2016, prawidłowe wyniki oznaczeń przedstawiły 423 laboratoria (95%).

Kolejnym izolatem wysylnym dwukrotnie do laboratoriów był szczep *S. pneumoniae* PM-26 z obniżoną wrażliwością na penicylinę, wartość MIC penicyliny (0,06 mg/L), wrażliwy na cefalosporyny. Prawidłowe wyniki oznaczeń w roku 2001 uzyskało 69,5% laboratoriów, a w 2005 – 58,8% uczestników.

Szczepy *S. pneumoniae* wrażliwe na penicylinę były wysyłane do laboratoriów w latach 2001, 2008, 2009 i 2011. Prawidłowe wyniki

oznaczeń dla szczepów wrażliwych na penicylinę uzyskało od 74% do około 89% laboratoriów.

Szczepy z mechanizmami oporności na makrolidy, linkozamidy i streptograminy B (MLS_B) były wysyłane do laboratoriów kilka razy w sprawdzanie i tak w POLMICRO 2005 uczestnicy otrzymali szczepy *S. pneumoniae* PM-26 i PM-67 (MLS_B indukcyjny), błędy w oznaczeniu mechanizmu w szczepie PM-26 popełniły cztery, a w PM-67 trzy laboratoria. W programie POLMICRO w roku 2011 laboratoria otrzymały *S. pneumoniae* PM-184 (MLS_B indukcyjny) i PM-183 (MLS_B konstytutywny). Mechanizmu w szczepie PM-183 nie wykryło 3,5%, a w szczepie PM-184 3,2%. W roku 2016, 445 laboratoriów otrzymało szczep PM-279 z M – fenotypem związanym z obecnością pompy błonowej *mef(A)*, warunkującej oporność na erytromycynę i pozostałe makrolidy 14 i 15 – członowe, 99,5% z nich prawidłowo określiło obecność M-fenotypu. Oporność na erytromycynę wykryły wszystkie laboratoria 100%.

Obecność mechanizmu MLS_B konstytutywnego w szczepie *S. pneumoniae* PM-312 przesłanym w roku 2017 poprawnie zidentyfikowało czterysta trzydzieści siedem laboratoriów (99,1%).

Dyskusja i podsumowanie

Streptococcus pneumoniae to jeden z najczęstszych i najbardziej niebezpiecznych patogenów bakteryjnych człowieka, dlatego umiejętność laboratoriów w izolowaniu, identyfikowaniu i oznaczaniu lekowrażliwości jest jednym z priorytetów diagnostycznych. Na całym świecie obserwuje się wzrost występowania pneumokoków opornych na penicylinę, leku od lat stosowanego z powodzeniem w leczeniu zakażeń wywołanych przez te drobnoustroje. Pierwsze przypadki izolacji szczepów opornych na penicylinę odnotowano w roku 1965 w USA (Boston), następnie dwa lata później w Australii, a od późnych lat 80 zaczęto je izolować już na całym świecie [8]. Pojawienie się szczepów *S. pneumoniae* o obniżonej wrażliwości na penicylinę jest zagrożeniem dla skutecznej terapii zakażeń pneumokokowych. Zgodnie z raportem ECDC „Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2017 – Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)” obserwuje się znaczne różnice pomiędzy krajami. Procent izolatów niewrażliwych na penicylinę waha się w Europie od 0,2% do 45,5%, w Polsce 16,6%. W niektórych krajach odsetek pneumokoków niewrażliwych na makrolidy jest wyższy niż na penicylinę i dotyczy od 3,6% do 36,8% izolatów.

W Polsce wynosi on 24,9%. Dane ECDC, dotyczące oporności na antybiotyki *S. pneumoniae*, wykazały występowanie izolatów niewrażliwych jednocześnie na penicylinę i makrolidy u 14,1% izolatów [9].

W początkowych edycjach programu POLMICRO, poświęconych diagnostyce drobnoustrojów „wymagających” dużą trudność dla laboratoriów stanowiło uzyskanie wzrostu bakterii. Jednak udoskonalenie metod diagnostycznych i ich propagowanie w programie spowodowały, że hodowla tych drobnoustrojów nie stanowi dla większości laboratoriów problemu. Obecnie tylko niewielka grupa uczestników ma trudności z uzyskaniem wzrostu pneumokoka. Przyczyną ich niepowodzeń najczęściej jest zwlekanie z rozpoczęciem badania w laboratorium, nieprawidłowe przechowywanie próbek czy brak zapewnienia odpowiednich warunków

do wzrostu. W identyfikacji szczepów do poziomu gatunku błędy popełniają pojedyncze laboratoria. W ostatnich latach programu 2016 – 2019 identyfikacja *S. pneumoniae* była przeprowadzona bezbłędnie, co świadczy o znajomości i przestrzeganiu zasad postępowania diagnostycznego z drobnoustrojami „wymagającymi” w laboratoriach.

Największym wyzwaniem dla laboratoriów jest oznaczanie lekowrażliwości, które przedkłada się na decyzje kliniczne. Początkowo tj. w roku 1998 ponad 50% uczestników programu POLMICRO popełniło błąd w oznaczaniu szczepu opornego na penicylinę. Przyczyną powstałych błędów najczęściej był brak kontroli jakości metod wykorzystanych w oznaczeniu lekowrażliwości. Obecnie dla większości uczestników programu, wykrycie izolatów niewrażliwych na penicylinę nie stanowi problemu. Prawidłowe wyniki oznaczeń szczepów penicyliny opornych PRP w roku 2017 uzyskało 99,5% laboratoriów, a w roku 2018 – 90,6%.

Ważna jest też umiejętność wiarygodnego oznaczania mechanizmów oporności na makrolidy, co jest szczególnie istotne w sytuacji, kiedy nie można podać antybiotyków β -laktamowych. Na podkreślenie zasługuje fakt, że oporność na erytromycynę, jak i oporność skojarzoną laboratoria uczestniczące w programie wykrywają bez większych trudności. Mechanizmy oporności na makrolidy, linkozamidy i streptograminy B (MLS_B) prawidłowo wykrywa od 97% – 99% uczestników. W związku z rosnącą opornością istnieje konieczność nie tylko jakościowego oznaczania lekowrażliwości, zaleca się jeszcze oznaczanie ilościowe. Warto jest podkreślić to, że wzrosła liczba laboratoriów stosujących metody rozcieńczeniowe pozwalające na oznaczenie wartości MIC antybiotyków. Najczęściej laboratoria wykorzystują paski z gradientem stężeń antybiotyków i systemy automatyczne, a także coraz częściej metodę mikrorozcieńczeń.

Ocena biegłości laboratoriów uczestniczących w programie POLMICRO, w identyfikacji szczepów *S. pneumoniae* i określaniu antybiotykowrażliwości przedstawia się zadowalająco. Systematyczne uczestnictwo w programie POLMICRO wpływa na poprawę jakości diagnostyki w laboratoriach, bowiem po każdej rundzie laboratoria otrzymują komentarze dotyczące wyników i wskazówki umożliwiające udoskonalenie toku postępowania diagnostycznego, co podkreśla rolę edukacyjną programu. Znajomość zasad i schematów postępowania w oznaczaniu lekowrażliwości pneumokoków przekłada się na uzyskiwanie w laboratoriach wiarygodnych wyników oznaczeń, pozwalających na podejmowanie właściwych decyzji terapeutycznych.

Podziękowania

Autorzy pracy dziękują całemu zespołowi COBJDM za pomoc w organizacji programu POLMICRO.

Piśmiennictwo

1. Inwazyjna choroba pneumokokowa (IChP) w Polsce w 2018 roku. Dane KOROUN. 22.07.2019. <http://koroun.edu.pl/dane-epidemiologiczne/>
2. Żabicka D. Oporność na antybiotyki w Polsce w 2017 roku – dane sieci EARS-Net. Aktualności Narodowego Programu Ochrony Antybiotyków. 2018; 3.

3. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 29th ed. CLSI supplement M100. Wayne PA; Clinical and Laboratory Standards Institute. 2019.
4. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, 2019. www.eucast.org
5. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing EUCAST. Antimicrobial susceptibility testing EUCAST disk diffusion method. Version 7.0, 2019, www.eucast.org
6. Młodzińska E, Bosacka K, Mikołajczyk A, et al. Ocena wiarygodności diagnostyki mikrobiologicznej w Polsce na podstawie wyników POLMICRO 2018. *Diagn Lab.* 2019; 55 (2): 99-106.
7. Młodzińska E, Bosacka K, Mikołajczyk A, et al. Ogólnopolski Zewnętrzny Sprawdzian Wiarygodności Badań w Diagnostyce Mikrobiologicznej – POLMICRO 2017. *Diagn Lab.* 2018; 54 (3): 159-166.
8. Appelbaum PC. Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: an overview. *Clin Infect Dis.* 1992; 15: 77-83.
9. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) 2017. Stockholm: ECDC; 2018.

Autor do korespondencji:

mgr Ewa Młodzińska
Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Mikrobiologicznej
01-793 Warszawa, ul. Rydygiera 8
Tel. +48 22 8415834,
e-mail: emlodzinska@polmicro.edu.pl,

Otrzymano: 08.12.2019

Akceptacja do druku: 31.12.2019

Nie zgłoszono sprzeczności interesów

