



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/16/2020 (č. 1126)

**MYKOBAKTERIE – stanovení citlivosti na
antituberkulotika**

Praha, červenec 2020

Obsah

| | |
|---|---|
| 1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing) | 3 |
| 2. Příprava vzorku | 4 |
| 3. Hodnocení | 4 |
| 4. Souhrny výsledků | 5 |
| 5. Komentář | 6 |
| 6. Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře | |

Program zkoušení způsobilosti PT#M/16/2020 byl zaměřen na určení citlivosti/rezistence *M. tuberculosis* k základním antituberkulotikům (izoniazid, rifampicin, etambutol, streptomycin, pyrazinamid).

Návrh a realizace PT#M/16/2020 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/16 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.

Koordinátor:

Ing. Věra Dvořáková, Ph.D.
Tel: 267 082 307

Zprávu vypracoval:

Ing. Věra Dvořáková, Ph.D. (NRL/M SZÚ Praha)

Zprávu schválil: MUDr. Barbora Macková

Dne: 30. 7. 2020

Pracoviště 2 ESPT

www.szu.cz/espt

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/16/2020

| | |
|--|---|
| Identifikace kola/cyklu: | EHK 1126 |
| Název: | MYKOBAKTERIE – stanovení citlivosti na antituberkulotika |
| Poskytovatel: | SZÚ, ESPT Šrobárova 49/48, Praha 10, 100 00 tel.: + 420 267082258 |
| Vedoucí ESPT | Ing. Věra Vrbíková |
| Koordinátor: | Ing. Věra Dvořáková, Ph.D. |
| Charakteristika materiálu: | Mykobakteriální kultura na Löwenstein-Jensenově (L – J) půdě |
| Podstata a účel PT/EHK: | Stanovení citlivosti či rezistence na základní antituberkulotika – INH, STM, PZA, EMB, RIF. |
| Kritéria pro účast na PT/EHK: | Rutinně prováděné testy citlivosti |
| Způsob přípravy: | Vybrané kmeny byly rozočkovány na L-J půdy, uloženy na 4 týdny do termostatu při teplotě 37°C. Po 4 týdnech došlo ke kontrole růstu, dekontaminaci zkumavek a zabezpečení víček parafilmovou fólií. |
| Množství připravovaného test. materiálu: | 5 vzorků (mykobakteriálních kultur) pro každou z 16 laboratoří |
| Označení vzorků: | PT # M/16, Č. 1 – 5, EHK 1126 31. 3. 2020 |
| Zabezpečení jakosti vzorku: | 1. Kontrola sterility L – J půd 2. Testování kontrolních vzorků akreditovanými metodami dle schválených SOP po distribuci do přihlášených laboratoří |
| Návaznost metody: | Klinický materiál |
| Testy homogenity a stability: | Při přípravě vzorků, před rozesláním vzorků a v termínu doručení vzorků laboratořím |
| Podmínky distribuce a uchování vzorků: | přeprava a krátkodobé uchování při 4 – 12 ° C chránit před světlem |
| Možné zdroje chyb: | Nedodržení správné laboratorní praxe |
| Počet účastníků: | 16 laboratoří |
| Termín distribuce: | 31. 3. 2020 |
| Způsob distribuce: | Zasílání kurýrní službou účastnickým laboratořím – zajišťuje AP CEM Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům |
| Předání výsledků: | písemně do stanoveného termínu na předepsaných formulářích |
| Určení přijaté vztahné hodnoty: | Výsledky získané v NRL/M |
| Způsob vyhodnocení výsledků: | Kvalitativně. Za vyhovující je považováno bodové ohodnocení překračující hodnotu limitu (aritmetický průměr minus 2 směrodatné odchylky) vypočteného z bodového hodnocení jednotlivých účastníků |
| Určení maximální směrodatné odchylky: | aritmetický průměr minus 2 směrodatné odchylky |
| Termín zveřejnění závěrečné zprávy | Do 12 týdnů po uzavěrce příjmu výsledkových formulářů ze všech zúčastněných laboratoří |

2. Příprava vzorků

V přípravně půd bylo 2. 3. 2020 připraveno 200 kusů Löwenstein-Jensenových půd. Bylo vybráno 8 kmenů *M. tuberculosis* (evid. č.: 425 č.3/19, 425 č.4/19, 425 č.5/19, 413/19, 618/18, 19/19, 712/18, 738/18) se známou citlivostí na antituberkulotika. Dne 2. 3. 2020 byly kmeny rozočkovány na 8 x 16 L-J půd (16 přihlášených laboratoří + 8 rezervních).

Naočkované půdy byly uloženy na 4 týdny do termostatu při teplotě 37°C. Po 4 týdnech došlo ke kontrole růstu a výběru 5 kmenů. 31. 3. 2020 byly zkumavky předány pracovním AP k rozdělení a distribuci do jednotlivých laboratoří. Jeden vzorek byl edukativní a nehodnotil se (425 č.4/19).

3. Hodnocení

Vzorky se hodnotí kvalitativně. Při hodnocení se vychází z výsledků testování v NRL/M.

Přehled bodového hodnocení výsledků (maximální možný bodový zisk činil 8 bodů)

| | |
|---------------|---|
| 2 body | Bezchybné určení citlivosti na 5 AT u 1 kmene (bez „Z“ u vzorků A, B, C, D a E) |
| 1 bod | Stanovení citlivosti s 1 chybou u 1 kmene = z 5 AT citlivost na 1 AT určena chybně |
| 0 bodů | Stanovení citlivosti se 2 chybami u 1 kmene = z 5 AT citlivost na 2 AT určena chybně |
| -1 bod | Stanovení citlivosti s více než 2 chybami u 1 kmene = z 5 AT citlivost na 3 a více z nich určena chybně |

Výsledky vyšetření:

9 laboratoří stanovilo citlivost bezchybně u všech vzorků
 4 laboratoře stanovily citlivost s 1 chybou u 1 kmene
 2 laboratoře stanovily citlivost s 1 chybou u 2 kmenů
 1 laboratoř stanovila citlivost s 3 chybami u 1 kmene

12 laboratoří stanovilo citlivost u edukativního vzorku bezchybně 4 s 1 chybou (u stanovení

INH)

Závěr

Aritmetický průměr byl 7,31

Limit (tj. průměr – 2 směrodatné odchyly) byl 5,48

Limit splnilo 15 laboratoří.

Všech 16 laboratoří odevzdalo výsledky v termínu. Z 16 zúčastněných laboratoří v rámci EHK-1126 Mykobakterie – citlivost na antituberkulotika uspělo 15 laboratoří, 1 laboratoř neuspěla.

Výsledky jednotlivých laboratoří jsou uvedeny v kapitole 4 (Souhrny výsledků).

4. Souhrny výsledků

Tabulka č. 1: Stanovení lékové citlivosti včetně edukativního vzorku.

| 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 | C | C | C | C | R | R | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | R | C | C | C | C | C | C | C | C | 8 |
| 2 | 28 | C | C | C | C | R | R | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | R | C | C | C | C | C | C | C | C | 8 |
| 3 | 32 | C | C | C | C | R | R | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | R | C | C | C | C | R | C | R | R | 5 |
| 4 | 51 | C | C | C | C | R | R | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | R | C | C | C | C | C | C | C | C | 8 |
| 5 | 61 | C | C | C | C | R | R | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | R | C | C | C | C | C | C | C | C | 8 |
| 6 | 71 | C | C | C | C | R | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | R | C | C | C | C | C | C | C | C | 8 |
| 7 | 208 | C | C | C | C | R | R | C | C | C | C | C | C | R | C | C | C | R | C | C | C | C | C | C | C | C | 7 |
| 8 | 215 | C | C | C | C | R | R | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | R | C | C | C | C | C | C | C | C | 8 |
| 9 | 317 | C | C | C | C | R | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | R | C | C | C | C | R | C | C | C | 7 |
| 10 | 324 | C | C | C | C | C | R | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | R | C | C | C | C | C | R | C | C | 6 |
| 11 | 345 | C | C | C | C | R | R | C | C | C | C | C | C | R | C | C | C | R | C | C | C | C | C | C | C | C | 7 |
| 12 | 369 | C | C | C | C | R | R | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | R | C | C | C | C | C | C | C | C | 8 |
| 13 | 388 | C | C | C | C | R | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | R | R | C | C | C | C | C | C | C | 7 |
| 14 | 456 | C | C | C | C | R | R | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | R | C | C | C | C | C | C | C | C | 8 |
| 15 | 760 | C | C | C | C | C | R | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | R | C | C | C | C | R | C | C | C | 6 |
| 16 | 792 | C | C | C | C | R | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | R | C | C | C | C | C | C | C | C | 8 |
| | | A | | | | | B | | | | | C | | | | | D | | | | | E | | | | | |
| | | | | | | | <u>EDUKATIVNÍ</u> <u>VZOREK</u> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Vysvětlivky: H = izoniazid, S = streptomycin, Z = pyrazinamid, E = etambutol, R = rifampicin
C = citlivost, R = rezistence, N = nehodnoceno (zdůvodnění písemně do AP-CEM)

Tabulka č. 2: Procentuální vyjádření shodných výsledků testů lékové citlivosti mezi 16 mykobakteriologickými laboratořemi ČR a NRLM.

| Vzorek | Laboratoř | H | S | Z | E | R |
|--|-----------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|
| A | 1-16 | R 100 % | R 100 % | R 100 % | R 100 % | R 87,5 % |
| B <u>EDUKATIVNÍ</u> <u>VZOREK</u> | 1-16 | C 75 % | C 100 % | C 100 % | C 100 % | C 100 % |
| C | 1-16 | C 100 % | C 100 % | C 87,5 % | C 100 % | C 100 % |
| D | 1-16 | C 100 % | C 100 % | C 93,75 % | C 100 % | C 100 % |
| E | 1-16 | C 81,25 % | R 93,75 % | C 93,75 % | C 93,75 % | C 100 % |

Tabulka č. 3: Přehled chybných stanovení lékové citlivosti - dělení podle jednotlivých antituberkulotik – **nezahrnuje edukativní vzorek.**

| Antituberkulotikum | Počet chyb | Charakter chyby |
|--------------------|------------|-----------------|
| Isoniazid (H) | 3 | 3 „falešně“ R |
| Streptomycin (S) | 1 | 1 „falešně“ R |
| Pyrazinamid (Z) | 4 | 4 „falešně“ R |
| Etambutol (E) | 1 | 1 „falešně“ R |
| Rifampicin (R) | 2 | 2 „falešně“ C |

Tabulka č. 4: Výsledky EHK podle počtu dosažených bodů – **nezahrnuje edukativní vzorek.**

| | LIMIT | | | |
|------------------|---------|------|--------|--------|
| | 8 | 7 | 6 | 5 |
| Body | | | | ↓ |
| Počet laboratoří | 9 | 4 | 2 | 1 |
| (% laboratoří) | 56,25 % | 25 % | 12,5 % | 6,25 % |

5. Komentář

V tomto kole EHK bylo možno dosáhnout maximálního ohodnocení 8 bodů.

Opravné kolo série proběhne v podzimním termínu. O opravné vzorky můžete zažádat **do 14 dnů** po doručení výsledků. V případě reklamací vyhodnocení série, prosím postupujte dle reklamačního řádu.

V tomto roce jsme Vám dali poprvé možnost stanovit si citlivost u edukativního vzorku. Podobný vzorek se pokusíme zařadit každý rok a nikdy ho nebudeme zahrnovat do hodnocení laboratoře. Tyto vzorky budou pouze informativního charakteru pro Vás i pro NRL/M.

NRL/M má rozsáhlou sbírku mykobakteriálních kmenů. Zejména v posledním roce testovala všechny kmeny min. na dva dodavatele médií. U všech kmenů a všech AT testuje i hranice před a za break pointem. Dále NRL/M navýšila počet interních kontrol. Z tohoto důvodu došlo k zachycení řady kmenů, jejichž citlivost je hraniční (pohybuje se okolo hranice break pointu). U některých kmenů byla zaznamenána závislost určení citlivosti AT bohužel i na dodavateli médií.

V tomto roce jsme vybrali vzorek, u něhož jste mohli zaznamenat rozdíly u stanovení citlivosti AT INH. Správné určení citlivosti u tohoto AT je REZISTENTNÍ. V naší laboratoři jsme tento vzorek podrobili rozsáhlému testování citlivosti na několika médiích. A to na tuhém médiu L-J od tří dodavatelů – výsledek stanovení byl závislý na dodavateli půd, dále v tekutém médiu Šulova půda, jehož MIC byla 0,4 mg/l (u koncentrace 0,2 mg/l – růst na dva kříže), a v tekutém médiu middlebrook 7H9 kde MIC byla 0,8 mg/l (u koncentrace 0,4 mg/l – růst na tři kříže). Výsledek stanovení NRL/M byl potvrzen v rámci mezinárodního porovnávání. Laboratořím, které neuspěly v určení citlivosti u tohoto AT, doporučujeme otestovat i jiného dodavatele médií.

Všem laboratořím děkujeme za spolupráci.

Pečlivého vyplnění všech požadovaných informací si vážíme a rovněž za ně děkujeme.