



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/5-2/2020 (č.1134V)**  
**Bakteriologická diagnostika**

**Praha, srpen 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/5-2/2020 byl zaměřen na bakteriologickou diagnostiku. Návrh a realizace PT#M/5-2/2020 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:** 19. 8. 2020

### **Pracoviště 2 ESPT**

[www.szu.cz/espt](http://www.szu.cz/espt)

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT**

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/5-2/2020-EHK-1134V/2. 6. 2020
Název:	EHK-Bakteriologická diagnostika
Poskytovatel:	SZÚ - ESPT 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. Salmonella Enteritidis 2. Salmonella Paratyphi
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-1134V/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:	2. 6. 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 16. 6. 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 vztažné 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 zmražení 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: *Salmonella* Enteritidis

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 1 k ampicilinu a ke chloramfenikolu. V tabulce 1 jsou uvedeny breakpointy inhibičních zón a MIC vyšetřovaných antibiotik pro *Salmonella* spp., 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 *Salmonella* Enteritidis.**

Antibiotikum	Zdroj	Obsah disku µg	Průměry IZ mm			MIC mg/l			Výsledky laboratoří (n=12)		
			breakpointy <sup>1</sup>		rozmezí hodnot v NRL <sup>2</sup>	breakpointy <sup>1</sup>		rozmezí hodnot v NRL <sup>3</sup>	kategorie		
			C	R		C	R		C	I	R
ampicilin	EUCAST[1]	10	≥ 14	< 14	6-6	≤ 8	> 8	32-32	0	0	12
	CLSI-V [2]		≥ 17	≤ 13		≤ 8	≥ 32				
chloramfenikol	EUCAST[1]	30	≥ 17	< 17	26-26	≤ 8	> 8	4-8	12	0	0
	CLSI-V [2] <sup>4</sup>		≥ 18	≤ 12		≤ 8	≥ 32				

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

**KMEN 2: *Salmonella Paratyphi***

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 2 k ampicilinu a ke chloramfenikolu. V tabulce 2 jsou uvedeny breakpointy inhibičních zón a MIC vyšetřovaných antibiotik pro *Salmonella* spp., 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 *Salmonella Paratyphi***

Antibiotikum	Zdroj	Obsah disku $\mu\text{g}$	Průměry IZ mm		rozmezí hodnot v NRL <sup>2</sup>	MIC mg/l		rozmezí hodnot v NRL <sup>3</sup>	Výsledky laboratoří (n=12)		
			breakpointy <sup>1</sup>			breakpointy <sup>1</sup>			kategorie		
			C	R		C	R		C	I	R
ampicilin	EUCAST[1]	10	$\geq 14$	$< 14$	19-20	$\leq 8$	$> 8$	4-4	10	0	2
	CLSI-V [2]		$\geq 17$	$\leq 13$		$\leq 8$	$\geq 32$				
chloramfenikol	EUCAST[1]	30	$\geq 17$	$< 17$	24-25	$\leq 8$	$> 8$	8-8	12	0	0
	CLSI-V [2] <sup>4</sup>		$\geq 18$	$\leq 12$		$\leq 8$	$\geq 32$				

<sup>1</sup>) rozdíl hodnot mezi breakpointy je kategorie I; <sup>2</sup>) 5 měření diskovou difúzní metodou; <sup>3</sup>) 5 měření diluční mikrometodou; <sup>4</sup>) CLSI u chloramfenikolu uvádí humánní breakpointy pro veterinární použití; IZ: průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace; C: citlivý; I: citlivý při zvýšené expozici antibiotiku [1]/intermediární [2]; 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.

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.

Aby bylo možné výsledky laboratoří náležitě vyhodnotit, bude od příštího kola ve výsledkovém formuláři uvedena i kolonka, kam budou laboratoře uvádět typ metodiky, kterou použily pro interpretaci svých výsledků.

V tomto kole měly všechny laboratoře správné výsledky u kmene 1, u kmene 2 chybovaly dvě laboratoře u ampicilinu.

**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/](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.