



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/17-2/2023 (EHK 1370)

Sérologie HBV markery

Praha, leden 2024

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	5-6
6.	Závěr	6
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/17-2/2023 (EHK 1370) byl zaměřen na sérologii HBV. Návrh a realizace PT#M/17-2/2023 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: <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: 11. 1. 2024

Pracoviště 2 ESPT

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

e-mail: ehk@szu.cz

1 / Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT#M/17-2/2023

Identifikace cyklu:	EHK 1370
Název PT:	Sérologie HBV markery
Koordinátor:	Mgr. Pavel Fritz Národní referenční laboratoř pro virové hepatitidy tel.: +420 267082484 (2455); email: pavel.fritz@szu.cz
Podstata a účel PT:	Průkaz alespoň jednoho z 6 diagnostických markerů hepatitidy B (HBsAg a HBeAg antigenu, anti-HBc total, anti-HBc IgM, anti-HBe a anti-HBs protilátek)
Kritéria pro účast na PT:	Znalost postupů; technické vybavení pro diagnostiku cílových markerů
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3 závěrečné zprávy
Hodnocené ukazatele:	Pozitivita, negativita vzorku
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Počet účastníků:	133 přihlášených, 130 odevzdalo výsledky k hodnocení
Termín distribuce vzorků:	17. 10. 2023
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	do 7. 11. 2023
Označení vzorkovnic:	EHK 1370, PT#M 17-2, vzorky 1-5, 17. 10. 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:	Neurčuje se
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neurčuje se
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	13. 11. 2023
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 30. 1. 2024

2 / Způsob přípravy vzorků

2.1 Primární zpracování biologického materiálu

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků jsou lidské plazmy. Stabilita plazem je zajištěna přidáním antibakteriálního činidla ProClin 950 v koncentraci 0.01%. Obsahuje-li materiál po rozmražení viditelné částice organického materiálu (bílkoviny, tuky), je zcentrifugován. Plazmy mohou být pro dosažení potřebného objemu ředěny fyziologickým roztokem.

2.2 Vyšetření cílových markerů, testování homogenity a stability

Výchozí materiál je testován na cílové markery diagnostickými systémy EIA. Finální materiál (po případném ředění či tvorbě směsi) je znovu testován na cílové markery diagnostickými systémy EIA.

Testování není prováděno kvantitativními metodami; kvantitativní výstup nevyžadován ani od účastníků; homogenita neanalyzována. Test stability je prováděn pouze, existuje-li prodleva mezi přípravou vzorků a distribucí. V EHK 1370 byly vzorky připraveny bezprostředně před distribucí (bez zamražení). Stabilita materiálu po distribuci je analyzována z výsledků účastnických laboratoří a (v případě potřeby) z archivních vzorků uskladněných v referenční laboratoři.

2.3 Rozplnění materiálu

K rozplnění materiálu došlo v 3-týdenním období mezi jeho přípravou a distribucí. Materiál byl před rozplněním i po něm uchovávan při teplotě 2-8°C (nebyl zamražován a rozmražován). Sérii EHK 1370 tvořilo 5 materiálů (vzorků), z nichž každý byl rozplněn do aliquotů po 1,5 ml. Rozplnění jednotlivých materiálů (vzorků) probíhalo časově odděleně od ostatních, což vylučuje možnost vzájemné kontaminace.

3 / Charakteristika materiálu

Série EHK 1370 obsahovala 5 vzorků po 1,5 ml k testování 6 diagnostických markerů (HBsAg, HBeAg, anti-HBc total, anti-HBc IgM, Anti-HBe a anti-HBs).

Tabulka 1: Očekávané výsledky

MARKER	VZOREK				
	A	B	C	D	E
HBsAg	-	-	+	-	+
Anti-HBc total	-	-	+	-	+
Anti-HBc IgM	-	-	-	-	-
HBeAg	-	-	-	-	-
Anti-HBe	-	-	+	-	+
Anti-HBs	-	+	-	+	-

4 / Způsob hodnocení

Antigen HBsAg je hodnocen samostatně, přičemž každý chybný výsledek znamená pro účastníka hodnocení „laboratoř neuspěla“.

Zbývajících 5 diagnostických markerů je hodnoceno společně. Pokud účastník vyšetřuje 1-3 markery z této skupiny, nesmí zaznamenat žádný chybný výsledek, při testování 4 - 5 markerů je tolerována jedna chyba. Neshodné výsledky mohou být tolerovány rovněž v případě, kdy je zjevné, že vznikly buď pouhým „překlepem“ při zadávání některé z položek do elektronického formuláře, nebo byly zapříčiněny vlastnostmi použitého testu, které uživatel nemohl ovlivnit.

5 / Vyhodnocení

K testování série EHK 1370 se přihlásilo celkem 133 laboratoří, z nichž 130 dodalo výsledky.

Tabulka 2: **Kombinace vyšetřovaných markerů**

Vyšetřované markery	Počet laboratoří
Všech 6 markerů	87
Pouze HBsAg a anti-HBc total	14
Jiné kombinace	29
Celkem	130

V EHK 1370 vykazovalo neshodné výsledky pět laboratoří. Jednalo se o následující případy:

- 1) Falešná reaktivita HBsAg u vzorku A (nekonfirmováno). Laboratoř byla hodnocena jako neúspěšná v kategorii „HBsAg“.
- 2) Falešná reaktivita anti-HBs u vzorku E.
- 3) Falešná reaktivita anti-HBs u vzorku E.
- 4) Dvě falešné reaktivity anti-HBs u vzorků C a E, dvě falešné reaktivity HBeAg u vzorků C a E. Laboratoř byla hodnocena jako neúspěšná v kategorii „markery HBV“ (společná kategorie pro všechny markery HBV s výjimkou HBsAg – viz „způsob hodnocení“).
- 5) Falešná reaktivita HBeAg u vzorku E.

Z výše uvedeného přehledu plyne, že nejčastějším neshodným výsledkem byla falešná reaktivita anti-HBs u vzorku E. Tento výsledek vykazaly 3 laboratoře s deklarovanými hodnotami v rozmezí cca 30-50 mIU/ml, u dalších dvou byl výsledek hraniční či rovněž reaktivní, ale sporný z technických důvodů. Zbýlých 107 účastníků vykazovalo výsledky negativní, stejně jako referenční laboratoř. Příčina kumulace pěti vybočujících výsledků není zjevná. Vzorek E představoval směs tří složek – lidské plazmy negativní na všechny sérologické markery hepatitidy B, lidské plazmy od osoby s aktivní HBV infekcí (pozitivní HBsAg, anti-HBc total a anti-HBe) a fyziologického roztoku. Žádná ze složek nevykazovala před přípravou směsi přítomnost anti-HBs. Podstatný je rovněž fakt, že nebyla prokázána souvislost mezi vybočujícími výsledky a testem určitého výrobce. Oněch pět laboratoří (včetně pracovišť s hraničním a sporným výsledkem) vyšetřovalo čtyřmi různými testy, přičemž zbývajících uživatelé těchto testů přítomnost anti-HBs nezaznamenali. Ačkoli byly laboratořím strženy za reaktivitu anti-HBs u vzorku E dva body, jen jedna byla v kategorii „markery HBV“ hodnocena jako neúspěšná a to kvůli současnému vykazání tří jiných neshodných výsledků (zbylé laboratoře splnily kritérium pro celkovou úspěšnost – viz způsob hodnocení).

Tabulka 3: **Výsledky laboratoří podle jednotlivých markerů**

Počet Chyb	Počet laboratoří (% vyšetřujících laboratoří)					
	HBsAg	anti-HBc total	anti-HBc IgM	HBeAg	anti-HBe	anti-HBs
0	124 (99,2%)	126 (100,0%)	96 (100,0%)	99 (97,0%)	100 (100,0%)	109 (97,3%)
1	1 (0,8%)	-	-	1 (2,0%)	-	2 (1,8%)
2	-	-	-	1 (1,0%)	-	1 (0,9%)
3	-	-	-	-	-	-
Netestuje	5	4	34	29	30	18
Celkem	130	130	130	130	130	130

6 / Závěr

V EHK 1370 vykázalo neshodné výsledky pět laboratoří, z nichž dvě byly hodnoceny jako „neúspěšné“ (jedna v kategorii „HBsAg, druhá „markery HBV“). Nejčastějším neshodným výsledkem byla reaktivita anti-HBs u vzorku E. Rovněž se vyskytly „překlepy“ při vyplňování elektronického formuláře, které nevedly k bodové ztrátě.

Laboratoře, které neuspěly, si mohou objednat edukativní vzorky prostřednictvím webové aplikace SZÚ, a to do 30 dnů po obdržení svých výsledků. Výsledky edukativních vzorků nebudou mít vliv na opravu předchozího neúspěšného výsledku v rámci EHK a slouží pouze jako podklad pro vyřešení případné neshodné práce v laboratoři.

Edukativní vzorky laboratoř obdrží obvyklou cestou v co nejkratším termínu po objednání.

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

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY