



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/1-1/2024 (EHK 1379)

Mikroskopie a kultivace rodu *Mycobacterium*

Praha, červen 2024

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	6

Program zkoušení způsobilosti PT#M/1-1/2024 je zaměřen na ověření schopnosti účastníků provést detekci mykobakterií v simulovaných vzorcích biologického materiálu pomocí mikroskopie a kultivace.

Návrh a realizace PT#M/1-1/2024 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 Hromádková a Ing. Věra Dvořáková, Ph.D. (NRL pro mykobakterie, SZÚ Praha)

Zprávu autorizoval:

Ing. Dvořáková, Ph.D.

Tel: 267 082 424

Dne: 19. 6. 2024

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/1-1/2024

Identifikace cyklu:	EHK 1379
Název PT:	Mikroskopie a kultivace rodu <i>Mycobacterium</i>
Koordinátor:	Ing. Věra Dvořáková, Ph.D.
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.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3 závěrečné zprávy.
Hodnocené ukazatele:	Mikroskopie: pozitivita (přítomnost acidorezistentních tyčinek příslušníků rodu <i>Mycobacterium</i> ve vzorku) x negativita Kultivace: pozitivita (pozitivní kultivace kultury mykobakterií rodu <i>Mycobacterium</i> ve zvoleném médiu) x negativita
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Počet účastníků:	37
Termín distribuce vzorků:	23. 1. 2024
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	2. 4. 2024
Označení vzorkovnic:	EHK 1379, PT#M/1-1, č. 1 – 5, 23. 1. 2024
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:	12. 4. 2024
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 25. 6. 2024

2. Způsob přípravy vzorků

2.1 Postup přípravy výchozího materiálu

V přípravě půd bylo dne 16. 1. 2024 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 45 sterilních plastových mikroskopavek / eppendorfek (5 vzorků pro každou z 37 přihlášených laboratoří + 5x rezervní vzorky + 3x vzorky pro testování v NRLM) a uložen v lednici. Zkumavky jsou dodávány Koordinačním pracovištěm (objem 2 ml, šroubovací uzávěr s těsněním). Pro sérii EHK 1379 byla vybrána kultura *M. tuberculosis*, kterou jsme otestovali 9. 1. 2024, 10. 1. 2024 a 29. 1. 2024 metodou GenoType, zda se jedná o čistou kulturu.

2.2 Zabezpečení kvality výchozího materiálu, homogenita a stabilita

- Kontrola čistoty kultury použitých mykobakteriálních species molekulárními metodami založenými na hybridizaci (GenoType) a to celkem 3x - po vybrání kultury pro sérii EHK, 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

Dne 17. 1. 2024 bylo do jednotlivých eppendorfek s agarem přidáno po 0,1 ml kultury mykobakterií (*M. tuberculosis* evid. Č. 444/23) nebo destilované H₂O dle schématu v kapitole 3. Všechny vzorky byly zajištěny parafilmovou fólií, uloženy do krabiček označených A – E a uschovány v lednici. Vzorky byly 22. 1. 2024 předány pracovním koordináčním 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	<i>M. tuberculosis</i> 58/24 (444/23 evid.č.)	10 ⁻²
B	<i>M. tuberculosis</i> 59/24 (444/23 evid.č.)	10 ⁻²
C	Negativní 60/24	destilovaná H ₂ O
D	Negativní 61/24	destilovaná H ₂ O
E	<i>M. tuberculosis</i> 62/24 (444/23 evid.č.)	10 ⁻²

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 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

Všech 36 zúčastněných laboratoří získalo 20 bodů.
Aritmetický průměr dosažených bodů se rovnal 20 bodů.
Limit (aritmetický průměr minus 2 směrodatné odchytky) činil 20 bodů.

Limit splnilo 36 (100 %) laboratoří. Jedna laboratoř výsledky nedodala.

6. Závěr

EHK 1379 - Mikroskopie a kultivace rodu *Mycobacterium* se zúčastnilo 37 laboratoří, jedna laboratoř výsledky nedodala.
Uspělo 36 laboratoří.

V letošním roce většina laboratoří (17 ze 36, tedy 47 %) použila fluorescenční mikroskopii, zbývající laboratoře použily Ziehl-Neelsenovo barvení.

Nejčastěji využívanou metodou dekontaminace v zúčastněných laboratořích je metoda PETROFF (23 z 36 přihlášených laboratoří, tj. 63,9 %), nejběžnějším používaným médiem pro kultivaci je pak Löwenstein-Jensenova vaječná půda. Tuto půdu využilo 63,9 % přihlášených laboratoří.

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*	20
Počet laboratoří	36
(% laboratoří)	100

* limit (hranice úspěšnosti) = 20 bodů

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.

Vzorek	Mikroskopie	Kultivace
A	36 (100 %)	36 (100 %)
B	36 (100 %)	36 (100 %)
C	36 (100 %)	36 (100 %)
D	36 (100 %)	36 (100 %)
E	36 (100 %)	36 (100 %)

Tabulka 3. Charakter chyb mikroskopie a kultivace

Vzorek	Mikroskopie		Kultivace	
	Falešná pozitivita	Falešná negativita	Falešná pozitivita	Falešná negativita
A	X	X	X	X
B	X	X	X	X
C	X	X	X	X
D	X	X	X	X
E	X	X	X	X

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

Metoda mikroskopie	Počet laboratoří	Správné určení*	Falešně pozitivní*	Falešně negativní*
Ziehl-Neelsenovo barvení	19 (53 %)	19 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Fluorescenční mikroskopie	17 (47 %)	17 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
celkem	36 (100 %)	36 (100 %)	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 v části kultivace.

Metoda dekontaminace / Metoda kultivace	PETROFF	N-A-L-C	HCl + NaOH	Lauryl sulfát	celkem
Löwenstein-Jensen správné určení	15 (43,2 %)	4 (10,8 %)	3 (8,1 %)	1 (2,7 %)	23 (64,8 %)
falešně pozitivní	15 (100 %)*	4 (100 %)*	3 (100 %)*	1 (100 %)*	23 (100 %)*
falešně negativní	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*
Ogawa správné určení	2 (5,4 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2,7 %)	3 (8,1 %)
falešně pozitivní	2 (100 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	1 (100 %)*	3 (100 %)*
falešně negativní	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*
Middlebrook 7h10 správné určení	1 (2,7 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2,7 %)
falešně pozitivní	1 (100 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	1 (100 %)*
falešně negativní	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*
MGIT správné určení	1 (2,7 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2,7 %)
falešně pozitivní	1 (100 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	1 (100 %)*
falešně negativní	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*
Kombinace metod** správné určení	4 (10,8 %)	3 (8,1 %)	0 (0 %)	1 (2,7 %)	8 (21,6 %)
falešně pozitivní	4 (100 %)*	3 (100 %)*	0 (0 %)*	1 (100 %)*	8 (100 %)*
falešně negativní	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*	0 (0 %)*
celkem	23 (64,8 %)	7 (18,9 %)	3 (8,1 %)	3 (8,1 %)	36 (100%)

* procenta udávají podíl počtu laboratořích se správným / chybným výsledkem z počtu laboratořích 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 7h10 nebo také kultivace v systému Bactec MGIT

Tabulka 6. Přehled výsledků jednotlivých laboratoří.**EHK 1379 - Mikroskopie a kultivace rodu *Mycobacterium***

odesláno: 23. 1. 2024

uzávěrka: 2. 4. 2024

Očekávané výsledky:**A** – pozitivní **B** – pozitivní **C** – negativní **D** – negativní **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	009	5x		5x		20
2	017	5x		5x		20
3	028	5x		5x		20
4	032	5x		5x		20
5	039	5x		5x		20
6	047	5x		5x		20
7	051	5x		5x		20
8	055	5x		5x		20
9	058	5x		5x		20
10	061	5x		5x		20
11	064	5x		5x		20
12	065	5x		5x		20
13	066	5x		5x		20
14	071	5x		5x		20
15	089	5x		5x		20
16	156	5x		5x		20
17	184	5x		5x		20
18	192	5x		5x		20
19	207	5x		5x		20
20	208	5x		5x		20
21	214	5x		5x		20
22	215	5x		5x		20
23	228	5x		5x		20
24	290	5x		5x		20
25	317	5x		5x		20
26	324	5x		5x		20
27	333	5x		5x		20
28	341	5x		5x		20
29	369	5x		5x		20
30	370	5x		5x		20
31	388	5x		5x		20
32	407	5x		5x		20
33	456	5x		5x		20
34	590	5x		5x		20
35	760	5x		5x		20
36	792	5x		5x		20