



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/1-2/2023 (EHK 1324)

Identifikace rodu *Mycobacterium*

Praha, červen 2023

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	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/1-2/2023 určený pro laboratoře provádějící identifikaci rodu *Mycobacterium* byl zaměřen na ověření schopnosti účastníků provést správné určení mykobakteriální species.

Návrh a realizace PT#M/1-2/2023 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 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: 26. 6. 2023

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/1-2/2023

Identifikace cyklu:	EHK 1324
Název PT:	Identifikace rodu <i>Mycobacterium</i>
Koordinátor:	Ing. Věra Dvořáková, Ph.D.
Podstata a účel PT:	Identifikace správné mykobakteriální species.
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 mykobakteriální species.
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Počet účastníků:	16
Termín distribuce vzorků:	24. 1. 2023
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	4. 4. 2023
Označení vzorkovnic:	EHK 1324, PT#M/1-2/2023, č. 1-5, 24. 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:	19. 4. 2023
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 27. 6. 2023

2. Způsob přípravy vzorků

2.1 Postup přípravy výchozího materiálu

V přípravě půd bylo dne 18. 1. 2023 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 22 sterilních plastových mikrozkupek / eppendorfek (5 vzorků pro každou ze 16 přihlášených laboratoří + 3x rezervní vzorky + 3x vzorky pro testování v NRLM) a uložen v lednici. Zkupekvy jsou dodávány Koordinačním pracovištěm (obsah 2ml, šroubovací uzávěr s těsněním). Pro sérii EHK 1324 byly vybrány kultury *M. fortuitum*, *M. avium* a *M. tuberculosis*, které jsme otestovali 19. 1. 2023, 20. 1. 2023 a 27. 1. 2023 metodou GenoType, zda se jedná o čisté kultury.

2.2 Zabezpečení kvality výchozího materiálu, homogenita a stability

- Kontrola čistoty kultury použitých mykobakteriálních species molekulárními metodami založenými na hybridizaci (GenoType) 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

20. 1. 2023 bylo do jednotlivých eppendorfek s agarem přidáno po 0,1 ml kultury mykobakterií (*M. fortuitum* ev. č. 688/22, *M. avium* ev. č. 518/22 a 519/22, *M. tuberculosis* ev. č. 27/23) dle schématu v kapitole 3. Všechny vzorky byly zajištěny parafilmovou fólií a uloženy do krabiček označených A – E a uschovány v lednici. 23. 1. 2023 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 1324

A	<i>M. tuberculosis</i> 46/23 (27/23 evid.č.)	10 ⁻²
B	<i>M. fortuitum</i> 47/23 (688/22 evid.č.)	10 ⁻³
C	<i>M. tuberculosis</i> 48/23 (27/23 evid.č.)	10 ⁻²
D	<i>M. avium</i> 49/23 (519/22 evid.č.)	10 ⁻³
E	<i>M. avium</i> 50/23 (518/22 evid.č.)	10 ⁻³

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

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

5. Vyhodnocení

16 laboratoří získalo 10 bodů.

Aritmetický průměr dosažených bodů se rovnal 10.

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

Limit splnilo 16 (100 %) laboratoří.

6. Závěr

EHK 1324 – Identifikace rodu *Mycobacterium* se zúčastnilo 16 laboratoří, výsledky dodaly všechny laboratoře.

Uspělo všech 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 2 laboratoře uvedly molekulárně biologické metody bez specifikace použitého systému). Dále byla také hojně využívána hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF (31,25 % laboratoří). Dvě laboratoře (1,25%) k identifikaci použily sekvenování. Všech 16 laboratoří v této sérii uspělo.

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

Konec závěrečné zprávy

Příloha 1 - tabulky

Tabulka 1. Výsledky EHK podle počtu dosažených bodů.

Body*	10
Počet laboratoří	16
(% laboratoří)	100

* limit (hranice úspěšnosti) = 10 bodů

Tabulka 2. Výsledky identifikace – počet laboratoří se správným výsledkem pro jednotlivé vzorky zařazené do EHK 1324 a jejich podíl z celkového počtu laboratoří přihlášených do této série EHK.

Vzorek	Identifikace
A	16 (100 %)
B	16 (100%)
C	16 (100 %)
D	16 (100 %)
E	16 (100 %)

Tabulka 3. Přehled metod identifikace používaných v zúčastněných laboratořích a rozložení správných a chybných výsledků v rámci těchto kategorií.

Metoda identifikace	počet laboratoří	správné stanovení*
GenoType	6 (37,5 %)	6 (100 %)
MALDI TOF	5 (31,25 %)	5 (100 %)
molekulárně biologická	4 (25 %)	4 (100 %)
kombinace metod	1 (6,25 %)	1 (100 %)
celkem	16 (100 %)	16 (100 %)

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

Tabulka 4. Přehled výsledků jednotlivých laboratoří.

EHK 1324: Identifikace rodu *Mycobacterium*

odesláno: 24. 1. 2023

uzávěrka: 4. 4. 2023

očekávané výsledky:

A – *M. tuberculosis* **B** – *M. fortuitum* **C** – *M. tuberculosis* **D** – *M. avium* **E** - *M. avium*

Poř. číslo	Kód	Identifikace správné určení	Charakter chyby	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	215	5x		10
9	317	5x		10
10	345	5x		10
11	369	5x		10
12	388	5x		10
13	456	5x		10
14	590	5x		10
15	760	5x		10
16	792	5x		10