



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/1-2/2024 (EHK 1380)**

**Identifikace 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/1-2/2024 určený pro laboratoře provádějící identifikaci rodu *Mycobacterium* byl zaměřen na ověření schopnosti účastníků provést správné určení mykobakteriální species.

Návrh a realizace PT#M/1-2/2024 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. Věra 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/1-2/2024**

Identifikace cyklu:	EHK 1380
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:	17
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 1380, PT#M/1-2/2024, 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 25 sterilních plastových mikrozkuvek / eppendorfek (5 vzorků pro každou ze 17 přihlášených laboratoří + 5x rezervní vzorky + 3x vzorky pro testování v NRLM) a uložen v lednici. Zkuvky jsou dodávány Koordinačním pracovištěm (obsah 2ml, šroubovací uzávěr s těsněním). Pro sérii EHK 1380 byly vybrány kultury *M. intracellulare*, *M. avium*, *M. chimaera*, *M. abscessus* a *M. tuberculosis*, které jsme otestovali 9. 1. 2024, 10. 1. 2024 a 29. 1. 2024 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

17. 1. 2024 bylo do jednotlivých eppendorfek s agarem přidáno po 0,1 ml kultury mykobakterií (*M. intracellulare* ev. č. 588/22, *M. avium* ev. č. 679/23, *M. chimaera* ev.č. 678/23, *M. abscessus* ev.č.677/23 a *M. tuberculosis* ev. č. 444/23) dle schématu v kapitole 3. Všechny vzorky byly zajištěny parafilmovou fólií a uloženy do krabiček označených A – E a uschovány v lednici. 22. 1. 2024 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 1380

A	<i>M. intracellulare</i> 63/24 (evid.č. 588/22)	10 <sup>-3</sup>
B	<i>M. avium</i> 64/23 (evid.č. 679/23)	10 <sup>-3</sup>
C	<i>M. chimaera</i> 65/24 (evid.č. 678/23)	10 <sup>-3</sup>
D	<i>M. abscessus</i> 66/24 (evid.č. 679/23)	10 <sup>-3</sup>
E	<i>M. tuberculosis</i> 67/24 (27/23 evid.č.)	10 <sup>-2</sup>

## 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**

2 laboratoře získaly 10 bodů.

12 laboratoří získalo 8 bodů.

1 laboratoř získala 6 bodů.

Aritmetický průměr dosažených bodů se rovnal 8,13.

Limit (aritmetický průměr minus 2 směrodatné odchytky) činil 6,36 bodů.

Limit splnilo 14 (93,33 %) laboratoří.

**6. Závěr**

EHK 1380 – Identifikace rodu *Mycobacterium* se zúčastnilo 17 laboratoří, výsledky nedodaly 2 laboratoře.

Uspělo 14 laboratoří.

Nejčastěji využívanou metodou identifikace v zúčastněných laboratořích byla molekulárně biologická metoda založená na hybridizaci za použití komerčního kitu GenoType (Hain; 40 % laboratoří). Dále byla také hojně využívána hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF (26,67 % laboratoří). 14 laboratoří v této sérii uspělo, 1 laboratoř neuspěla.

Laboratoře, které neuspěly, si mohou objednat edukativní vzorky prostřednictvím webové aplikace SZÚ, a to do 30 dnů po obdržení svých výsledků. Výsledky edukativních vzorků nebudou mít vliv na opravu předchozího neúspěšného výsledku v rámci EHK a slouží pouze jako podklad pro vyřešení případné neshodné práce v laboratoři.

Edukativní vzorky laboratoř obdrží obvyklou cestou v co nejkratším termínu po objednání.

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*	<b>10</b>	<b>8</b>	<b>6</b>
Počet laboratoří	2	12	1
(% laboratoří)	<b>13,3</b>	<b>80</b>	<b>6,67</b>

\* limit (hranice úspěšnosti) = 6,36 bodů

**Tabulka 2.** Výsledky identifikace – počet laboratoří se správným výsledkem pro jednotlivé vzorky zařazené do EHK 1380 a jejich podíl z celkového počtu laboratoří přihlášených do této série EHK.

Vzorek	Identifikace
<b>A</b>	<b>13</b> (86,67 %)
<b>B</b>	<b>15</b> (100%)
<b>C</b>	<b>5</b> (33,33 %)
<b>D</b>	<b>13</b> (86,67 %)
<b>E</b>	<b>15</b> (100 %)

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

Metoda identifikace	počet laboratoří
<b>GenoType</b>	6 (40%)
<b>MALDI TOF</b>	4 (26,67%)
<b>molekulárně biologická</b>	3 (20 %)
<b>klasická</b>	1 (6,67 %)
<b>kombinace metod</b>	1 (6,67%)
<b>celkem</b>	15 (100 %)

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

**Tabulka 4.** Přehled výsledků jednotlivých laboratoří.**EHK 1380: Identifikace rodu *Mycobacterium***

odesláno: 23. 1. 2024

uzávěrka: 2. 4. 2024

**očekávané výsledky:****A** – *M. intracellulare* **B** – *M. avium* **C** – *M. chimaera* **D** – *M. abscessus* **E** - *M. tuberculosis*

Poř. číslo	Kód	Identifikace správné určení	Charakter chyby	Σ BODŮ
1	28	4x	záměna <i>M.chimaera</i> za <i>M.intracellulare</i>	8
2	32	4x	záměna <i>M.intracellulare</i> za <i>M.chimaerae</i>	8
3	61	4x	záměna <i>M.chimaera</i> za <i>M.intracellulare</i>	8
4	65	4x	záměna <i>M.chimaera</i> za <i>M.intracellulare</i>	8
5	71	4x	záměna <i>M.chimaera</i> za <i>M.intracellulare</i>	8
6	208	4x	záměna <i>M.chimaera</i> za <i>M.intracellulare</i>	8
7	211	4x	záměna <i>M.species</i> za <i>M.abscessus</i>	8
8	215	4x	záměna <i>M.chimaera</i> za <i>M.intracellulare</i>	8
9	317	4x	záměna <i>M.chimaera</i> za <i>M.intracellulare</i>	8
10	369	4x	záměna <i>M.chimaera</i> za <i>M.intracellulare</i>	8
11	388	5x		10
12	456	3x	záměna <i>M.chimaera</i> za <i>M.intracellulare</i> záměna <i>M.chelonae</i> za <i>M.abscessus</i>	6 neuspěla
13	590	5x		10
14	760	4x	záměna <i>M.intracellulare</i> za <i>M.chimaerae</i>	8
15	792	4x	záměna <i>M.chimaera</i> za <i>M.intracellulare</i>	8