



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/16/2024 (EHK 1395)

Fenotypové stanovení citlivosti u MTB

Praha, srpen 2024

Obsah

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

Program zkoušení způsobilosti PT#M/16/2024 je na určení citlivosti (C) či rezistence (R) kmenů *M.tuberculosis* k základním antituberkulotikům (izoniazid, rifampicin, etambutol, streptomycin, pyrazinamid).

Návrh a realizace PT#M/16/2024 byly prováděny podle standardního operačního postupu koordinátora programu EHK (Ing. Věra Dvořáková, Ph.D., NRL pro mykobakterie) 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: <http://ehk.szu.cz/EHK10/> po přihlášení kódem laboratoře a heslem.

Zprávu vypracoval:

Ing. Michaela Hromádková a Ing. Věra Dvořáková, Ph.D. (NRL pro mykobakterie, SZÚ Praha)

Zprávu autorizoval:

Ing. Dvořáková
Tel: 267 082 307

Dne: 8. 8. 2024

Pracoviště 2 ESPT

<https://szu.cz/sluzby/zkouseni-zpusobilosti/zkouseni-zpusobilosti-pro-lekarskou-mikrobiologii/>
e-mail: ehk@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT#M/16/2024

Identifikace cyklu:	EHK 1395
Název PT:	Fenotypové stanovení citlivosti u MTB
Koordinátor:	Ing. Věra Dvořáková, Ph.D.
Podstata a účel PT:	Stanovení citlivosti či rezistence na základní antituberkulotika – INH, STM, PZA, EMB, RIF.
Kritéria pro účast na PT:	Rutině prováděné vyšetřování vzorků biologického materiálu, zajištění správné laboratorní praxe.
Charakteristika materiálu:	A – <i>M. tuberculosis</i> (evid.č. 576/22) B - <i>M. tuberculosis</i> (evid.č. 577/22) C - <i>M. tuberculosis</i> (evid.č. 578/22) D - <i>M. tuberculosis</i> (evid.č. 579/22) E - <i>M. tuberculosis</i> (evid.č. 580/22)
Hodnocené ukazatele:	Správné určení citlivosti nebo rezistence na zadaná antituberkulotika
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Počet účastníků:	11
Termín distribuce vzorků:	3. 4. 2024
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	12. 6. 2024
Označení vzorkovnic:	EHK 1395, PT#M/16, č. 1 – 5, 3. 4. 2024
Zabezpečení jakosti vzorku včetně testu homogenity a stability:	Kontrola čistoty kultury metodou GenoType před a po distribuci vzorků do přihlášených laboratoří, kontrola sterility agaru OXOID, testování kontrolních vzorků akreditovanými metodami dle schválených SOP koordinátora EHK (souběžně s testováním, které provádí přihlášené laboratoře)
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe.
Způsob vyhodnocení výsledků:	Vzorky se hodnotí kvalitativně. Při hodnocení se vychází z výsledků testování v NRL/M dle SOP-NRL/M-16. Při hodnocení jednotlivých laboratoří se porovnává výsledek dané laboratoře s výsledkem dosaženým při testování vzorků zařazených do EHK v NRL (tyto výsledky jsou vztažné hodnoty), které se v NRL provádí (časově) souběžně s probíhajícím EHK v jednotlivých laboratořích. Účastník s hrubou chybou bude vyřazen ze statistického hodnocení, bude hodnocen jako „neuspěl“.
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Vztažnou hodnotou je výsledek dosažený při testování vzorků zařazených do EHK v NRL/M, které se provádí (časově) souběžně s probíhajícím EHK v jednotlivých laboratořích.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Směrodatná odchylka se vypočítá jako druhá odmocnina rozptylu hodnot bodového hodnocení jednotlivých laboratoří od aritmetického průměru dosažených bodů všech laboratoří.
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	22. 06. 2024
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 4. 9. 2024

2. Způsob přípravy vzorků

2.1 Postup přípravy výchozího materiálu

V přípravně půd bylo dne 18. 1. 2024 připraveno 200 Löwenstein-Jensenových půd. Pro sérii EHK 1395 bylo vybráno 6 kmenů *M. tuberculosis* (evid.č.:576/22, 577/22, 578/22, 579/22, 580/22, 595/23) se známou citlivostí na antituberkulotika.

2.2 Zabezpečení kvality výchozího materiálu, homogenita a stability

- Kontrola čistoty kultury *M. tuberculosis* molekulárními metodami založenými na hybridizaci (GenoType) před distribucí vzorků a po distribuci vzorků do přihlášených laboratoří
- Kontrola sterility Löwenstein-Jensenových půd
- Testování kontrolních vzorků akreditovanými metodami dle schválených SOP koordinátora EHK (Ing. Věra Dvořáková, Ph.D., NRL pro mykobakterie) před distribucí vzorků do přihlášených laboratoří a po distribuci vzorků do přihlášených laboratoří (časově souběžně s testováním, které provádí přihlášené laboratoře)

2.3 Rozplnění výchozího materiálu

Dne 19. 1. 2024 byl každý kmen rozočkován na 19 L-J půd (pro 11 přihlášených laboratoří + 5 sad rezervních vzorků + 3 sady vzorků pro testování v NRLM) a zároveň byla u všech ověřena čistota kultury metodou GenoType. Naočkované půdy byly uloženy na 4 týdny do termostatu při teplotě 37°C. U naočkovaných půd byla po 4 týdnech provedena kontrola růstu a bylo vybráno 5 kmenů pro odeslání. Dne 2. 4. 2024 byly zkumavky předány pracovním AP k rozdělení a distribuci do jednotlivých laboratoří. Jedna sada vzorků byla současně testována v NRL/M pro zabezpečení kvality vzorku.

3. Charakteristika materiálu

EHK 1395

Vzorek			INH	STM	PZA	EMB	RIF
A	<i>M.tuberculosis</i> (576/22)	10 ⁻²	R	R	R	R	R
B	<i>M.tuberculosis</i> (577/22)	10 ⁻²	C	C	C	C	C
C	<i>M.tuberculosis</i> (578/22)	10 ⁻²	C	C	C	C	C
D	<i>M.tuberculosis</i> (579/22)	10 ⁻²	R	R	C	C	C
E	<i>M.tuberculosis</i> (580/22)	10 ⁻²	C	C	C	C	C

4. Způsob hodnocení

Vzorky se hodnotí kvalitativně. Hodnocení vychází z výsledků testování v NRL/M. Při hodnocení jednotlivých laboratoří se porovnává výsledek dané laboratoře s výsledkem dosaženým při testování vzorků zařazených do EHK v NRL/M, který je vztažnou hodnotou. Testování se v NRL/M provádí (časově) souběžně s probíhajícím EHK v jednotlivých laboratořích.

Přehled bodového hodnocení výsledků:

Maximální možný bodový zisk činil 50 bodů

- Správné určení citlivosti či rezistence u 1 antituberkulotika (u 1 kmene) = 2 body (Tzn. 2 body za každé správné určení)
- Falešná rezistence u 1 antituberkulotika (u 1 kmene) = 0 bodů
- Falešná citlivost u 1 antituberkulotika (u 1 kmene) = 0 bodů

5. Vyhodnocení

Celkem se účastnilo 11 laboratoří.

3 laboratoře získaly 50 bodů.

4 Laboratoře získaly 48 bodů. (1 chyba)

4 Laboratoře získalo 46 bodů.(2 chyby)

Aritmetický průměr dosažených bodů se rovnal 47,8.

Limit (aritmetický průměr minus 2 směrodatné odchytky) činil 44,4 bodů.

Limit splnilo 11 (100 %) laboratoří.

6. Závěr

EHK 1395 – Fenotypové stanovení citlivosti na MTB se zúčastnilo 11 laboratoří, výsledky dodaly všechny laboratoře.

Uspělo všech 11 laboratoří.

Zúčastněné laboratoře využívají k detekci přítomnosti *M. tuberculosis* automatizované detekční systémy, u většiny laboratoří (> 80%) se jedná o některou variantu systému BACTEC MGIT. Některé laboratoře uvedly paralelní testování v systému Bactec MGIT i proporční metodou na Löwenstein-Jensenově vaječné půdě (L-J) nebo na Middlebrook 7H11.

Největší chybovost byla u vzorku pro stanovení citlivosti k PZA. Správné určení citlivosti měly pouze 4 laboratoře tj. pouze 36,4 %, ostatní laboratoře měly výsledek falešně rezistentní. Falešně rezistentní výsledek pro stanovení citlivosti na PZA uvedly některé laboratoře i u vzorku E a B, tedy většina chyb v této sérii byla právě chybné stanovení citlivosti k PZA. Pravděpodobnou příčinou je vadná šarže od BD s PZA šarže:REF:245128. Laboratořím, u nichž mohlo dojít k chybě vlivem vadné šarže, doporučujeme přesnější nastavení interních kontrol (u vadné šarže mohlo dojít k odklonu u některých kmenů *M. tuberculosis* směrem k rezistenci, toto chybné stanovení se mohlo týkat zejména kmenů s MIC okolo CC). Dále byla chyba u stanovení citlivosti pro PZA u vzorku A, kde byl výsledek falešně citlivý, chybu u tohoto stanovení uvedla pouze jedna laboratoř. Tatáž laboratoř uvedla i falešně rezistentní výsledek u stanovení citlivosti pro streptomycin. V této sérii plný počet bodů tj. 50 získaly pouze tři laboratoře.

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamace použijte také webovou aplikaci SZÚ.

Konec závěrečné zprávy

Příloha 1 – tabulky

Tabulka 1. Výsledky EHK podle počtu dosažených bodů.

Body*	50	48	46
Počet laboratoří	3	4	4
(% laboratoří)	27,27	36,36	36,36

* limit (hranice úspěšnosti) = 44,4 bodů

Tabulka 2. Souhrnné výsledky určení lékové citlivosti – očekávané výsledky pro jednotlivá antibiotika a jednotlivé vzorky, počet laboratoří se správným výsledkem a jejich podíl z celkového počtu přihlášených laboratoří.

Vzorek	INH	STM	PZA	EMB	RIF
A	R 11(100%)	R 11(100%)	R 10(91%)	R 11(100%)	R 11(100%)
B	C 11(100%)	C 11(100%)	C 9(81,8%)	C 11(100%)	C 11(100%)
C	C 11(100%)	C 10(91%)	C 11(100%)	C 11(100%)	C 11(100%)
D	R 11(100%)	R 11(100%)	C 4(36,4%)	C 11(100%)	C 11(100%)
E	C 11(100%)	C 11(100%)	C 10(91%)	C 11(100%)	C 11(100%)

Tabulka 3. Charakter chyb stanovení lékové citlivosti. Počet chybných stanovení udává počet laboratoří, u kterých se chyba daného typu u konkrétního vzorku a antibiotika vyskytla

Vzorek	INH	STM	PZA	EMB	RIF
A	X	X	Falešná citlivost: 1	X	X
B	X	X	Falešná rezistence: 2	X	X
C	X	Falešná rezistence: 1	X	X	X
D	X	X	Falešná rezistence: 7	X	X
E	X	X	Falešná rezistence: 1	X	X

Tabulka 4. Přehled výsledků stanovení lékové citlivosti v jednotlivých laboratořích pro všechny vzorky a všechna antibiotika. Červeně jsou vyznačena chybná stanovení.

Poř.č.	Lab.č.	H	S	Z	E	R	H	S	Z	E	R	H	S	Z	E	R	H	S	Z	E	R	H	S	Z	E	R	Body
1	9	R	R	R	R	R	C	C	R	C	C	C	C	C	C	C	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	46
2	28	R	R	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	48
3	32	R	R	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	R	R	R	C	C	C	C	R	C	C	46
4	51	R	R	R	R	R	C	C	R	C	C	C	C	C	C	C	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	46
5	61	R	R	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	48
6	215	R	R	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	50
7	317	R	R	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	48
8	324	R	R	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	50
9	369	R	R	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	48
10	456	R	R	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	50
11	760	R	R	C	R	R	C	C	C	C	C	C	R	C	C	C	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	46
		A					B					C					D					E					

Vysvětlivky: H= izoniazid, S = streptomycin, Z = pyrazinamid, E = etambutol, R=rifampicin
C=citlivost, R=rezistence

Tabulka 5. Přehled metod použitých pro stanovení lékové citlivosti

Poř.č.	Lab.č.	metoda	Počet chyb a jejich charakter				
			INH	STM	PZA	EMB	RIF
1	9	MGIT	0	0	2 falešné rezistence	0	0
2	28	Middle brook 7H11, MGIT-PZA	0	0	1 falešná rezistence	0	0
3	32	MGIT	0	0	2 falešné rezistence	0	0
4	51	MGIT	0	0	2 falešné rezistence	0	0
5	61	MGIT	0	0	1 falešná rezistence	0	0
6	215	Löwenstein-Jensen	0	0	0	0	0
7	317	MGIT	0	0	1 falešná rezistence	0	0
8	324	Löwenstein-Jensen	0	0	0	0	0
9	369	MGIT	0	0	1 falešná rezistence	0	0
10	456	MGIT	0	0	0	0	0
11	760	Löwenstein-Jensen	0	1 falešná rezistence	1 falešná citlivost	0	0