



**Státní zdravotní ústav**  
**Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti**  
Poskytovatel zkoušení způsobilosti akreditovaný ČIA  
podle ČSN EN ISO/IEC 17043, reg. č. 7001  
Šrobárova 48, 100 42 Praha 10 – Vinohrady



Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii  
(Externí hodnocení kvality)

**PT#M/5-1/2018 (č.1004V)**  
**Bakteriologická diagnostika**

**Praha, březen 2018**

## Obsah

- |   |     |
|---|-----|
| 1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing) | 3   |
| 2. Příprava vzorku  | 4   |
| 3. Hodnocení  | 4   |
| 4. Výsledky zúčastněných laboratoří                                   | 4-5 |
| 5. Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře                |     |

Program zkoušení způsobilosti PT#M/5-1/2018 byl zaměřen na bakteriologickou diagnostiku. Návrh a realizace PT#M/5-1/2018 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/5 na pracovišti Expertní skupiny pro zkoušení způsobilosti (ESPT) Státního zdravotního ústavu (SZÚ). Toto pracoviště je akreditováno Českým institutem pro akreditaci, o.p.s. jako poskytovatel programů zkoušení způsobilosti č. 7001.

S veškerými informacemi dodanými účastníky je zacházeno jako s důvěrnými a nejsou bez souhlasu účastníka poskytovány třetím stranám.

Nedílnou součástí závěrečné zprávy je výsledkový protokol jednotlivé laboratoře.

### **Koordinátor:**

Mgr. Renáta Šafránková  
Tel: 267 082 428

### **Zprávu vypracovaly:**

Mgr. Renáta Šafránková, RNDr. Pavla Urbášková, CSc.

**Zprávu schválil:** Mgr. Renáta Šafránková

**Dne:** 29. 3. 2018

**Pracoviště 2 ESPT (AP CEM - Akreditační pracoviště Centra epidemiologie a mikrobiologie):**

[www.szu.cz/espt](http://www.szu.cz/espt)

email: [apcem@szu.cz](mailto:apcem@szu.cz)

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT**

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/5-1/2018-EHK-1004V/6. 3. 2018
Název:	EHK-Bakteriologická diagnostika
Poskytovatel:	SZÚ – Centrum epidemiologie a mikrobiologie – AP CEM Šrobárova 48, Praha 10, 100 42 tel.: + 420 267082250, fax.: + 420 267082427
Vedoucí ESPT	Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor:	Mgr. Renáta Šafránková
Subdodavatel:	není
Charakteristika materiálu:	Simulovaný klinický vzorek 1. Kingella kingae 2. Plesiomonas shigelloides
Podstata a účel EHK:	stanovení citlivosti k antimikrobním preparátům
Kritéria pro účast na EHK:	účast není omezena
Způsob přípravy:	viz Protokol o přípravě vzorků
Množství připravovaného test. materiálu:	cca pro 20 laboratoří
Označení vzorkovnic:	EHK-1004V/1-2/2018
Zabezpečení kvality vzorku:	U 5 náhodně vybraných lyofilizátů každého vzorku je prováděna 1. Kontrola viability vzorku 2. Kontrola přítomnosti nežádoucí kontaminace Stabilita: zabezpečena vlastní lyofilizací
Metrologická návaznost:	viz Protokol o přípravě vzorků
Termín testu stability:	nejméně 14 dní před distribucí vzorků
Termín distribuce vzorků:	6. 3. 2018 (veterinární lab. – vzorek 1, 2)
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	krátkodobé uchování při 4 – 8 ° C přeprava při pokojové teplotě v trojitém obalu přepravcem se službou přeprava nebezpečného zboží dle regulí ADR pro silniční přepravu
Možné zdroje chyb:	nedodržení správné laboratorní praxe
Počet účastníků:	15
Způsob distribuce:	přepravcem se službou přeprava nebezpečného zboží Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	písemně do 20. 3. 2018 na předepsaných formulářích
Způsob vyhodnocení výsledků:	- kvalitativní (dosažení bodového limitu (2 body za 1 antibiotikum) za stanovení citlivosti)
Určení maximální směrodatné odchylky:	neprovádí
Určení přijaté vztažné hodnoty:	výsledky NRL
Termín rozeslání zprávy účastníkům:	duben 2018

## 2. Příprava vzorku

Kultury bakterií jsou před použitím rozmrazeny, lyofilizované kultury rehydratovány živným bujónem a poté naočkovány na živná média a inkubovány v termostatu při teplotě 37°C. U jednotlivých mikroorganismů byla ověřena identifikace (mikroskopie dle Grama, biochemická identifikace, příp. sérologická identifikace). Před lyofilizací je vizuálně ověřen růst a čistota kultury. Narostlé kultury mikroorganismů jednotlivých vzorků (1-2) jsou setřeny sterilním vatovým tamponem z povrchu agaru a resuspendovány ve 4 ml fyziologického roztoku tak, aby denzita výsledného zákalu odpovídala McFarlandově standardě 6. Automatickou pipetou je napipetováno 0,7 ml vzniklé suspenze nebo požadovaného ředění do 70 ml lyofilního média. Suspenze je rozplněna v objemu přibližně 0,5 ml do skleněných lahvíček a po zmrazení vzorků provedena vlastní lyofilizace (SOP-NRL/CNCTC-01, SOP-NRL/CNCTC-09). Lahvičky jsou skladovány v chladničce při teplotě 4 – 8°C.

## 3. Hodnocení

Celkem byly vzorky rozeslány 15 laboratořím, všechny laboratoře odeslaly výsledek do závěrečného termínu. Za vyšetření citlivosti mohly laboratoře obdržet celkem 6 bodů. Bodování bylo provedeno ve stupnici 2 body (správná odpověď) a 0 bodů.

### KMEN 1: *Kingella kingae*

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 1 k erytromycinu a k tetracyklinu. Kmen byl k oběma antibiotikům citlivý. V tabulce 1 jsou uvedeny breakpointy inhibičních zón a MIC vyšetřovaných antibiotik pro citlivé kmeny *Kingella kingae*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

**Tabulka 1. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 1 *Kingella kingae***

Antibiotikum	Zdroj	Obsah disku µg	Průměry IZ mm		MIC mg/l		Správný výsledek	
			breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL**	kategorie	počet laboratoří
erytromycin	EUCAST[1]	15	≥ 20	25 - 27	≤ 0,5	0,25 - 0,5	C	14/15
	CLSI [2]		ND		≤ 4			
tetracyklin	EUCAST[1]	30	≥ 28	35 - 37	≤ 0,5	0,5 - 0,5	C	13/15
	CLSI [2]		ND		≤ 2			

\*) 5 měření diskovou difúzní metodou; \*\*) 5 měření bujónovou diluční mikrometodou; IZ - průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace; ND: neudáno; C: citlivý

**KMEN 2: *Plesiomonas shigelloides***

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 2 k chloramfenikolu a k tetracyklinu. Kmen byl k oběma antibiotikům citlivý. V tabulce 2 jsou uvedeny breakpointy inhibičních zón a MIC vyšetřovaných antibiotik pro citlivé kmeny enterobakterií, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika u kmene 2 a výsledky laboratoří.

**Tabulka 2. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 2 *Plesiomonas shigelloides***

Antibiotikum	Zdroj	Obsah disku µg	Průměry IZ mm		MIC mg/l		Správný výsledek	
			breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL**	kategorie	počet laboratoří
chloramfenikol	EUCAST[1]	30	≥ 17	32 - 34	≤ 8	0,5 - 0,5	C	15/15
	CLSI [3]		≥ 18					
tetracyklin	EUCAST[1]	30	ND	27 - 28	ND	0,5 - 0,5	C	NH
	CLSI [3]		≥ 15		≤ 4			

\*) 5 měření diskovou difuzní metodou; \*\*) 5 měření bujónovou diluční mikrometodou; IZ - průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace; ND: neudáno; NH: nehodnoceno; C: citlivý

**Závěr.**

U velmi dobře citlivého kmene 1 *Kingella kingae* mohla být falešná rezistence k erytromycinu nebo k tetracyklinu (celkem ve třech případech) způsobena potížemi s růstem kmene, který vyžaduje 48 h inkubace.

U kmene 2 *Plesiomonas shigelloides* některé laboratoře správně upozornily, že na rozdíl od CLSI [3] EUCAST neuvádí breakpointy pro tetracyklin u enterobakterií. Výsledky zaslané laboratořemi u tohoto antibiotika nebyly hodnoceny. Nicméně v případech, kdy nejsou k dispozici breakpointy, lze použít metodický pokyn EUCAST "Jak postupovat, nejsou-li k dispozici breakpointy" (česky na <http://www.szu.cz/dalsi-dokumenty-s-pokyny-pri-testovani-citlivosti-eucast>). Distribuce MIC tetracyklinu sice *Plesiomonas shigelloides* nezahrnuje, avšak epidemiologický předěl (ECOFF) tetracyklinu pro divoký typ (neboli populaci bez determinant rezistence) je ≤ 8 mg/l u příbuzných druhů z čeledi enterobakterií *Escherichia coli* nebo *Klebsiella pneumoniae* [4], čili kmen 2 byl citlivý podle PK-PD breakpointu EUCAST, i podle CLSI [3].

**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/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)
- [2] CLSI. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated of fastidious bacteria. 3rd ed. CLSI guideline M45. Wayne, Pa. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015.
- [3] CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 27th ed. CLSI supplement M100-S. Wayne, Pa. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.
- [4] EUCAST. MIC- and Inhibition zone diameter distributions of microorganisms without and with resistance mechanisms. Dostupné na <https://mic.eucast.org/Eucast2/>.