



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001 akreditovaný ČIA
podle ČSN EN ISO/IEC 17043: 2010
Šrobárova 49/48, 100 00, Praha 10



Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii
(Externí hodnocení kvality)

PT#M/5-1/2020 (č.1113V)
Bakteriologická diagnostika

Praha, duben 2020

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/5-1/2020 byl zaměřen na bakteriologickou diagnostiku. Návrh a realizace PT#M/5-1/2020 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 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: 17. 4. 2020

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

www.szu.cz/espt

e-mail: apcem@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT#M/5-1/2020

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/5-1/2020-EHK-1113V/10. 3. 2020
Název:	EHK-Bakteriologická diagnostika
Poskytovatel:	SZÚ – Centrum epidemiologie a mikrobiologie – AP CEM Šrobárova 49/48, Praha 10, 100 00 tel.: + 420 267082258
Vedoucí ESPT	Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor:	Mgr. Renáta Šafránková
Subdodavatel:	není
Charakteristika materiálu:	Simulovaný klinický vzorek 1. Staphylococcus aureus 2. Pseudomonas aeruginosa
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-1113V/1-2/2020
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:	10. 3. 2020 (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 24. 3. 2020 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 vztažené hodnoty:	výsledky NRL
Termín zveřejnění závěrečné zprávy:	Do 12 týdnů po předání výsledků k hodnocení

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 4 body. Bodování bylo provedeno ve stupnici 2 body (správná odpověď) a 0 bodů.

KMEN 1: *Staphylococcus aureus*

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 1 k erytromycinu a k tetracyklinu. V tabulce 1 jsou uvedeny breakpointy inhibičních zón a MIC vyšetřovaných antibiotik pro *Staphylococcus aureus*, které uvádí EUCAST [1] pro izoláty od lidí a CLSI-VET8 [2] pro veterinární účely. Tabulka dále obsahuje hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky kategorizace citlivosti podle zúčastněných laboratoří.

Tabulka 1. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 1 *Staphylococcus aureus*.

Antibiotikum	Zdroj	Obsah disku µg	Průměry IZ mm			MIC mg/l			Výsledky laboratoří (n=12)			
			breakpointy ¹		rozmezí hodnot v NRL ²	breakpointy ¹		rozmezí hodnot v NRL ³	kategorie			neudán
			C	R		C	R		C	I	R	
erytromycin	EUCAST[1]	15	≥ 21	≤ 18	27-28	≤ 1	> 2	1-1	12	0	0	0
	CLSI-V [2] ⁴		≥ 23	≤ 13		≤ 0,5	≥ 8					
tetracyklin	EUCAST[1]	30	≥ 22	≤ 19	27-28	≤ 1	> 2	0,125 - 0,125	10	0	2	0
	CLSI-V [2]		≥ 23	≤ 17		≤ 0,25	≥ 1					

¹⁾ rozdíl hodnot mezi breakpointy je kategorie I; ²⁾ 5 měření diskovou difuzní metodou; ³⁾ 5 měření diluční mikrometodou; ⁴⁾ CLSI schválila u erytromycinu humánní breakpointy pro veterinární použití; IZ: průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace; C: citlivý; I: citlivý při zvýšené expozici antibiotiku/intermediární; R: rezistentní (rozdílná interpretace kategorií citlivosti EUCAST a CLSI-VET je uvedena v závěru).

KMEN 2: *Pseudomonas aeruginosa*

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 2 ke gentamicinu a k piperacilinu/tazobaktamu. V tabulce 2 jsou uvedeny breakpointy inhibičních zón a MIC vyšetřovaných antibiotik pro *Pseudomonas aeruginosa*, které uvádí EUCAST [1] pro izoláty od lidí a CLSI-VET8 [2] pro veterinární účely. Tabulka dále obsahuje hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky kategorizace citlivosti podle zúčastněných laboratoří.

Tabulka 2. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 2 *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiotikum	Zdroj	Obsah disku μg	Průměry IZ mm			MIC mg/l			Výsledky laboratoří (n=12)			
			breakpointy ¹		rozmezí hodnot v NRL ²	breakpointy ¹		rozmezí hodnot v NRL ³	kategorie			neudán
			C	R		C	R		C	I	R	
gentamicin	EUCAST[1]	10	ND	ND	19-19	ND	ND	4-4	7	1	2	2
	CLSI-V [2]		≥ 16	≤ 12		≤ 2	≥ 8					
piperacilin/tazobaktam	EUCAST[1]	30/6	≥ 50	< 18	25-26	$\leq 0,001$	> 16	8-8	7	3	1	1
	CLSI-V [2]	ND	ND	ND	NT	≤ 8	≥ 32					

¹⁾ rozdíl hodnot mezi breakpointy je kategorie I; ²⁾ 5 měření diskovou difuzní metodou; ³⁾ 5 měření diluční mikrometodou; IZ: průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace; C: citlivý; I: citlivý při zvýšené expozici antibiotiku/intermediární; R: rezistentní (rozdílná interpretace kategorií citlivosti EUCAST a CLSI-VET je uvedena v závěru).

4. Závěr

V důsledku změn v interpretaci kategorií citlivosti EUCAST rozšířila NRL pro antibiotika od roku 2020 kategorizaci citlivosti kromě EUCAST [1] také podle dokumentu CLSI-VET [2] určeného pro veterinární oblast.

Kromě rozdílných breakpointů pro jednotlivé kategorie citlivosti se oba dokumenty liší v definici kategorií. Podle kategorií EUCAST je kmen citlivý - C při standardním dávkování antibiotika, citlivý při zvýšené expozici antibiotiku - I a rezistentní - R i při zvýšené expozici antibiotiku. Podle kategorií CLSI je kmen k danému antibiotiku citlivý - C nebo rezistentní - R, a do kategorie intermediární - I je zařazen tehdy, pokud je inhibován v oblastech, v nichž se antibiotikum koncentruje, nebo pokud existuje nejistota ohledně kategorie citlivosti.

V tomto kole bude vyhodnocen pouze vzorek 1, u kterého se interpretace citlivostí u standardů CLSI a EUCAST téměř shodují a kde byly hodnoty naměřené v NRL v jasně citlivé oblasti podle obou standardů u obou antibiotik. V tabulkách jsou pak uvedeny hodnoty breakpointů, hodnot naměřených v NRL pro antibiotika a kategorie citlivosti uvedené laboratořemi. Laboratoře mohou své získané výsledky interpretovat podle kategorií zvoleného dokumentu CLSI-VET nebo EUCAST, a naměřené hodnoty průměrů inhibičních zón nebo MIC porovnat s hodnotami naměřenými v NRL pro antibiotika.

V příštích kolech bude proto nutné do formuláře uvést i standard, dle kterého laboratoř interpretuje výsledky vyšetření citlivosti (EUCAST/CLSI-VET), aby se vzorky daly hodnotit.

Literatura

- [1] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0, valid from 2020-01-01 [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 disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. 4th ed. CLSI Supplement VET08. Clinical Laboratory Standard Institute; 2018.

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