



**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/5-4/2018 (č.1045V)**  
**Bakteriologická diagnostika**

**Praha, prosinec 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/5-4/2018 byl zaměřen na bakteriologickou diagnostiku. Návrh a realizace PT#M/5-4/2018 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:** 5. 12. 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/5-4/2018-EHK-1045V/13. 11. 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. Staphylococcus aureus
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-1045V/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:	13. 11. 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 27. 11. 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 závěrečné zprávy:	prosinec 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 8 bodů. Bodování bylo provedeno ve stupnici 2 body (správná odpověď) a 0 bodů.

### KMEN 1: *Klebsiella pneumoniae*

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 1 ke gentamicinu a k ceftazidimu. Kmen byl rezistentní ke gentamicinu a citlivý k ceftazidimu. V tabulce 1 jsou uvedeny breakpointy inhibičních zón a MIC vyšetřovaných antibiotik pro citlivé kmeny Enterobacterales, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoř. Jedna laboratoř ceftazidim nevyšetřila.

**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 laboratoř
gentamicin	EUCAST [1]	10	≥ 17	6 - 6	≤ 2	> 16 - > 16	R	15/15
	CLSI [2]		≥ 15		≤ 4			
ceftazidim	EUCAST [1]	10	≥ 22	24 - 25	≤ 1	1 - 1	C	10/15
	CLSI [2]	30	≥ 21	26 - 27	≤ 4			

\*) 5 měření diskovou difuzní metodou EUCAST; \*\*) 5 měření diluční mikrometodou EUCAST; IZ - průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace; C: citlivý; R: rezistentní.

**KMEN 2: *Staphylococcus aureus***

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 2 ke kotrimoxazolu a k erytromycinu. Kmen byl k oběma antibiotikům citlivý. V tabulce 2 jsou příslušné hodnoty breakpointů pro citlivé kmeny stafylokoků, hodnoty naměřené v NRL a výsledky laboratoří.

**Tabulka 2. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 2 *Staphylococcus aureus***

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
kotrimoxazol ***	EUCAST[1]	25	≥ 17	25 - 27	≤ 2	1 - 2	C	11/15
	CLSI [2]		≥ 16					
gentamicin	EUCAST[1]	10	≥ 18	21 - 23	≤ 1	0,5 - 1	C	14/15
	CLSI [2]		≥ 15		≤ 4			

\*) 5 měření diskovou difúzní metodou EUCAST; \*\*) 5 měření bujónovou diluční mikrometodou EUCAST; IZ - průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace; \*\*\* hodnoty IZ, MIC a výsledky NRL jsou vztaheny na obsah trimetoprimu; C: citlivý.

**Závěr.**

U kmene 1 a ceftazidimu a u kmene 2 a kotrimoxazolu byl zaznamenán poměrně vysoký počet chybných výsledků laboratoří (5/15, resp. 4/15). Mimo obvyklé příčiny (kterými je nejčastěji nedodržení metodického postupu vyšetření citlivosti a/nebo nezařazení kontroly kvality) by chyby mohly být způsobeny disociací kultury, a tudíž jejím rozpadem na subpopulace s rozdílnou citlivostí k příslušnému antibiotiku. Tento jev je pozorován často zejména v důsledku opakovaného přeočkovávání kmene nebo odběrem kolonií k vyšetření citlivosti ze selektivní půdy. Je proto nutno pečlivě dodržovat postup, uvedený v průvodním dopise Bakteriologická diagnostika - veterináři, tudíž vyšetřit citlivost z jen jedenkrát přeočkované subkultury lyofilizátu na neselektivní půdu.

**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/), 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.