



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/5-3/2021 (EHK 1216)**

**Bakteriologická diagnostika-  
-veterináři**

**Praha, listopad 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/5-3/2021 byl zaměřen na bakteriologickou diagnostiku. Návrh a realizace PT#M/5-3/2021 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, Ph.D., RNDr. Pavla Urbášková, CSc.

### Zprávu autorizoval:

Mgr. Renáta Šafránková, Ph.D.

Tel.: 267 082 124

Dne: 5. 11. 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/5-3**

Identifikace série:	EHK 1216
Název:	Bakteriologická diagnostika
Koordinátor:	Mgr. Renáta Šafránková, Ph.D.
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-1216/1-2/2021
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:	29. 9. 2021 (veterinární lab.)
Způsob distribuce:	Přepravní službou (zajišťuje Koordinační pracoviště ESPT 2)
Předání výsledků:	V elektronické podobě za použití aplikace EHK10 do 13. 10. 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 5. 1. 2022

## 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 lahvíček 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. *Staphylococcus aureus*
2. *Escherichia coli*

## 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: *Staphylococcus aureus***

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 1 k tetracyklinu a ke kotrimoxazolu. V tabulce 1 jsou uvedeny breakpointy inhibičních zón a MIC tetracyklinu pro *S. aureus*, které uvádí EUCAST [1] a CLSI-VET8 [2]. Tabulka dále obsahuje hodnoty u kmene 1 naměřené v NRL pro antibiotika, výsledky kategorizace citlivosti zúčastněných laboratoří a výsledky NRL pro antibiotika SZÚ Praha v interpretaci EUCAST [1].

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

Antibiotikum	Zdroj	Obsah disku µg	Průměry IZ mm			MIC mg/l			Výsledky kategorizace citlivosti			
			breakpointy <sup>1</sup>		rozmezí hodnot v NRL <sup>2</sup>	breakpointy <sup>1</sup>		rozmezí hodnot v NRL <sup>3</sup>	laboratoří (n=10)			NRL/ATB <sup>6</sup>
			C	R		C	R		C	I	R	
tetracyklin	EUCAST[1]	30	≥ 22	< 19	6 - 6	≤ 1	> 2	64 - 64	0	0	10	R
	CLSI-V [2] <sup>4</sup>		≥ 23	≤ 17		≤ 0,25	≥ 1					
kotrimoxazol	EUCAST[1]	25	≥ 17	< 14	30 - 31	≤ 2 <sup>5</sup>	> 4 <sup>5</sup>	≤ 0,125 - ≤ 0,125	10	0	0	C
	CLSI-V [2] <sup>4</sup>		≥ 16	≤ 10			≥ 4 <sup>5</sup>					

<sup>1)</sup> rozdíl hodnot mezi breakpointy C a R je kategorie I; <sup>2)</sup> 5 měření diskovou difuzní metodou EUCAST; <sup>3)</sup> 5 měření diluční mikrometodou EUCAST; <sup>4)</sup> kategorie C: citlivý při standardním dávkování; 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; <sup>5)</sup> výsledky MIC vztaženy na obsah trimetoprimu v kombinaci; <sup>6)</sup> interpretace podle EUCAST.

### KMEN 2: *Escherichia coli*

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 2 k ciprofloxacinu a ke kotrimoxazolu. V tabulce 2 jsou uvedeny breakpointy inhibičních zón a MIC vyšetřovaných antibiotik pro *Enterobacterales*, které uvádí EUCAST [1] a CLSI-VET8 [2]. Tabulka dále obsahuje hodnoty u kmene 2 naměřené v NRL pro antibiotika, výsledky kategorizace citlivosti zúčastněných laboratoří a výsledky NRL pro antibiotika SZÚ Praha v interpretaci EUCAST [1].

**Tabulka 2. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 2 *Escherichia coli*.**

Antibiotikum	Zdroj	Obsah disku µg	Průměry IZ mm			MIC mg/l			Výsledky kategorizace citlivosti			
			breakpointy <sup>1</sup>		rozmezí hodnot v NRL <sup>2</sup>	breakpointy <sup>1</sup>		rozmezí hodnot v NRL <sup>3</sup>	laboratoří (n=10)			NRL/ATB <sup>6</sup>
			C	R		C	R		C	I	R	
ciprofloxacin	EUCAST[1]	5	≥ 25	< 22	34 - 35	≤ 0,25	> 0,5	≤ 0,03 - ≤ 0,03	10	0	0	C
	CLSI-V [2] <sup>4</sup>		ND			ND						
kotrimoxazol	EUCAST[1]	25	≥ 14	< 11	25 - 26	≤ 2 <sup>5</sup>	> 4 <sup>5</sup>	≤ 0,06 - ≤ 0,06	10	0	0	C
	CLSI-V [2] <sup>4</sup>		≥ 16	≤ 10			≥ 4 <sup>5</sup>					

<sup>1)</sup> rozdíl hodnot mezi breakpointy C a R je kategorie I; <sup>2)</sup> 5 měření diskovou difuzní metodou EUCAST; <sup>3)</sup> 5 měření diluční mikrometodou EUCAST; <sup>4)</sup> kategorie C: citlivý při standardním dávkování; 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; <sup>5)</sup> výsledky MIC vztaženy na obsah trimetoprimu v kombinaci; <sup>6)</sup> interpretace podle EUCAST; ND: neudáno.

## 6. Závěr

V EHK 1216-V dosáhly všechny zúčastněné správné výsledky u obou vyšetřovaných kmenů.

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/](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