



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/2-2/2021 (EHK 1175)

Identifikace *M. tuberculosis*

Praha, červen 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	6
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/2-2/2021 navazuje na program PT#M/2-1/2021 (Průkaz *M. tuberculosis* pomocí metabolických metod). Je určen laboratořím provádějícím identifikaci a byl zaměřen na schopnost účastníků správně identifikovat izolovanou mykobakteriální species v simulovaných vzorcích biologického materiálu.

Návrh a realizace PT#M/2-2/2021 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. 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
Tel: 267 082 424

Dne: 8. 6. 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/2-2/2021

Identifikace série:	EHK 1175
Název:	Identifikace <i>M. tuberculosis</i>
Koordinátor:	Ing. Věra Dvořáková, Ph.D.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3
Podstata a účel PT/EHK:	Průkaz přítomnosti <i>M. tuberculosis</i> v simulovaném vzorku biologického materiálu.
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Rutině prováděné vyšetřování vzorků biologického materiálu.
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2
Množství připravovaného test. materiálu:	5 vzorků po 1,1 ml pro 24 laboratoří (testování pro obě série EHK probíhá ze stejného vzorku) 5 vzorků po 1,1 ml x 5 - rezerva 5 vzorků po 1,1 ml x 3 - testování v NRL/M Pozn.: Testování pro série EHK 1174 a 1175 probíhá ze stejného vzorku, celkové množství připravovaného materiálu tedy odpovídá počtu přihlášených laboratoří do EHK 1175 v tomto případě 16 laboratoří.
Označení vzorků:	EHK 1175, PT#M/2-2, č. 1 – 5, 25. 1. 2021
Zabezpečení jakosti vzorku:	1. Kontrola použitých mykobakteriálních species metodou GenoType 2. Kontrola sterility agaru OXOID 3. 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 uchovávání vzorků:	Přeprava a krátkodobé uchovávání při 4 – 8 ° C. Chránit před světlem.
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe.
Počet účastníků:	16 laboratoří
Termín distribuce:	26. 1. 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	15. 4. 2021
Termín uveřejnění závěrečné zprávy	Do 29. 6. 2021

2. Způsob přípravy vzorků

V přípravě půd bylo dne 25. 1. 2021 připraveno 500 ml sterilního 0,3% agaru OXOID se 3,5 ml sterilizované koncentrované Šulovy půdy. Agar byl rozplněn po 1 ml do 5 x 32 sterilních plastových mikrozkuvek / eppendorfek (24 přihlášených laboratoří (z toho do série 1175 se přihlásilo 16 laboratoří) + 5x rezervní vzorky + 3x vzorky pro testování v NRLM) a uložen v lednici. Zkuvky jsou dodávány Koordinačním pracovištěm (obsah 2ml, šroubovací uzávěr s těsněním). Pro sérii EHK 1174 a 1175 byly vybrány kultury *M. tuberculosis*, které jsme otestovali 10. 12. 2020 a 21. 1. 2021 metodou GenoType, zda se jedná o čisté kultury. 25. 1. 2021 bylo do jednotlivých eppendorfek s agarem přidáno po 0,1 ml kultury mykobakterií (*M. tuberculosis* 505/20, 555/19 – č. 2 a 300/20). Všechny vzorky byly zajištěny parafilmovou fólií a uloženy do krabiček označených A – E a uschovány v lednici. 25. 1. 2021 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	negativní	čistý agar
B	negativní	čistý agar
C	<i>M. tuberculosis</i>	10 ⁻²
D	<i>M. tuberculosis</i>	10 ⁻²
E	<i>M. tuberculosis</i>	10 ⁻²

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

5. Vyhodnocení

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

Vzorek	Chybná identifikace	Falešná pozitivita	Falešná negativita
A	X	X	X
B	X	X	X
C	X	X	X
D	X	X	X
E	X	X	X

Výsledky vyšetření

16 laboratoří získalo 10 bodů

Závěr

Aritmetický průměr dosažených bodů se rovnal 10.

Limit (aritmetický průměr minus 2 směrodatné odchylky) činil 10 bodů.

Limit splnilo všech 16 (100 %) laboratoří.

Tabulka 2. Výsledky vyšetření přítomnosti *M. tuberculosis* ve vzorku – počet laboratoří se správným výsledkem pro jednotlivé vzorky zařazené do EHK 1175 a jejich podíl z celkového počtu laboratoří přihlášených do této série EHK.

Vzorek	Správné určení
A	16 (100 %)
B	16 (100 %)
C	16 (100 %)
D	16 (100 %)
E	16 (100 %)

Tabulka 3. Výsledky EHK 1175 podle počtu dosažených bodů.

Body*	10
Počet laboratoří	16
(% laboratoří)	100

* limit (hranice úspěšnosti) = 10 bodů

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

Metoda	Počet laboratoří	Správné určení	Falešně pozitivní	Falešně negativní
GenoType (Hain)	4 (25 %)	4 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
MALDI TOF	2 (12,5 %)	2 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Imunochromatografie	3 (18,8 %)	3 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Molekulárně biologická	3 (18,8 %)	3 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
TB Ag MPT64	1 (6,3 %)	1 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Anyplex™ MTB/NTM	1 (6,3 %)	1 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Biochemické testy	1 (6,3 %)	1 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
nespecifikováno	1 (6,3 %)	1 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
celkem	16 (100 %)	16 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)

Tabulka 5. Přehled výsledků jednotlivých laboratoří.**EHK 1175: Identifikace *M. tuberculosis***

odesláno: 26. 1. 2021

uzávěrka: 6. 4. 2021

očekávané výsledky:**A** – negativní **B** – negativní **C** – pozitivní **D** – pozitivní **E** - pozitivní

Poř. číslo	Kód	Správné určení	Charakter chyby falešně pozitivní / falešně negativní	Σ BODŮ
1	9	5x		10
2	28	5x		10
3	32	5x		10
4	51	5x		10
5	61	5x		10
6	65	5x		10
7	71	5x		10
8	208	5x		10
9	214	5x		10
10	317	5x		10
11	324	5x		10
12	345	5x		10
13	369	5x		10
14	388	5x		10
15	456	5x		10
16	792	5x		10

6. Závěr

Série EHK 1175 zaměřené na identifikaci izolované mykobakteriální species v simulovaném vzorku biologického materiálu se zúčastnilo 16 laboratoří. Série EHK 1175 navazuje na sérii EHK 1174 a testování probíhá u obou sérií ze stejného vzorku.

Zúčastněné laboratoře využívají široké spektrum metod identifikace, které se liší jak časovou náročností, tak komplexitou. Využívané metody zahrnují imunochromatografii, hmotnostní spektrometrii i molekulárně biologické metody, včetně real-time PCR. Mezi nejčastěji využívanými metodami byla molekulárně biologická metoda založená na hybridizaci využívající komerční kit GenoType (Hain, 25% laboratoří). Všechny laboratoře v sérii EHK 1175 uspěly a všechny vzorky vyhodnotily správně.

V případě reklamací vyhodnocení série prosím postupujte dle reklamačního řádu.

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY