



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/1-2/2022 (EHK 1248)

Identifikace rodu *Mycobacterium*

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	5
6.	Závěr	7
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/1-2/2022 určený pro laboratoře provádějící identifikaci rodu *Mycobacterium* byl zaměřen na ověření schopnosti účastníků provést správné určení mykobakteriální species vykultivované na šikmé Löwenstein-Jensenově půdě.

Návrh a realizace PT#M/1-2/2022 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. 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/1-2/2022

Identifikace cyklu:	EHK 1248
Název:	Identifikace rodu <i>Mycobacterium</i>
Koordinátor:	Ing. Věra Dvořáková, Ph.D.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3 této závěrečné zprávy.
Podstata a účel PT:	Identifikace správné mykobakteriální species vykultivované na šikmé Löwenstein-Jensenově půdě.
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 25 vzorků: 5 vzorků po 1,1 ml pro 16 laboratoří přihlášených v řádném termínu 5 vzorků po 1,1 ml x 6 - rezerva 5 vzorků po 1,1 ml x 3 - testování v NRL/M
Označení vzorkovnic:	EHK 1248, PT#M/1-2, 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 Löwenstein-Jensenovy půdy 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:	16
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 přípravně půd bylo dne 20. 10. 2021 připraveno Löwenstein-Jensenovo (L-J) médium. Inokulace L-J média byla provedena 7. 12. 2021 kulturami *M. abscessus* 388/21, *M. avium* 379/21, *M. fortuitum* 600/21, *M. xenopi* 595/21 a *M. tuberculosis* 452/21, které jsme otestovali 8. 12. 2021, 7. 1. 2022 a 11. 1. 2022 metodou GenoType, zda se jedná o čisté kultury. Do 5 x 25 sad zkumavek s L-J médiem (16 přihlášených laboratoří, 6x rezervní vzorky a 3x vzorky pro testování v NRLM) bylo přidáno 200 µl inokula, vzorky byly označeny, uloženy do stojánek a kultivovány při 37°C, vzorky obsahující *M. xenopi* byly kultivovány při 40°C. Růst vzorků byl pravidelně kontrolován. Zkumavky s dostatečným nárůstem kultury byly zajištěny parafilmovou fólií a uloženy do lednice. Dne 24. 1. 2022 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

EHK 1248

A	<i>M. abscessus ssp. bolletii</i> (evid. č. 388/21)	10 ⁻³
B	<i>M. avium</i> (evid. č. 379/21)	10 ⁻³
C	<i>M. fortuitum</i> (evid. č. 600/21)	10 ⁻³
D	<i>M. xenopi</i> (evid. č. 595/21)	10 ⁻³
E	<i>M. tuberculosis</i> (evid. č. 452/21)	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

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

5. Vyhodnocení

Tabulka 1. Charakter chyb identifikace.

Vzorek	Identifikace		
	Chybná identifikace	Falešná pozitivita	Falešná negativita
A	X	X	X
B	X	X	1
C	X	X	X
D	X	X	X
E	X	X	X

Výsledky vyšetření

15 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 15 (93,75 %) laboratoří, 1 laboratoř limit nesplnila.

Tabulka 2. Výsledky identifikace – počet laboratoří se správným výsledkem pro jednotlivé vzorky zařazené do EHK 1248 a jejich podíl z celkového počtu laboratoří přihlášených do této série EHK.

Vzorek	Identifikace
A	16 (100 %)
B	15 (93,8%)
C	16 (100 %)
D	16 (100 %)
E	16 (100 %)

Tabulka 3. Výsledky EHK podle počtu dosažených bodů.

Body*	10	8
Počet laboratoří	15	1
(% laboratoří)	93,8	6,3

* limit (hranice úspěšnosti) = 8,9 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 (37,5 %)	6 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
MALDI TOF	5 (31,25 %)	4 (80 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (20 %)
molekulárně biologická	4 (25 %)	4 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
nespecifikováno	1 (6,25 %)	1 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
celkem	16 (100 %)	15 (93,75 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (6,25 %)

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

Tabulka 5. Přehled výsledků jednotlivých laboratoří.

EHK 1248: Identifikace rodu *Mycobacterium*

odesláno: 25. 1. 2022

uzávěrka: 5. 4. 2022

očekávané výsledky:

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

Poř. číslo	Kód	Identifikace správné určení	Charakter chyby chybná identifikace / falešně pozitivní / falešně negativní	Σ BODŮ
1	28	5x		10
2	32	5x		10
3	51	5x		10
4	61	5x		10
5	65	5x		10
6	71	5x		10
7	208	5x		10
8	214	5x		10
9	215	5x		10
10	317	5x		10
11	345	5x		10
12	369	5x		10
13	456	5x		10
14	590	5x		10
15	760	4x	falešně negativní	8
16	792	5x		10

6. Závěr

EHK 1248 zaměřeného na správnou identifikaci mykobakteriální species v kultuře na Löwenstein-Jensenově půdě se zúčastnilo 16 laboratoří.

Nejčastěji využívanou metodou identifikace v zúčastněných laboratořích byla molekulárně biologická metoda založená na hybridizaci za použití komerčního kitu GenoType (Hain; 37,5 % laboratoří; další 3 laboratoře také uvedly použití genetické metody, ale bez specifikace použitého systému). Dále byla také hojně využívána hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF (31,25 % laboratoří). Celkem 15 laboratoří v této sérii uspělo, 1 laboratoř neuspěla. Laboratoř vyhodnotila jeden vzorek jako falešně negativní a identifikaci mykobakteriální species tak neprovedla.

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