



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/1-1/2021(EHK 1172)**

**Mikroskopie a kultivace 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	4
6.	Závěr	8
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/1-1/2021 byl zaměřen na ověření schopnosti účastníků provést detekci mykobakterií v simulovaných vzorcích biologického materiálu pomocí mikroskopie a kultivace.

Návrh a realizace PT#M/1-1/2021 byly prováděny podle standardních operačních postupů SOP M/1 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/1-1/2021**

Identifikace série:	EHK 1172
Název:	Mikroskopie a kultivace rodu <i>Mycobacterium</i>
Koordinátor:	Ing. Věra Dvořáková, Ph.D.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3
Podstata a účel PT/EHK:	Průkaz (detekce) mykobakterií v simulovaných vzorcích biologického materiálu pomocí mikroskopie a kultivace.
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 5 vzorků po 1,1 ml x 5 - rezerva 5 vzorků po 1,1 ml x 3 - testování v NRL/M
Označení vzorků:	EHK 1172, PT#M/1-1, 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:	37 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 ( <a href="http://www.szu.cz/zadavani-vysledku-ehk">http://www.szu.cz/zadavani-vysledku-ehk</a> )
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 (5 vzorků pro každou ze 36 přihlášených laboratoří + 5x rezervní vzorky + 3x vzorky pro testování v NRLM) a uložen v lednici. Zkuvky jsou dodávány Koordináčním pracovištěm (obsah 2ml, šroubovací uzávěr s těsněním). Pro série EHK 1172 a 1173 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 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. avium</i>	10 <sup>-3</sup>
B	<i>M. tuberculosis</i>	10 <sup>-2</sup>
C	negativní	čistý agar
D	<i>M. abscessus</i>	10 <sup>-3</sup>
E	<i>M. xenopi</i>	10 <sup>-3</sup>

## 4. Způsob hodnocení

Vzorky se hodnotí kvalitativně. Hodnocení vychází z výsledků testování v NRL/M dle SOP-NRL/M-01 a M-02. Při hodnocení jednotlivých laboratoří se porovnává výsledek dané laboratoře s výsledkem dosaženým při testování vzorků zařazených do EHK v NRL/M, který je vztahnou hodnotou. Testování se v NRL/M provádí (časově) souběžně s probíhajícím EHK v jednotlivých laboratořích.

### Přehled bodového hodnocení výsledků:

#### Maximální možný bodový zisk činil 20 bodů

- Správný výsledek mikroskopie, nebo kultivace = 2 body
- Falešná negativita mikroskopie, nebo kultivace = 0 bodů
- Falešná pozitivita mikroskopie, nebo kultivace = 0 bodů

## 5. Vyhodnocení

**Tabulka 1.** Charakter chyb mikroskopie a kultivace

Vzorek	Mikroskopie		Kultivace	
	Falešná pozitivita	Falešná negativita	Falešná pozitivita	Falešná negativita
<b>A</b>	X	X	X	X
<b>B</b>	X	X	X	X
<b>C</b>	X	X	<b>1</b>	X
<b>D</b>	X	X	X	<b>2</b>
<b>E</b>	X	X	X	X

**Výsledky vyšetření**

34 laboratoří získalo 20 bodů

3 laboratoře získaly 18 bodů

**Závěr**

Aritmetický průměr dosažených bodů se rovnal 19,8.

Limit (aritmetický průměr minus 2 směrodatné odchytky) činil 18,6.

Limit splnilo 34 (91,89 %) laboratoří, 3 laboratoře limit nesplnily.

**Tabulka 2.** Souhrny výsledků

Souhrnné výsledky mikroskopického a kultivačního vyšetření – počet laboratoří se správným výsledkem pro jednotlivé vzorky a jejich podíl z celkového počtu přihlášených laboratoří.

<b>Vzorek</b>	<b>Mikroskopie</b>	<b>Kultivace</b>
<b>A</b>	37 (100 %)	37 (100 %)
<b>B</b>	37 (100 %)	37 (100 %)
<b>C</b>	37 (100 %)	36 (97,3 %)
<b>D</b>	37 (100 %)	35 (94,6 %)
<b>E</b>	37 (100 %)	37 (100 %)

**Tabulka 3.** Výsledky EHK podle počtu dosažených bodů.

Body*	<b>20</b>	<b>18</b>
Počet laboratoří	34	3
(% laboratoří)	<b>91,9</b>	<b>8,1</b>

\* limit (hranice úspěšnosti) = 18,6 bodů

**Tabulka 4.** Přehled metod mikroskopie použitých zúčastněnými laboratořemi a rozložení správných výsledků a chyb (falešně pozitivních a falešně negativních výsledků) v rámci těchto kategorií.

Metoda mikroskopie	Počet laboratoří	<b>Správné určení*</b>	Falešně pozitivní*	Falešně negativní*
<b>Ziehl-Neelsenovo barvení</b>	17 (45,9 %)	<b>17 (100 %)</b>	0 (0 %)	0 (0 %)
<b>Fluorescenční mikroskopie</b>	20 (54,1 %)	<b>20 (100 %)</b>	0 (0 %)	0 (0 %)
<b>celkem</b>	37 (100 %)	<b>37 (100 %)</b>	0 (0 %)	0 (0 %)

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

**Tabulka 5.** Přehled hlavních metod dekontaminace a kultivace (typ média) používaných v přihlášených laboratořích a rozložení správných výsledků a chyb (falešně pozitivních a falešně negativních výsledků) v rámci těchto kategorií.

Metoda dekontaminace / Metoda kultivace	PETROFF	N-A-L-C	HCl + NaOH	Lauryl sulfát	celkem
Löwenstein-Jensen	17 (45,9 %)	7 (18,9 %)	2 (5,4 %)	3 (8,1 %)	29 (78,4 %)
<b>správné určení</b>	<b>16 (94,1 %)*</b>	<b>6 (85,7 %)*</b>	<b>1 (50 %)*</b>	<b>3 (100 %)*</b>	<b>26 (89,7 %)*</b>
falešně pozitivní	0 (0 %)*	0 (0 %)*	1 (50 %)*	0 (0 %)*	1 (3,4 %)*
falešně negativní	1 (5,9 %)*	1 (14,3 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	2 (6,9 %)*
Ogawa	6 (16,2 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	6 (16,2 %)
<b>správné určení</b>	<b>6 (100 %)*</b>	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	<b>6 (100 %)*</b>
falešně pozitivní	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*
falešně negativní	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*
Jiné	2 (5,4 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (5,4 %)
<b>správné určení</b>	<b>2 (100 %)*</b>	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	<b>2 (100 %)*</b>
falešně pozitivní	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*
falešně negativní	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*
celkem	25 (67,6 %)	7 (18,9 %)	2 (5,4 %)	3 (8,1 %)	37 (100%)

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

**Pozn.:** V případě, že laboratoř použila v rámci série více metod dekontaminace a / nebo kultivace, je započítána v kategorii, kde provedla nejvíce stanovení.

**Tabulka 6.** Přehled výsledků jednotlivých laboratoří.**EHK 1172 - Mikroskopie a kultivace rodu *Mycobacterium***

odesláno: 26. 1. 2021

uzávěrka: 6. 4. 2021

**Očekávané výsledky:****A** – pozitivní **B** – pozitivní **C** – negativní **D** – pozitivní **E** – pozitivní

Poř. číslo	Kód	Mikroskopie správné určení	Charakter chyby (fal. poz. / fal. neg.)	Kultivace správné určení	Charakter chyby (fal. poz. / fal. neg.)	Σ BODŮ
1	9	5x		5x		20
2	17	5x		5x		20
3	28	5x		5x		20
4	32	5x		5x		20
5	39	5x		5x		20
6	47	5x		5x		20
7	51	5x		5x		20
8	55	5x		5x		20
9	58	5x		5x		20
10	61	5x		5x		20
11	64	5x		5x		20
12	65	5x		5x		20
13	66	5x		5x		20
14	71	5x		5x		20
15	89	5x		5x		20
16	156	5x		5x		20
17	184	5x		5x		20
18	192	5x		5x		20
19	207	5x		4x	falešně pozitivní	18
20	208	5x		4x	falešně negativní	18
21	214	5x		5x		20
22	215	5x		5x		20
23	228	5x		5x		20
24	290	5x		5x		20
25	317	5x		5x		18
26	324	5x		5x		20
27	333	5x		5x		20
28	341	5x		5x		20
29	345	5x		5x		20
30	369	5x		5x		20
31	370	5x		5x		20
32	388	5x		5x		20
33	407	5x		4x	falešně negativní	18
34	456	5x		5x		20
35	590	5x		5x		20
36	760	5x		5x		20
37	792	5x		5x		20

## 6. Závěr

Série EHK 1172 zaměřené na správné určení přítomnosti mykobakterií ve vzorcích simulovaného biologického materiálu za použití mikroskopie a kultivace se zúčastnilo 37 laboratoří.

Nadpoloviční většina laboratoří využívá fluorescenční mikroskopii (54,1 %), zbytek laboratoří provádí mikroskopii pomocí Ziehl-Neelsenova barvení (45,9 %). Všechny laboratoře v části mikroskopie uspěly.

Nejčastěji využívanou metodou dekontaminace v zúčastněných laboratořích je metoda PETROFF (67,6% laboratoří), nejběžnějším používaným médiem pro kultivaci pak Löwenstein-Jensenova vaječná půda (78,4 %). Celkem 34 laboratoří uspělo v části kultivace, 3 laboratoře v této části neuspěly. Jedna laboratoř vyhodnotila výsledek kultivace jako falešně pozitivní, dvě laboratoře jako falešně negativní. Všechny chybné výsledky se vyskytovaly u laboratoří využívajících ke kultivaci Löwenstein-Jensenovu půdu, avšak použité metody dekontaminace se u chybujících laboratoří lišily (viz Tabulka 6.).

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