



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001 akreditovaný ČIA
podle ČSN EN ISO/IEC 17043: 2023
Šrobárova 49/48, 100 00, Praha 10



Závěrečná zpráva

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii
(Externí hodnocení kvality)

PT#M/16/2025 (EHK 1472)

Fenotypové stanovení citlivosti u MTB

Praha, srpen 2025

Obsah

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

Program zkoušení způsobilosti PT#M/16/2025 je na určení citlivosti (C) či rezistence (R) kmenů *M.tuberculosis* k základním antituberkulotikům (izoniazid, rifampicin, etambutol, streptomycin, pyrazinamid).

Návrh a realizace PT#M/16/2025 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. Dvořáková Věra (vedoucí NRL pro mykobakterie, SZÚ Praha) a Ing. Michaela Hromádková (NRL pro mykobakterie, SZÚ Praha)

Zprávu autorizoval:

Ing. Dvořáková Věra (vedoucí NRL pro mykobakterie, SZÚ Praha)
Tel: 267 082 307

Dne: 15. 8. 2025

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/16/2025

Identifikace cyklu:	EHK 1472
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:	A – <i>M. tuberculosis</i> (evid.č. 840/24) B – <i>M. tuberculosis</i> (evid.č. 851/24) C – <i>M. tuberculosis</i> (evid.č. 594/24) D – <i>M. tuberculosis</i> (evid.č. 634/24) E – <i>M. tuberculosis</i> (evid.č. 864/24)
Hodnocené ukazatele:	Správné určení citlivosti nebo rezistence na zadaná antituberkulotika
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Počet účastníků:	9
Termín distribuce vzorků:	1. 4. 2025
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	10. 6. 2025
Označení vzorkovnic:	EHK 1472, PT#M/16, č. 1 – 5, 1. 4. 2025
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. V případě nižšího počtu účastníků, než je limit pro statistické vyhodnocení, bude použit limit odpovídající 80 % bodového maxima.
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	11. 06. 2025
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 2. 9. 2025

2. Způsob přípravy vzorků

2.1 Postup přípravy výchozího materiálu

V přípravně půd bylo dne 16. 1. 2025 připraveno 200 Löwenstein-Jensenových půd. Pro sérii EHK 1472 bylo vybráno 6 kmenů *M. tuberculosis* (evid.č.: 840/24, 851/24, 594/24, 634/24, 864/24, 678/24) 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 20. 1. 2025 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 31. 3. 2025 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 1472

Vzorek			INH	STM	PZA	EMB	RIF
A	<i>M.tuberculosis</i> (840/24)	10⁻²	C	C	C	C	C
B	<i>M.tuberculosis</i> (851/24)	10⁻²	R	R	R	R/C	R
C	<i>M.tuberculosis</i> (594/24)	10⁻²	C	R	C	C	C
D	<i>M.tuberculosis</i> (634/24)	10⁻²	R	R	C	C	C
E	<i>M.tuberculosis</i> (864/24)	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 9 laboratoří.

Osm laboratoří získalo 50 bodů, jedna laboratoř získala 48 bodů.

Aritmetický průměr dosažených bodů se rovnal 49,8 bodů.

Vzhledem k počtu účastníků, který byl nižší, než je limit pro statistické vyhodnocení, byl použit limit odpovídající 80 % bodového maxima.

Limit (80 % bodového maxima) činil 40 bodů.

Limit splnilo 9 (100 %) laboratoří.

6. Závěr

EHK 1472 – Fenotypové stanovení citlivosti na MTB se zúčastnilo 9 laboratoří, přičemž všechny dodaly své výsledky.

Všechny zúčastněné laboratoře v tomto kole uspěly.

Laboratoře využívají k detekci fenotypové citlivosti *M. tuberculosis* primárně automatizované detekční systémy (BACTEC MGIT). Některé laboratoře však uvedly i paralelní testování pomocí proporční metody na Löwenstein-Jensenově vaječné půdě (L-J; 3 laboratoře).

Jedinou chybou EHK 1472 byla falešná citlivost na pyrazinamid (PZA) u vzorku B – a to i přesto, že u některých laboratoří byl znám problém s použitím vadných šarží pro stanovování citlivosti na PZA v systému BACTEC MGIT.

U vzorku B byla pro ethambutol (EMB) akceptována jako správná jak interpretace „citlivý“, tak „rezistentní“. Tento vzorek byl zařazen z edukativních důvodů, mimo jiné s cílem upozornit na omezenou spolehlivost fenotypového testování EMB, zejména v hraničních případech. Fenotypové testování EMB není doporučováno Světovou zdravotnickou organizací (WHO) pro rutinní použití, a to vzhledem k jeho nízké reprodukovatelnosti a obtížné interpretaci výsledků.

Stanovení fenotypové citlivosti (či rezistence) na *M. tuberculosis* je založeno na použití tzv. kritické koncentrace, která se liší v závislosti na použitém médiu. NRL/M při interpretaci vychází z doporučení uvedených v dokumentu *WHO Operational Handbook on Tuberculosis – Module 3: Diagnosis*.

Některé laboratoře však uvedly, že používají odlišné kritické koncentrace, jejichž původ se NRL/M nepodařilo ověřit – přestože pro *M. tuberculosis* existuje dostatek zdrojů věnujících se interpretaci citlivosti ve vztahu k danému médiu a antibiotiku. Přestože tyto laboratoře v tomto kole EHK uspěly, doporučuje se, aby zvážily revizi používaných kritických koncentrací a ověřily jejich soulad s aktuálně doporučenými hodnotami, například dle WHO.

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
Počet laboratoří	8	1
(% laboratoří)	88,9	11,1

* limit (hranice úspěšnosti) = 40 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	C 9 (100 %)	C 9 (100 %)	C 9 (100 %)	C 9 (100 %)	C 9 (100 %)
B	R 9 (100 %)	R 9 (100 %)	R 8 (88,9 %)	R/C 9 (100 %)	R 9 (100 %)
C	C 9 (100 %)	R 9 (100 %)	C 9 (100 %)	C 9 (100 %)	C 9 (100 %)
D	R 9 (100 %)	R 9 (100 %)	C 9 (100 %)	C 9 (100 %)	C 9 (100 %)
E	C 9 (100 %)	C 9 (100 %)	C 9 (100 %)	C 9 (100 %)	C 9 (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	X	X	X
B	X	X	Falešná citlivost: 1	X	X
C	X	X	X	X	X
D	X	X	X	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	C	C	C	C	C	R	R	R	R / C	R	C	R	C	C	C	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	50
2	28	C	C	C	C	C	R	R	R	R / C	R	C	R	C	C	C	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	50
3	32	C	C	C	C	C	R	R	R	R / C	R	C	R	C	C	C	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	50
4	51	C	C	C	C	C	R	R	R	R / C	R	C	R	C	C	C	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	50
5	61	C	C	C	C	C	R	R	R	R / C	R	C	R	C	C	C	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	50
6	215	C	C	C	C	C	R	R	C	R / C	R	C	R	C	C	C	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	48
7	317	C	C	C	C	C	R	R	R	R / C	R	C	R	C	C	C	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	50
8	369	C	C	C	C	C	R	R	R	R / C	R	C	R	C	C	C	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	50
9	456	C	C	C	C	C	R	R	R	R / C	R	C	R	C	C	C	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	50
		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	0	0	0
2	28	Middle brook 7H11, MGIT (PZA)	0	0	0	0	0
3	32	MGIT, Löwenstein- Jensen (PZA)	0	0		0	0
4	51	MGIT	0	0	0	0	0
5	61	MGIT	0	0	0	0	0
6	215	Löwenstein- Jensen	0	0	Falešná citlivost: 1x	0	0
7	317	MGIT, Löwenstein- Jensen (INH, PZA)	0	0	0	0	0
8	369	MGIT	0	0	0	0	0
9	456	MGIT	0	0	0	0	0