



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel zkoušení způsobilosti akreditovaný ČIA
podle ČSN EN ISO/IEC 17043, reg. č. 7001
Šrobárova 48, 100 42 Praha 10 – Vinohrady



Závěrečná zpráva

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii
(Externí hodnocení kvality)

PT#M/13-14/2017 (č. 967-968)

Detekce HBV-DNA a HCV-RNA

Praha, červenec 2017

Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing) 3
2. Hodnocení 4-8
3. Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře

Program zkoušení způsobilosti PT#M/13-14/2017 byl zaměřen na detekci HBV-DNA a HCV-RNA. Návrh a realizace PT#M/13-14/2017 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/13-14 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 programů zkoušení způsobilosti č. 7001.

S veškerými informacemi dodanými účastníky je zacházeno jako s důvěrnými a nejsou bez souhlasu účastníka poskytovány třetím stranám.

Nedílnou součástí závěrečné zprávy je výsledkový protokol jednotlivé laboratoře.

Koordinátor:

Mgr. Pavel Fritz
tel: 267 082 484 (2 455)
email: pavel.fritz@szu.cz

Zprávu vypracoval:

Mgr. Pavel Fritz, NRL pro virové hepatitidy, SZÚ Praha

Zprávu schválil:

RNDr. Vratislav Němeček, SČc., NRL pro virové hepatitidy, SZÚ Praha

Dne: 3.7.2017

Pracoviště 2 ESPT (AP CEM - Akreditační pracoviště Centra epidemiologie a mikrobiologie)

www.szu.cz/espt
email: apcem@szu.cz

Souhrnné informace o přípravě a hodnocení EPT#M/13-14/2017 (EHK967-968)

Identifikace kola:	PT#M/13-14/2017 (EHK967-968)
Název:	Detekce HBV-DNA (EHK967) a HCV-RNA (EHK968)
Poskytovatel:	SZÚ – CEM – ESPT, Šrobárova 48, Praha 10, 100 42
Vedoucí ESPT	Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor:	Mgr. Pavel Fritz Národní referenční laboratoř pro virové hepatitidy TEL.: +420 267082484 (2455); email: pavel.fritz@szu.cz
Charakteristika materiálu:	Lidské sérum / plazma
Podstata a účel PT:	Průkaz HBV-DNA (DNA viru hepatitidy B) a HCV-RNA (RNA viru hepatitidy C)
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Vyšetření všech vzorků metodou PCR a odeslání výsledků ve stanoveném termínu
Způsob přípravy:	Výchozím materiálem je lidská plazma/sérum, otestovaná na přítomnost cílových markerů. Pozitivní vzorky mohou být použity v ředěném stavu.
Množství připravovaného materiálu:	40 sad pro HBV-DNA a 40 sad pro HCV-RNA (1 sada = 6 vzorků po 1,5 ml)
Označení vzorkovnic:	a) PT#M/13/2017 EHK967, vzorky 1-6, HBV-DNA b) PT#M/14/2017 EHK968, vzorky 1-6, HCV-RNA
Zabezpečení kvality vzorku:	1. Obsahuje-li výchozí materiál po rozmrazení viditelné částice organického původu (bílkoviny, tuky), jsou tyto nečistoty odstraněny centrifugací. 2. Pro zajištění stability je do výchozího materiálu přidáván ProClin 950 s antibakteriálními účinky v koncentraci 0,05-0,1%.
Testy homogenity a stability:	1. Výchozí materiál (neředěný nebo v požadovaném ředění) je testován na přítomnost cílového markeru (dle SOP-NRL/VH-16) 2. Finální (rozplněný) vzorek je testován na přítomnost cílového markeru (dle SOP-NRL/VH-16)
Podmínky distribuce a uchovávání vzorků:	Vzhledem k přidání antibakteriálního činidla lze vzorky po dobu 1 měsíce (do vypršení termínu pro jejich vyšetření) uchovávat zamražené nebo v chladu (2-8 ^o C), krátkodobě rovněž při pokojové teplotě.
Počet účastníků:	36
Datum rozeslání vzorků:	28.3.-7.4.2017
Způsob distribuce:	Účastníci si vyzvedávají vzorky se suchým ledem v NRL pro virové hepatitidy.
Termín odevzdání výsledků:	28.4.2017
Způsob vyhodnocení výsledků:	Slabě reaktivní vzorky do 500 IU/ml nejsou hodnoceny (slouží účastníkům k ověření citlivosti používaných metod). U silně reaktivních nebo negativních vzorků znamená každý neshodný výsledek konečné hodnocení „laboratoř neuspěla“.
Určení vztažné hodnoty:	Hodnoty získané v NRL
Rozeslání zprávy účastníkům:	Červenec 2017

CHARAKTERISTIKA SÉRIÍ EHK 967-968 A ZPŮSOB HODNOCENÍ

Série EHK967 byla určena pro stanovení přítomnosti DNA viru hepatitidy B, série EHK968 pro stanovení RNA viru hepatitidy C. Obou sérií se zúčastnilo celkem 36 laboratoří, z nichž 6 testovalo pouze HCV-RNA, zbývajících 30 oba markery.

Každou ze sérií tvořilo 6 vzorků, z nichž 3 byly pozitivní a 3 negativní. Objem vzorků činil cca 1,5 ml lidského séra nebo plazmy.

Nejslabší pozitivní vzorky v obou sériích (vzorek č. 2 v sérii EHK967 a vzorek č. 4 v sérii EHK968) sloužily účastníkům k ověření citlivosti používaných metod a nebyly součástí bodového hodnocení. U zbývajících vzorků znamenal každý neshodný výsledek pro účastníka hodnocení „laboratoř neuspěla“ (netýká se odchylek v kvantifikaci).

Vzorky byly distribuovány v Národní referenční laboratoři pro virové hepatitidy (NRL-VH) od 28. 3. do 7. 4. 2017, konečným termínem pro odevzdání výsledků byl 28. 4. 2017.

KONCENTRACE CÍLOVÝCH MARKERŮ V POZITIVNÍCH VZORCÍCH

V sérii EHK967 činily koncentrace HBV-DNA naměřené v NRL-VH $3,8 \times 10^2$ IU/ml (vzorek 2), $6,7 \times 10^3$ (vzorek 5) a $5,0 \times 10^4$ (vzorek 3). V sérii EHK968 činily naměřené koncentrace HCV-RNA $2,7 \times 10^2$ IU/ml (vzorek 4), $3,0 \times 10^3$ (vzorek 1) a $2,3 \times 10^4$ (vzorek 6).

Výsledky získané v referenční laboratoři nelze brát jako přesný standard. Při testování nukleových kyselin metodou PCR existuje přirozený rozptyl hodnot v závislosti na typu použité soupravy i specifických podmínkách každého běhu.

Kvantifikace pozitivních výsledků nebyla povinná ani bodově hodnocená, výraznější nepřesnosti se však promítly do komentáře referenční laboratoře. Celkem kvantifikovalo své výsledky 23 laboratoří u markeru HBV-DNA (77%) a 30 u markeru HCV-RNA (83%).

VÝSLEDKY LABORATOŘÍ

Celkové výsledky ukazuje tabulka 1, kvantitativní hodnoty získané účastníky jsou shrnuty v tabulkách 2-3 (Národní referenční laboratoř pro virové hepatitidy figuruje ve všech tabulkách pod pořadovým č. 1). Celkem 5 laboratoří vyšetřovalo jeden či oba cílové markery více testy (v tabulkách 1-3 má každá použitá metoda vlastní řádek).

Série EHK967-968 se vyznačovaly absencí závažných chyb. Jediný neshodný výsledek zaznamenala laboratoř č. 37, která v sérii EHK968 nezachytila HCV-RNA u nejslabšího pozitivního vzorku 4. Vzhledem k tomu, že šlo o vzorek nebodovaný (viz výše), nebyla postižena v hodnocení.

Uspokojivě si laboratoře poradily i s kvantifikací. U markeru HBV-DNA laboratoř č. 10 nadhodnocovala, zatímco laboratoř č. 21 podhodnocovala kvantitu cílového markeru. Laboratoř č. 32 jako jediná kvantifikovala v různých jednotkách, přičemž hodnoty v cop/ml byly vyšší než v mIU/ml (což je odpovídající).

U markeru HCV-RNA vykazala problémy s kvantifikací pouze laboratoř č. 27, šlo však o problémy závažné, neboť získané hodnoty se chaotickým způsobem rozcházely s očekávanými. Při zápisu výsledků v jiném pořadí by však nesoulad zmizel. Příčina není zjevná. Vzorky nebyly individuálně kódovány, takže odpadá možnost nesprávného polepení zkumavek v SZÚ. Proti chybě při vyplňování formuláře zase svědčí, že ani v jednom případě nebyl zaměněn pozitivní vzorek s negativním (zmatečné se jeví pouze vzájemné pořadí pozitivních vzorků). Stále tak zůstává otevřena možnost nefunkční kvantifikace.

Celkově lze série EHK967-968 považovat za velmi úspěšné, je však třeba připomenout že koncentrace cílových markerů u nejslabších pozitivních vzorků (cca 300 - 400 IU/ml při testování v NRL-VH) byly stále nastaveny „mírně“. Za hranici přijatelné citlivosti souprav je považováno zhruba 50 mIU/ml.

Tab.1: souhrnné výsledky v sériích EHK 967 a 968 (P = pozitivní, N = negativní)

lab.	HBV-DNA						HCV-RNA					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
	N	+	+++	N	++	N	++	N	N	+	N	+++
1-NRL	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
2	-	-	-	-	-	-	P	N	N	P	N	P
3	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
4	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
5	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
6	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
7	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
8	-	-	-	-	-	-	P	N	N	P	N	P
9	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
10	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
11	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
12	-	-	-	-	-	-	P	N	N	P	N	P
13	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
14	-	-	-	-	-	-	P	N	N	P	N	P
15	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
16	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
17	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
18	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
19	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
20	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
21	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
22	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
	N	P	P	N	P	N	-	-	-	-	-	-
23	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
24	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
	-	-	-	-	-	-	P	N	N	P	N	P
25	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
26	-	-	-	-	-	-	P	N	N	P	N	P
	-	-	-	-	-	-	P	N	N	P	N	P
27	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
28	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
29	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
30	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
31	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
32	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
	N	P	P	N	P	N	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-	P	N	N	-	N	P
34	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
35	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
36	N	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	P
37	N	P	P	N	P	N	P	N	N	N	N	P

V záhlaví tabulky je uveden cílový marker, číslo vzorku a správný výsledek (pozitivní vzorky jsou prezentovány jedním až třemi křížky podle koncentrace cílového markeru). Problematické výsledky jsou vybarveny šedě. Více sad výsledků u jediné laboratoře znamená testování různými metodami. Vzorky nebyly individuálně kódovány, takže jejich čísla v tabulce jsou shodná s čísly, pod kterými je laboratoře vyšetřovaly. Pořadová čísla laboratoří v tabulce nemají souvislost s jejich zavedenými kódy v EHK. NRL pro VH je v tabulce uvedena pod č.1.

Tab. 2: kvantitativní výsledky HBV-DNA v sérii EHK-967 (P = pozitivní, N = negativní)

poř.č.	1	2	3	4	5	6	jednotky
	N	+	+++	N	++	N	
1-NRL	N	3,84x10e2	5,04x10e4	N	6,65x10e3	N	IU/ml
2							
3	N	9,71x10e2	2,18x10e5	N	2,08x10e4	N	IU/ml
4	N	3,23x10e2	2,33x10e4	N	3,13x10e3	N	IU/ml
5	N	3,90x10e2	6,78x10e4	N	7,02x10e3	N	IU/ml
6	N	9,47x10e2	1,34x10e5	N	1,41x10e4	N	IU/ml
7	N	P	P	N	P	N	
8							
9	N	7,45x10e2	1,03x10e5	N	1,05x10e4	N	IU/ml
10	N	4,02x10e3	1,20x10e6	N	9,87x10e4	N	IU/ml
11	N	P	P	N	P	N	
12							
13	N	P	P	N	P	N	
14							
15	N	4,63x10e2	5,95x10e4	N	5,06x10e3	N	IU/ml
16	N	4,74x10e2	6,11x10e4	N	5,92x10e3	N	IU/ml
17	N	3,44x10e2	6,42x10e4	N	7,07x10e3	N	IU/ml
18	N	P	P	N	P	N	
19	N	7,57x10e2	9,76x10e4	N	1,16x10e4	N	IU/ml
20	N	6,96x10e2	1,46x10e5	N	1,71x10e4	N	IU/ml
	N	6,33x10e1	2,98x10e4	N	2,85x10e3	N	IU/ml
	N	1,66x10e2	2,07x10e4	N	1,57x10e3	N	IU/ml
21	N	3,40x10e1	4,50x10e3	N	5,10x10e2	N	IU/ml
22	N	P	6,95x10e4	N	8,00x10e3	N	IU/ml
	N	5,53x10e2	7,39x10e4	N	1,24x10e4	N	IU/ml
23	N	3,45x10e2	6,63x10e4	N	5,37x10e3	N	IU/ml
24	N	1,06x10e3	1,37x10e5	N	1,99x10e4	N	IU/ml
25	N	7,40x10e1	1,19x10e4	N	1,14x10e3	N	IU/ml
26							
27	N	2,10x10e2	3,01x10e4	N	4,03x10e3	N	IU/ml
28	N	P	P	N	P	N	
29	N	6,47x10e2	5,59x10e4	N	8,75x10e3	N	IU/ml
30	N	P	P	N	P	N	
31	N	8,40x10e2	9,30x10e4	N	9,60x10e3	N	IU/ml
32	N	6,41x10e2	2,43x10e5	N	2,48x10e4	N	IU/ml
	N	2,62x10e3	9,90x10e5	N	1,01x10e5	N	cop/ml
33							
34	N	5,15x10e2	5,64x10e4	N	6,12x10e3	N	IU/ml
	N	3,45x10e2	6,31x10e4	N	8,30x10e3	N	IU/ml
35	N	8,80x10e2	1,60x10e5	N	1,90x10e4	N	IU/ml
36	N	9,90x10e2	2,30x10e5	N	2,30x10e4	N	IU/ml
37	N	P	P	N	P	N	

Laboratoře, u nichž nejsou uvedeny číselné hodnoty, své výsledky nekvantifikovaly. Více sad výsledků u jediné laboratoře znamená testování různými metodami (výjimku tvoří lab. 32, která testovala HBV-DNA jednou metodou, ale výsledky uvedla v různých jednotkách).

Pořadová čísla laboratoří v této tabulce nemají souvislost s jejich zavedenými kódy v EHK (NRL pro VH uvedena pod číslem 1).

Tab.3: kvantitativní výsledky HCV-RNA v sérii EHK-968 (P = pozitivní, N = negativní)

poř.	1	2	3	4	5	6	jednotky
	++	N	N	+	N	+++	
1-NRL	3,02x10e3	N	N	2,70x10e2	N	2,32x10e4	IU/ml
2	1,64x10e3	N	N	1,06x10e2	N	9,30x10e3	IU/ml
3	2,35x10e3	N	N	2,63x10e2	N	2,71x10e4	IU/ml
4	7,82x10e3	N	N	5,35x10e2	N	6,54x10e4	IU/ml
5	1,07x10e3	N	N	1,05x10e2	N	1,92x10e4	IU/ml
6	5,00x10e3	N	N	5,00x10e2	N	3,00x10e4	IU/ml
7	P	N	N	P	N	P	
8	1,29x10e3	N	N	9,80x10e1	N	1,37x10e4	IU/ml
9	3,63x10e3	N	N	3,20x10e2	N	2,65x10e4	IU/ml
10	1,08x10e4	N	N	2,70x10e2	N	5,14x10e4	IU/ml
11	P	N	N	P	N	P	
12	3,10x10e3	N	N	2,30x10e2	N	2,68x10e4	neued.
13	1,14x10e3	N	N	7,70x10e1	N	1,03x10e4	IU/ml
14	1,01x10e3	N	N	1,02x10e2	N	1,14x10e4	IU/ml
15	3,66x10e3	N	N	2,04x10e2	N	2,84x10e4	IU/ml
16	2,74x10e3	N	N	1,64x10e2	N	3,08x10e4	IU/ml
17	1,67x10e3	N	N	1,36x10e2	N	8,40x10e3	IU/ml
18	P	N	N	P	N	P	
19	3,26x10e3	N	N	1,74x10e2	N	2,15x10e4	IU/ml
20	1,33x10e3	N	N	9,10x10e1	N	5,60x10e3	IU/ml
	1,36x10e3	N	N	1,27x10e2	N	1,00x10e4	IU/ml
	5,22x10e3	N	N	1,47x10e2	N	4,40x10e4	IU/ml
21	6,30x10e2	N	N	slabě P	N	2,90x10e4	IU/ml
22	4,65x10e3	N	N	4,32x10e2	N	4,44x10e4	IU/ml
23	1,19x10e3	N	N	2,31x10e2	N	1,56x10e4	IU/ml
24	3,96x10e3	N	N	3,16x10e2	N	4,70x10e4	IU/ml
	1,62x10e3	N	N	1,12x10e2	N	1,11x10e4	IU/ml
25	1,53x10e3	N	N	8,30x10e1	N	1,07x10e4	IU/ml
26	2,75x10e3	N	N	2,49x10e2	N	2,14x10e4	IU/ml
	1,31x10e3	N	N	9,80x10e1	N	1,18x10e4	IU/ml
27	3,10x10e2	N	N	2,76x10e4	N	3,62x10e3	IU/ml
28	P	N	N	P	N	P	
29	2,78x10e3	N	N	3,24x10e2	N	2,87x10e4	IU/ml
30	P	N	N	P	N	P	
31	2,40x10e3	N	N	1,00x10e2	N	2,10x10e4	IU/ml
32	4,34x10e3	N	N	1,56x10e2	N	3,60x10e4	IU/ml
33	1,18x10e3	N	N	8,80x10e1	N	1,20x10e4	IU/ml
34	2,13x10e3	N	N	1,63x10e2	N	2,50x10e4	IU/ml
	2,80x10e3	N	N	2,02x10e2	N	3,40x10e4	IU/ml
35	2,20x10e3	N	N	1,90x10e2	N	2,30x10e4	IU/ml
36	1,20x10e3	N	N	1,30x10e2	N	1,70x10e4	IU/ml
37	P	N	N	N	N	P	

Laboratoře, u nichž nejsou uvedeny číselné hodnoty, své výsledky nekvantifikovaly. Více sad výsledků u jediné laboratoře znamená testování různými metodami.

Pořadová čísla laboratoří v této tabulce nemají souvislost s jejich zavedenými kódy v EHK (NRL pro VH uvedena pod číslem 1).