



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel programů 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/5-1/2019 (č.1059V)
Bakteriologická diagnostika

Praha, duben 2019

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/5-1/2019 byl zaměřen na bakteriologickou diagnostiku. Návrh a realizace PT#M/5-1/2019 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.

Příloha závěrečné zprávy, t.j. ohodnocený výsledkový protokol, je rozesílána poštou.

Koordinátor:

Mgr. Renáta Šafránková
Tel: 267 082 428

Zprávu vypracovaly:

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

Zprávu schválil: Mgr. Renáta Šafránková

Dne: 16. 4. 2019

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/5-1/2019-EHK-1059V/12. 3. 2019
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. Salmonella Typhimurium 2. Acinetobacter baumannii
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-1059V/1-2/2019
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:	12. 3. 2019 (veterinární lab. – vzorek 1, 2)
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	krátkodobé uchování při 4 – 8 ° C přeprava při pokojové teplotě v trojitém obalu přepravním se službou přeprava nebezpečného zboží dle regulí ADR pro silniční přepravu
Možné zdroje chyb:	nedodržení správné laboratorní praxe
Počet účastníků:	12
Způsob distribuce:	přepravním se službou přeprava nebezpečného zboží Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	písemně do 26. 3. 2019 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:	duben 2019

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 12 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: *Salmonella* Typhimurium

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

Tabulka 1. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 1 *Salmonella* Typhimurium podle metody a breakpointů EUCAST [1].

Antibiotikum	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
pefloxacin	5	≥ 24	27 - 28	ND	NT	C	12/12
ciprofloxacin	5	ND	37 - 38	≤ 0,06	≤ 0,03 - ≤ 0,03		
kotrimoxazol***	25	≥ 14	23 - 24	≤ 2	≤ 0,06 - ≤ 0,06	C	12/12

*) 5 měření diskovou difuzní metodou; **) 5 měření diluční mikrometodou; IZ - průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace; ND: neudáno; NT: nevyšetřeno; C: citlivý; *** hodnoty IZ, MIC a výsledky NRL jsou vztaženy na obsah trimetoprimu.

KMEN 2: *Acinetobacter baumannii*

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

Tabulka 2. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 2 *Acinetobacter baumannii* podle metody a breakpointů EUCAST [1].

Antibiotikum	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
ciprofloxacín	5	≥ 50	6 - 6	≤ 0,06	> 8	R	12/12
kotrimoxazol***	25	≥ 16	20 - 21	≤ 2	0,125 - 0,125	C	NH (2/12)

*) 5 měření diskovou difúzní metodou; **) 5 měření diluční mikrometodou; IZ - průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace; C: citlivý; R: rezistentní; NH: nehodnoceno; *** hodnoty IZ, MIC a výsledky NRL jsou vztaženy na obsah trimetoprimu.

Závěr.

Pro interpretaci výsledků vyšetření citlivosti se používají od roku 2019 redefinované breakpointy podle evropských standardů EUCAST [1], které akceptuje i NRL/ATB SZÚ Praha. Současně NRL/ATB upouští v EHK-bakteriologie od kategorizace citlivosti podle CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, USA), neboť v interpretaci výsledků vyšetření citlivosti podle EUCAST a CLSI lze očekávat významné rozdíly.

V této sérii EHK 1059 chybovalo 10 laboratoří u kmene 2 a kotrimoxazolu (nehodnoceno). Citlivost kmene potvrdila nízká hodnota MIC kotrimoxazolu. V inhibiční zóně kotrimoxazolu byl sice patrný jemný nárůst, u kombinace trimetoprim/sulfametoxazol se však odečítá 80% inhibice růstu ve srovnání s kontrolou, a kmen 2 toto kritérium citlivosti splňoval. Podrobněji, viz EUCAST Disk diffusion methodology

(http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/disk_diffusion_methodology/,
česky <http://www.szu.cz/diskova-difuzni-metoda-eucast>).

V případě reklamací vyhodnocení série prosím postupujte dle reklamačního řádu.

Literatura

- [1] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, valid from 2019-01-01 [on-line]. Dostupný z WWW: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/, český překlad <http://www.szu.cz/tabulky-breakpointu-eucast>