

616-078:681.14

ZKUŠENOSTI S DIAGNOSTICKÝM SYSTÉMEM ENTEROTEST I A II

Kpt. MUDr. Karel RYCHNA, mjr. MUDr. Pavel ČERMÁK
Vojenský ústav hygieny, epidemiologie a mikrobiologie, Praha
(náčelník: plk. MUDr. Vladimír Kotlář, CSc.)

Úvod

Přes výrazný pokrok, kterého bylo dosaženo v klinické bakteriologii, zachovává si i nadále své pevné místo v procesu exaktní diagnostiky bakterií biochemická identifikace. Toto platí i pro identifikaci bakterií čeledi Enterobacteriaceae, které představují až 80 % klinicky významných izolátů gramnegativních tyčinek z klinických materiálů. Tyto bakterie se nalézají v téměř 50 % případů septikémií, 60–70 % případů bakteriální enteritidy a ve více než 70 % močových infekcí (Kelly, 1985). Jako nejčastěji izolované kmeny jsou uváděny *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* a *Proteus mirabilis*, které představují 80–95 % izolátů (Farmer, 1984).

Při jejich identifikaci jsou zkumavkové metody v poslední době nahrazovány komerčními mikrotesty: API systém, souprava Minitek či systém Enterotube Roche (Schindler, 1984; Šplího, 1978).

Pro naše podmínky jsou však nejdostupnější Enterotest I a II. Systém využívá sérologických destiček s 96 jamkami, v nichž jsou usušené půdy. Umožňuje dvoustupňovou identifikaci, kdy na první stupeň Enterotestu I (12 testů) navazuje stupeň druhý, Enterotest II (rovněž 12 testů).

V tomto sdělení podáváme zprávu o našich diagnostických zkušenostech s těmito testy, vyhodnocenými pomocí diagnostického systému pro Enterotest NIS 86 a počítačem s naším vlastním programem.

Materiál a metody

Enterotest I a II vyrábí Lachema Brno, od výrobce byla rovněž dodána kódová kniha, včetně návodu, diagnostický systém pro Enterotest NIS 86. Při testování

bakteriálních kmenů jsme postupovali podle doporučení výrobce a doporučení celostátních konferencí o diagnostice střevních bakterií pomocí těchto souprav.

K zpracování výsledků jsme využívali vedle kódové knihy 8bitový počítač TNS JZD Slušovice. Počítač pracoval pod operačním systémem CPM (dodán od výrobce počítače) s programem Kombajn (k dispozici u autorů). Výpočet byl prováděn podle třicetixonové frekvenční matice alternativně s dvaceti čtyřmi (matice dodávaná s Enterotestem) nebo až dvaceti devíti biochemickými testy. Mezi těmito 29 testy je obsaženo 20 testů ze soupravy Enterotest I a II a 9 doplňkových zkumavkových testů (Bascomb, 1973). Jako metodu výpočtu jsme si zvolili metodu poměrné pravděpodobnosti (PP) a metodu identifikačního skóre (IS) (Schindler, 1984). Jako kritérium dourčení bakteriálního kmene jsme si zvolili hodnotu PP 0,001 a hodnotu IS 0,9.

Materiál k identifikaci pocházel z klinických oddělení Ústřední vojenské nemocnice v Praze. V převážné míře se jednalo o kmeny izolované z močových infekcí (v 79 %), z infikovaných ran (v 8 %), ze sput (v 5 %), z rektálních výtěrů (ve 4 %) a ostatní materiály (4 %).

Primokultivaci jsme prováděli na běžných diagnostických půdách (krevní agar, Endova půda, DC-agar, CLED, Mac-Conkey agar). Izolaci čistých kultur jsme prováděli na krevní agar, Endovu půdu a DC-agar. Pro přípravu bakteriální suspenze ve fyziologickém roztoku jsme vybírali kolonie velké asi 0,5 mm v průměru na 1 ml fyziologického roztoku. Kolonie byly 18–30 hodin staré. Inokulace bakteriální suspenze na Enterotest jsme prováděli podle návodu.

Doplňkové testy jsme inokulovali bakteriologickou kličkou z bakteriální suspenze. Výsledky jsme odečetali za 24 hodin.

Výsledky

Celkem jsme určovali Enterotestem I a II z dodaného klinického materiálu systémem NIS 86 a počítačem 1974 bakteriálních kmenů. Množství dourčených kmenů alespoň jedním způsobem podává tabulka 1. V tabulce se objevuje i 159 gramnegativních nefermentujících tyčů, jež byly testovány na Enterotestu s mylným předpokladem, že se jedná o gramnegativní fermentující tyče. Druhá tabulka srovnává počty dourčených bakteriálních kmenů pomocí diagnostického seznamu NIS 86 a pomocí počítače. Do tabulky jsou také zaneseny bakteriální kmeny, které byly dourčeny při využití doplňkových testů.

Tab. 1

Výsledky identifikace 1974 bakteriálních kmenů Enterotestem I a II při využití diagnostického seznamu NIS 86 a počítače TNS JZD Slušovice

	Abs. hodnoty	Hodnoty v % a)	Hodnoty v % b)
Dourčené c)	1 693	85,8	93,3
Nedourčené	122	6,2	6,7
Neferm. tyče	159	8,0	—

- a) z celkového počtu vyšetřovaných bakteriálních kmenů (1974)
 b) z celkového počtu vyšetřovaných bakteriálních kmenů po odečtení gramnegativních nefermentujících tyček (1815)
 c) bakteriální kmen identifikován alespoň jedním způsobem

Tab. 2

Srovnání počtu identifikovaných bakteriálních kmenů z 1815 gramnegativních fermentujících tyček při užití NIS 86 a počítače TNS JZD Slušovice

	Abs. hodnoty		Hodnoty v %	
	dourč.	nedourč.	dourč.	nedourč.
NIS 86	1 572	243	86,6	13,4
S využitím počítače a)	1 562	253	86,1	13,9
S využitím počítače b)	1 649	166	90,9	9,1

- a) počítač pracoval s maticí dodávanou k Enterotestu
 b) počítač pracoval s maticí dodávanou k Enterotestu rozšířenou o doplňkové testy

Jak vyplývá z první tabulky podařilo se nám pomocí Enterotestu identifikovat 85,8 % z celkového počtu vyšetřovaných kmenů. Po odečtení tyček, které byly posléze dourčeny jako gramnegativní nefermentující, to činí 93,3 %. Tabulka 2 ukazuje, že nejlepší výsledky bylo dosaženo s využitím počítače, který pracoval s maticí Enterotestu rozšířenou o doplňkové testy. Procento dourčení je nižší v případě, pracuje-li

počítač s maticí bez doplňkových testů, dokonce i nepatrně nižší než při zpracování diagnostickým systémem NIS 86.

Nejčastěji dourčovanými kmeny pomocí této metody byly *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* a *Klebsiella pneumoniae*, které tvořily 79,8 %, respektive 81,1 %.

Diskuse

Na našem oddělení byly pouze krátkodobé zkušenosti s diagnostickým systémem Enterotube Roche (Hejzlar aj., 1980), kdy na 500 kmenech různých rodů čeledi Enterobacteriaceae byla prokázána spolehlivost identifikace zhruba v 75 % a ve více než 85 % byla dobrá shoda s běžně prováděnými testy. Nebyl však pro svou značnou nákladnost dále využíván. Tento problém je u naší diagnostické soupravy odstraněn. Její dostupnost, charakter mikrometody a vysoká standardnost potencují vhodnost Enterotestu pro rutinní zpracování výsledků počítačem. Vedle toho si i využití diagnostického seznamu zachovává v současné době svoji vysokou platnost. Stanovení čtyřmístného kódového čísla a jeho vyhledání v diagnostickém seznamu se nezdá časově náročnější než výpočet provedený počítačem. Problém pochopitelně nastává v případě, že získáme výsledek s nízkou identifikační hladinou nebo daný profil (kódové číslo) v diagnostickém seznamu nenalezneme. Výrobci zahraničních souprav většinou poskytují konzultační službu, kterou zatím postrádáme. Zpracování pomocí počítače skýtá právě výhody, které vyhledávání v diagnostických seznamech postrádá. Do počítače můžeme vkládat různé matice (v našem případě do velikosti 54 × 29), volit metodu výpočtu, stanovit si hranici skóre pro přijatelný výsledek.

Nepatrně nižší identifikační schopnost při použití počítače, který prováděl výpočet podle matice dodávané k Enterotestu, je způsobena nižším počtem taxonů této matice. Uvážíme-li možnost rozšíření matice o další taxony, musíme dbát na to, aby frekvence výskytu jejich biochemických znaků odpovídaly reálným hodnotám pro Enterotest.

Podle našich zkušeností je příhodné kombinovat oba dva způsoby zpracování výsledků biochemických reakcí. Domníváme se, že nejlépe je provést v 1. stupni identifikaci pomocí kódové knihy a ve druhém stupni pomocí počítače.

Souhrn

Při dourčování 1974 bakteriálních kmenů pomocí Enterotestu I a II s následným zpracováním výsledků s využitím kódové knihy a počítače se podařilo na bakteriologickém oddělení VÚHEM dourčit 93,3 % bakteriálních kmenů. Tyto výsledky jsou v korelaci s dosahovanou identifikační schopností u zahraničních identifikačních systémů. Systém Enterotest je vhodný pro využívání v laboratořích hygienické služby v armádě, především při následném zpracování pomocí kódové knihy nebo počítačem.

Literatura

1. BASCOMB, S. – LAPAGE, S. P. – CURTIS, M. A. – WILLCOX, W. R.: Identification of Bacteria by Computer: Identification of Reference Strains. *J. Gen. Microbiol.*, 77, 1973, s. 291.
2. FARMER, J. J. et al.: Biochemical Identification of New Species and Biogroups of Enterobacteriaceae isolated from Clinical Specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 21, 1985, s. 46–76.
3. HEJZLAR, M. aj.: Zkušenosti s diagnostickým systémem Enterotube Roche v biochemické diferenciaci gramnegativních tyčinek z čeledi Enterobacteriaceae. *Voj. zdrav. Listy*, 49, 1980, č. 1, s. 33–37.
4. KELLY, T. M. – BRENNER, D. J. – FARMER, J. J.: Enterobacteriaceae Manual of Clinical Microbiology, IV. Edition, American Society for Microbiology, 1985, s. 263–277.
5. SCHINDLER, J.: Automatická diagnostika bakterií. Praha, Avicenum 1984.
6. ŠPLÍNO, M. – JEDLIČKA, F.: Komerční systémy a jejich využití v diagnostice střevních bakterií. *Inform. Zprav. VLVDÚ JEP, Hradec Králové*, 25, 1978, č. 2, s. 105–124.

Klíčová slova: Enterotest I a II; Kódová kniha; Výpočetní technika.