



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/11/2023 (EHK 1335)**

**Detekce nukleové kyseliny respiračních virů**

**Praha, duben 2023**

## Obsah

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

Program zkoušení způsobilosti PT#M/11/2023 byl zaměřen na identifikaci respiračních virů. Návrh a realizace PT#M/11/2023 byly prováděny podle standardního operačního postupu koordinátora programu EHK 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 webové aplikaci SZÚ v odkazu: <http://ehk.szu.cz/EHK10/> po přihlášení kódem laboratoře a heslem.

### **Zprávu vypracoval:**

MUDr. Radomíra Limberková, NRL pro chřipku a nechřipková respirační virová onemocnění a NRL pro zarděnky, spalničky, parotitidu a parvovirus B19, SZÚ Praha

### **Zprávu autorizoval:**

MUDr. Radomíra Limberková

Tel: 267082412

Dne: 20. 4. 2023

Pracoviště 2 ESPT:

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

e-mail: [ehk@szu.cz](mailto:ehk@szu.cz)

## 1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/11/2023

Identifikace cyklu:	EHK 1335
Název PT:	Detekce nukleové kyseliny respiračních virů – chřipka A, chřipka B, adenovirus, RSV
Koordinátor:	MUDr. Radomíra Limberková
Podstata a účel PT:	Ověření schopnosti identifikovat RNA respiračních virů
Kritéria pro účast na PT:	Přihláška k účasti a úhrada daného programu Znalost postupů, technické vybavení pro molekulární diagnostiku
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3 závěrečné zprávy
Hodnocené ukazatele:	Pozitivita, negativita vzorku – detekce RNA
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Počet účastníků:	47
Termín distribuce vzorků:	14. 3. 2023
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky:	4. 4. 2023
Označení vzorkovnic:	EHK 1335, PT # M/11, č. 1-4, 14. 3. 2023
Zabezpečení jakosti vzorku včetně testu homogenity a stability	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe a pokynů organizátora, záměna vzorků
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4 závěrečné zprávy
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Vztažnou hodnotou jsou výsledky NRL, které byly získané trojitým opakovaným testováním vzorků (= očekávané výsledky).
Určení maximální směrodatné odchylky:	Aritmetický průměr všech hodnocených laboratoří minus 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.
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	13. 4. 2023
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 27. 6. 2023

## 2. Způsob přípravy vzorků

### 2.1 Postup přípravy výchozího materiálu

Viry chřipky, adenovirus

- infekce kuřecích embryí aktuálními WHO kmeny virů chřipky/ infekce tkáňové kultury L132 adenovirem
- ověření přítomnosti virů v alantoidní tekutině titrací hemaglutininu s morčecími krvinkami (viry chřipky)
- ověření přítomnosti virové RNA pomocí RT-PCR
- ověření sterility alantoidních či buněčných tekutin inkubací 0,5 ml alantoidní tekutiny v hovězím bujónu
- naředění jednotlivých vzorků v odběrovém virologickém mediu tak, aby virová nálož při testování pomocí PCR odpovídala běžnému klinickému vzorku (CT 20 – 33 ± 1)

RSV

- Poolování nazofaryngeálních výtěrů s pozitivním záchytem nukleové kyseliny RSV
- Přetestování poolu na přítomnost RNA pomocí RT-PCR
- ověření sterility inkubací 0,5 ml tekutiny v hovězím bujónu

### 2.2 Zabezpečení kvality výchozího materiálu, homogenita a stabilita

Homogenita je zajištěna promícháním vzorků před zahájením alikvotování do lyofilizačních lahvíček a rovněž v jejím průběhu.

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. Dlouhodobá stabilita vzorků je zajištěna lyofilizací a následným skladováním při teplotě 2 – 8° C.

Test homogenity a stability:

Homogenita a stabilita jsou posuzovány na základě trojitého opakovaného testování připravených vzorků: po lyofilizaci, před distribucí a v termínu blízkém dni odeslání výsledků zpět k vyhodnocení. Na každé testování se použije nový lyofilizát, vzorek se testuje v každém termínu jedenkrát, průkazem homogenity a stability vzorků je dosažení totožných výsledků při každém testování.

### 2.3 Rozplnění výchozího materiálu

Viry chřipky, adenovirus

- rozplnění naředěných vzorků po 1 ml do lyofilizačních lahvíček
- Lyofilizace
- Lyofilizované vzorky jsou skladovány při teplotě 2 – 8° C

RSV

- Rozplnění poolovaného vzorku po 1 ml do lyofilizačních lahvíček
- Lyofilizace
- Lyofilizované vzorky jsou skladovány při teplotě 2 – 8° C.

### 3. Charakteristika materiálu

Zásilka obsahovala 4 vzorky k určení virového agens metodou PCR, všechny vzorky byly v NRL pozitivní při testování pomocí RT-PCR.

Jednalo se o WHO kmeny virů chřipky pomnožené na kuřecích embryích (virus chřipky A/H1N1, virus chřipky B), adenovirus pomnožený na TK L132 a pool nasopharyngeálních výtěrů pacientů s pozitivním záchytem nukleové kyseliny RSV.

### 4. Způsob vyhodnocení

Každý vzorek byl hodnocen v rozmezí 0 - 2 body:

Očekávaný výsledek	2 body (shoda s výsledkem NRL)
Částečně správný výsledek	1 bod (hraniční/suspektní nález u pozitivního vzorku)
Nesprávný výsledek	0 bodů (negativní výsledek u pozitivního vzorku nebo naopak)

Výstupy z laboratoří se očekávají v podobě pozitivní či negativní s uvedením hodnoty CT, pokud to diagnostikum umožňuje. Hodnota CT není předmětem hodnocení, hodnotí se slovní závěr: pozitivní nebo negativní vzorek na vyšetřené agens. Za vyhovující jsou považovány výsledky, které jsou ve shodě s očekávanými výsledky. Dvěma body je hodnocena shoda, jedním bodem je hodnocena částečná shoda a bez bodového ohodnocení jsou výsledky, které se s očekávaným výsledkem neshodují. Volba metody pro testování vzorků na přítomnost specifické RNA závisí na rutinní praxi účastníka.

Za identifikaci čtyř virových agens ve 4 vzorcích mohou laboratoře získat maximálně 32 bodů, za vyšetření tří agens (bez adenoviru) maximálně 24 bodů nebo 16 bodů při vyšetření dvou agens (jen chřipka A a B).

Limit požadovaných bodů byl stanoven výpočtem (limitem je aritmetický průměr z hodnot získaných bodů účastníků dané skupiny minus dvě směrodatné odchylky).

Pokud se v hodnocené skupině vyskytuje pracoviště s extrémně nízkým bodovým ziskem (< 50 % maximálního bodového zisku), je vyloučeno z výpočtu limitu.

Takové pracoviště je automaticky hodnoceno jako neúspěšné.

## 5. Vyhodnocení

### 5.1 Očekávané výsledky PCR

Vzorek	Influenza A	Influenza B	Adenovirus	RSV
A	negativní	pozitivní	negativní	negativní
B	negativní	negativní	pozitivní	negativní
C	pozitivní	negativní	negativní	negativní
D	negativní	negativní	negativní	pozitivní

Pozn.: vzorek 3 = A/H1N1

## 5.2 Dosažené výsledky PCR – vypočtený limit

### 32 bodů (25 laboratoří) – *influenza A, influenza B, RSV, AV*

Aritmetický průměr	31,28
Směrodatná odchylka	0,96
2 směrodatné odchylky	1,92
<b>Limit</b>	<b>29,16 bodů</b>
<b>Uspělo</b>	25
<b>Neuspělo</b>	0

100% bodový zisk 16 laboratoří

### 24 bodů (20 laboratoří) – *bez adenoviru*

Aritmetický průměr	22,9
Směrodatná odchylka	0,99
2 směrodatné odchylky	1,98
<b>Limit</b>	<b>20,9 bodů</b>
<b>Uspělo</b>	20
<b>Neuspělo</b>	0

100% bodový zisk 9 laboratoří

### 16 bodů (1 laboratoř) – *jen viry chřipky A, B*

Laboratoř uspěla na 100 %

## 6. Závěr

Vzorky byly rozeslány do 47 laboratoří, všechna pracoviště kromě jednoho zaslala své protokoly zpět k vyhodnocení. Uspělo všech 46 hodnocených laboratoří. Úspěšnosti 100 % bylo dosaženo v 26 laboratořích.

Všetchna čtyři agens ve vzorcích testovalo 25 laboratoří s maximálním bodovým ziskem 32 bodů. Všechny laboratoře dosáhly požadovaného bodového limitu (29 bodů), 16 z nich získalo 100 % bodů.

Tři agens (bez adenoviru) ve vzorcích testovalo 20 laboratoří s maximálním bodovým ziskem 24 bodů. Všechny laboratoře dosáhly požadovaného bodového zisku (21 bodů) a 9 z nich dosáhlo 100% bodový zisk.

Dvě agens (jen viry chřipky) ve vzorcích testovala 1 laboratoř s maximálním bodovým ziskem 16 bodů a získala 100 % bodů.

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

Konec závěrečné zprávy