



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/2-2/2024 (EHK 1382)

Identifikace *M. tuberculosis*

Praha, červen 2024

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	6

Program zkoušení způsobilosti PT#M/2-2/2024 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/2-2/2024 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 Hromádková a Ing. Věra Dvořáková, Ph.D. (NRL pro mykobakterie, SZÚ Praha)

Zprávu autorizoval:

Ing. Dvořáková
Tel: 267 082 424

Dne: 20. 6. 2024

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/2-2/2024

Identifikace cyklu:	EHK 1382
Název PT:	Identifikace <i>M. tuberculosis</i>
Koordinátor:	Ing. Věra Dvořáková, Ph.D.
Podstata a účel PT:	Průkaz (detekce) přítomnosti <i>M. tuberculosis</i> ve vzorku simulovaného biologického materiálu (ve smyslu detekce přítomnosti DNA).
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 pozitivitu (průkaz přítomnosti DNA <i>M. tuberculosis</i> ve vzorku) / negativitu vzorku
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Počet účastníků:	19
Termín distribuce vzorků:	23. 1. 2024
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	2. 4. 2024
Označení vzorkovnic:	EHK 1382, PT#M/2-1/2024, č. 1-5, 23. 1. 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:	12. 4. 2024
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 25. 6. 2024

2. Způsob přípravy vzorků

2.1 Postup přípravy výchozího materiálu

V přípravě půd bylo dne 16. 1. 2024 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 28 sterilních plastových mikroskopů / eppendorfek (5 vzorků pro každou z 20 přihlášených laboratoří (1 laboratoř se dodatečně odhlásila) + 5x rezervní vzorky + 3x vzorky pro testování v NRLM) a uložen v lednici. Zkumavky jsou dodávány Koordináčním pracovištěm (obsah 2ml, šroubovací uzávěr s těsněním). Pro sérii EHK 1382 byla vybrána kultura *M. tuberculosis*, kterou jsme otestovali 9. 1. 2024, 10. 1. 2024 a 29. 1. 2024 metodou GenoType, zda se jedná o čistou kulturu.

2.2 Zabezpečení kvality výchozího materiálu, homogenita a stability

- Kontrola čistoty kultury *M. tuberculosis* molekulárními metodami založenými na hybridizaci (GenoType) a to celkem 3x - po vybrání kultury pro sérii EHK, před distribucí vzorků a po distribuci vzorků do přihlášených laboratoří.
- Kontrola sterility agaru OXOID
- 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

17. 1. 2024 bylo do jednotlivých eppendorfek s agarem přidáno po 0,1 ml kultury mykobakterií (*M. tuberculosis* ev. č. 445/23) nebo destilované H₂O dle schématu v kapitole 3. Všechny vzorky byly zajištěny parafilmovou fólií a uloženy do krabiček označených A – E a uschovány v lednici. 22. 1. 2024 byly vzorky předány pracovním koordináčního 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> 73/24 (445/23 evid. č.)	10 ⁻²
B	Negativní 74/24	destilovaná H ₂ O
C	Negativní 75/24	destilovaná H ₂ O
D	Negativní 76/24	destilovaná H ₂ O
E	<i>M. tuberculosis</i> 77/24 (445/23 evid. č.)	10 ⁻²

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 10 bodů

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

5. Vyhodnocení

17 laboratoří získalo 10 bodů, 1 laboratoř získala 8 bodů. 1 laboratoř nedodala výsledky k hodnocení. 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.

6. Závěr

EHK 1382 – Identifikace *M. tuberculosis* se zúčastnilo 19 laboratoří, 1 laboratoř nedodala výsledky k hodnocení.

Uspělo 17 laboratoří, neuspěla 1 laboratoř.

Zúčastněné laboratoře využívají široké spektrum metod identifikace, drtivá většina laboratoří však (72,2 %) využila metody, resp. platformy, založené na principu real-time PCR, např. GeneXpert/Xpert, Anyplex, AmpliSens, Geneproof. Zbylé laboratoře uvedly použití metody využívající PCR, avšak bez specifikace konkrétního systému, případně molekulárně genetickou metodu GenoType (Hain). Jedna laboratoř využila k detekci automatický systém BactecMGIT. V sérii EHK 1382 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.

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 1382 podle počtu dosažených bodů.

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

* limit (hranice úspěšnosti) = 8,9 bodů

Tabulka 2. Výsledky vyšetření přítomnosti *M. tuberculosis* ve vzorku – počet laboratoří se správným výsledkem pro jednotlivé vzorky zařazené do EHK 1382 a jejich podíl z celkového počtu laboratoří přihlášených do této série EHK.

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

Tabulka 3. Charakter chyb identifikace *M. tuberculosis*.

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

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
RT-PCR metody**	13 (72,2 %)	12 (92,3 %)*	1 (8,3 %)*	0 (0 %)*
PCR metody	3 (16,6 %)	3 (100 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*
GenoType (Hain)	1 (5,6 %)	1 (100 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*
BactecMGIT	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 1382: Identifikace *M. tuberculosis*

odesláno: 23. 1. 2024

uzávěrka: 2. 4. 2024

očekávané výsledky:

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

Poř. číslo	Kód	Správné určení	Charakter chyby falešně pozitivní / falešně negativní	Σ BODŮ
1	028	5x		10
2	032	5x		10
3	051	5x		10
4	055	5x		10
5	061	5x		10
6	065	5x		10
7	071	5x		10
8	156	4x	falešně pozitivní	8
9	208	5x		10
10	211	5x		10
11	214	5x		10
12	313	5x		10
13	317	5x		10
14	369	5x		10
15	388	5x		10
16	456	5x		10
17	742	5x		10
18	792	5x		10