



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/5-4/2020 (č.1157V)
Bakteriologická diagnostika

Praha, prosinec 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/5-4/2020 byl zaměřen na bakteriologickou diagnostiku. Návrh a realizace PT#M/5-4/2020 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.

Zprávu vypracoval:

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

Zprávu autorizoval: Mgr. Renáta Šafránková

Dne: 17. 12. 2020

Pracoviště 2 ESPT

<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>

e-mail: ehk@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT #M/5-4/2020

Identifikace kola/cyklu:	EHK-1157V
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. Staphylococcus epidermidis
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-1157V/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:	24. 11. 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 8. 12. 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 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 Enteritidis*

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 1 k cefotaximu a ke kotrimoxazolu. V tabulce 1 jsou uvedeny breakpointy inhibičních zón a MIC vyšetřovaných antibiotik pro Enterobacterales, které uvádí EUCAST [1] pro izoláty od lidí a breakpointy kotrimoxazolu pro veterinární účely CLSI-VET8 (cefotaxim CLSI-VET8 neuvádí) [2]. Tabulka dále obsahuje hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika, výsledky kategorizace citlivosti podle zúčastněných laboratoří a podle NRL pro antibiotika SZU Praha.

Tabulka 1. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 1 *Salmonella Enteritidis*.

Antibiotikum	Zdroj	Obsah disku μg	Průměry IZ mm			MIC mg/l			Výsledky kategorizace citlivosti			
			breakpointy ¹		rozmezí hodnot v NRL ²	breakpointy ¹		rozmezí hodnot v NRL ³	laboratoří (n=12)			NRL/ATB
			C	R		C	R		C	I	R	
cefotaxim	EUCAST[1]	5	≥ 20	< 17	28 - 29	≤ 1	> 2	0,06 - 0,125	11	0	0	C
kotrimoxazol	EUCAST[1]	25	≥ 14	< 11	28 - 30	$\leq 2^5$	$> 4^5$	$\leq 0,06 - \leq 0,06$	12	0	0	C
	CLSI-V [2] ⁴		≥ 16	≤ 10		$\leq 2^5$	$\geq 4^5$					

¹) rozdíl hodnot mezi breakpointy je kategorie I; ²) 5 měření diskovou difúzní metodou EUCAST; ³) 5 měření diluční mikrometodou EUCAST; ⁴) CLSI-VET u kotrimoxazolu uvádí jen humánní breakpointy; ⁵) výsledek MIC je vztažen na obsah trimetoprimu;

IZ: průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace;

kategorie C: citlivý; kategorie I: citlivý při zvýšené expozici antibiotiku [1] / intermediární [2]; kategorie R: rezistentní (rozdílná interpretace kategorií citlivosti EUCAST a CLSI-VET je uvedena v závěru).

KMEN 2: *Staphylococcus epidermidis*

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

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

Antibiotikum	Zdroj	Obsah disku μg	Průměry IZ mm			MIC mg/l			Výsledky kategorizace citlivosti			
			breakpointy ¹		rozmezí hodnot v NRL ²	breakpointy ¹		rozmezí hodnot v NRL ³	laboratoří (n=12)			NRL/ATB
			C	R		C	R		C	I	R	
erytromycin	EUCAST[1]	15	≥ 21	< 18	29 - 30	≤ 1	> 2	0,5 - 0,5	12	0	0	C
	CLSI-V [2] ⁴		≥ 23	≤ 13		$\leq 0,5$	≥ 8					
klindamycin	EUCAST[1]	2	≥ 22	< 19	28 - 30	$\leq 0,25$	$> 0,5$	0,125 - 0,25	12	0	0	C
	CLSI-V [2]		≥ 21	≤ 14		$\leq 0,5$	≥ 4					

¹) rozdíl hodnot mezi breakpointy je kategorie I; ²) 5 měření diskovou difuzní metodou; ³) 5 měření diluční mikrometodou; ⁴) CLSI-VET u erytromycinu uvádí jen humánní breakpointy;

IZ: průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace;

kategorie C: citlivý; kategorie I: citlivý při zvýšené expozici antibiotiku [1] / intermediární [2]; kategorie R: rezistentní (rozdílná interpretace kategorií citlivosti EUCAST a CLSI-VET je uvedena v závěru).

4. Závěr

Všechny laboratoře měly správné výsledky. Cefotaxim, který CLSI-VET [2] neuvádí, se hodnotil jen podle kritérií EUCAST [1] a výsledky vyšetření citlivosti se u tohoto antibiotika nebudovaly.

Kategorie C, I a R podle EUCAST [1] a CLSI-VET [2] :

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.

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.