



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/13/2021 (EHK 1187)

Detekce HBV-DNA

PT#M/14/2021 (EHK 1188)

Detekce HCV-RNA

Praha, červen 2021

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
6.	Závěr	7
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/13-14/2021 (EHK 1187-1188) byl zaměřen na detekci HBV-DNA a HCV-RNA.

Návrh a realizace PT#M/13-14/2021 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. výsledkový protokol, je pro každou zúčastněnou laboratoř k dispozici na webových stránkách SZÚ (<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>) po přihlášení kódem a heslem v záložce „Hodnocení sérií“.

Zprávu vypracoval:

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

Zprávu autorizoval:

Mgr. Pavel Fritz

Tel. 267 082 484

Dne: 1. 6. 2021

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/13-14/2021

Identifikace kola:	EHK1187-1188
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:	a) EHK 1187, PT#M/13, č. 1-6, 23. 3. 2021 b) EHK 1188, PT#M/14, č. 1-6, 23. 3. 2021
Zabezpečení kvality vzorku:	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:	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 ^o C), krátkodobě rovněž při pokojové teplotě.
Možné zdroje chyb:	nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor
Počet účastníků:	EHK1187 / 35 laboratoří; EHK1188 / 39 laboratoří
Termín distribuce:	23. 3. 2021
Způsob distribuce:	Přepravní službou se suchým ledem (zajišťuje Koordinační pracoviště)
Předání výsledků:	V elektronické podobě za použití aplikace EHK10 do 27. 4. 2021
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:	Do 7. 5. 2021
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 20. 7. 2021

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 1187 byla určena pro stanovení přítomnosti DNA viru hepatitidy B, série EHK 1188 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-1187)	neg.	poz. (++++)	poz. (++)	poz. (+++)	neg.	poz. (+)
HCV-RNA (EHK-1188)	poz. (+)	poz. (++++)	poz. (++)	neg.	neg.	poz. (+++)

V sérii EHK 1187 činily koncentrace HBV-DNA naměřené v NRL-VH 8,8x10¹ IU/ml (vzorek 6), 1,4x10² (vzorek 3), 1,3x10³ (vzorek 4) a 1,2x10⁴ (vzorek 2). V sérii EHK 1188 činily naměřené koncentrace HCV-RNA 8,2x10¹ IU/ml (vzorek 1), 4,0x10² (vzorek 3), 3,8x10³ (vzorek 6) a 4,1x10⁴ (vzorek 2).

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. 6 v sérii EHK 1187 a vzorek č. 1 v sérii EHK 1188) 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 23. 3., konečným termínem pro dodání výsledků byl 27. 4. 2021.

Obou sérií se zúčastnilo celkem 40 laboratoří, z nichž 4 testovaly 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 33 u markeru HCV-RNA (82,5%).

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-1187 (P = pozitivní, N = negativní)

poř. č.	1	2	3	4	5	6	jednotky
	N	++++	++	+++	N	+	
1 - NRL	N	1,23x10e4	1,37x10e2	1,28x10e3	N	8,81x10e1	IU/ml
2	N	P	P	P	N	P	
3	N	6,10x10e4	5,85x10e2	4,92x10e3	N	N	IU/ml
4	N	3,69x10e4	3,00x10e2	2,10x10e3	N	3,00x10e2	IU/ml
5	N	3,30x10e3	8,70x10e1	4,03x10e2	N	3,70x10e1	IU/ml
6	N	7,28x10e4	3,43x10e2	7,01x10e3	N	2,98x10e2	IU/ml
7	N	5,12x10e3	2,06x10e2	1,79x10e3	N	9,20x10e1	IU/ml
8	N	P	P	P	N	P	
9	N	P	P	P	N	P	
10	N	P	P	P	N	P	
11	N	2,41x10e4	2,52x10e2	2,30x10e3	N	1,19x10e2	IU/ml
12	N	2,00x10e4	2,10x10e2	1,90x10e3	N	1,20x10e2	IU/ml
13	N	P	P	P	N	P	
14	N	6,50x10e3	1,20x10e2	8,20x10e2	N	4,70x10e1	IU/ml
15							
16	N	2,19x10e4	2,19x10e2	2,21x10e3	N	9,60x10e1	IU/ml
17	N	3,02x10e4	2,59x10e2	3,39x10e3	N	1,72x10e2	IU/ml
18							
19	N	1,95x10e4	2,30x10e2	2,16x10e3	N	1,32x10e2	IU/ml
20	N	2,01x10e4	1,89x10e2	1,69x10e3	N	1,33x10e2	IU/ml
21	N	3,63x10e4	2,31x10e2	3,02x10e3	N	1,20x10e2	IU/ml
22	N	P	P	P	N	P	
23	N	2,41x10e4	1,26x10e2	2,17x10e3	N	6,66x10e1	IU/ml
24	N	7,90x10e3	8,80x10e1	9,00x10e2	N	N	IU/ml
25	N	4,82x10e3	3,20x10e1	4,05x10e2	N	2,40x10e1	IU/ml
26	N	4,70x10e4	5,20x10e2	5,06x10e3	N	2,40x10e2	IU/ml
27	N	1,99x10e4	5,15x10e2	3,69x10e3	N	1,19x10e2	IU/ml
28	N	2,56x10e4	1,86x10e2	3,56x10e3	N	1,25x10e2	IU/ml
29							
30	N	1,76x10e4	N	6,26x10e2	N	N	IU/ml
31	N	P	P	P	N	P	
32	N	2,46x10e4	2,42x10e2	2,41x10e3	N	1,44x10e2	IU/ml
33	N	2,19x10e4	2,33x10e2	1,89x10e3	N	1,09x10e2	IU/ml
34	N	1,45x10e4	9,90x10e1	8,48x10e2	N	3,30x10e1	IU/ml
35							
36	N	7,20x10e3	8,50x10e1	6,10x10e2	N	2,00x10e1	IU/ml
37	N	2,34x10e5	1,07x10e3	2,36x10e4	N	7,39x10e2	Cop/ml
38	N	2,30x10e4	1,95x10e2	2,94x10e3	N	1,04x10e2	IU/ml
39	N	2,40x10e4	5,70x10e1	2,40x10e3	N	2,00x10e2	IU/ml
40	N	2,00x10e4	2,00x10e2	2,00x10e3	N	8,50x10e1	IU/ml
41	N	1,98x10e4	2,13x10e2	2,83x10e3	N	1,29x10e2	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-1188 (P = pozitivní, N = negativní)

poř. č.	1	2	3	4	5	6	jednotky
	+	++++	++	N	N	+++	
1 - NRL	8,21x10e1	4,06x10e4	4,03x10e2	N	N	3,75x10e3	IU/ml
2	P	P	P	N	N	P	
3	N	9,95x10e3	6,00x10e1	N	N	1,33x10e3	IU/ml
4	5,70x10e1	3,59x10e4	1,81x10e2	N	N	3,51x10e3	IU/ml
5	1,15x10e3	1,60x10e5	1,88x10e3	N	N	2,23x10e4	IU/ml
6	1,26x10e2	5,05x10e4	3,80x10e2	N	N	4,29x10e3	IU/ml
7	73	4,08x10e4	2,33x10e2	N	N	2,77x10e3	IU/ml
8	P	P	P	N	N	P	
9	P	P	P	N	N	P	
10	P	P	P	N	N	P	
11	5,70x10e1	3,16x10e4	3,02x10e2	N	N	3,64x10e3	IU/ml
12	8,67x10e1	2,40x10e4	3,06x10e2	N	N	1,83x10e3	IU/ml
13	P	P	P	N	N	P	
14	8,50x10e1	2,60x10e4	2,80x10e2	N	N	2,50x10e3	IU/ml
15	3,82x10e1	3,09x10e4	2,63x10e2	N	N	3,31x10e3	IU/ml
16	4,60x10e1	2,31x10e4	2,15x10e2	N	N	3,39x10e3	IU/ml
17	3,80x10e1	2,33x10e4	241	N	N	1,53x10e3	IU/ml
18	4,60x10e1	2,71x10e4	2,20x10e2	N	N	2,12x10e3	IU/ml
19	1,43x10e2	3,44x10e4	4,17x10e2	N	N	3,58x10e3	IU/ml
20	6,52x10e1	4,23x10e4	3,63x10e2	N	N	3,64x10e3	IU/ml
21	4,40x10e1	3,11x10e4	2,54x10e2	N	N	3,16x10e3	IU/ml
22	P	P	P	N	N	P	
23	9,65x10e1	2,62x10e4	4,37x10e2	N	N	2,95x10e3	IU/ml
24	3,20x10e1	5,70x10e4	3,80x10e2	N	N	8,50x10e3	IU/ml
25	2,60x10e1	9,83x10e3	5,20x10e1	N	N	1,78x10e3	IU/ml
26	1,98x10e2	5,22x10e4	1,46x10e2	N	N	3,21x10e3	IU/ml
27	N	1,48x10e4	6,04x10e1	N	N	1,30x10e3	IU/ml
28	6,30x10e1	2,87x10e4	2,99x10e2	N	N	2,24x10e3	IU/ml
29	5,90x10e1	2,93x10e4	2,73x10e2	N	N	2,63x10e3	IU/ml
30	2,59x10e2	4,09x10e4	1,82x10e2	N	N	1,23x10e3	IU/ml
31	N	P	P	N	N	P	
32	6,35x10e1	4,91x10e4	3,95x10e2	N	N	3,90x10e3	IU/ml
33	7,40x10e1	3,07x10e4	3,13x10e2	N	N	3,68x10e3	IU/ml
34	1,23x10e2	8,40x10e4	5,52x10e2	N	N	7,87x10e3	IU/ml
35	4,70x10e1	4,77x10e4	2,57x10e2	N	N	2,17x10e3	IU/ml
36	1,50x10e2	2,20x10e4	2,20x10e2	N	N	2,30x10e3	IU/ml
37	N	2,01x10e4	4,33x10e1	N	N	2,52x10e3	IU/ml
38	7,30x10e1	3,36x10e4	2,43x10e2	N	N	3,55x10e3	IU/ml
39	1,20x10e2	6,60x10e4	2,40x10e2	N	N	5,20x10e3	IU/ml
40	2,60x10e1	1,90x10e4	1,70x10e2	N	N	1,50x10e3	IU/ml
41	5,80x10e1	3,46x10e4	3,23x10e2	N	N	3,32x10e3	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 sérii EHK 1187 (marker HBV-DNA) vykázaly celkem 3 laboratoře (8,3%) nižší citlivost použité metody. Dvě z těchto laboratoří (v tabulkách poř. č. 3 a 24) nezachytily cílový marker u nejslabšího pozitivního vzorku (nebodovaný vzorek č. 6) a prošly hodnocením bez bodové ztráty. Třetí laboratoř (poř. č. 30) označila za negativní jak vzorek č. 6, tak o něco silnější vzorek č. 3, který již patřil mezi bodované, a byla hodnocena jako „neúspěšná“. Žádné větší problémy nezaznamenali účastníci s kvantifikací pozitivních nálezů. Některé laboratoře (např. poř. č. 5 nebo 25) měly hodnoty oproti průměru posazený o něco níže, jedna laboratoř (poř. č. 37) kvantifikovala v cop/ml, což oproti jednotkám IU/ml poskytuje vyšší číselné hodnoty.

V sérii EHK 1188 (marker HCV-RNA) byly všechny laboratoře hodnoceny jako úspěšné (žádný neshodný výsledek u bodovaných vzorků). Nebodovaný vzorek č. 1 označily za negativní 4 laboratoře ze 40 (10%). Problémy s kvantifikací zaznamenala pouze laboratoř s poř. č. 5 (výše posazené hodnoty).

6 / Závěr

Série EHK 1187 a 1188 nevybočovaly ze standardu posledních let, kdy laboratoře vykazují dobré výsledky. Jako „neúspěšné“ bylo hodnoceno jediné pracoviště, které zaznamenalo negativitu HBV-DNA u jednoho z bodovaných pozitivních vzorků a i v tomto případě šlo o vzorek velmi slabý (mírně nad 100 IU/ml). Nebodované pozitivní vzorky pod 100 IU/ml nezachytilo u markeru HBV-DNA 8% laboratoří, u markeru HCV-RNA 10%.

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu.

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY