



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/16/2023 (EHK 1341)

Fenotypové stanovení citlivosti u MTB

Praha, srpen 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	5
6.	Závěr	5
	Příloha 1 – tabulky	
	Příloha 2 – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/16/2023 je zaměřen na určení citlivosti (C) či rezistence (R) kmenů *M. tuberculosis* k základním antituberkulotikům (izoniazid, rifampicin, etambutol, streptomycin, pyrazinamid).

Návrh a realizace PT#M/16/2023 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 Horníková, Ph.D. a Ing. Věra Dvořáková, Ph.D. (NRL pro mykobakterie, SZÚ Praha)

Zprávu autorizoval:

Ing. Dvořáková, Ph.D.
Tel: 267 082 424

Dne: 8. 8. 2023

Pracoviště 2 ESPT

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

e-mail: ehk@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/16/2023

Identifikace cyklu:	EHK 1341
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:	Rutinně prováděné vyšetřování vzorků biologického materiálu, zajištění správné laboratorní praxe.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3 závěrečné zprávy
Hodnocené ukazatele:	Správné určení citlivosti nebo rezistence na zadaná antituberkulotika
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Počet účastníků:	14
Termín distribuce vzorků:	4. 4. 2023
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	13. 6. 2023
Označení vzorkovnic:	EHK 1341, PT#M/16, č. 1 – 5, 4. 4. 2023
Zabezpečení jakosti vzorku včetně testu homogenity a stability:	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe.
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4 závěrečné zprávy
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:	26. 6. 2023
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 5. 9. 2023

2. Způsob přípravy vzorků

2.1 Postup přípravy výchozího materiálu

V přípravně půd bylo dne 9. 12. 2022 připraveno 200 Löwenstein-Jensenových půd. Pro sérii EHK 1341 bylo vybráno 7 kmenů *M. tuberculosis* (evid. č.: 631/22, 637/22, 651/22, 370/22, 379/22, 813/22 a 12/23) se známou citlivostí na antituberkulotika.

2.2 Zabezpečení kvality výchozího materiálu, homogenita a stabilita

- Kontrola čistoty kultury použitých mykobakteriálních species molekulárními metodami založenými na hybridizaci (GenoType).
- 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 6. 2. 2023 byl každý kmen rozočkován na 19 L-J půd (13 sad vzorků pro laboratoře přihlášené v řádném termínu + 3 rezervní sady + 3 sady pro testování v NRLM; jedna laboratoř se přihlásila později a byla jí zaslána jedna z rezervních sad) 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 3. 4. 2023 byly zkumavky předány pracovnícím AP k rozdělení a distribuci do jednotlivých laboratoří. Jedna sada vzorků byla současně testována v NRL/M pro zabezpečení kvality vzorku.

3. Charakteristika materiálu

Vzorek			INH (H)	STM (S)	PZA (Z)	EMB (E)	RIF (R)
A	<i>M. tuberculosis</i> (12/23)	10 ⁻²	R	R	C	C	R
B	<i>M. tuberculosis</i> (631/22)	10 ⁻²	R	R	C	R	C
C	<i>M. tuberculosis</i> (637/22)	10 ⁻²	C	C	C	C	C
D	<i>M. tuberculosis</i> (652/22)	10 ⁻²	C	R	C	C	C
E	<i>M. tuberculosis</i> (370/22)	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 antibiotika (u 1 kmene) = 2 body (tzn. 2 body za každé správné určení)
- Falešná rezistence u 1 antibiotika (u 1 kmene) = 0 bodů
- Falešná citlivost u 1 antibiotika (u 1 kmene) = 0 bodů

5. Vyhodnocení

8 laboratoří stanovilo citlivost bezchybně u všech vzorků a získalo 50 bodů

5 laboratoří stanovilo citlivost s 1 chybou u 1 kmene a získalo 48 bodů

1 laboratoře stanovila citlivost s 1 chybou u 2 kmenů, tj. celkově se 2 chybami a získala 46 bodů

Aritmetický průměr byl 49 bodů.

Limit (tj. průměr – 2 směrodatné odchytky) byl 46,4 bodu.

Limit splnilo 13 laboratoří, 1 laboratoř limit nespĺnila.

6. Závěr

EHK 1341 – Fenotypové stanovení citlivosti se zúčastnilo 14 laboratoří, výsledky dodaly všechny laboratoře. Uspělo 13 laboratoří, 1 laboratoř neuspěla.

Celkem 8 laboratoří ze 14 zúčastněných (57 %) provedlo správné stanovení u všech antibiotik u všech vzorků a uspělo tak na 100 %. Dále 5 laboratoří (36 %) stanovilo citlivost a rezistenci s 1 chybou (tj. chybným stanovením u 1 antibiotika u 1 vzorku). Pouze 1 laboratoř (7 %) stanovila citlivost se 2 chybami a nespĺnila tak bodový limit pro úspěšné složení zkoušky.

Dle uvedených dat více než polovina laboratoří (9 ze 14, tj. 64 %) použila letos k určení citlivosti automatický systém Bactec MGIT, přičemž jedna z laboratoří citlivost testovala paralelně v systému MGIT i proporční metodou na Löwenstein-Jensenově vaječné půdě (L-J). Další 2 laboratoře uvedly použití systému Bactec MGIT pro testování citlivosti k PZA, přičemž pro ostatní antibiotika tyto laboratoře využily tekutá média (Šulovu půdu, Middlebrook 7h9). Testování pouze proporční metodou na L-J půdě uvedly 4 laboratoře.

Oproti loňské sérii EHK 1266 došlo k výraznému zlepšení výsledků, kdy letos všechny laboratoře uspěly u dvou nejdůležitějších antibiotik první volby INH a RIF na 100 %. Nejproblematičtějším antibiotikem byl letos STM, u kterého dosáhlo 100% úspěšnosti pouze 10 laboratoří (71,4%), 4 laboratoře určily STM u vzorku D jako falešně citlivý. Další chyby se objevily u PZA a etambutolu.

Laboratoře, které neuspěly, si mohou objednat edukativní vzorky prostřednictvím webové aplikace SZÚ, a to do 30 dnů po obdržení svých výsledků. Výsledky edukativních vzorků nebudou mít vliv na opravu předchozího neúspěšného výsledku v rámci EHK a slouží pouze jako podklad pro vyřešení případné neshodné práce v laboratoři.

Edukativní vzorky laboratoř obdrží obvyklou cestou v co nejkratším termínu po objednání.

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamacie 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	8	5	1
(% laboratoří)	57	36	7

* limit (hranice úspěšnosti) = 46,4 bodu

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

Vzorek	INH (H)	STM (S)	PZA (Z)	EMB (E)	RIF (R)
A	R 14 (100 %)	R 14 (100 %)	C 13 (92,9 %)	C 14 (100 %)	R 14 (100 %)
B	R 14 (100 %)	R 14 (100 %)	C 14 (100 %)	R 13 (92,9 %)	C 14 (100 %)
C	C 14 (100 %)	C 14 (100 %)	C 14 (100 %)	C 14 (100 %)	C 14 (100 %)
D	C 14 (100 %)	R 10 (71,4 %)	C 13 (92,9 %)	C 14 (100 %)	C 14 (100 %)
E	C 14 (100 %)	C 14 (100 %)	C 14 (100 %)	C 14 (100 %)	C 14 (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 (H)	STM (S)	PZA (Z)	EMB (E)	RIF (R)
A	x	x	Falešná R: 1	x	x
B	x	x	x	Falešná C: 1	x
C	x	x	x	x	x
D	x	Falešná C: 4	Falešná R: 1	x	x
E	x	x	x	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	C	C	R	R	R	C	R	C	C	C	C	C	C	R	C	C	C	C	C	C	C	C	50	
2	28	R	R	R	C	R	R	R	C	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	46	
3	32	R	R	C	C	R	R	R	C	R	C	C	C	C	C	C	R	C	C	C	C	C	C	C	C	50	
4	51	R	R	C	C	R	R	R	C	R	C	C	C	C	C	C	R	C	C	C	C	C	C	C	C	50	
5	61	R	R	C	C	R	R	R	C	R	C	C	C	C	C	C	R	C	C	C	C	C	C	C	C	50	
6	71	R	R	C	C	R	R	R	C	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	48	
7	208	R	R	C	C	R	R	R	C	R	C	C	C	C	C	C	R	C	C	C	C	C	C	C	C	50	
8	215	R	R	C	C	R	R	R	C	R	C	C	C	C	C	C	R	C	C	C	C	C	C	C	C	50	
9	317	R	R	C	C	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	R	C	C	C	C	C	C	C	C	48	
10	324	R	R	C	C	R	R	R	C	R	C	C	C	C	C	C	R	C	C	C	C	C	C	C	C	50	
11	345	R	R	C	C	R	R	R	C	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	48	
12	369	R	R	C	C	R	R	R	C	R	C	C	C	C	C	C	R	C	C	C	C	C	C	C	C	50	
13	456	R	R	C	C	R	R	R	C	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	48	
14	760	R	R	C	C	R	R	R	C	R	C	C	C	C	C	C	R	R	C	C	C	C	C	C	C	48	
		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 (uvedených laboratořemi), počet chybných stanovení pro jednotlivá antibiotika v rámci jednotlivých laboratoří a charakter těchto chyb. Počet chyb udává počet chybných stanovení z celkového počtu 5 vzorků stanovovaných na daném antibiotiku.

Poř.č.	Lab.č.	metoda	Počet chyb a jejich charakter				
			INH	STM	PZA	EMB	RIF
1	9	MGIT	0	0	0	0	0
2	28	Šulova půda, MGIT - PZA	0	1 falešná C	1 falešná R	0	0
3	32	MGIT	0	0	0	0	0
4	51	MGIT	0	0	0	0	0
5	61	MGIT, Löwenstein-Jensen	0	0	0	0	0
6	71	Löwenstein-Jensen	0	1 falešná C	0	0	0
7	208	Löwenstein-Jensen	0	0	0	0	0
8	215	Löwenstein-Jensen	0	0	0	0	0
9	317	MGIT	0	0	0	1 falešná C	0
10	324	MGIT	0	0	0	0	0
11	345	Middlebrook 7h9, MGIT - PZA	0	1 falešná C	0	0	0
12	369	MGIT	0	0	0	0	0
13	456	MGIT	0	1 falešná C	0	0	0
14	760	Löwenstein-Jensen	0	0	1 falešná R	0	0