



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/5-4/2019 (č.1100V)
Bakteriologická diagnostika

Praha, prosinec 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/5-4/2019 byl zaměřen na bakteriologickou diagnostiku. Návrh a realizace PT#M/5-4/2019 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, tj. ohodnocený výsledkový protokol, je rozesílána poštou.

Koordinátor:

Mgr. Renáta Šafránková

Tel: 267 082 124

Zprávu vypracovaly:

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

Zprávu schválil: Mgr. Renáta Šafránková

Dne: 10. 12. 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/5-4/2019-EHK-1100V/19. 11. 2019
Název:	EHK-Bakteriologická diagnostika
Poskytovatel:	SZÚ – Centrum epidemiologie a mikrobiologie – AP CEM Šrobárova 48, Praha 10, 100 42 tel.: + 420 267082258
Vedoucí ESPT	Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor:	Mgr. Renáta Šafránková
Subdodavatel:	není
Charakteristika materiálu:	Simulovaný klinický vzorek 1. Staphylococcus pseudintermedius 2. Klebsiella pneumoniae
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-1100V/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:	19. 11. 2019 (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:	12
Způsob distribuce:	přepravcem se službou přeprava nebezpečného zboží Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	písemně do 3. 12. 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:	prosinec 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 8 bodů. Bodování bylo provedeno ve stupnici 2 body (správná odpověď) a 0 bodů.

KMEN 1: *Staphylococcus pseudintermedius*

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 1 k oxacilinu a ke klindamycinu. Kmen byl k oběma antibiotikům rezistentní. V tabulce 1 jsou uvedeny breakpointy inhibičních zón a MIC vyšetřovaných antibiotik pro *Staphylococcus pseudintermedius*, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Tabulka 1. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 1 *Staphylococcus pseudintermedius* podle metody a breakpointů EUCAST [1].

Antibiotikum	Průměry IZ (mm)			MIC (mg/l)		Správné výsledky	
	obsah disku μg	breakpoint pro citlivé kmeny ¹	rozmezí hodnot naměřených v NRL ²	breakpoint pro citlivé kmeny ¹	rozmezí hodnot naměřených v NRL ³	kategorie	počet laboratoří
oxacilin	1	≥ 20	6 - 6	≤ 2	> 8 - > 8	R	12/12
cefoxitin	20	≥ 25	24 - 25	-	-		
klindamycin	2	≥ 22	6 - 6	≤ 0,25	> 4 - > 4	R	12/12

¹⁾ při standardním dávkování; ²⁾ 5 měření diskovou difúzní metodou; ³⁾ 5 měření diluční mikrometodou; - průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace; R: rezistentní.

KMEN 2: *Klebsiella pneumoniae*

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 2 k trimetoprimu/sulfametoxazolu (kotrimoxazolu) a k tetracyklinu. Kmen byl citlivý ke kotrimoxazolu a rezistentní k tetracyklinu. V tabulce 2 jsou příslušné hodnoty breakpointů pro citlivé kmeny Enterobacterales, hodnoty naměřené v NRL a výsledky laboratoří.

Tabulka 2. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 2 *Klebsiella pneumoniae*

Antibiotikum	Obsah disku µg	Průměry IZ mm		MIC mg/l		Správný výsledek	
		breakpoint pro citlivé kmeny ^{1,4}	rozmezí hodnot naměřených v NRL ²	breakpoint pro citlivé kmeny ^{1,4}	rozmezí hodnot naměřených v NRL ³	kategorie	počet laboratoří
kotrimoxazol ⁵	25	≥ 14	16 - 17	≤ 2	1 - 2	C	10/12
tetracyklin	30	≥ 19	10 - 11	≤ 4	16 - 16	R	9/12

¹⁾ při standardním dávkování; ²⁾ 5 měření diskovou difuzní metodou; ³⁾ 5 měření diluční mikrometodou; IZ - průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace; C: citlivý, R: rezistentní.

4. Závěr

Citlivost k oxacilinu u kmene 1 byla v NRL vyšetřena také diskem s 1 µg oxacilinu, který je u druhu *Staphylococcus pseudintermedius* spolehlivější než cefoxitin, zatímco u ostatních stafylokoků je tomu obráceně [1]. U kmene 2 byly pro tetracyklin použity breakpointy CLSI [2], protože EUCAST je neuvádí. U kmene 1 měly všechny laboratoře správné výsledky, u kmene 2 zřejmě použily dvě laboratoře příliš koncentrované inokulum, které by mohlo být příčinou falešné rezistence ke kotrimoxazolu. Rezistence u kmene 2 k tetracyklinu byla jednoznačně potvrzena vyšetřením diskovou metodou i MIC.

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>
- [2] CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, P: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.

V případě reklamací vyhodnocení série postupujte, prosím, dle reklamačního řádu.