



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001 akreditovaný 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/1-1/2026 (EHK 1537)

Mikroskopie a kultivace rodu *Mycobacterium*

Praha, červen 2026

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	7

Program zkoušení způsobilosti PT#M/1-1/2026 byl zaměřen na ověření schopnosti účastníků provést detekci mykobakterií v simulovaných vzorcích biologického materiálu pomocí mikroskopie a kultivace.

Návrh a realizace PT#M/1-1/2026 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 bylo zacházeno jako s důvěrnými a nebyly 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. Věra Dvořáková, Ph.D. (NRL pro mykobakterie, SZÚ Praha)

Zprávu autorizoval:

Ing. Dvořáková, Ph.D.

Tel: 267 082 424

Dne: 26.05.2026

Pracoviště 2 ESPT

<https://szu.gov.cz/sluzby/zkouseni-zpusobilosti/zkouseni-zpusobilosti-pro-lekarskou-mikrobiologii/>

e-mail: ehk@szu.gov.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT#M/1-1/2026

Identifikace cyklu:	EHK 1537
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:	A - Destilovaná H ₂ O B - <i>M. tuberculosis</i> (evid. č. 796/25) C - Destilovaná H ₂ O D - <i>M. avium</i> (evid. č. 776/25) E - Destilovaná H ₂ O
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:	Byl připraven sterilní 0,3% agar OXOID se sterilizovanou koncentrovanou Šulovou půdou. Následně bylo do jednotlivých zkumavek eppendorf s agarem přidáno po 0,1 ml kultury mykobakterií (<i>M. tuberculosis</i> , evid. č. 796/25, <i>M. avium</i> , evid.č. 776/25 otestované pomocí metody GenoType) nebo destilované H ₂ O.
Počet účastníků	35
Termín distribuce vzorků:	20. 1. 2026
Informace účastníkům:	Viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	31. 3. 2026
Označení vzorkovnic:	EHK 1537, PT#M/1-1, č. 1 – 5, 20. 01. 2026
Zabezpečení jakosti vzorku včetně testu homogenity a stability:	Kontrola čistoty kultury metodou GenoType před a po distribuci vzorků do přihlášených laboratoří, kontrola sterility agaru OXOID, testování kontrolních vzorků akreditovanými metodami dle schválených SOP koordinátora EHK (souběžně s testováním, které provádí přihlášené laboratoře)
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe
Způsob vyhodnocení výsledků:	Vzorky byly hodnoceny kvalitativně. Při hodnocení se vycházelo z výsledků testování v NRL/M dle SOP-NRL/M-01. Při hodnocení jednotlivých laboratoří byl porovnáván výsledek dané laboratoře s výsledkem dosaženým při testování vzorků zařazených do EHK v NRL (tyto výsledky jsou vztažné hodnoty), které se v NRL provádělo (časově) souběžně s probíhajícím EHK v jednotlivých laboratořích. Účastník s hrubou chybou byl vyřazen ze statistického hodnocení a byl hodnocen jako „neuspěl“. Maximální možný bodový zisk v každém kole EHK činil 8 bodů za každý vzorek - správné určení 2 body, špatné určení 0 bodů.

	Laboratoř úspěšně absolvovala kolo EHK, pokud dosáhla 80% z maxima bodů.
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Vztažnou hodnotou byl výsledek dosažený při testování vzorků zařazených do EHK v NRL/M, které se provádělo (časově) souběžně s probíhajícím EHK v jednotlivých laboratořích.
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	08. 04. 2026
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 23. 6. 2026

2. Způsob přípravy vzorků

2.1 Postup přípravy výchozího materiálu

V přípravě půd bylo dne 13. 1. 2026 připraveno 750 ml sterilního 0,3% agaru OXOID se 3,75 ml sterilizované koncentrované Šulovy půdy. Agar byl rozplněn po 1 ml do 5 x 42 sterilních plastových mikrozkušavek / eppendorfek (5 vzorků pro každou z 34 přihlášených laboratoří + 5 sad rezervních vzorků + 3 sady vzorků pro testování v NRLM) a uložen v lednici. Zkušavky byly dodávány Koordinačním pracovištěm (obsah 2 ml, šroubovací uzávěr s těsněním). Pro sérii EHK 1537 byly vybrány kultury *M. tuberculosis* a *M. avium*, jejichž čistota byla otestována 12. 1. 2026, 16. 1. 2026 a 29. 1. 2026 metodou GenoType.

2.2 Zabezpečení kvality výchozího materiálu, homogenita a stabilita

- Kontrola čistoty kultur *M. tuberculosis* a *M. avium* 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 prováděly přihlášené laboratoře)

2.3 Rozplnění výchozího materiálu

Dne 15. 1. 2026 bylo do jednotlivých eppendorfek s agarem přidáno po 0,1 ml kultury mykobakterií (*M. tuberculosis* evid. č. 796/25, *M. avium* evid. č. 776/25) nebo stejný objem destilované H₂O dle schématu níže. Všechny vzorky byly zajištěny parafilmovou fólií, uloženy do krabiček označených A – E a uschovány v lednici. 19. 1. 2026 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

A	Destilovaná H ₂ O 77/26	čistý agar
B	Nehodnoceno, nehomogenní vzorek	
C	Destilovaná H ₂ O 79/26	čistý agar
D	<i>M. avium</i> 80/26 (evid.č. 776/25)	10 ⁻²
E	Destilovaná H ₂ O 81/26	čistý agar

4. Způsob hodnocení

Vzorky byly hodnoceny kvalitativně. Hodnocení vycházelo z výsledků testování v NRL/M. Při hodnocení jednotlivých laboratoří byl porovnáván výsledek dané laboratoře s výsledkem dosaženým při testování vzorků zařazených do EHK v NRL/M, který byl vztažnou hodnotou. Testování v NRL/M bylo provedeno (časově) souběžně s probíhajícím EHK v jednotlivých laboratořích.

Laboratoř úspěšně absolvovala kolo EHK, pokud dosáhla 80% z maxima bodů.

Přehled bodového hodnocení výsledků:

Maximální možný bodový zisk činil 16 bodů (vzorek č. 2 nebyl hodnocen – v NRLM vzorek B)

- Správný výsledek mikroskopie = 2 body
- Falešná negativita mikroskopie = 0 bodů

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

5. Vyhodnocení

33 zúčastněných laboratoří získalo 16 bodů, jedna laboratoř získala 14 bodů a jedna laboratoř pouze 12 bodů.

Aritmetický průměr dosažených bodů se rovnal 15,83 bodů.

Laboratoř úspěšně absolvovala EHK, pokud získala minimálně 13 bodů.

Dostatečný počet bodů nezískala jedna laboratoř.

6. Závěr

EHK 1537 - Mikroskopie a kultivace rodu *Mycobacterium* se zúčastnilo 35 laboratoří.

Uspělo 34 laboratoří. Laboratoř, která v hodnocení neuspěla, označila negativní vzorek nesprávně jako pozitivní jak v mikroskopii, tak v kultivaci (viz tabulka 2 a 3).

V letošním roce byly metody mikroskopie mezi zúčastněnými laboratořemi zastoupeny přibližně rovnoměrně. Ziehl-Neelsenovo barvení použilo 18 z 35 laboratoří (51,4 %), zatímco fluorescenční mikroskopii použilo 17 z 35 laboratoří (48,6 %). Přehled použitých metod mikroskopie včetně rozložení správných výsledků a chyb je uveden v tabulce 4.

Nejčastěji použitou metodou dekontaminace v letošním roce zůstává metoda PETROFF, kterou použilo 22 z 35 zúčastněných laboratoří (62,9 %). Další použité metody dekontaminace byly N-A-L-C (7 laboratoří; 20 %), HCl + NaOH (3 laboratoře; 8,6 %) a lauryl sulfát (3 laboratoře; 8,6 %). Přehled jednotlivých metod dekontaminace včetně rozložení správných výsledků a chyb je uveden v tabulce 5.

Pro kultivaci použila většina laboratoří kombinaci několika kultivačních médií. Nejčastěji využívaným médiem zůstává Löwenstein-Jensenova vaječná půda, kterou použilo 34 z 35 laboratoří (97,1%). Další často použitá média byla OGAWA (30 laboratoří; 85,7%) a Šulova půda (15 laboratoří; 42,9 %). Systém MGIT využilo 11 laboratoří (31,4 %) a jedna laboratoř (2,9 %) použila médium Middlebrook 7H10. Přehled hlavních metod kultivace použitých zúčastněnými laboratořemi včetně rozložení správných výsledků a chyb je uveden v tabulce 6.

Laboratoř, která v hodnocení neuspěla, použila metodu dekontaminace HCl + NaOH, fluorescenční mikroskopii a pro kultivaci kombinaci Löwenstein-Jensenovy vaječné půdy, Šulovy půdy a stanovení pomocí MGIT.

Laboratoř, která neuspěla, si může 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*	16	14	12
Počet laboratoří	33	1	1
(% laboratoří)	94,3%	2,9%	2,9%

* hranice úspěšnosti = 13 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	35 (100 %)	35 (100 %)
B	nehodnoceno	nehodnoceno
C	34 (97,1 %)	34 (97,1 %)
D	35 (100 %)	35 (100 %)
E	34 (97,1 %)	35 (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	1	X	1	X
D	X	X	X	X
E	1	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	18 (51,4 %)	17 (94,44 %)	1 (5,6 %)	0 (0 %)
Fluorescenční mikroskopie	17 (48,6 %)	17 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
celkem	35 (100 %)	34 (97,1 %)	1 (2,9 %)	0 (0 %)

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

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

Metoda dekontaminace	Počet laboratoří	Správné určení*	Falešně pozitivní*	Falešně negativní*
PETROFF	22 (62,9 %)	21 (95,5 %)	1 (4,5 %)	0 (0 %)
N-A-L-C	7 (20 %)	7 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
HCl + NaOH	3 (8,6 %)	3 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Lauryl Sulfát	3 (8,6 %)	3 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
celkem	35 (100 %)	34 (97,1 %)	1 (2,9 %)	0 (0 %)

Tabulka 6 Přehled hlavních metod kultivace (typ média) použitých v přihlášených laboratořích a rozložení správných výsledků a chyb (falešně pozitivních a falešně negativních výsledků).

Metoda kultivace	Počet laboratoří	Správné určení*	Falešně pozitivní*	Falešně negativní*
Löwenstein-Jensenova vaječná půda	34 (97,1 %)	33 (97,1 %)	1 (2,9 %)	0 (0 %)
OGAWA	30 (85,7 %)	29 (96,7 %)	1 (3,33 %)	0 (0 %)
MGIT	11 (31,4 %)	11 (100 %)	1 (9,1 %)	0 (0 %)
Šulova půda	15 (42,9 %)	14 (93,3 %)	1 (6,7 %)	0 (0 %)
Middlebrook 7H10	1 (2,9 %)	1 (100%)	0 (0 %)	0 (0 %)

Tabulka 7 Přehled výsledků za jednotlivé laboratoře**EHK 1537 - Mikroskopie a kultivace rodu *Mycobacterium***

odesláno: 20. 1. 2026

uzávěrka: 31. 3. 2026

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

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