



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/1-1/2022(EHK 1247)**

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

Program zkoušení způsobilosti PT#M/1-1/2022 byl zaměřen na ověření schopnosti účastníků provést detekci mykobakterií v simulovaných vzorcích biologického materiálu pomocí mikroskopie a kultivace.

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

Identifikace cyklu:	EHK 1247
Název:	Mikroskopie a kultivace rodu <i>Mycobacterium</i>
Koordinátor:	Ing. Věra Dvořáková, Ph.D.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3 této závěrečné zprávy.
Podstata a účel PT:	Průkaz (detekce) mykobakterií v simulovaných vzorcích biologického materiálu pomocí mikroskopie a kultivace.
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 43 vzorků: 5 vzorků po 1,1 ml pro 37 laboratoří přihlášených v řádném termínu 5 vzorků po 1,1 ml x 3 - rezerva 5 vzorků po 1,1 ml x 3 - testování v NRL/M
Označení vzorkovnic:	EHK 1247, PT#M/1-1, 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 agaru OXOID 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:	38
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:	<u>Mikroskopie</u> : pozitivita (přítomnost acidorezistentních tyčinek příslušníků rodu <i>Mycobacterium</i> ve vzorku) x negativita <u>Kultivace</u> : pozitivita (pozitivní kultivace kultury mykobakterií rodu <i>Mycobacterium</i> ve zvoleném médiu) x negativita 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 přípravě půd bylo dne 18. 1. 2022 připraveno 750 ml sterilního 0,3% agaru OXOID se 3,5 ml sterilizované koncentrované Šulovy půdy. Agar byl rozpuštěn po 1 ml do 5 x 43 sterilních plastových mikrozkušavek / eppendorfek (5 vzorků pro každou z 37 přihlášených laboratoří, 1 laboratoř se přihlásila později a byl jí zaslán vzorek z rezervy + 3x rezervní vzorky + 3x vzorky pro testování v NRLM) a uložen v lednici. Zkušavky jsou dodávány Koordinačním pracovištěm (objem 2 ml, šroubovací uzávěr s těsněním). Pro sérii EHK 1247 byly vybrány kultury *M. tuberculosis* a *M. xenopi*, které jsme otestovali 8. 12. 2021, 7. 1. 2022 a 11. 1. 2022 metodou GenoType, zda se jedná o čisté kultury. Dne 20. 1. 2022 bylo do jednotlivých eppendorfek s agarem přidáno po 0,1 ml kultury mykobakterií (*M. tuberculosis* evid. č. 450/21 a 454/21, *M. xenopi* evid. č. 595/21) nebo destilované H<sub>2</sub>O. Všechny vzorky byly zajištěny parafilmovou fólií, uloženy do krabiček označených A – E a uschovány v lednici. Vzorky byly 24. 1. 2022 předány pracovním koordinačního pracoviště ESPT 2 k rozdělení a distribuci do jednotlivých laboratoří. Jedna sada vzorků byla současně testována v NRL/M pro zabezpečení kvality vzorku.

## 3. Charakteristika materiálu

A	negativní	čistý agar
B	<i>M. tuberculosis</i>	10 <sup>-2</sup>
C	negativní	čistý agar
D	<i>M. tuberculosis</i>	10 <sup>-2</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	X	X
<b>D</b>	X	X	X	X
<b>E</b>	X	X	X	X

**Výsledky vyšetření**

38 laboratoří získalo 20 bodů

**Závěr**

Aritmetický průměr dosažených bodů se rovnal 20.

Limit (aritmetický průměr minus 2 směrodatné odchylky) činil 20 bodů.

Limit splnilo všech 38 (100 %) laboratoří.

**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>	38 (100 %)	38 (100 %)
<b>B</b>	38 (100 %)	38 (100 %)
<b>C</b>	38 (100 %)	38 (100 %)
<b>D</b>	38 (100 %)	38 (100 %)
<b>E</b>	38 (100 %)	38 (100 %)

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

Body*	<b>20</b>
Počet laboratoří	38
(% laboratoří)	<b>100</b>

\* limit (hranice úspěšnosti) = 20 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>	20 (52,6 %)	<b>20 (100 %)</b>	0 (0 %)	0 (0 %)
<b>Fluorescenční mikroskopie</b>	18 (47,4 %)	<b>18 (100 %)</b>	0 (0 %)	0 (0 %)
<b>celkem</b>	38 (100 %)	<b>38 (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 <b>správné určení</b>	10 (26,3 %)	4 (10,5 %)	2 (5,3 %)	2 (5,3 %)	18 (47,4 %)
falešně pozitivní	<b>10 (100 %)*</b>	<b>4 (100 %)*</b>	<b>2 (100 %)*</b>	<b>2 (100 %)*</b>	<b>18 (47,4 %)*</b>
falešně negativní	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*
Ogawa <b>správné určení</b>	5 (13,2 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	5 (13,2 %)
falešně pozitivní	<b>5 (100 %)*</b>	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	<b>5 (100 %)*</b>
falešně negativní	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*
Šulova půda <b>správné určení</b>	1 (2,6 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2,6 %)
falešně pozitivní	<b>1 (100 %)*</b>	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	<b>1 (100 %)*</b>
falešně negativní	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*
Kombinace metod** <b>správné určení</b>	9 (23,7 %)	3 (7,9 %)	1 (2,6 %)	1 (2,6 %)	14 (36,8 %)
falešně pozitivní	<b>9 (100 %)*</b>	<b>3 (100 %)*</b>	<b>1 (100 %)*</b>	<b>1 (100 %)*</b>	<b>14 (100 %)*</b>
falešně negativní	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*
celkem	25 (65,8 %)	7 (18,4 %)	3 (7,9 %)	3 (8,1 %)	38 (100%)

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

\*\* některé laboratoře výslovně uvedly, že pro kultivaci využívají kombinaci několika metod, nejčastěji se jednalo o kombiaci L-J půdy, půdy Ogawovy a Šulovy půdy, případně půdy Middlebrook 7h9 nebo také kultivace v systému Bactec MGIT

**Tabulka 6.** Přehled výsledků jednotlivých laboratoří.**EHK 1247 - Mikroskopie a kultivace rodu *Mycobacterium***

odesláno: 25. 1. 2022

uzávěrka: 5. 4. 2022

**Očekávané výsledky:****A** – negativní **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	34	5x		5x		20
6	39	5x		5x		20
7	47	5x		5x		20
8	51	5x		5x		20
9	55	5x		5x		20
10	58	5x		5x		20
11	61	5x		5x		20
12	64	5x		5x		20
13	65	5x		5x		20
14	66	5x		5x		20
15	71	5x		5x		20
16	89	5x		5x		20
17	156	5x		5x		20
18	184	5x		5x		20
19	192	5x		5x		20
20	207	5x		5x		20
21	208	5x		5x		20
22	214	5x		5x		20
23	215	5x		5x		20
24	228	5x		5x		20
25	290	5x		5x		20
26	317	5x		5x		20
27	324	5x		5x		20
28	333	5x		5x		20
29	341	5x		5x		20
30	345	5x		5x		20
31	369	5x		5x		20
32	370	5x		5x		20
33	407	5x		5x		20
34	409	5x		5x		20
35	456	5x		5x		20
36	590	5x		5x		20
37	760	5x		5x		20
38	792	5x		5x		20

## 6. Závěr

EHK 1247 zaměřeného na správné určení přítomnosti mykobakterií ve vzorcích simulovaného biologického materiálu za použití mikroskopie a kultivace se zúčastnilo 38 laboratoří.

V letošním roce 20 z 38 laboratoří využilo Ziehl-Neelsenovo barvení (52,6 %), zbytek laboratoří provedl mikroskopii fluorescenční (46,4 %). Všechny laboratoře v části mikroskopie uspěly.

Nejčastěji využívanou metodou dekontaminace v zúčastněných laboratořích je metoda PETROFF (25 z 38 přihlášených laboratoří, tj. 65,8 %), nejběžnějším používaným médiem pro kultivaci pak Löwenstein-Jensenova vaječná půda. Tuto půdu využívá 47,4 % přihlášených laboratoří a dalších více než 38 % laboratoří využívá Löwenstein-Jensenovu půdu v kombinaci s dalšími metodami kultivace. Všechny laboratoře v části kultivace uspěly.

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamace použijte prosím také webovou aplikaci SZÚ: <http://ehk.szu.cz/EHK10/>  
Informace o změnách v objednávání opravných sérií a zadávání reklamací naleznete na webových stránkách SZÚ: <http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>)

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY