



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/1-2/2021 (EHK 1173)

Identifikace rodu *Mycobacterium*

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	5
6.	Závěr	7
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/1-2/2021 určený pro laboratoře provádějící identifikaci rodu *Mycobacterium* navazuje na program PT#M/1-1/2021 a byl zaměřen na ověření schopnosti účastníků provést správné určení izolované mykobakteriální species.

Návrh a realizace PT#M/1-2/2021 byly prováděny podle standardních operačních postupu SOP M/01 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/1-2/2021

Identifikace série:	EHK 1173
Název:	Identifikace rodu <i>Mycobacterium</i>)
Koordinátor:	Ing. Věra Dvořáková, Ph.D.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3
Podstata a účel PT/EHK:	Identifikace izolované mykobakteriální species
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 36 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 1172 a 1173 probíhá ze stejného vzorku, celkové množství připravovaného materiálu tedy odpovídá počtu přihlášených laboratoří do EHK 1172.
Označení vzorků:	EHK 1173, PT#M/1-2, č. 1 – 5, 26. 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 uchování vzorků:	přeprava a krátkodobé uchování při 4 – 8 ° C chránit před světlem
Možné zdroje chyb:	nedodržení správné laboratorní praxe
Počet účastníků:	18 laboratoří
Termín distribuce:	26. 1. 2021
Způsob distribuce:	Zasílání kurýrní službou účastnickým laboratořím – zajišťuje koordináční 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 750 ml sterilního 0,3% agaru OXOID se 3,5 ml sterilizované koncentrované Šulovy půdy. Agar byl rozplněn po 1 ml do 5 x 44 sterilních plastových mikrozkuvek / eppendorfek (36 přihlášených laboratoří pro sérii 1172 více viz. tato série (z toho 18 přihlášených laboratoří pro sérii 1173) + 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 obě série EHK byly vybrány kultury *M. abscessus*, *M. xenopi*, *M. avium* a *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. abscessus* 392/20, *M. xenopi* 358/20, *M. avium* 504/20 a *M. tuberculosis* 505/20). 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

EHK 1173

A	<i>M. avium</i> komplex - <i>M. avium</i>	10 ⁻³
B	<i>M. tuberculosis</i>	10 ⁻²
C	negativní	čistý agar
D	<i>M. abscessus</i> - <i>M. abscessus</i> ssp. <i>bolletii</i>	10 ⁻³
E	<i>M. xenopi</i>	10 ⁻³

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

- Správný výsledek identifikace = 2 body
- Chybný výsledek identifikace = 0 bodů
- Falešná pozitivita / falešná negativita = 0 bodů

5. Vyhodnocení

Jedna laboratoř se v průběhu této série odhlásila, a tedy celkový počet účastníků byl 17 laboratoří.

Tabulka 1. Charakter chyb identifikace.

Vzorek	Identifikace		
	Chybná identifikace	Falešná pozitivita	Falešná negativita
A	X	X	X
B	X	X	X
C	X	X	X
D	X	X	2
E	X	X	X

Výsledky vyšetření

15 laboratoří získalo 10 bodů

2 laboratoř získala 8 bodů

Závěr

Aritmetický průměr dosažených bodů se rovnal 9,8.

Limit (aritmetický průměr minus 2 směrodatné odchylky) činil 8,4 bodů.

Limit splnilo 15 (88,2 %) laboratoří, 2 laboratoře limit nesplnily.

Tabulka 2. Výsledky identifikace – počet laboratoří se správným výsledkem pro jednotlivé vzorky zařazené do EHK 1173 a jejich podíl z celkového počtu laboratoří přihlášených do této série EHK.

Vzorek	Identifikace
A	17 (100 %)
B	17 (100 %)
C	17 (100 %)
D	15 (88,2 %)
E	17 (100 %)

Tabulka 3. Výsledky EHK podle počtu dosažených bodů.

Body*	10	8
Počet laboratoří	15	2
(% laboratoří)	88,2	11,8

* limit (hranice úspěšnosti) = 8,4 bodů

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

Metoda identifikace	počet laboratoří	správné stanovení*	chybná identifikace*	falešně pozitivní*	falešně negativní*
GenoType	6 (35,3 %)	5 (83,3 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (16,7 %)
MALDI TOF	6 (35,3 %)	5 (83,3 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (16,7 %)
molekulárně biologická	3 (17,6 %)	3 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
biochemická	1 (5,9%)	1 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
nespecifikováno	1 (5,9%)	1 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
celkem	17 (100 %)	15 (88,2 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (11,8 %)

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

Tabulka 5. Přehled výsledků jednotlivých laboratoří.

EHK 1173: Identifikace rodu *Mycobacterium*

odesláno: 26. 1. 2021

uzávěrka: 6. 4. 2021

očekávané výsledky:

A – *M. avium* komplex - *M. avium* **B** – *M. tuberculosis* **C** – negativní **D** – *M. abscessus* - *M. abscessus ssp. bolletii* **E** - *M. xenopi*

Poř. číslo	Kód	Identifikace správné určení	Charakter chyby chybná identifikace / falešně pozitivní / falešně negativní	Σ BODŮ
1	9	5x		10
2	28	5x		10
3	32	4x	falešně negativní	8
4	51	5x		10
5	61	5x		10
6	65	5x		10
7	71	5x		10
8	208	4x	falešně negativní	8
9	214	5x		10
10	215	5x		10
11	317	5x		10
12	345	5x		10
13	369	5x		10
14	388	5x		10
15	456	5x		10
16	760	5x		10
17	792	5x		10

6. Závěr

Série EHK 1173 zaměřené na správnou identifikaci izolované mykobakteriální species se zúčastnilo 17 laboratoří. Série EHK 1173 navazuje na sérii EHK 1172 (Mikroskopie a kultivace rodu *Mycobacterium*), testování v sérii EHK 1173 probíhá ze stejného vzorku jako pro sérii EHK 1172.

Nejčastěji využívanými metodami identifikace v zúčastněných laboratořích je hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF (35,3 % laboratoří) a molekulárně biologická metoda založená na hybridizaci za použití komerčního kitu GenoType (Hain; 35,3 % laboratoří). Celkem 15 laboratoří v této sérii uspělo, 2 laboratoře neuspěly. Obě laboratoře vyhodnotily jeden vzorek jako falešně negativní a identifikaci mykobakteriální species tak neprovedly.

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