



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/13-14/2022 (EHK 1263-1264)

Detekce HBV-DNA a HCV-RNA

Praha, červen 2022

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	4-7
6.	Závěr	7
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/13-14/2022 (EHK 1263-1264) byl zaměřen na detekci HBV-DNA a HCV-RNA.

Návrh a realizace PT#M/13-14/2022 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 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 webově aplikaci SZÚ v odkazu: <https://ehk.szu.cz/EHK10/> po přihlášení kódem laboratoře a heslem.

Zprávu vypracoval:

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

Zprávu autorizoval:

Mgr. Pavel Fritz
Tel. 267 082 484
Dne: 3. 6. 2022

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/13-14/2022

Identifikace cyklu:	EHK 1263-1264
Název:	Detekce HBV-DNA, Detekce HCV-RNA
Koordinátor:	Mgr. Pavel Fritz
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3
Podstata a účel PT/EHK:	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 Požadavky na laboratoře: zajištění laboratorních procesů podle ČSN EN ISO 15189:2013
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2
Množství připravovaného testovaného materiálu	40 sad pro HBV-DNA a 45 sad pro HCV-RNA (1 sada = 6 vzorků po 1,5 ml)
Označení vzorkovnic:	EHK 1263, PT#M/13, vzorky 1-6, 28. 3. 2022 EHK 1264, PT#M/14, vzorky 1-6, 28. 3. 2022
Zabezpečení kvality vzorku:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Obsahuje-li výchozí materiál po rozmražení viditelné částice organického materiálu (bílkoviny, tuky), je zcentrifugován 2. Pro zajištění stability je do výchozího materiálu přidáván po rozmražení ProClin 950 s antibakteriálními účinky v koncentraci 0,05-0,1%.
Test homogenity a stability:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Výchozí materiál (neředěný nebo v plánovaném ředění) je testován na cílové markery metodou PCR (dle SOP-NRL/VH-16) 2. Finální směs je testována na cílové markery metodou PCR (dle SOP-NRL/VH-16) 3. V případě neshody mezi výsledky získanými v referenční laboratoři a výsledky účastníků EHK jsou uskladněné rezervní vzorky testovány na cílové markery metodou PCR (dle SOP-NRL/VH-16)
Podmínky distribuce a uchovávání vzorků:	Distribuce probíhá v předepsaném obalu na suchém ledu. Vzhledem k přidání antibakteriálního činidla lze vzorky do vypršení termínu pro jejich vyšetření uchovávat zamražené nebo v chladu (4-10 ⁰ C), krátkodobě rovněž při pokojové teplotě.
Možné zdroje chyb:	nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor
Počet účastníků:	EHK1263 / 36 laboratoří; EHK1264 / 41 laboratoří
Termín distribuce:	28. 3. 2022
Způsob distribuce:	Přepravní službou se suchým ledem (zajišťuje Koordinační pracoviště)
Předání výsledků:	V elektronické podobě za použití aplikace EHK10 do 2. 5. 2022
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neprovádí se
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Za vztažnou hodnotu je považován výsledek získaný v NRL
Termín uveřejnění očekávaných výsledků:	12. 5. 2022
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 25. 7. 2022

2 / Způsob přípravy vzorků

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků je lidská plazma (či sérum) vyšetřená na přítomnost cílových markerů metodou PCR.

Pozitivní plazmy (séra) mohou být pro dosažení potřebného objemu či optimální hodnoty ředěny v negativních plazmách.

3 / Charakteristika materiálu

Série EHK 1263 byla určena pro stanovení přítomnosti DNA viru hepatitidy B, série EHK 1264 pro stanovení RNA viru hepatitidy C.

Každou ze sérií tvořilo 6 vzorků, z nichž 4 byly pozitivní a 2 negativní. Objem vzorků činil cca 1,5 ml lidského séra nebo plazmy.

Tabulka 1: Očekávané výsledky (síla pozitivita znázorněna orientačně křížky)

marker	č. vzorku					
	1	2	3	4	5	6
HBV-DNA (EHK-1263)	poz. (+)	neg.	neg.	poz. (+++)	poz. (++++)	poz. (++)
HCV-RNA (EHK-1264)	poz. (++++)	poz. (+)	poz. (+++)	neg.	poz. (++)	neg.

V sérii EHK 1263 činily koncentrace HBV-DNA naměřené v NRL-VH 5,2x10¹ IU/ml (vzorek 1), 2,5x10² (vzorek 6), 2,8x10³ (vzorek 4) a 2,4x10⁴ (vzorek 5). V sérii EHK 1264 činily naměřené koncentrace HCV-RNA 7,0x10¹ IU/ml (vzorek 2), 3,8x10² (vzorek 5), 1,9x10³ (vzorek 3) a 2,0x10⁴ (vzorek 1).

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.

4 / Způsob hodnocení

Nejslabší pozitivní vzorky v obou sériích (vzorek č. 1 v sérii EHK 1263 a vzorek č. 2 v sérii EHK 1264) sloužily účastníkům k ověření citlivosti používaných metod a nebyly součástí bodového hodnocení. U zbývajících vzorků znamenal každý neshodný výsledek pro účastníka hodnocení „laboratoř neuspěla“.

Kvantifikace pozitivních výsledků nebyla povinná ani bodově hodnocená, výraznější nepřesnosti se však promítly do komentáře referenční laboratoře.

5 / Vyhodnocení

Vzorky byly distribuovány 28. 3., konečným termínem pro dodání výsledků byl 2. 5. 2022.

Obou sérií se zúčastnilo celkem 41 laboratoří, z nichž 5 testovalo pouze HCV-RNA, zbývajících 36 oba markery. Všichni přihlášení účastníci dodali výsledky.

Své výsledky kvantifikovalo celkem 29 laboratoří u markeru HBV-DNA (80,6%) a 35 u markeru HCV-RNA (85,4%).

Celkové výsledky účastníků jsou shrnuty v tabulkách 2-3 (*Národní referenční laboratoř pro virové hepatitidy* figuruje v obou tabulkách pod pořadovým č. 1).

Tab. 2: výsledky vyšetření HBV-DNA v sérii EHK 1263 (P = pozitivní, N = negativní)

poř. č.	1	2	3	4	5	6	jednotky
	+	N	N	+++	++++	++	
1 - NRL	5,16x10e1	N	N	2,84x10e3	2,42x10e4	2,45x10e2	IU/ml
2							
3	4,26x10e1	N	N	2,28x10e3	3,53x10e4	2,63x10e2	IU/ml
4	P	N	N	P	P	P	
5	1,25x10e2	N	N	6,70x10e2	4,91x10e3	6,85x10e1	IU/ml
6	1,26x10e1	N	N	7,80x10e2	4,56x10e3	5,85x10e1	IU/ml
7	2,10x10e1	N	N	1,50x10e3	1,40x10e4	2,50x10e2	IU/ml
8	2,40x10e1	N	N	4,17x10e3	4,32x10e4	3,79x10e2	IU/ml
9	4,50x10e1	N	N	2,41x10e3	2,72x10e4	1,68x10e2	IU/ml
10	P	N	N	P	P	P	
11	P	N	N	P	P	P	
12	P	N	N	P	P	P	
13	3,90x10e1	N	N	2,62x10e3	2,86x10e4	2,69x10e2	IU/ml
14	P	N	N	1,95x10e2	9,39x10e3	4,64x10e1	IU/ml
15	P	N	N	P	P	P	
16	6,90x10e2	N	N	2,26x10e4	1,60x10e5	4,00x10e3	IU/ml
17	4,30x10e1	N	N	3,09x10e3	2,73x10e4	2,74x10e2	IU/ml
18	2,90x10e1	N	N	3,05x10e3	2,48x10e4	2,77x10e2	IU/ml
19							
20	5,75x10e1	N	N	2,82x10e3	2,19x10e4	2,84x10e2	IU/ml
21	7,98x10e1	N	N	2,64x10e3	2,51x10e4	3,82x10e2	IU/ml
22	4,80x10e1	N	N	2,79x10e3	2,49x10e4	2,84x10e2	IU/ml
23	N	N	N	P	P	P	
24							
25	1,80x10e1	N	N	7,10x10e3	7,20x10e4	8,00x10e2	IU/ml
26	3,69x10e2	N	N	8,80x10e3	9,28x10e4	2,17x10e3	IU/ml
27	8,93	N	N	7,10x10e2	7,64x10e3	4,28x10e1	IU/ml
28	5,13	N	N	4,80x10e3	2,29x10e4	1,02x10e2	IU/ml
29	4,60x10e1	N	N	3,30x10e3	2,94x10e4	3,00x10e2	IU/ml
30	5,10x10e1	N	N	2,73x10e3	2,50x10e4	2,74x10e2	IU/ml
31							
32	P	N	N	P	P	P	
33	4,90x10e1	N	N	2,86x10e3	2,39x10e4	3,33x10e2	IU/ml
34	3,90x10e1	N	N	1,50x10e3	2,39x10e4	2,79x10e2	IU/ml
35	2,50x10e1	N	N	1,84x10e3	1,61x10e4	1,09x10e2	IU/ml
36							
37	1,00x10e1	N	N	6,00x10e2	5,40x10e3	2,70x10e1	IU/ml
38	2,05x10e2	N	N	2,92x10e4	2,71x10e5	2,70x10e3	cop/ml
39	3,30x10e1	N	N	3,17x10e3	3,77x10e4	3,68x10e2	IU/ml
40	9,80x10e1	N	N	1,00x10e4	9,30x10e4	1,10x10e3	IU/ml
41	8,00x10e1	N	N	2,50x10e3	2,50x10e4	3,20x10e2	IU/ml
42	5,60x10e1	N	N	2,47x10e3	3,16x10e4	2,52x10e2	IU/ml

Laboratoře, u nichž nejsou uvedeny číselné hodnoty, své výsledky nekvantifikovaly. Pořadová čísla laboratoří v této tabulce nemají souvislost s jejich zavedenými kódy v EHK (NRL pro VH uvedena pod číslem 1).

Tab. 3: výsledky vyšetření HCV-RNA v sérii EHK 1264 (P = pozitivní, N = negativní)

poř. č.	1	2	3	4	5	6	jednotky
	++++	+	+++	N	++	N	
1 - NRL	2,03x10e4	6,97x10e1	1,93x10e3	N	3,78x10e2	N	IU/ml
2	2,66x10e4	2,10x10e1	2,29x10e3	N	2,56x10e2	N	neued.
3	2,80x10e4	7,74x10e1	4,13x10e3	N	3,89x10e2	N	IU/ml
4	P	P	P	N	P	N	
5	4,10x10e4	N	4,91x10e3	N	7,25x10e2	N	IU/ml
6	3,13x10e4	1,70x10e1	2,19x10e3	N	2,28x10e2	N	IU/ml
7	4,07x10e4	2,47x10e2	4,54x10e3	N	5,11x10e2	N	IU/ml
8	4,85x10e4	2,50x10e1	3,36x10e3	N	3,61x10e2	N	IU/ml
9	2,21x10e4	2,70x10e1	2,91x10e3	N	7,40x10e1	N	IU/ml
10	P	P	P	N	P	N	
11	P	P	P	N	P	N	
12	P	P	P	N	P	N	
13	3,02x10e4	1,60x10e1	2,53x10e3	N	2,85x10e2	N	IU/ml
14	2,90x10e4	2,28x10e1	3,69x10e3	N	3,79x10e2	N	IU/ml
15	P	P	P	N	P	N	
16	2,48x10e4	4,50x10e1	2,20x10e3	N	3,80x10e2	N	IU/ml
17	2,95x10e4	3,80x10e1	3,31x10e3	N	2,30x10e2	N	IU/ml
18	2,42x10e4	3,10x10e1	3,39x10e3	N	2,86x10e2	N	IU/ml
19	2,94x10e4	2,90x10e1	2,79x10e3	N	3,73x10e2	N	IU/ml
20	4,09x10e4	5,02x10e1	2,81x10e3	N	2,60x10e2	N	IU/ml
21	4,78x10e4	4,29x10e1	2,39x10e3	N	4,24x10e2	N	IU/ml
22	2,63x10e4	1,60x10e1	2,67x10e3	N	2,38x10e2	N	IU/ml
23	P	P	P	N	P	N	
24	2,87x10e4	2,50x10e2	2,38x10e3	N	2,24x10e3	N	IU/ml
25	3,70x10e4	1,00x10e2	5,10x10e3	N	5,00x10e2	N	IU/ml
26	2,10x10e4	9,80x10e1	5,70x10e3	N	4,63x10e2	N	IU/ml
27	1,33x10e4	1,90x10e1	9,10x10e2	N	2,40x10e2	N	IU/ml
28	3,89x10e4	5,79x10e1	4,07x10e3	N	2,42x10e2	N	IU/ml
29	1,46x10e4	1,50x10e1	1,03x10e3	N	1,78x10e2	N	IU/ml
30	3,47x10e4	2,70x10e1	2,29x10e3	N	2,41x10e2	N	IU/ml
31	2,95x10e4	3,00x10e1	2,52x10e3	N	3,25x10e2	N	IU/ml
32	4,80x10e4	5,60x10e1	3,29x10e3	N	4,01x10e2	N	IU/ml
33	3,95x10e4	2,40x10e1	3,81x10e3	N	3,32x10e2	N	IU/ml
34	2,54x10e4	2,10x10e1	1,83x10e3	N	2,03x10e2	N	IU/ml
35	8,60x10e4	4,80x10e1	8,97x10e3	N	9,32x10e2	N	IU/ml
36	2,28x10e4	1,70x10e1	2,49x10e3	N	2,85x10e2	N	IU/ml
37	3,50x10e4	2,70x10e1	2,80x10e3	N	2,70x10e2	N	IU/ml
38	2,14x10e3	N	2,80x10e2	N	1,50x10e2	N	IU/ml
39	2,59x10e4	2,80x10e1	3,02x10e3	N	2,57x10e2	N	IU/ml
40	5,10x10e4	9,70x10e1	4,10x10e3	N	5,50x10e1	N	IU/ml
41	1,00x10e4	4,00x10e1	1,30x10e3	N	4,00x10e2	N	neued.
42	3,21x10e4	2,10x10e1	3,18x10e3	N	3,31x10e2	N	IU/ml

Laboratoře, u nichž nejsou uvedeny číselné hodnoty, své výsledky nekvantifikovaly. Pořadová čísla laboratoří v této tabulce nemají souvislost s jejich zavedenými kódy v EHK (NRL pro VH uvedena pod číslem 1).

V obou sériích byly zaznamenány neshodné výsledky pouze u nejslabších pozitivních vzorků – tj. u vzorků nebodovaných (s koncentrací pod 100 IU/ml). V sérii EHK1263 se jednalo o vzorek 1, kde přítomnost HBV-DNA nezachytila jedna laboratoř z 36 (2,8%), v sérii EHK1264 šlo o vzorek 2, kde přítomnost HCV-RNA nezachytily dvě laboratoře ze 41 (4,9%).

Při kvantifikaci výsledků nebyly zaznamenány žádné extrémní odchylky. U markeru HBV-DNA kvantifikovaly např. laboratoře s poř. č. 16, 26 a 40 o něco výše než průměr (viz tab. 2). Dále byla nad průměrem rovněž laboratoř s poř. č. 38, kde však nešlo o odchylku v měření, neboť jako jediná použila jednotky cop/ml (místo IU/ml). U markeru HCV-RNA byly výsledky kvantifikace značně vyrovnané, o něco níže než průměr měla hodnoty posazené laboratoř s poř. č. 38 (která zde oproti HBV-DNA kvantifikovala v IU/ml).

6 / Závěr

V sériích EHK 1263 a EHK 1264 nebyly zaznamenány žádné neshodné výsledky u bodovaných vzorků. U nebodovaných (nejslabších pozitivních) vzorků nezachytily přítomnost cílových markerů tři laboratoře – 1x HBV-DNA, 2x HCV-RNA. Všechny zúčastněné laboratoře byly hodnoceny jako „úspěšné“.

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamace použijte prosím také webovou aplikaci SZÚ: <http://ehk.szu.cz/EHK10/>
Informace o změnách v objednávání opravných sérií a zadávání reklamací naleznete na webových stránkách SZÚ: <http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>)

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY