



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



Závěrečná zpráva

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii
(Externí hodnocení kvality)

PT#M/5-2/2021 (EHK 1205)

**Bakteriologická diagnostika-
-veterináři**

Praha, červen 2021

Obsah

1	Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2.	Způsob přípravy vzorků	4
3.	Charakteristika materiálu	4
4.	Způsob hodnocení	4
5.	Vyhodnocení	4-5
6.	Závěr	6
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/5-2/2021 byl zaměřen na bakteriologickou diagnostiku. Návrh a realizace PT#M/5-2/2021 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 pro každou zúčastněnou laboratoř k dispozici na webových stránkách SZÚ (<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>) po přihlášení kódem a heslem v záložce „Hodnocení sérií“.

Zprávu vypracoval:

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

Zprávu autorizoval:

Mgr. Renáta Šafránková

Dne: 22. 6. 2021

Pracoviště 2 ESPT

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

ehk@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT#M/5-2

Identifikace série:	EHK 1205
Název:	Bakteriologická diagnostika
Koordinátor:	Mgr. Renáta Šafránková
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3
Podstata a účel EHK:	Stanovení citlivosti k antimikrobním preparátům
Kritéria pro účast na EHK:	Dodržení správné laboratorní praxe
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2
Množství připravovaného test. materiálu:	Cca pro 15 laboratoří
Označení vzorkovnic:	EHK-1205/1-2/2021
Zabezpečení kvality vzorku:	U 5 náhodně vybraných lyofilizátů každého vzorku je prováděna 1. Kontrola viability vzorku 2. Kontrola přítomnosti nežádoucí kontaminace
Test homogenity a stability:	Nejméně 14 dní před distribucí vzorků; po otevření lyofilizovaných vzorků a jejich inkubaci na agarových plotnách se vizuálně hodnotí růst a nepřítomnost nežádoucích kontaminant. Stabilita výchozího materiálu je zabezpečena lyofilizací kultur.
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:	10
Termín distribuce vzorků:	1. 6. 2021 (veterinární lab.)
Způsob distribuce:	Přepravní službou (zajišťuje Koordinační pracoviště ESPT 2)
Předání výsledků:	elektronicky do 15. 6. 2021
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neprovádí
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Výsledky získané v NRL
Termín uveřejnění očekávaných výsledků:	Neuveřejňuje se
Termín zveřejnění závěrečné zprávy:	Do 7. 9. 2021

2. Způsob přípravy vzorku

Kultury bakterií jsou před použitím rozmrazeny, lyofilizované kultury rehydratovány živným bujónem a poté naočkovány na živná média a inkubovány v termostatu při teplotě 35°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 (1-5) jsou setřeny sterilním vatovým tamponem z povrchu agaru a resuspendovány ve 4 ml fyziologického roztoku tak, aby denzita výsledného zákalu odpovídala McFarlandovu standardu 6. U vzorku 3 bylo připraveno ředění zákalu komenzálních bakterií 10^{-2} -středně obtížná izolace až 10^{-3} -obtížná izolace. 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 lahviček a po zmražení vzorků provedena vlastní lyofilizace (SOP-NRL/CNCTC-01 a SOP-NRL/CNCTC-09). Lahvičky jsou skladovány v chladničce při teplotě 4 – 8°C.

3. Charakteristika materiálu

Simulované klinické vzorky obsahující:

1. *Salmonella* Typhimurium
2. *Streptococcus agalactiae*

4. Způsob hodnocení

Kvalitativní; dosažení bodového limitu (2 body za 1 antibiotikum) za stanovení citlivosti.

5. Vyhodnocení

Celkem byly vzorky rozeslány 10 laboratořím, všechny laboratoře odeslaly výsledek do závěrečného termínu. Za vyšetření citlivosti mohly laboratoře obdržet celkem 8 bodů.

KMEN 1: *Salmonella* Typhimurium

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 1 k ampicilinu a k fluorochinolonům. V tabulce 1 jsou uvedeny breakpointy inhibičních zón a MIC ampicilinu pro salmonely, které uvádí EUCAST [1] pro izoláty od lidí, a CLSI-VET8 (CLSI-V) [2] pro veterinární účely. U fluorochinolonů jsou uvedeny hodnoty pro screening rezistentních kmenů k fluorochinolonům pomocí disku s pefloxacinem a pro informaci hodnoty naměřené u ciprofloxacinu podle EUCAST (průměr inhibiční zóny a MIC). Tabulka dále obsahuje hodnoty u kmene 1 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* Typhimurium.

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=10)			NRL/ATB
			C	R		C	R		C	I	R	
ampicilin	EUCAST[1]	10	≥ 14	< 14	6 - 6	≤ 8	> 8	> 32 - > 32	0	0	10	R
	CLSI-V [2]		-	-		≤ 0,25	≥ 1					
pefloxacin	EUCAST[1]	5	≥ 24	≤ 24	24 - 24	NT			10	0	0	C ⁴
ciprofloxacín	EUCAST[1]	5	≥ 25	< 22	33 - 34	≤ 0,25	> 0,5	≤ 0,032 - ≤ 0,032				
	CLSI-V [2]		-	-		-	-					

¹) rozdíl hodnot mezi breakpointy je kategorie I; ²) 5 měření diskovou difúzní metodou EUCAST; ³) 5 měření diluční mikrometodou EUCAST; ⁴) kategorie citlivosti ke skupině fluorochinolonů; - neuvedeno; kategorie C: citlivý při standardním dávkování; 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); správné výsledky laboratoří jsou barevně zvýrazněny.

KMEN 2: *Streptococcus agalactiae*

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 2 k penicilinu a k erytromycinu. V tabulce 2 jsou uvedeny breakpointy inhibičních zón a MIC vyšetřovaných antibiotik pro beta-hemolytické streptokoky, které uvádí EUCAST [1] pro izoláty od lidí, a CLSI-VET8 (CLSI-V) [2] pro veterinární účely. CLSI-V u erytromycinu uvádí breakpointy jen pro humánní účely [2]. Tabulka dále obsahuje hodnoty u kmene 2 naměřené v NRL pro antibiotika, výsledky kategorizace citlivosti podle zúčastněných laboratoří a podle NRL pro antibiotika SZU Praha.

Tabulka 2. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 2 *Streptococcus agalactiae*.

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=10)			NRL/ATB
			C	R		C	R		C	I	R	
penicilin	EUCAST[1]	1 J	≥ 18	< 18	15 - 15	≤ 0,25	> 0,25	0,125 - 0,125	9	1	0	C
	CLSI-V [2]		-	-		≤ 0,5	≥ 2					
erytromycin	EUCAST[1]	15	≥ 21	< 18	18 - 19	≤ 0,25	> 0,5	0,06 - 0,06	10	0	0	C
	CLSI-V [2] ⁴		≥ 21	≤ 15		≤ 0,25	≥ 1					

¹) rozdíl hodnot mezi breakpointy je kategorie I; ²) 5 měření diskovou difúzní metodou EUCAST; ³) 5 měření diluční mikrometodou EUCAST; ⁴) CLSI-V u erytromycinu uvádí jen humánní breakpointy; - neuvedeno; kategorie C: citlivý při standardním dávkování; 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); správné výsledky laboratoří jsou barevně zvýrazněny.

6. Závěr

V EHK 1205-V dosáhly zúčastněné laboratoře velmi dobré výsledky u obou vyšetřovaných kmenů. U kmene 2 *S. agalactiae* se vyšetření MIC jeví jako spolehlivější, protože výsledky diskové difúzní metody u erytromycinu získané v NRL byly podle EUCAST i CLSI-VET v kategorii I (citlivý při zvýšené expozici, resp. intermediární podle CLSI-VET), hodnoty MIC obou antibiotik však řadily kmen 2 jednoznačně do citlivé kategorie. Průměr kolem disku penicilinu CLSI-VET vůbec neuvádí.

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 11.0, valid from 2021-01-01 [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.

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY