



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Odborně způsobilý poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001TC posouzený ČIA
podle ČSN EN ISO/IEC 17043:2023
Šrobárova 49/48, 100 00, Praha 10

Závěrečná zpráva

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii
(Externí hodnocení kvality)

PT#M/1-2/2025 (EHK 1454)

Identifikace rodu *Mycobacterium*

Praha, červen 2025

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/1-2/2025 určený pro laboratoře provádějící identifikaci rodu *Mycobacterium* byl zaměřen na ověření schopnosti účastníků provést správné určení mykobakteriální species.

Návrh a realizace PT#M/1-2/2025 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).

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: 2. 6. 2025

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/1-2/2025

Identifikace cyklu:	EHK 1454
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:	Rutině 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:	21. 1. 2025
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	1. 4. 2025
Označení vzorkovnic:	EHK 1454, PT#M/1-2/2025, č. 1-5, 21. 1. 2025
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:	7. 4. 2025
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 24. 6. 2025

2. Způsob přípravy vzorků

2.1 Postup přípravy výchozího materiálu

V přípravně půd bylo dne 10. 1. 2025 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 24 sterilních plastových mikrozkupek / eppendorfek (5 vzorků pro každou ze 16 přihlášených laboratoří + 5x rezervní vzorky + 3x vzorky pro testování v NRLM) a uložen v lednici. Zkumavky jsou dodávány Koordinačním pracovištěm (obsah 2ml, šroubovací uzávěr s těsněním). Pro sérii EHK 1454 byly vybrány kultury *M. celatum*, *M. kansasii*, *M. bovis* BCG, *M. abscessus ssp. abscessus* a *M. tuberculosis*, které jsme otestovali 9. 1. 2025, 10. 1. 2025 a 29. 1. 2025 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

13. 1. 2025 bylo do jednotlivých eppendorfek s agarem přidáno po 0,1 ml kultury mykobakterií dle schématu v kapitole 3. Všechny vzorky byly zajištěny parafilmovou fólií a uloženy do krabiček označených A – E a uschovány v lednici. 21. 1. 2025 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 1454

Tabulka 1 Schéma rozplnění výchozího materiálu pro EHK 1454

A	<i>M. celatum</i> 55/25 (evid. č. 762/24)	10 ⁻³
B	<i>M. kansasii</i> 56/25 (evid. č. 768/24)	10 ⁻³
C	<i>M. bovis</i> BCG57/25 (evid. č. 672/24)	10 ⁻²
D	<i>M. abscessus ssp. abscessus</i> 58/25 (evid. č. 690/24)	10 ⁻³
E	<i>M. tuberculosis</i> 59/25 (evid. č. 825/24)	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 10 bodů**

- Správný výsledek identifikace = 2 body
- Chybný výsledek identifikace = 0 bodů

5. Vyhodnocení

13 laboratoří získalo 10 bodů.

2 laboratoře získaly 8 bodů.

1 laboratoř získala 4 body.

Aritmetický průměr dosažených bodů se rovnal 9,73.

Limit (aritmetický průměr minus 2 směrodatné odchylky) činil 8,37 bodů.

Limit splnilo 15 (93,75 %) laboratoří.

6. Závěr

Celkově se do EHK zapojilo 16 laboratoří. Hranice úspěšnosti byla stanovena na 8,37 bodu. Tento limit splnilo 15 laboratoří (93,75 %), přičemž 13 laboratoří (81,25 %) získalo plný počet bodů (10), dvě laboratoře dosáhly 8 bodů (12,5 %) a jedna laboratoř pouze 4 body (6,25 %), což znamená, že v EHK neuspěla.

Ve všech pěti testovaných vzorcích byla správná identifikace dosažena ve vysokém počtu případů – u vzorku C ve 100 % laboratoří, u ostatních vzorků v 93,75 %. To svědčí o velmi dobré celkové úrovni identifikace rodu *Mycobacterium* napříč zúčastněnými laboratořemi.

Z hlediska použitých metod bylo nejčastěji využito MALDI TOF (9 laboratoří), následované metodou GenoType (8 laboratoří) a molekulárně biologickými metodami (3 laboratoře). Některé laboratoře používaly více metod současně.

Laboratoře 211, 590 a 792 použily u chybné identifikace následující metody:

- Laboratoř 211 – molekulárně biologická metoda, výsledek: **neúspěšná** (4 body), více chybných identifikací, neprovedena identifikace v rámci rodu *Mycobacterium* (záměna *M. celatum*, *kansasii* a *abscessus* za *M. species*).
- Laboratoř 590 – metoda GenoType, výsledek: **8 bodů**, závažná chyba (záměna *M. tuberculosis* za *M. abscessus*).
- Laboratoř 792 – metoda GenoType, výsledek: **8 bodů**, chyba v určení – dílčí chyba *M. celatum*.

Tyto výsledky ukazují, že použití moderních metod nezaručuje automaticky bezchybnou identifikaci. Významnou roli hraje správná interpretace výstupů a zkušenosti s danými nástroji. Chyby v laboratořích 211, 590 a 792 ukazují na potřebu pečlivé validace metod a školení personálu, především při práci s druhy s podobným fenotypem nebo genotypem.

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*	10	8	4
Počet laboratoří	13	2	1
(% laboratoří)	81,25	12,5	6,25

* limit (hranice úspěšnosti) = 8,37 bodů

Tabulka 2. Výsledky identifikace – počet laboratoří se správným výsledkem pro jednotlivé vzorky zařazené do EHK 1454 a jejich podíl z celkového počtu laboratoří přihlášených do této série EHK.

Vzorek	Identifikace
A	15 (93,75 %)
B	15 (93,75 %)
C	16 (100 %)
D	15 (93,75 %)
E	15 (93,75 %)

Tabulka 3. Přehled metod identifikace používaných v zúčastněných laboratořích.

Metoda identifikace	počet laboratoří
GenoType	8
MALDI TOF	9
molekulárně biologická	3

Tabulka 4. Přehled výsledků jednotlivých laboratoří.

EHK 1454: Identifikace rodu *Mycobacterium*

odesláno: 23. 1. 2025

uzávěrka: 2. 4. 2025

očekávané výsledky:

A – *M. celatum* **B** – *M. kansasii* **C** – *M. bovis* BCG/*M. tuberculosis* complex **D** – *M. abscessus*/*M. abscessus abscessus* **E** – *M. tuberculosis*/*M. tuberculosis* complex

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	211	2x	záměna <i>M. celatum</i> , <i>kansasii</i> a <i>abscessus</i> za <i>M. species</i>	4 neuspěl a
9	215	5x	-	10
10	317	5x	-	10
11	369	5x	-	10
12	388	5x		10
13	456	5x	-	10
14	590	4x	Záměna <i>M. tuberculosis</i> za <i>M. abscessus</i>	8
15	760	5x	-	10
16	792	4x	záměna <i>M. celatum</i> za <i>M. species</i>	8