



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/16/2021 (EHK 1190)

Fenotypové stanovení citlivosti u MTB

Praha, červenec 2021

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
6.	Závěr	7
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/16/2021 byl zaměřen na určení citlivosti (C) či rezistence (R) kmenů *M. tuberculosis* k základním antituberkulotikům (izoniazid, rifampicin, etambutol, streptomycin, pyrazinamid).

Návrh a realizace PT#M/16/2021 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. výsledkový protokol, je pro každou zúčastněnou laboratoř k dispozici na webových stránkách SZÚ (<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>) po přihlášení kódem a heslem v záložce „Hodnocení sérií“.

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: 27. 7. 2021

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/16/2021

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1190
Název:	Fenotypové stanovení citlivosti u MTB
Koordinátor:	Ing. Věra Dvořáková, Ph.D.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3
Podstata a účel PT/EHK:	Stanovení citlivosti či rezistence na základní antituberkulotika – INH, STM, PZA, EMB, RIF.
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Rutině prováděné testy citlivosti.
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2
Množství připravovaného test. materiálu:	8 vzorků (mykobakteriálních kultur) pro každou ze 13 laboratoří 5 x 8 vzorků jako rezerva 3 x 8 vzorků pro testování v NRLM Z 8 připravovaných vzorků se pro rozeslání do přihlášených laboratoří k testování v rámci EHK vybírá po kontrole kvality růstu 5 vzorků.
Označení vzorků:	EHK 1190, PT # M/16, Č. 1 – 5, 30. 3. 2021
Zabezpečení jakosti vzorku:	1. Kontrola sterility L – J půd 2. Testování kontrolních vzorků akreditovanými metodami dle schválených SOP po distribuci do přihlášených laboratoří
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 – 8 ° C chránit před světlem
Možné zdroje chyb:	nedodržení správné laboratorní praxe
Počet účastníků:	13 laboratoří
Termín distribuce:	30. 3. 2021
Způsob distribuce:	zasílání kurýrní službou účastnickým laboratořím – zajišťuje koordinační pracoviště ESPT 2 přílohy: průvodní dopis
Předání výsledků:	vyplnění online výsledkového formuláře na webových stránkách SZÚ (http://www.szu.cz/zadavani-vysledku-ehk)
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
Určení přijaté vztahné hodnoty:	výsledky získané v NRL/M
Termín uveřejnění očekávaných výsledků	24. 6. 2021
Termín uveřejnění závěrečné zprávy	Do 31. 8. 2021

2. Způsob přípravy vzorků

V přípravně půd bylo dne 2. 12. 2020 připraveno 200 Löwenstein-Jensenových půd. Bylo vybráno 8 kmenů *M. tuberculosis* (evid. č.: 193/20, 420/20, 2/21, 421/20, 419/20, 300/20, 13/21, 26/21) se známou citlivostí na antituberkulotika. Dne 10. 2. 2021 byly kmeny rozočkovány na 8 x 21 L-J půd (13 sad vzorků pro přihlášené laboratoře + 5 rezervních sad + 3 sady pro testování v NRLM). Naočkované půdy byly uloženy na 4 týdny do termostatu při teplotě 37°C. Po 4 týdnech byla provedena kontrola růstu a bylo vybráno 5 kmenů pro odeslání. 29. 3. 2021 byly zkumavky předány pracovním AP k rozdělení a distribuci do jednotlivých laboratoří.

3. Charakteristika materiálu

Vzorek			INH (H)	STM (S)	PZA (Z)	EMB (E)	RIF (R)
A	<i>M. tuberculosis</i>	10 ⁻²	R	C	R	R	R
B	<i>M. tuberculosis</i>	10 ⁻²	C	C	C	C	C
C	<i>M. tuberculosis</i>	10 ⁻²	C	C	C	C	C
D	<i>M. tuberculosis</i>	10 ⁻²	R	R	R	R	R
E	<i>M. tuberculosis</i>	10 ⁻²	C	C	C	C	C

4. Způsob hodnocení

Vzorky se hodnotí kvalitativně. Hodnocení 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/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

Tabulka 1. 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 C: 2 Nehodnoceno: 1	x	x
B	x	x	Falešná R: 5	x	x
C	x	x	x	x	x
D	x	x	Falešná C: 3	Falešná C: 3 Hraniční: 1	x
E	x	x	x	x	x

Výsledky vyšetření:

3 laboratoře stanovily citlivost bezchybně u všech vzorků a získaly 50 bodů

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

1 laboratoř stanovila citlivost s 1 chybou u 1 kmene a 2 chybami u 1 kmene, tj. celkově se 3 chybami u 2 kmenů a získala 44 bodů

1 laboratoř stanovila citlivost s 1 chybou u 2 kmenů a 2 chybami u 1 kmene, tj. celkově se 4 chybami u 3 kmenů a získala 42 bodů

Závěr

Aritmetický průměr byl 47,7 bodu.

Limit (tj. průměr – 2 směrodatné odchytky) byl 43,1 bodu.

Limit splnilo 12 laboratoří, 1 laboratoř limit nesplnila.

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 13 (100 %)	C 13 (100 %)	R 10 (76,9 %)	R 13 (100 %)	R 13 (100 %)
B	C 13 (100 %)	C 13 (100 %)	C 8 (61,5 %)	C 13 (100 %)	C 13 (100 %)
C	C 13 (100 %)	C 13 (100 %)	C 13 (100 %)	C 13 (100 %)	C 13 (100 %)
D	R 13 (100 %)	R 13 (100 %)	R 10 (76,9 %)	R 9 (69,2 %)	R 13 (100 %)
E	C 13 (100 %)	C 13 (100 %)	C 13 (100 %)	C 13 (100 %)	C 13 (100 %)

Tabulka 3. Výsledky EHK podle počtu dosažených bodů.

Body	50	48	44	42
Počet laboratoří	3	8	1	1
(% laboratoří)	23,1	61,5	7,7	7,7

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	C	R	R	R	C	C	R	C	C	C	C	C	C	C	R	R	R	R	R	C	C	C	C	C	48
2	32	R	C	R	R	R	C	C	R	C	C	C	C	C	C	C	R	R	R	R	R	C	C	C	C	C	48
3	51	R	C	R	R	R	C	C	R	C	C	C	C	C	C	C	R	R	R	R	R	C	C	C	C	C	48
4	61	R	C	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	R	R	R	C	R	C	C	C	C	C	48
5	71	R	C	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	R	R	R	R	R	C	C	C	C	C	50
6	208	R	C	N	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	R	R	C	C	R	C	C	C	C	C	44
7	215	R	C	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	R	R	R	R	R	C	C	C	C	C	50
8	317	R	C	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	R	R	R	R	R	C	C	C	C	C	50
9	324	R	C	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	R	R	C	R	R	C	C	C	C	C	48
10	345	R	C	R	R	R	C	C	R	C	C	C	C	C	C	C	R	R	R	R	R	C	C	C	C	C	48
11	369	R	C	R	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	R	R	R	H	R	C	C	C	C	C	48
12	760	R	C	C	R	R	C	C	R	C	C	C	C	C	C	C	R	R	C	C	R	C	C	C	C	C	42
13	792	R	C	C	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	R	R	R	R	R	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, N = nehodnoceno, H = hraniční

Tabulka 5. Přehled metod používaných pro stanovení lékové citlivosti v jednotlivých laboratořích, 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	1 falešná R	0	0
2	32	MGIT	0	0	1 falešná R	0	0
3	51	MGIT	0	0	1 falešná R	0	0
4	61	MGIT	0	0	0	1 falešná C	0
5	71	Löwenstein - Jensen	0	0	0	0	0
6	208	Löwenstein - Jensen	0	0	1 nehodnoceno 1 falešná C	1 falešná C	0
7	215	Löwenstein - Jensen	0	0	0	0	0
8	317	Löwenstein - Jensen	0	0	0	0	0
9	324	Löwenstein - Jensen	0	0	1 falešná C	0	0
10	345	Šulova půda + PZA MGIT	0	0	1 falešná R	0	0
11	369	MGIT	0	0	0	1 hraniční	0
12	760	Löwenstein - Jensen	0	0	1 falešná R 2 falešné C	1 falešná C	0
13	792	Löwenstein - Jensen	0	0	1 falešná C	0	0

6. Závěr

Série EHK 1190 zaměřené na určení citlivosti či rezistence kmenů *M. tuberculosis* k základním antituberkulotikům (izoniazid, rifampicin, etambutol, streptomycin, pyrazinamid) se zúčastnilo 13 laboratoří. Celkem v tomto programu EHK uspělo 12 laboratoří, ale pouze 3 ze 13 laboratoří (23,1 %) provedly správné stanovení u všech antibiotik u všech vzorků a uspěly tak na 100 %. Celkem 8 laboratoří (61,5 %) stanovilo citlivost a rezistenci pouze s 1 chybou (tj. chybným stanovením u 1 antibiotika u 1 vzorku). Zbylé dvě laboratoře stanovily lékovou citlivost celkem se 3 a 4 chybami.

Dle uvedených dat nadpoloviční většina laboratoří (7 ze 13, tj. 54%) používá k určení citlivosti Löwenstein-Jensenovu vaječnou půdu (L-J), pět laboratoří využívá automatický systém Bactec MGIT (38,5 %) a jedna laboratoř určuje citlivost na Šulově půdě (avšak v případě PZA tato laboratoř využívá MGIT).

U isoniazidu, streptomycinu a rifampicinu uspěly všechny laboratoře na 100 %. Nejvíce problematickým antibiotikem bylo PZA, u kterého pouze 5 laboratoří ze 13 (tj. 38,5 %) dosáhlo 100% úspěšnosti a určilo citlivost u tohoto antibiotika u všech vzorků správně. Z výsledků je patrné, že při určování citlivosti pomocí L-J půdy se u PZA objevovala nejčastěji falešná citlivost a naopak při určování s pomocí systému MGIT výhradně falešná rezistence (viz Tabulka 4. a Tabulka 5.). U PZA laboratoře chybovaly u různých vzorků, konkrétně u vzorků A, B a D. Další chyby se objevily také u etambutolu, kde celkem 3 laboratoře (23,1 %) určily jeden vzorek jako falešně citlivý a 1 laboratoř (7,7 %) tento vzorek určila jako hraniční. V případě etambutolu se všechny chyby objevily u vzorku D a to jak u laboratoří využívajících MGIT, tak u laboratoří využívajících L-J půdu.

Laboratoř, která neuspěla, může **do 14 dnů** po obdržení výsledků požádat Koordinační pracoviště ESPT 2 o opravnou sérii (telefonicky, e-mailem). Opravné kolo proběhne v podzimním termínu.

V případě reklamací vyhodnocení série prosím postupujte dle reklamačního řádu.

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY