



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/5-3/2018 (č.1032V)
Bakteriologická diagnostika

Praha, říjen 2018

Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2. Příprava vzorku	4
3. Hodnocení	4
4. Výsledky zúčastněných laboratoří	4-6
5. Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/5-3/2018 byl zaměřen na bakteriologickou diagnostiku. Návrh a realizace PT#M/5-3/2018 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. 10. 2018

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

www.szu.cz/espt

email: apcem@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/5-3/2018-EHK-1032V/25. 9. 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. Klebsiella pneumoniae 2. Campylobacter jejuni
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-1032V/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:	25. 9. 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 10. 10. 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 zveřejnění zprávy účastníkům:	říjen/listopad 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: *Klebsiella pneumoniae*

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 1 ke kotrimoxazolu a k ciprofloxacinu. Kmen byl k oběma požadovaným antibiotikům rezistentní. V tabulce 1 jsou uvedeny breakpointy inhibičních zón a MIC vyšetřovaných antibiotik pro citlivé kmeny *K. pneumoniae*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Tabulka 1. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 1 *Klebsiella pneumoniae*

Antibiotikum	Zdroj	Průměry IZ (mm)			MIC (mg/l)		Správné výsledky	
		obsah disku μg	breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL*	breakpoint pro citlivé kmeny	rozmezí hodnot naměřených v NRL**	kategorie	počet laboratoří
kotrimoxazol	EUCAST [1]	25	≥ 14***	6 -- 6	≤ 2***	> 8 - > 8***	R	15/15
	CLSI [2]		≥ 16***					
ciprofloxacín	EUCAST [1]	5	≥ 26	6 - 6	≤ 0,25	> 4 - > 4	R	15/15
	CLSI [2]		≥ 21		≤ 1			

*) 5 měření diskovou difúzní metodou EUCAST; **) 5 měření diluční mikrometodou EUCAST; IZ - průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace; *** vztaženo na obsah trimetoprimu; R: rezistentní.

KMEN 2: *Campylobacter jejuni*

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 2 k tetracyklinu a ke gentamicinu. Kmen byl citlivý k tetracyklinu a v tabulce 2 jsou příslušné hodnoty breakpointů pro kmeny citlivé k tetracyklinu, hodnoty naměřené v NRL a výsledky laboratoří.

Výsledky vyšetření citlivosti ke gentamicinu získané laboratořemi nebyly hodnoceny, neboť EUCAST ani CLSI pro toto antibiotikum breakpointy neuvádí. Podle hodnoty ECOFF (epidemiologického předělu) pro gentamicin u *C. jejuni*, který je 2 mg/l pro MIC (20 mm pro průměr IZ), patří kmen 2 k divokému typu (WT).

Tabulka 2. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 2 *Campylobacter jejuni*

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
tetracyklin	EUCAST[1]	30	≥ 30	41 - 42	≤ 2	0,125 - 0,125	C	13/15
	CLSI [3]		≥ 26		≤ 4			
gentamicin	ND	-	ND	26 - 28	ND	1 - 1	WT	NH

*) 5 měření diskovou difúzní metodou; **) 5 měření bujónovou diluční mikrometodou; IZ - průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace; ND: není k dispozici; NH: nehodnoceno; C: citlivý; WT: divoký typ (wild type).

Závěr.

V praxi se lze setkat se situací, ve které je nezbytné použít antibiotikum, pro něž nejsou k dispozici breakpointy. Podrobný postup je uveden v metodických dokumentech EUCAST [4], český překlad tohoto dokumentu je na adrese <http://www.szu.cz/klinicke-breakpointy>.

Gentamicin nemá pro *C. jejuni* breakpointy MIC, průměrů inhibičních zón (IZ) ani breakpointy PK/PD (farmakokineticko/farmakodynamické). Podle naměřených hodnot MIC a průměrů IZ v porovnání s epidemiologickým předělem (ECOFF) pro gentamicin u *C. jejuni* [4] je kmen 2 divokého typu, to znamená, že neobsahuje geny rezistence ke gentamicinu.

V případě, že MIC (IZ) je v rozmezí citlivosti divokého typu daného druhu, může být antibiotikum s opatrností použito. Pokud není vyšetřena MIC (průměr IZ) v rozmezí divokého typu, pak izolát má mechanismy rezistence a dané antibiotikum by nemělo být použito. Potřebné údaje podle jména druhu nebo antibiotika lze vyhledat na webové stránce s distribucí MIC a průměrů IZ EUCAST [5]. Podle distribuce MIC (průměru IZ) daného antibiotika u příslušného druhu pak lze posoudit, zda vyšetřovaný kmen podle výsledku MIC patří k divokému typu či nikoli.

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/, český překlad <http://www.szu.cz/tabulky-breakpointu-eucast>
- [2] CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 28th ed. CLSI supplement M100. S. Wayne, Pa. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.
- [3] CLSI. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria. 3rd ed. Wayne, Pa. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015.
- [4] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Guidance documents. What to do when there are no breakpoints in the EUCAST breakpoint table. Dostupné na http://www.eucast.org/guidance_documents/
- [5] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing . MIC and zone distributions and ECOFF 's. Antimicrobial wild type distributions of microorganisms. Dostupné na <http://mic.eucast.org/Eucast2>