



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/38/2023 (EHK 1332)**

**Kultivace a identifikace vláknitých  
mikroskopických hub**

**Praha, květen 2023**

## Obsah

|   |   |
|---|---|
| 1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing) | 3 |
| 2. Způsob přípravy vzorků   | 4 |
| 3. Charakteristika materiálu  | 4 |
| 4. Způsob hodnocení   | 5 |
| 5. Vyhodnocení  | 6 |
| 6. Závěr  | 8 |
| Příloha – výsledkový protokol jednotlivých laboratoří                 |   |

Program zkoušení způsobilosti PT#M/38/2023 byl zaměřen na kultivaci a identifikaci vláknitých mikroskopických hub.

Návrh a realizace PT#M/38/2023 byly prováděny podle standardního operačního postupu koordinátora programu 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. výsledkový protokol, je rozesílána poštou.

### **Zprávu vypracoval:**

Mgr. Radim Dobiáš, Ph.D. (Národní referenční laboratoř pro mykologickou diagnostiku, při Zdravotním ústavu se sídlem v Ostravě, Ostrava)

### **Zprávu autorizoval:**

Mgr. Radim Dobiáš, Ph.D.  
Tel: 596 200 239

**Dne:** 19. 5. 2023

### **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/38/2023**

|   |  |
|---|--|
| Identifikace cyklu:   | <b>EHK 1332</b>  |
| Název PT:   | Kultivace a identifikace vláknitých mikroskopických hub  |
| Koordinátor:  | Mgr. Radim Dobiáš, Ph.D.   |
| Podstata a účel PT/EHK:   | Ověření schopnosti identifikovat klinicky významné druhy vláknitých mikromycetů  |
| Kritéria pro účast na PT/EHK:                                   | Požadavky na laboratoře: zajištění správné laboratorní praxe   |
| Charakteristika materiálu:                                      | Viz kapitola 3 závěrečné zprávy – Identifikované kmeny hyfomycetů izolované na Sabouraudově agaru s vitamínem.   |
| Hodnocené ukazatele:  |  |
| Způsob přípravy:  | Viz kapitola 2 závěrečné zprávy  |
| Počet účastníků:  | 29   |
| Termín distribuce vzorků:                                       | 7. 2. 2023   |
| Informace účastníkům  | zasílané spolu se vzorky   |
| Termín pro odeslání výsledků účastníky:                         | 28. 2. 2023  |
| Označení vzorkovnic:  | EHK 1332, PT # M/38, č. 1-4, 7. 2. 2023  |
| Zabezpečení jakosti vzorku včetně testu homogenity a stability: | Zabezpečení stability vzorků: Stabilita je zajištěna manipulacemi za sterilních podmínek, vhodným skladováním, rychlým transportem ke zpracování a určením termínu, do kterého musí být odeslán výsledek zpět k vyhodnocení.<br>Testování homogenity není možno provést vzhledem k tomu, že se jedná o distribuci narostlých kultur na živném médiu. Stabilita je posuzována na základě testování vybraných vzorků po ukončení cyklu EHK: po výběru jsou vzorky kultivovány za běžných laboratorních podmínek v souladu s normou ČSN 15189 a je ověřena schopnost růstu testovaného kmene. V průběhu testu je provedena makro-morfologická pohledová kontrola růstu kmenů všech rozesílaných naočkovaných kmenů a identifikace těchto kontrolních kmenů. |
| Možné zdroje chyb:  | Nedodržení správné laboratorní praxe a pokynů organizátora, záměna vzorků, neživotaschopnost kmene vlivem nedodržení časů re-izolace   |
| Způsob vyhodnocení výsledků:                                    | Viz kapitola 4 závěrečné zprávy  |
| Určení přijaté vztahné hodnoty:                                 | Vtažnou hodnotou jsou výsledky druhové identifikace kmene v NRL pro mykologickou diagnostiku, které byly získány identifikací původního vybraného kmene z klinického materiálu potvrzeného sekvencí DNA narostlé kultury a porovnáním s typovou sekvencí DNA dle databáze CBS-KNAW (= očekávané výsledky)  |
| Určení maximální směrodatné odchylky:                           | Aritmetický průměr všech hodnocených laboratoří mínus 2 směrodatné odchylky. Laboratoř úspěšně absolvuje kolo EHK, pokud dosáhne bodového limitu, který se vypočítává podle vzorce: Limit = aritmetický průměr výsledků všech hodnocených laboratoří minus dvě směrodatné odchylky. Pokud se v hodnocené skupině vyskytne pracoviště s extrémně nízkým bodovým ziskem (<50 % maximálního bodového zisku), je vyloučeno z výpočtu limitu. Takové pracoviště je automaticky hodnoceno jako neúspěšné.<br>Jestliže stejný typ atypického výsledku vykáže větší počet účastníků, může být přihlédnuto k tomu, zda neexistuje   |

|  |  |
|--|--|
|  | statisticky významná souvislost mezi typem použitého testu a zmíněnou odchylkou. V takovém případě koordinátor provede hodnocení po odborné konzultaci s poradní skupinou. |
| Termín uveřejnění očekávaných výsledků | 10. 3. 2023  |
| Termín uveřejnění závěrečné zprávy     | Do 23. 5. 2023   |

## 2. Způsob přípravy vzorků

Přípravu a zabezpečení jakosti vzorků zajišťuje NRL pro mykologickou diagnostiku, Laboratoř klinické mykologie, Oddělení bakteriologie a mykologie, Centra klinických laboratoří Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě, Partyzánské nám. 7, 702 00, Ostrava, akreditované u ČIA (č. 551/2020) dle ČSN EN ISO 15189. Koordinátor: Mgr. Radim Dobiáš, Ph.D. (ZUOVA)

### Zpracování a rozplnění výchozího materiálu

Klinické vzorky byly zpracovány standardním způsobem používaným v laboratoři klinické mykologie subdodavatele, čisté kultury jsou izolovány, identifikovány do druhu. Získané izoláty mykotických organismů byly pomnoženy a byla provedena kontrola čistoty kultur a kontrola správnosti identifikace. Identifikace vláknitých hub pomocí fenotypových (makro a mikromorfologie) metod, metodou kultivační a mikroskopickou byla následně ověřena konfirmačním postupem, pomocí sekvence fungální DNA oblastí dlouhé podjednotky 28s rDNA, ITS 1-4, D1-2,  $\beta$ -tubulin a identifikována dle validované databáze CBS – KNAW (propojené s taxonomickou databází mycobank.org). Výchozí materiál byl vyočkován do plastových lahviček s agarem, uzavřen, označen a uložen do přepravní krabice a doručen kurýrem (pravidelným svozem ZÚ Ostrava) z NRL pro mykologickou diagnostiku ZÚ Ostrava do SZÚ Praha. Pro každý vzorek je vystaven protokol o přípravě vzorků, ve kterém jsou uvedeny veškeré manipulace prováděné s připravovaným vzorkem.

## 3. Charakteristika materiálu

### Typ a uskladnění výchozího materiálu

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků jsou identifikované kmeny mikroskopických vláknitých hub izolované z klinického materiálu dodaného do laboratoře subdodavatele. Izoláty pocházejí přímo z klinického materiálu, který není předtím nijak skladován, pouze po dobu nezbytně nutnou k transportu odebraného vzorku pacienta do laboratoře subdodavatele.

| Název série EHK   | Počet vzorků v sérii | vzorky jsou určeny k testování těchto cílových markerů   |
|---|----------------------|--|
| Kultivace a identifikace vláknitých mikroskopických hub | 4                    | Vybrané izoláty vláknitých mikromycetů z klinického materiálu izolované do transportní kultury |

Jednotlivé vzorky představují simulovaný humánní klinický materiál s obsahem cílových druhů mikromycetů.

| č. vzorku | kmen   | poznámka          |
|-----------|--|-------------------|
| 1.        | <i>Aspergillus niger</i>                                     |                   |
| 2.        | <i>Aspergillus fumigatus</i>                                 |                   |
| 3.        | <i>Microsporium canis</i>                                    |                   |
| 4.        | <i>Trichophyton benhamiae</i> / <i>Arthroderma benhamiae</i> | Edukativní vzorek |

#### 4. Způsob hodnocení

Výsledkové formuláře účastníků předává k vyhodnocení koordinační pracoviště ESPT 2 uvedené v SOP-M Činnost koordinačního pracoviště ESPT2 (viz bod 5.2).

Bodové hodnocení účastníků vychází z očekávaných výsledků získaných opakovaným vyšetřením vzorků na pracovišti subdodavatele (koordinátor) a je nastaveno tak, že **dvěma body** je hodnocena shoda s očekávaným výsledkem, **jedním bodem** je hodnocena částečná shoda a bez bodového ohodnocení jsou výsledky, které se s očekávaným výsledkem neshodují. Volba metody pro testování vzorků závisí na rutinní praxi účastníka, pokud jsou vzorky vyšetřeny více metodami, body se nenásobí a hodnotí se laboratorní závěr účastníka.

Za identifikaci mykotického agens ve 4 vzorcích (4 izolátů) mohou laboratoře získat maximálně 6 bodů, protože vzorek číslo 4 má edukativní charakter a body se za něj neudělují. Laboratoř úspěšně absolvuje kolo EHK, pokud dosáhne bodového limitu, který se vypočítává podle vzorce (Limit = aritmetický průměr výsledků všech laboratoří minus dvě směrodatné odchylky). Pokud se v hodnocené skupině vyskytne pracoviště s extrémně nízkým bodovým ziskem (<50 % maximálního bodového zisku), je vyloučeno z výpočtu limitu. Takové pracoviště je automaticky hodnoceno jako neúspěšné.

Jako správné jsou hodnoceny odpovědi s názvy anamorfního, případně teleomorfního stádia jednotlivých taxonů.

Jestliže stejný typ atypického výsledku vykáže větší počet účastníků, může být přihlédnuto k tomu, zda neexistuje statisticky významná souvislost mezi typem použitého testu a zmíněnou odchylkou. V takovém případě koordinátor provede hodnocení po odborné konzultaci s poradní skupinou.

## 5. Vyhodnocení

### Tabulka č. 1: Úspěšnost laboratoří v sérii EHK 1332

6 bodů za bezchybnou identifikaci (rod/druh).

|                         |             |             |
|-------------------------|-------------|-------------|
| <b>Dosažené body</b>    | <b>4</b>    | <b>6</b>    |
| <b>Počet laboratoří</b> | <b>3</b>    | <b>26</b>   |
| <b>Procento</b>         | <b>10,3</b> | <b>89,7</b> |

### Maximálního počtu bodů dosáhlo 26 laboratoří z 29 zúčastněných.

Aritmetický průměr byl 5,00

Směrodatná odchylka byla 0,6199

Limit (t. j. průměr -2 směrodatné odchylky) byl 3,76 bodů.

Limit splnilo 29 laboratoří.

**Tabulka č. 2: Bodové hodnocení výsledků jednotlivých laboratoří (n=32)**

| Kód laboratoře |          |          |          | součet | Edukativní |
|----------------|----------|----------|----------|--------|------------|
|                | vzorek 1 | vzorek 2 | vzorek 3 |        | vzorek 4   |
| 17             | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 28             | 2        | 2        | 0        | 4      | 2          |
| 32             | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 50             | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 51             | 2        | 2        | 2        | 6      | 0          |
| 53             | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 58             | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 89             | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 156            | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 211            | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 215            | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 283            | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 289            | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 350            | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 354            | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 369            | 2        | 2        | 2        | 6      | 1          |
| 370            | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 371            | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 384            | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 443            | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 456            | 2        | 2        | 2        | 6      | 1          |
| 465            | 2        | 2        | 2        | 6      | 1          |
| 539            | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 554            | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 595            | 2        | 2        | 0        | 4      | 2          |
| 633            | 2        | 2        | 0        | 4      | 0          |
| 641            | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 702            | 2        | 2        | 2        | 6      | 2          |
| 821            | 2        | 2        | 2        | 6      | 0          |

**Tabulka č. 3: Podíly správných odpovědí v identifikacích jednotlivých vzorků/kmenů**

| Vzorek | Mikroorganismus  | Počet laboratoří | Procento |
|--------|--|------------------|----------|
| 1      | <i>Aspergillus niger</i>                                     | 29               | 100,0    |
| 2      | <i>Aspergillus fumigatus</i>                                 | 29               | 100,0    |
| 3      | <i>Microsporum canis</i>                                     | 26               | 89,7     |
| 4      | <i>Trichophyton benhamiae</i> / <i>Arthroderma benhamiae</i> | 23               | 79,3     |

Žádná laboratoř v pilotní sérii EHK Kultivace a identifikace vláknitých mikroskopických hub neměla problém s identifikací vzorku č. 1 a 2 (*Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*). U vzorku č. 3, který obsahoval kmen *Microsporum canis*, měly problém s identifikací 3 laboratoře, v jednom případě došlo k záměně za *Microsporum audinii* a ve dvou případech za *Trichophyton mentagrophytes* a *Trichophyton interdigitale*.

## 6. Závěr

EHK 1332 – Kultivace a identifikace vláknitých mikroskopických hub se zúčastnilo 29 laboratoří, výsledky k hodnocení dodaly všechny laboratoře. Uspělo všech 29 laboratoří.

Lze konstatovat, že série EHK 1332 „Kultivace a identifikace vláknitých mikroskopických hub“ proběhla úspěšně.

Na základě průzkumu využití diagnostických testů pro identifikaci kmenů ve vzorcích a podnětů účastníků EHK 1332 budou v příští sérii zohledněny připomínky, které se týkaly nedostatku času potřebného pro kultivaci a identifikaci vláknitých hub, zvláště dermatofytů. **Doba potřebná pro nezbytné úkony vedoucí ke správné identifikaci bude prodloužena o 14 dní**, což by mělo vést ke zvýšení komfortu uživatelů v příštích sériích EHK. Význam edukačního vzorku byl přínosem a vzhledem k vysoké úspěšnosti identifikací bude druh *Trichophyton benhamiae*/*Arthroderma benhamiae* běžně řazen mezi bodově hodnocené vzorky v následujících sériích EHK. V dalších sériích EHK se také může zvýšit počet bodovaných pozic ze současných 3 na 4. Toto navýšení přispěje ke zvýšení počtu uznatelných bodů a zvýší bodový rozptyl pro výpočet směrodatné odchylky.

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamacie použijte také webovou aplikaci SZÚ.

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY