



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/28/2021 (EHK 1204)**  
**Sérologie klíšťové encefalitidy**

**Praha, září 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	5
5.	Vyhodnocení	5
6.	Závěr	6
	Příloha č. 1 – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	
	Příloha č. 2 – souhrny výsledků	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/28/2021 byl zaměřen na sérologii klíšťové encefalitidy. Návrh a realizace PT#M/28/2021 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/28 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 rozesílána poštou.

Za správnost výsledků ručí koordinátor příslušného cyklu EHK.

**Zprávu vypracoval:**

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

**Zprávu autorizoval:**

MUDr. Jana Kozáková

Tel: 267 082 260

Dne: 6. 9. 2021

**Pracoviště 2 ESPT**

<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>

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

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/28/2021**

Identifikace cyklu:	EHK 1204
Název:	Klíšťové encefalidity
Koordinátor:	MUDr. Kozáková
Subdodavatel:	NRL pro arboviry, Centrum klinických laboratoří v rámci Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě, MUDr. Hana Zelená, Ph.D.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3
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
Způsob přípravy:	viz kapitola 2
Množství připravovaného testovaného materiálu:	cca pro 80 laboratoří (a pro ověření homogenity a stability vzorků)
Označení vzorkovnic:	EHK 1204, PT # M/28, č. 1 – 2, 25. 5. 2021
Zabezpečení kvality vzorku:	Manipulace za sterilních podmínek, vhodné skladování, rychlý transport ke zpracování, testy homogenity a stability
Test 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 rozesílané zákazníkům jsou testovány na přítomnost cílového markeru v NRL pro arboviry v den před distribucí vzorků a po termínu doručení zásilek zákazníkům.
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	přeprava a krátkodobé uchování při 2 – 8 ° C chránit před světlem
Možné zdroje chyb:	nedodržení správné laboratorní praxe, záměna vzorků, lidský faktor
Počet účastníků:	74
Termín distribuce:	25. 5. 2021
Způsob distribuce:	přepravní službou (zajišťuje Koordinační pracoviště)
Předání výsledků:	písemně na předepsaných formulářích
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neprovádí se
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Pro kvalitativní hodnocení je za vztažnou hodnotu považován výsledek získaný v NRL.
Termín uveřejnění očekávaných výsledků:	30. 6. 2021
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 7. 9. 2021

## 2. Způsob přípravy vzorků

Vzorky byly připraveny na pracovišti subdodavatele – v Národní referenční laboratoři pro arboviry, ve Zdravotním ústavu se sídlem v Ostravě, vedoucí: MUDr. Hana Zelená, Ph.D. v termínu od 10. 5. 2021 do 12. 5. 2021 dle SOP M/28.

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. encefalidity (TBEV) IgG nebo total, anti-v. klíšť. encefalidity (TBEV) IgM, VNT.

Vyhovující vzorky sér byly poté poolovány podle obsahu total Ig, 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 (200nm). Připravené poolované vzorky označené 1 a 2 byly opět vyšetřeny na přítomnost anti-TBEV total Ig, IgG a anti-TBEV IgM protilátek.

Připravené označené vzorky sér byly v přepravních nádobách uloženy do polystyrénové krabice s chladícími vložkami, která je označena samolepkou s názvem EHK Sérologie klíšťové encefalidity, a dopraveny z NRL pro arboviry do SZÚ Praha.

V SZÚ Praha (NRL pro herpetické viry) byl otestovaný výchozí materiál rozplněn do jednotlivých vzorků o objemu min. 0,3 ml.

Jednotlivé alikvoty (série 2 zkumavek) byly označeny číslem 1-2, číslem EHK a datem rozeslání a uskladněny při teplotě 2 až  $8^{\circ}\text{C}$  až do distribuce účastníkům EHK. Přeprava vzorků je zajišťována přepravcem.

## 3. Charakteristika materiálu

Vzorek 1 byl pozitivní na protilátky třídy IgG a negativní na IgM proti viru klíšťové encefalidity, protilátky IgG byly vysokoavidní. Vzorek 2 byl pozitivní na protilátky třídy IgG i IgM, protilátky IgG byly nízkoavidní.

**Vzorek 1** byl poolem lidských sér obsahujících vysokoavidní protilátky třídy IgG proti klíšťové encefalitidě ve středním a nízkém titru. Všechna séra v poolu byla současně negativní na protilátky třídy IgM proti klíšťové encefalitidě. Přítomnost specifických protilátek proti klíšťové encefalitidě byla u všech jednotlivých vzorků potvrzena virusneutralizačním testem (VNT), zařazeny byly vzorky s hodnotou VNT 32, 16 nebo 8. Poolovaný vzorek byl v NRL testován s výsledky: KFR 4, ELISA IgG indirect pozit., avidita IgG 92 % (vysoká), ELISA Ig competitive pozit., ELISA IgM negat., ELISA IgM capture negat.

**Vzorek 2** byl poolem lidských sér obsahujících nízkoavidní protilátky třídy IgG ve středním a vysokém titru a současně protilátky třídy IgM. Jednalo se o vzorky pocházející od pacientů s akutně probíhající nebo nedávno proběhlou infekcí virem klíšťové encefalidity. Přítomnost specifických protilátek proti klíšťové encefalitidě byla u všech jednotlivých vzorků potvrzena virusneutralizačním testem (VNT), zařazeny byly vzorky s hodnotou VNT 32 nebo vyšší. Poolovaný

vzorek byl v NRL testován s výsledky: KFR 32, ELISA IgG indirect pozit., avidita IgG 22 % (nízká), ELISA Ig competitive pozit., ELISA IgM indirect pozit., ELISA IgM capture pozit.

## 4. Způsob hodnocení

Hodnocení výsledků je prováděno kvalitativně.

Za správný je považován výsledek získaný v NRL pro arboviry, u avidity IgG i s ohledem na výsledky dosažené v zúčastněných laboratořích.

Oba vzorky byly v NRL pro arboviry vyšetřeny na přítomnost protilátek proti viru klíšťové encefalitidy metodami: ELISA IgG indirect, ELISA total Ig competitive, ELISA IgM indirect, ELISA IgM capture, KFR (komplementfixační reakce).

Bodové ohodnocení: za 1 vzorek maximálně 4 body

Závažná chyba mění interpretaci výsledku - minus 2 body, méně závažná chyba nemění interpretaci výsledku, chybná interpretace nebo chybná interpretace při správném výsledku - minus 1 bod.

Parametr IgG/Ig u vzorku č. 1 byl vyřazen z bodového hodnocení vzhledem k tomu, že správný výsledek (pozitivní) zaslala méně než polovina účastníků.

Proto maximálním možným počtem získaných bodů je v letošním kole EHK 6 bodů, namísto obvyklých 8 bodů.

Laboratoř se dle svých technických možností může účastnit pouze stanovení IgG protilátek. V tomto případě není vyžadována interpretace. Pro takovou laboratoř jsou potřebným maximem získaných bodů 2 body (místo obvyklých 4).

Vyhodnocení:

Laboratoř uspěla při získání alespoň 5 bodů (z maximálního počtu 6), resp. při získání 2 bodů z maximálního počtu 2.

V případě nižšího dosaženého počtu bodů laboratoř neuspěla.

## 5. Vyhodnocení

### Vzorek 1

**Správné výsledky: Ig/IgG pozitivní, avidita vysoká, IgM negativní, interpretace kód 2 (anamnestické protilátky – po očkování nebo po prodělané infekci).**

Vyšetření ELISA Ig/IgG:

27 laboratoří zaslalo správný výsledek: pozitivní.

17 laboratoří zaslalo nesprávný výsledek: hraniční

30 laboratoří zaslalo nesprávný výsledek: negativní

Vyšetření avidity IgG:

Z 9 laboratoří vyšetřujících aviditu IgG u vzorku č. 1 zaslalo

5 laboratoří správný výsledek: vysoká avidita

3 laboratoře nesprávný výsledek: střední avidita

1 laboratoř nesprávný výsledek: nízká avidita – tato laboratoř hodnotila aviditu při naměřeném hraničním výsledku IgG

Vyšetření ELISA IgM:

72 laboratoří zaslalo správný výsledek: negativní

1 laboratoř zaslala nesprávný výsledek: pozitivní

1 laboratoř IgM nevyšetřuje

Interpretace výsledků:

38 laboratoří uvedlo správnou interpretaci – kód 2 (anamnestické protilátky – po očkování nebo po prodělané infekci), 2 laboratoře uvedly jako možnou interpretaci navíc i kód 4 (infekce u očkovaného – selhání očkování), 1 laboratoř uvedla navíc i kód 1 (séronegativní)

28 laboratoří uvedlo nesprávnou interpretaci – kód 1 (séronegativní), 2 laboratoře navíc s nesprávným kódem 4, resp. 6

3 laboratoře uvedly nesprávnou interpretaci – kód 4 (infekce u očkovaného – selhání vakcinace)

4 laboratoře uvedly vlastní jinou interpretaci – kód 6

U 1 laboratoře vyšetřující pouze IgG nebyla interpretace hodnocena.

## Vzorek 2

**Správné výsledky: Ig/IgG pozitivní, avidita nízká, IgM pozitivní, interpretace kód 3 (akutní infekce VKE - u neočkovaného).**

Vyšetření ELISA Ig/IgG:

Všech 74 laboratoří zaslalo správný výsledek: pozitivní.

Vyšetření avidity IgG:

Všech 19 laboratoří hodnotících aviditu IgG zaslalo správný výsledek: nízká avidita

Vyšetření ELISA IgM:

72 laboratoří zaslalo správný výsledek: pozitivní.

1 laboratoř zaslala nesprávný výsledek: negativní.

1 laboratoř IgM nevyšetřuje.

Interpretace výsledků:

71 laboratoří uvedlo správnou interpretaci – kód 3 (akutní infekce VKE u neočkovaného).

1 laboratoř uvedla nesprávnou interpretaci – kód 2 (anamnestické protilátky)

1 laboratoř uvedla jinou vlastní interpretaci - kód 6

U 1 laboratoře vyšetřující pouze IgG nebyla interpretace hodnocena.

V EHK 1204 - Sérologie klíšťové encefalidity byl z hodnocení vyřazen parametr IgG u vzorku č. 1, protože u tohoto slabě pozitivního vzorku více než polovina zúčastněných laboratoří uvedla nesprávný výsledek (hraniční nebo negativní). Maximálním bodovým ziskem bylo proto 6 bodů.

V rámci hodnocení uspělo 72 zúčastněných laboratoří s počtem 6 bodů, 1 laboratoř uspěla s bodovým hodnocením 5 bodů z důvodu nesprávné interpretace u vzorku č. 2 a 1 laboratoř neuspěla.

## 6. Závěr

Vyplněné protokoly EHK 1204 ke dni uzávěrky 15. 6. 2021 vrátilo 74 laboratoří.

ELISA soupravy k vyšetření **Ig/IgG** použilo 74 laboratoří, 4 laboratoře vyšetřily Ig/IgG paralelně 2 různými soupravami.

ELISA soupravy k vyšetření **avidity IgG** použilo 19 laboratoří.

ELISA soupravy k vyšetření **IgM** použilo 73 laboratoří, 3 laboratoře vyšetřily IgM paralelně 2 různými soupravami.

**Vzorek 1**, který byl slabě pozitivní ve třídě IgG a negativní ve třídě IgM, zhodnotilo správně pouze 27 laboratoří, proto tento parametr byl z konečného hodnocení vyřazen. 17 laboratoří zaslalo hraniční výsledek a 30 laboratoří zaslalo negativní výsledek. K hodnocení parametru IgG použily laboratoře soupravy 7 různých výrobců, na tomto vzorku jsou zřetelné rozdíly v senzitivitě různých souprav, avšak vzhledem k nestejněměrnému počtu laboratoří používajících jednotlivé soupravy nelze z tohoto výsledku činit žádné závěry.

**Vzorek 2**, který byl séropozitivní v obou třídách protilátek, protilátky IgG byly nízkoavidní. Tento vzorek správně vyhodnotily téměř všechny laboratoře s výjimkou jediné, která zaslala negativní výsledek IgM. Interpretaci uvedly správně všechny laboratoře s výjimkou 2.

V letošním kole bylo nutno vyřadit z hodnocení parametr IgG u vzorku č. 1, který obsahoval nízkou hladinu IgG protilátek a většina laboratoří měla problém se senzitivitou. Z toho důvodu převažovala také chybná interpretace výsledků, ke které se u vzorku č. 1 při vyhodnocení nepřihlíželo. Vzorek č. 2 pocházející od pacientů a akutní infekcí, nečinil laboratořím potíže s výjimkou jediné, která zřejmě zaměnila vzorky.

Letošní kolo EHK bylo poněkud náročnější, jelikož byl zařazen slabě pozitivní vzorek v IgG, který prověřil kromě kvality laboratoří také senzitivitu použitých souprav. Kromě zmíněného parametru u vzorku č. 1 se s ostatními parametry laboratoře vypořádaly dobře a rovněž prokázaly schopnost interpretovat výsledky. Interpretace je nedílnou součástí laboratorního výsledku, proto se chybná interpretace odráží v bodové ztrátě. Některé laboratoře se nad problematikou zamyslely hlouběji a vyjádřily i další možnosti interpretace svých výsledků nebo doporučily další postup při objasňování diagnózy pacientů. Oceňuji také rostoucí počet laboratoří vyšetřujících i aviditu IgG protilátek, která pomáhá ve správné interpretaci výsledků.

Výsledky jednotlivých laboratoří jsou uvedeny v Příloze č. 2.

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

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY