



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/28/2024 (EHK 1409)**  
**Sérologie klíšťové encefalitidy**

**Praha, srpen 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. Závěr	8

### Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře

Program zkoušení způsobilosti PT#M/28/2024 byl zaměřen na sérologii klíšťové encefalitidy. Návrh a realizace PT#M/28/2024 byly prováděny podle standardního operačního postupu koordinátora programu 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 vypracovala:**

MUDr. Hana Zelená, Ph.D.

#### **Zprávu autorizovala:**

MUDr. Hana Zelená, Ph.D. (NRL pro arboviry, Ostrava)

Tel.: 596 200 310

**Dne:** 13. 8. 2024

#### **Pracoviště 2 ESPT**

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

email: [ehk@szu.cz](mailto:ehk@szu.cz)

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/28/2024**

Identifikace cyklu:	EHK 1409
Název PT:	Sérologie klíšťové encefalidity
Koordinátor:	MUDr. Hana Zelená, Ph.D.
Podstata a účel PT/EHK:	ověřit schopnost účastníků identifikovat přítomnost protilátek proti klíšťové encefalitidě (IgM a IgG) v séru a interpretovat dosažené výsledky
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Znalost a technické vybavení pro vyšetření protilátek proti klíšťové encefalitidě
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3 závěrečné zprávy
Hodnocené ukazatele:	Pozitivita, negativita vzorku
Způsob přípravy:	Výchozím materiálem pro přípravu vzorků je lidská plazma/sérum, které je vyšetřeno na přítomnost cílových markerů. K dosažení potřebného objemu (daného přihlášeným počtem účastníků EHK) může být výchozí materiál doředěn fetálním bovinním sérem do maximálního objemového podílu 50 %.
Počet účastníků:	76
Termín distribuce vzorků:	21. 5. 2024
Informace účastníkům:	Viz informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků:	11. 6. 2024
Označení vzorkovnic:	EHK 1409, PT # M/28/2024, č. 1-4, 21. 5. 2024
Zabezpečení kvality vzorku:	Manipulace za sterilních podmínek, vhodné skladování, rychlý transport ke zpracování, testy homogenity a stability
Testy homogenity a stability:	Pro zajištění stability a omezení případné infekčnosti je do výchozího materiálu přidávána směs antibiotik a betapropiolakton v koncentraci 0,5µl/ml. Vybrané vzorky ze série rozeseřlané zákazníkům jsou testovány na přítomnost cílového markeru v NRL pro arboviry v den před distribucí vzorků a po termínu doručení zásilek zákazníkům.
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe
Způsob vyhodnocení výsledků:	Bodové ohodnocení: za 1 vzorek max 5 bodů. Maximálním možným počtem získaných bodů je 20. Laboratoř se dle svých technických možností může účastnit pouze stanovení IgG protilátek. Pro takovou laboratoř jsou potřebným maximem získaných bodů 8 bodů.
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Pro kvalitativní hodnocení je za vztažnou hodnotu považován výsledek získaný v NRL.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neurčuje se
Termín uveřejnění očekávaných výsledků:	21. 6. 2024
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 3. 9. 2024

## 2. Způsob přípravy vzorků

Vzorky byly připraveny na pracovišti koordinátora – v Národní referenční laboratoři pro arboviry, ve Zdravotním ústavu se sídlem v Ostravě, vedoucí: MUDr. Hana Zelená, Ph.D. v termínu od 18. 4. do 3. 5. 2024 dle SOP koordinátora.

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byla lidská plazma/sérum.

Simulované klinické vzorky pro EHK byly připraveny z vyšetřených sér pacientů. Séra jsou dlouhodobě zamražena při  $-20^{\circ}\text{C}$ . Před přípravou okružních vzorků byla vhodná séra vybrána a rozmrazena při teplotě  $+4^{\circ}\text{C}$ .

Po kontrole vnějšího vzhledu byla vybraná séra vyšetřena na přítomnost anti-v. klíšť. encefalitidy (TBEV) IgG, IgM, KFR, VNT.

Vyhovující vzorky sér byly poté poolovány podle obsahu IgG a IgM protilátek anti-TBEV na potřebný objem podle počtu účastníků EHK.

Vyhovující vzorky poolovaných sér byly opracovány BPL, konzervovány směsí antibiotik a filtrovány ( $0,22\ \mu\text{m}$ ). Připravené poolované vzorky označené čísly 1 až 4 byly opět vyšetřeny na přítomnost anti-TBEV IgG a IgM protilátek. Výchozí materiál byl rozplněn do potřebného počtu plastových zkumavek se šroubovacím uzávěrem o objemu min. 0,3 ml.

Jednotlivé alikvoty (série 4 zkumavek jednotlivě označených 1-4, číslem EHK a datem rozeslání) jsou v přepravních nádobách uloženy do polystyrénové krabice s chladícími vložkami, která je označena samolepkou s názvem EHK Sérologie klíšťové encefalitidy. Až do odeslání do SZÚ (Koordinační pracoviště ESPT2) jsou vzorky uskladněny při teplotě 2 až  $8^{\circ}\text{C}$ . Krabice s alikvoty je dopravena z NRL pro arboviry, Centra klinických laboratoří v rámci Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě do SZÚ Praha.

Pro testování homogenity jsou použity 3 náhodně vybrané zkumavky od každého vzorku, které jsou otestovány v NRL pro arboviry před odesláním na Koordinační pracoviště ESPT2. Pro ověření stability jsou otestovány vzorky před rozplněním, po rozplnění před odesláním, po odeslání a po ukončení příslušné série EHK. Tímto postupem je ověřena homogenita a stabilita vzorků v celém procesu od okamžiku jejich přípravy v NRL pro arboviry v Ostravě (pracoviště koordinátora), přes transport do SZÚ (Koordinační pracoviště ESPT2) a transport rozplněných vzorků do cílové laboratoře účastníci se EHK.

## 3. Charakteristika materiálu

**Vzorek 1** byl poolem lidských sér negativních na přítomnost IgG i IgM protiátek proti klíšťové encefalitidě. Negativní výsledky byly ověřeny u všech jednotlivých sér virusneutralizačním testem (VNT). Poolovaný vzorek byl v NRL testován s výsledky: KFR  $<4$ , ELISA IgG negat., avidita IgG nehodnocena, ELISA IgM negat.

**Vzorek 2** byl poolem lidských sér obsahujících protilátky třídy IgG proti klíšťové encefalitidě ve středně vysokém titru. Všechna séra v poolu byla negativní na protilátky třídy IgM proti klíšťové encefalitidě. Přítomnost specifických protilátek proti klíšťové encefalitidě byla u všech jednotlivých vzorků confirmována virusneutralizačním testem (VNT). Poolovaný vzorek byl v NRL testován s výsledky: KFR 32, ELISA IgG pozit., avidita IgG vysoká, ELISA IgM negat.

**Vzorek 3** byl poolem lidských sér obsahujících protilátky třídy IgG proti klíšťové encefalitidě ve vysokém titru. Všechna séra v poolu byla negativní na protilátky třídy IgM proti klíšťové encefalitidě. Přítomnost specifických protilátek proti klíšťové encefalitidě byla u všech jednotlivých

vzorků confirmována virusneutralizačním testem (VNT). Poolovaný vzorek byl v NRL testován s výsledky: KFR 64, ELISA IgG pozit., avidita IgG vysoká, ELISA IgM negat.

**Vzorek 4** byl poolem lidských sér obsahujících protilátky IgM a protilátky třídy IgG proti klíšťové encefalitidě ve vysokém titru. Přítomnost specifických protilátek proti klíšťové encefalitidě byla u všech jednotlivých vzorků confirmována virusneutralizačním testem (VNT). Poolovaný vzorek byl v NRL testován s výsledky: KFR 64, ELISA IgG pozit., avidita IgG vysoká, ELISA IgM pozit.

U vzorku 1 byla jako správná hodnocena interpretace č. 1.

U vzorků 2 a 3 byla jako správná hodnocena interpretace č. 2.

U vzorku 4 byla správná interpretace č. 4, nebyla však zahrnuta v celkovém hodnocení série z důvodů, které jsou vysvětleny dále.

## 4. Způsob hodnocení

Hodnocení výsledků EHK 1409 je prováděno kvalitativně.

Za správný je považován výsledek získaný v NRL pro arboviry.

Všechny vzorky byly v NRL pro arboviry vyšetřeny na přítomnost protilátek proti viru klíšťové encefalidity metodami: ELISA IgG, ELISA IgM, KFR (komplementfixační reakce).

Bodové ohodnocení: za 1 vzorek maximálně 5 bodů (4 body za výsledky testů +1 bod za interpretaci výsledků). Výsledek avidity IgG není bodově hodnocen.

U vzorku č. 4 není do celkového hodnocení zahrnuta interpretace, protože většina laboratoří nestanovuje aviditu IgG, která není povinná, není samostatně hodnocena, ale pro správnou interpretaci byla v tomto případě výrazně nápomocná. Více než polovina laboratoří uvedla u tohoto vzorku jinou interpretaci. U vzorku č. 4 lze dosáhnout maximálně 4 bodů (2 body za IgG a 2 body za IgM) a maximální celkový možný počet bodů je v této sérii snižen na 19.

Laboratoř se dle svých technických možností může účastnit pouze stanovení IgG protilátek. Pro takovou laboratoř jsou potřebným maximem získaných bodů 8 bodů, interpretace se nehodnotí.

Chybějící nebo nesprávná interpretace je hodnocena jako chyba s odečtením 1 bodu za každý vzorek s chybějící interpretací (v této sérii s výjimkou vzorku č. 4).

Laboratoře testující pouze IgG nemusejí hodnotit interpretaci. V případě, že ji uvedou, nemá vliv na výsledné hodnocení.

Laboratoř uspěla při získání alespoň 15 bodů (odpovídá 80 % z maximálního možného počtu bodů), resp. při získání 6 bodů z maximálního počtu 8.

V případě nižšího dosaženého počtu bodů laboratoř neuspěla.

## 5. Vyhodnocení

Vyplněné protokoly s výsledky EHK 1409 ke dni uzávěrky 21. 6. 2024 vrátilo 75 laboratoří ze 76.

Soupravy k vyšetření **IgG** použilo 75 laboratoří.

32x ELISA soupravy TestLine, 16x Euroimmun, 8x Vidia, 7x Diesse, 3x Vircell Virclia, 2x Novatec, 1x Chorus, 5x TestLine CLIA a 1x Thunderbolt Mono Viditest Vidia

Soupravy k vyšetření **avidity IgG** použilo 20 laboratoří.

10x ELISA soupravy TestLine, 7x Vidia, 3x Euroimmun

Soupravy k vyšetření **IgM** použilo 73 laboratoří.

33x ELISA soupravy TestLine, 14x Euroimmun, 8x Vidia, 7x Diesse, 3x Vircell Virclia, 1x NovaTec, 1x Chorus, 5x TestLine CLIA a 1x Thunderbolt Mono Viditest Vidia

71 laboratoří zaslalo správné výsledky IgG a IgM u všech 4 vzorků, 2 laboratoře vyšetřující pouze IgG zaslaly správné výsledky IgG u všech 4 vzorků.

Ve vyšetření IgG i IgM chybovaly 2 laboratoře.

Laboratoř č. 456 zaslala chybné výsledky IgM i IgG u vzorků 2 a 3, interpretace však byla správná. Pravděpodobně došlo k prohození výsledků IgG a IgM u obou vzorků.

Laboratoř č. 228 nenapsala do výsledkového protokolu výsledky IgG ani IgM u vzorku č. 3, přestože číselné údaje byly uvedeny. Patrně došlo k opomenutí zápisu výsledku. Interpretace byla správná.

Laboratoř č. 2 uvedla u vzorku č. 1 interpretaci č. 6 (jiná) s příslušným vysvětlením, což jí bylo uznáno jako správná interpretace a nebyl za to odečten žádný bod.

Aviditu IgG vyšetřilo alespoň u jednoho vzorku 20 laboratoří, použily k tomu soupravy 3 různých výrobců.

U vzorku č. 2 vyšetřilo aviditu IgG 17 laboratoří. 15 laboratoří uvedlo vysokou aviditu (použité soupravy – 8x TestLine, 6x Vidia a 1x Euroimmun), 1 laboratoř měla střední aviditu (TestLine), 1 laboratoř naměřila nízkou aviditu (Vidia).

U vzorku č. 3 vyšetřilo aviditu IgG 17 laboratoří, všechny změřily aviditu jako vysokou (9x soupravami TestLine, 7x Vidia a 1x Euroimmun).

U vzorku č. 4 vyšetřilo aviditu IgG 19 laboratoří, 17 naměřilo vysokou aviditu (9x soupravami TestLine, 7x Vidia a 1x Euroimmun), 1 laboratoř naměřila střední aviditu (Euroimmun) a 1 laboratoř měla nízkou aviditu (Vidia).

Vyšetření avidity u vzorku č. 4 pravděpodobně ovlivnilo celkovou interpretaci výsledků u tohoto vzorku.

34 laboratoře uvedly interpretaci č. 4 (infekce u očkované osoby) – z toho 13 laboratoří naměřilo vysokou aviditu, 1 laboratoř střední aviditu a 20 laboratoří aviditu neuvedlo.

37 laboratoří uvedlo interpretaci č. 3 (akutní infekce u neočkovaného) – z toho 3 laboratoře naměřily vysokou aviditu, 1 laboratoř nízkou aviditu a 33 laboratoře neuvedly žádnou interpretaci. 2 laboratoře uvedly jinou interpretaci (č. 6) – z toho jedna naměřila vysokou aviditu a jedna aviditu neměřila.

Vzhledem k rozdílným závěrům nebyla interpretace u vzorku č. 4 zahrnuta do celkového hodnocené série.

### Tabulka – Bodové hodnocení jednotlivých laboratoří

Č. lab.	Max. bodů	Dosaženo bodů	Body za vz. 1	Body za vz. 2	Body za vz. 3	Body za vz. 4	Body za IgM	Body za IgG	Body za interpr.	Celkové hodnocení
2	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
11	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
13	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
16	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
18	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
20	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
23	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
26	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
28	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
31	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
32	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
34	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
35	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
37	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
38	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
39	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla

Č. lab.	Max. bodů	Dosaženo bodů	Body za vz. 1	Body za vz. 2	Body za vz. 3	Body za vz. 4	Body za IgM	Body za IgG	Body za interpr.	Celkové hodnocení
44	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
51	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
55	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
56	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
58	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
64	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
65	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
68	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
89	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
115	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
138	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
156	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
209	8	8	2	2	2	2		8		uspěla
211	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
214	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
228	19	15	5	5	1	4	6	6	3	uspěla
230	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
241	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
290	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
299	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
312	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
316	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
324	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
332	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
333	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
344	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
350	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
354	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
362	8	8	2	2	2	2		8		uspěla
365	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
370	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
373	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
388	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
398	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
406	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
407	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
456	19	11	5	1	1	4	4	4	3	neuspěla
460	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
529	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
532	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
550	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
551	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
554	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
560	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
569	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
595	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
598	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
633	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
637	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
641	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
647	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
672	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
675	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
702	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
737	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
743	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
746	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
760	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla
792	19	19	5	5	5	4	8	8	3	uspěla

## 6. Závěr

EHK 1409 sérologie klíšťové encefalitidy se účastnilo 76 laboratoří, 1 laboratoř nevrátila výsledky k hodnocení, jedna laboratoř neuspěla (č. 456), protože získala pouze 11 bodů z 19 (minimum pro úspěšné absolvování EHK 1409 je 15 bodů z 19).

Jedna laboratoř uspěla s počtem bodů 15 z 19 (č. 228). Dvě laboratoře uspěly s plným počtem 8 bodů z 8, ostatní laboratoře uspěly s plným počtem 19 bodů z 19.

Letošní kolo opět prokázalo vysokou kvalitu práce laboratoří i používaných diagnostických souprav. Zvýšený počet vzorků zařazených do EHK poskytuje reprezentativnější výsledek, z toho důvodu se počítá i v příští sérii se zařazením 4 vzorků. Malý počet laboratoří vyšetřuje aviditu IgG, což může rozdílným způsobem ovlivnit konečnou interpretaci výsledků, jak se projevilo v letošní sérii u vzorku č. 4.

Chybné výsledky, které zaslaly 2 laboratoře, souvisejí pravděpodobně s nepozorností při zápisu výsledků do výsledkového protokolu nebo se záměnou vzorků. Doporučujeme před odesláním výsledků k hodnocení pečlivě překontrolovat kompletnost a správnost všech údajů.

U vzorku č. 4 nebyla zahrnuta interpretace do celkového hodnocení série z důvodů, které jsou vysvětleny v bodě 5.

Laboratoř, která neuspěla, si může 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 reklamáce použijte také webovou aplikaci SZÚ.

Konec závěrečné zprávy