



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/5-4/2022 (EHK 1301)

**Bakteriologická diagnostika-
-veterináři**

Praha, leden 2023

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	5-6
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/5-4/2022 byl zaměřen na bakteriologickou diagnostiku. Návrh a realizace PT#M/5-4/2022 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 ve webové aplikaci SZÚ v odkazu: <https://ehk.szu.cz/EHK10/> po přihlášení kódem laboratoře a heslem.

Zprávu vypracoval:

RNDr. Renáta Šafránková, Ph.D., RNDr. Pavla Urbášková, CSc.

Zprávu autorizoval:

RNDr. Renáta Šafránková, Ph.D.

Tel.: 267 082 124

Dne: 02.01.2023

Pracoviště 2 ESPT

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

ehk@szu.cz

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

Identifikace série:	EHK 1301
Název:	Bakteriologická diagnostika
Koordinátor:	RNDr. 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-1301/1-2/2022
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:	22. 11. 2022
Způsob distribuce:	Přepravní službou (zajišťuje Koordinační pracoviště ESPT 2)
Předání výsledků:	elektronicky do 6. 12. 2022
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 28. 2. 2023

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 komezálních 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. *Pasteurella multocida*
2. *Klebsiella pneumoniae*

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 6 bodů.

KMEN 1: *Pasteurella multocida*

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 1 k tetracyklinu a ke kotrimoxazolu. S výjimkou jedné laboratoře ostatní laboratoře správně označily kmen 1 jako citlivý ke kotrimoxazolu. Vyšetření citlivosti k tetracyklinu se pro nejednoznačné výsledky nehodnotí. V tabulce 1 jsou uvedeny breakpointy inhibičních zón a MIC k tetracyklinu a kotrimoxazolu pro *Pasteurella multocida*, které uvádí EUCAST [1]. Tabulka obsahuje hodnoty průměrů zón a MIC u kmene 1 naměřené v NRL pro antibiotika, a dále výsledky kategorizace citlivosti zúčastněných laboratoří a NRL pro antibiotika SZÚ Praha.

Tabulka 1. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 1 *Pasteurella multocida*

Antibiotikum	Obsah disku µg	Průměry IZ mm			MIC mg/l			Výsledky kategorizace citlivosti ⁴			
		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	
tetracyklin ⁵	30	24	24	21 - 25	ND	ND	0,25 - 0,25	NH			NH
kotrimoxazol ⁶	25	23	23	27 - 29	0,25	0,25	≤ 0,06 - ≤ 0,06	9	0	1	C

1) rozdíl hodnot mezi breakpointy C a R je kategorie I; 2) 5 měření diskovou difuzní metodou EUCAST; 3) 5 měření diluční mikrometodou EUCAST; 4) kategorie C: citlivý při standardním dávkování; I: citlivý při zvýšené expozici antibiotiku; R: rezistentní; 5) kategorie citlivosti je u *P. multocida* založena na screeningu s diskem tetracyklinu; 6) vztaženo na obsah trimetoprimu; ND: neudáno; NH: nehodnoceno; správné výsledky laboratoří jsou barevně zvýrazněny.

KMEN 2: *Klebsiella pneumoniae*

Požadavek byl vyšetřit citlivost kmene 2 ke kotrimoxazolu a gentamicinu. Kmen 2 byl k oběma antibiotikům citlivý. Všechny zúčastněné laboratoře získaly správné výsledky u obou antibiotik. V tabulce 2 jsou uvedeny breakpointy inhibičních zón a MIC vyšetřovaných antibiotik pro *Enterobacterales*, které uvádí EUCAST [1]. Tabulka obsahuje hodnoty průměrů zón a MIC u kmene 2 naměřené v NRL pro antibiotika, a dále výsledky kategorizace citlivosti zúčastněných laboratoří a NRL pro antibiotika SZÚ Praha.

Tabulka 2. Výsledky vyšetření citlivosti kmene 2 *Klebsiella pneumoniae*.

Antibiotikum	Obsah disku µg	Průměry IZ mm			MIC mg/l			Výsledky kategorizace citlivosti ⁴			
		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	
kotrimoxazol ⁵	25	14	11	21 - 21	2	4	0,25 - 0,25	10	0	0	C
gentamicin	10	17	17	18 - 19	2	2	0,5 - 0,5	10	0	0	C

1) rozdíl hodnot mezi breakpointy C a R je kategorie I; 2) 5 měření diskovou difuzní metodou EUCAST; 3) 5 měření diluční mikrometodou EUCAST; 4) kategorie C: citlivý při standardním dávkování; I: citlivý při zvýšené expozici antibiotiku; R: rezistentní; 5) vztaženo na obsah trimetoprimu; správné výsledky laboratoří jsou barevně zvýrazněny.

6. Závěr

V sérii EHK 1301 dosáhly zúčastněné laboratoře velmi dobré výsledky. Tetracyklin u *Pasteurella multocida* nebyl hodnocen. Screeningový test s diskem 30 µg tetracyklinu totiž neposkytl jednoznačný výsledek, neboť u čtyř z 5 měření zaznamenala NRL pro antibiotika inhibiční zóny v rozmezí 21 - 23 mm, čili o menším průměru než je limit pro citlivé kmeny. V NRL pro antibiotika byla sice opakovaně naměřena nízká hodnota MIC tetracyklinu 0,25 mg/l, EUCAST [1] však neuvádí limity pro citlivost a rezistenci podle MIC, pravděpodobně rovněž pro nejednoznačnost výsledků.

Literatura

- [1] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0, valid from 2022-01-01 [on-line]. Dostupný z WWW: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/, český překlad Klinické breakpointy - breakpointy a návody/Klinické breakpointy-bakterie (v 12), <http://www.szu.cz/klinicke-breakpointy>

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamace použijte webovou aplikaci SZÚ: <https://ehk.szu.cz/EHK10/>

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY