



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/2-2/2022 (EHK 1250)

Identifikace *M. tuberculosis*

Praha, květen 2022

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	6
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/2-2/2022 byl zaměřen na schopnost účastníků správně detekovat přítomnost *M. tuberculosis* (ve smyslu detekce přítomnosti DNA) v simulovaných vzorcích biologického materiálu.

Návrh a realizace PT#M/2-2/2022 byly prováděny podle standardních operačních postupů SOP M/02 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. Věra Dvořáková, Ph.D.
Tel: 267 082 424

Dne: 23. 5. 2022

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/2-2/2022

Identifikace cyklu:	EHK 1250
Název:	Identifikace <i>M. tuberculosis</i>
Koordinátor:	Ing. Věra Dvořáková, Ph.D.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3 této závěrečné zprávy.
Podstata a účel PT:	Průkaz (detekce) <i>M. tuberculosis</i> v simulovaných vzorcích biologického materiálu pomocí mikroskopie a kultivace.
Kritéria pro účast na PT:	Rutinně prováděné vyšetřování vzorků biologického materiálu, zajištění správné laboratorní praxe.
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2 této závěrečné zprávy.
Množství připravovaného test. materiálu:	Celkově bylo připraveno 5 x 23 vzorků: 5 vzorků po 1,1 ml pro 17 laboratoří přihlášených v řádném termínu 5 vzorků po 1,1 ml x 3 - rezerva 5 vzorků po 1,1 ml x 3 - testování v NRL/M
Označení vzorkovnic:	EHK 1250, PT#M/2-1, č. 1 – 5, 25. 1. 2022
Zabezpečení kvality	1. Kontrola čistoty kultury použitých mykobakteriálních species metodou GenoType (termíny kontroly viz kapitola 2) 2. Kontrola sterility agaru OXOID 3. Testování kontrolních vzorků akreditovanými metodami dle schválených SOP před i po distribuci do přihlášených laboratoří
Test homogenity a stability:	při přípravě vzorků, před rozesláním vzorků a v termínu doručení vzorků laboratořím
Podmínky distribuce:	přeprava a krátkodobé uchování při 4 – 8 ° C chránit před světlem
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe
Počet účastníků:	18
Termín distribuce vzorků:	25. 1. 2022
Způsob distribuce vzorků:	zasílání kurýrní službou účastnickým laboratořím – zajišťuje koordináční pracoviště ESPT 2 přílohy: Informace pro účastníky
Předání výsledků:	V elektronické podobě do 5. 4. 2022
Způsob vyhodnocení:	Výsledky se hodnotí kvalitativně. Bodový limit se stanoví jako aritmetický průměr dosaženého bodového hodnocení zúčastněných laboratoří, minus dvě směrodatné odchylky.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Směrodatná odchylka se vypočítá jako druhá odmocnina rozptylu hodnot bodového hodnocení jednotlivých laboratoří od aritmetického průměru dosažených bodů všech laboratoří.
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.
Termín uveřejnění očekávaných výsledků:	14. 4. 2022
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 28. 6. 2022

2. Způsob přípravy vzorků

V přípravě půd bylo dne 18. 1. 2022 připraveno 750 ml sterilního 0,3% agaru OXOID se 3,5 ml sterilizované koncentrované Šulovy půdy. Agar byl rozplněn po 1 ml do 5 x 23 sterilních plastových mikroskopů / eppendorfek (17 přihlášených laboratoří, jedna laboratoř se přihlásila později a dostala tak vzorek z rezervy + 3x rezervní vzorky + 3x vzorky pro testování v NRLM) a uložen v lednici. Zkumavky jsou dodávány Koordinačním pracovištěm (objem 2ml, šroubovací uzávěr s těsněním). Pro sérii EHK 1250 byly vybrány kultury *M. tuberculosis*, které jsme otestovali 8. 12. 2021, 7. 1. 2022 a 11. 1. 2022 metodou GenoType, zda se jedná o čisté kultury. Dne 19. 1. 2022 bylo do jednotlivých eppendorfek s agarem přidáno po 0,1 ml kultury mykobakterií (*M. tuberculosis* 450/21, 452/21, a 454/21) nebo destilované H₂O. Všechny vzorky byly zajištěny parafilmovou fólií a uloženy do krabiček označených A – E a uschovány v lednici. Dne 24. 1. 2022 byly vzorky předány pracovním koordinačního pracoviště ESPT 2 k rozdělení a distribuci do jednotlivých laboratoří. Jedna sada vzorků byla testována v NRL/M pro zabezpečení kvality vzorku.

3. Charakteristika materiálu

A	<i>M. tuberculosis</i> (evid. č. 450/21)	10 ⁻²
B	negativní	čistý agar
C	<i>M. tuberculosis</i> (evid. č. 452/21)	10 ⁻²
D	<i>M. tuberculosis</i> (evid. č. 454/21)	10 ⁻²
E	negativní	čistý agar

4. Způsob hodnocení

Vzorky se hodnotí kvalitativně. Hodnocení vychází z výsledků testování v NRL/M dle SOP-NRL/M-10. 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 10 bodů

- Správná detekce/identifikace *M. tuberculosis* = 2 body
- Falešná pozitivita / falešná negativita = 0 bodů

5. Vyhodnocení

Tabulka 1. Charakter chyb identifikace *M. tuberculosis*.

Vzorek	Falešná pozitivita	Falešná negativita
A	X	X
B	X	X
C	X	X
D	X	X
E	1	X

Výsledky vyšetření

17 laboratoří získalo 10 bodů, 1 laboratoř získala 8 bodů.

Závěr

Aritmetický průměr dosažených bodů se rovnal 9,9.

Limit (aritmetický průměr minus 2 směrodatné odchylky) činil 8,9 bodů.

Limit splnilo 17 (94,4 %) laboratoří, 1 laboratoř (5,6 %) limit nesplnila.

Tabulka 2. Výsledky vyšetření přítomnosti *M. tuberculosis* ve vzorku – počet laboratoří se správným výsledkem pro jednotlivé vzorky zařazené do EHK 1250 a jejich podíl z celkového počtu laboratoří přihlášených do této série EHK.

Vzorek	Správné určení
A	18 (100 %)
B	18 (100 %)
C	18 (100 %)
D	18 (100 %)
E	17 (94,4 %)

Tabulka 3. Výsledky EHK 1250 podle počtu dosažených bodů.

Body*	10	8
Počet laboratoří	17	1
(% laboratoří)	94,4	5,6

* limit (hranice úspěšnosti) = 8,9 bodů

Tabulka 4. Přehled metod detekce používaných v zúčastněných laboratořích a rozložení správných a chybných výsledků v rámci těchto kategorií.

Metoda	Počet laboratoří	Správné určení	Falešně pozitivní	Falešně negativní
RT-PCR metody**	12 (66,6 %)	11 (91,7 %)*	1 (8,3 %)*	0 (0 %)*
PCR metody	3 (16,6 %)	3 (100 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*
Genetická (bez specifikace)	2 (11,1 %)	2 (100 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*
MPT 64 imunochromatografie	1 (5,6 %)	1 (100 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*
celkem	18 (100 %)	17 (94,4%)*	1 (5,6 %)	0 (0 %)

* procenta udávají podíl počtu laboratoří se správným výsledkem z počtu laboratoří používajících danou metodu

** mezi konkrétními uvedenými platformami byly např. GeneXpert/Xpert, Anyplex, AmpliSens, Geneproof

Tabulka 5. Přehled výsledků jednotlivých laboratoří.

EHK 1250: Identifikace *M. tuberculosis*

odesláno: 25. 1. 2022

uzávěrka: 5. 4. 2022

očekávané výsledky:

A – pozitivní/TBC **B** – negativní **C** – pozitivní/TBC **D** – pozitivní/TBC **E** - negativní

Poř. číslo	Kód	Správné určení	Charakter chyby falešně pozitivní / falešně negativní	Σ BODŮ
1	28	5x		10
2	32	5x		10
3	39	5x		10
4	51	5x		10
5	61	5x		10
6	65	5x		10
7	71	5x		10
8	156	5x		10
9	208	5x		10
10	214	5x		10
11	317	5x		10
12	345	4x	falešně pozitivní	8
13	369	5x		10
14	388	5x		10
15	456	5x		10
16	529	5x		10
17	742	5x		10
18	792	5x		10

6. Závěr

EHK 1250 zaměřeného na detekci přítomnosti *M. tuberculosis* v simulovaném vzorku biologického materiálu se zúčastnilo 18 laboratoří.

Zúčastněné laboratoře využívají široké spektrum metod identifikace, více jak polovina laboratoří však (66,6 %) využila metody, resp. platformy, založené na principu real-time PCR. Zbylé laboratoře uvedly, použití metody využívající PCR, nebo použití genetické metody, avšak bez specifikace konkrétního systému. Jedna laboratoř využila k detekci imunochromatografii. V sérii EHK 1250 uspělo 17 laboratoří (94,4 %), jedna laboratoř vyhodnotila jeden vzorek jako falešně pozitivní a nesplnila tak bodový limit pro úspěšné složení zkoušky. Jednalo se laboratoř využívající systém založený na RT-PCR, konkrétně šlo o platformu Anyplex.

Laboratoř, která neuspěla, má možnost objednat si opravnou sérii EHK přes webovou aplikaci SZÚ: <https://ehk.szu.cz/EHK10/>, viz informace o změnách v objednávání opravných sérií a zadávání reklamací na webových stránkách SZÚ: <http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>. Opravné série se budou rozesílat dne 11. 10. 2022.

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

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY