



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/0/2022, EHK 1320**

**Sérologie SARS-CoV-2**

**Praha, březen 2023**

## Obsah

	Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency	
1.	Testing)	3
2.	Způsob přípravy vzorků	5
3.	Charakteristika materiálu	5
4.	Způsob hodnocení	5
5.	Vyhodnocení	6
6.	Závěr	12
7.	Příloha 1 - Tabulky	strany 1 - 25
8.	Příloha 2 – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/0/2022 byl zaměřen na sérologii SARS-CoV-2. Návrh a realizace PT#M/0/2022, po akreditaci PT#M/39/2022 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/0 po akreditaci SOP M/39 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 dle ČSN EN ISO/IEC17043:2010.

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 vypracovala a autorizovala:**

RNDr. Helena Jiřincová

NRL pro chřipku a nechřipková respirační virová onemocnění

Dne: 17. 01. 2023

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/0/2022**

Identifikace cyklu:	EHK 1320
Název:	Sérologie SARS-CoV-2
Koordinátor:	RNDr. Helena Jiřincová
Charakteristika materiálu:	Krevní plazmy testovány na přítomnost protilátek proti SARS-CoV-2.
Podstata a účel PT:	Ověření schopnosti stanovit přítomnost IgG a IgA protilátek proti spike a nukleokapsidovému proteinu SARS-CoV-2
Kritéria pro účast na PT:	Nejsou
Způsob přípravy:	Plazmy otestované v NRL jsou za definovaných podmínek rozplněny tak, aby byla zachována homogenita vzorků a nedošlo k degradaci protilátek.
Množství připravovaného test. materiálu:	55 sad k distribuci a 15 sad pro případnou reklamaci a testování stability během cyklu, sada po 4 vzorcích
Označení vzorkovnic:	EHK 1320, PT#M/0, č. 1 - 4, 8. 11. 2022
Zabezpečení kvality vzorku:	Zabezpečení homogenity: Homogenita je zajištěna promícháním vzorků před zahájením alikvotování do zkumavek a rovněž v jejím průběhu. Zabezpečení stability vzorků: 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 charakterem zasílaného materiálu.
Test homogenity a stability:	Kvalita, homogenita a stabilita je posuzována na základě trojitého opakovaného testování dle interní akreditované metodiky ( 2.3. SOP/M/39): před alikvotováním, před distribucí a v termínu blízkém dni odeslání výsledků zpět k vyhodnocení. Na každé testování se použije nový alikvot, průkazem homogenity a stability vzorků je dosažení shodných výsledků v čase (za shodu je považována odchylka AU/ml menší než 15 %). Homogenita je posuzována na základě vyšetření nejméně 3 opakovaných stanovení. Vzhledem k charakteru detekované entity a biologického materiálu, nelze předpokládat nerovnoměrnou distribuci IgA/IgG, a proto je tento počet dostačující. Rozplněné vzorky sér a plasmy jsou uchovány při teplotě – 20 °C.
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Do testování uchovávejte vzorky při chladničkové teplotě (2 – 8°C). Zbytek vzorků po otestování uchovejte při teplotě vhodné pro dlouhodobé skladování klinického materiálu tohoto typu (-18°C a nižší).
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe a pokynů organizátora, záměna vzorků, selhání lidského faktoru
Počet účastníků:	45, 5 laboratoří odebralo 2 sady
Termín distribuce:	8. 11. 2022
Způsob distribuce:	Přepravní službou

Předání výsledků:	V elektronické podobě za použití aplikace EHK10, dle data uvedeného v EHK aplikaci, tedy do 29. 11. 2022
Způsob vyhodnocení výsledků:	<p>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 (&lt;50 % maximálního bodového zisku), je vyloučeno z výpočtu limitu. Takové pracoviště je automaticky hodnoceno jako neúspěšné.</p> <p>Pokud by stejný typ atypického výsledku vykázal větší počet účastníků, bylo by přihlédnuto k tomu, zda neexistuje statisticky významná souvislost mezi typem použitého testu a zmíněnou odchylkou. V takovém případě koordinátor provede hodnocení po odborné konzultaci s poradní skupinou EHK na SZU.</p> <p>Jednotlivé skupiny testů (anti S IgA, anti S IgG, anti N IgG) se hodnotí samostatně. V případě, že ve skupině bylo méně než 20 účastníků, byla kritériem úspěšnosti hranice 75% shody s očekávanými výsledky.</p>
Určení vztažné hodnoty:	Vztažnou hodnotou jsou výsledky NRL, které byly získané trojitým opakovaným testováním vzorků.
Termín uveřejnění očekávaných výsledků:	8. 12. 2022
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	do 21. 02. 2023

## 2. Způsob přípravy vzorků

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byly lidské plazmy z transfúzní stanice otestované v NRL pro chřipku a nechřipková virová respirační onemocnění a v NRL pro enteroviry. Vzorky byly otestovány na přítomnost anti S IgG, anti S IgA a anti N IgG, viz Protokol o přípravě vzorků k dispozici u koordinátora programu EHK. Plazmy jsou dlouhodobě uskladněny při teplotě -18° C a nižší.

Následně byly plazmy rozplněny do jednotlivých vzorkovnic po 0,2 ml a uchovány při teplotě minus 18° C a nižší.

Vzorkovnice byly označeny pořadovým číslem 1 - 4, číslem EHK a datem rozeslání.

## 3. Charakteristika materiálu

Zásilka obsahovala 4 vzorky plazmy k určení IgA a IgG protilátek proti spike (S) a IgG protilátek proti nukleokapsidovému (N) proteinu viru SARS-CoV-2. Každý vzorek obsahuje 0,2 ml neinaktivované plazmy.

3 vzorky lidské plazmy s obsahem IgA a IgG protilátek, 1 vzorek negativní. Podrobnosti uvedené v následující tabulce:

Vzorek	anti S IgA	anti S IgG	anti N IgG
A	negativní	negativní	negativní
B	hraniční	pozitivní	pozitivní
C	pozitivní	pozitivní	pozitivní
D	pozitivní	pozitivní	hraniční

## 4. Způsob hodnocení

Každý vzorek byl hodnocen v rozmezí 0 - 2 body:

Shoda s očekávaným výsledkem 2 body

Částečná shoda s očekávaným výsledkem 1 bod (negativní/hraniční, hraniční/pozitivní)

Neshoda s očekávaným výsledkem 0 bodů (negativní výsledek u pozitivního vzorku nebo naopak)

Výstupy z laboratoří se očekávají v podobě pozitivní, hraniční či negativní s uvedením hodnoty a jednotek, pokud to diagnostikum umožňuje. Za vyhovující jsou považovány výsledky, které jsou ve shodě s očekávanými výsledky. Bodové hodnocení účastníků vychází z očekávaných výsledků získaných opakovaným vyšetřením vzorků v NRL a je nastaveno tak, že 2 body je hodnocena shoda s očekávaným výsledkem, jedním bodem je hodnocena částečná shoda a bez bodového ohodnocení jsou výsledky, které se s očekávaným výsledkem neshodují.

Za shodu ve 4 vzorcích mohou laboratoře získat maximálně 3 x 8 bodů (za každou třídu protilátek, respektive za epitop/antigen - 8 bodů).

Samostatně je tedy hodnocena každá tato skupina:

- Anti spike IgA
- Anti spike IgG
- Anti N IgG

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.

Jednotlivé skupiny testů (anti S IgA, anti S IgG, anti N IgG) byly hodnoceny samostatně. V případě, že ve skupině bylo méně než 20 účastníků, je kritériem úspěšnosti hranice 75% shody s očekávanými výsledky.

## 5. Vyhodnocení

Očekávané výsledky: **Sérologie SARS-CoV-2**

Vzorek	anti S IgA	anti S IgG	anti N IgG
A	negativní	negativní	negativní
B	hraniční*	pozitivní	pozitivní
C	pozitivní	pozitivní	pozitivní
D	pozitivní	pozitivní	hraniční

\* hraniční i pozitivní výsledek je hodnocen stejně

Dosažené výsledky: **Sérologie SARS-CoV-2**

Pro potřeby hodnocení byly laboratoře rozděleny do 2 skupin, první skupina vyšetřuje IgG a IgM protilátky, druhá skupina provádí pouze stanovení IgG protilátek.

### 1. Skupina: Anti spike IgA, účast 15 laboratoří

Ve skupině anti spike IgA bylo hodnoceno 13 laboratoří jako úspěšné, 2 laboratoře získaly pouze 4 a 5 bodů a byly hodnoceny jako neúspěšné pouze v testu anti S IgA, vzhledem k menší než 75% shodě s očekávanými výsledky (tabulka 1, příloha tabulka 1 a 2).

Tabulka 1: Sumární přehled hodnocení anti spike IgA

Maximální počet bodů	100% úspěšnost	8 bodů
Hranice úspěšnosti	75%	6 bodů
100% shoda	10 laboratoří	8 bodů
88% shoda	3 laboratoře	7 bodů
Celkový počet laboratoří	15	
Neúspěchy	2	

V této skupině všechny laboratoře určili správně výsledky pouze u negativního vzorku A, vzorek B byl 5 x určen jako pozitivní, 5x jako hraniční (očekávaný výsledek) a 5x jako negativní, hraniční i pozitivní výsledek byl hodnocen jako shoda s očekávaným výsledkem, tedy 2 body, negativní výsledek byl hodnocen jako částečná shoda, tedy jedním bodem.

Přehled výsledků jednotlivých laboratoří je uveden v příloze v tabulce 1.

Přehled výsledků pro jednotlivé vzorky je uveden v příloze v tabulce 2.

Laboratoře použily 5 souprav od 5 výrobců (viz tabulka 2), soupravy, které použily laboratoře hodnocené jako neúspěšné jsou uvedeny v tabulce 3.

Tabulka 2: Přehled použitých souprav anti spike IgA

Výrobce	Souprava	počet
EUROIMMUN	Anti-SARS-CoV-2 ELISA (IgA)	7
Testline	EIA COVID-19 RBD IgA	5
DIESSE Diagnostica Senese	Chorus Trio	1
Testline	Smart EIA COVID-19 RBD IgA	1
Vidia	VIDITEST anti-SARS-CoV-2 (S1) IgA kvanti	1

Tabulka 3: soupravy, které použily laboratoře hodnocené jako neúspěšné

Výrobce	Souprava	Šarže
DIESSE Diagnostica Senese	Chorus Trio	100085764
Vidia	VIDITEST anti-SARS-CoV-2 (S1) IgA kvanti	020221/109

## 2. skupina anti S IgG protilátky (43 laboratoří)

Aritmetický průměr	7,76
Směrodatná odchylka	0,62
2 směrodatné odchylky	1,24
<b>Limit</b>	<b>6,76 ÷ 7</b>
<b>Uspělo</b>	39
<b>Neuspělo</b>	4

Celkem 39 laboratoří dosáhlo požadovaného počtu bodů, 36 pracovišť se 100% bodovým ziskem, 3 pracoviště s 88% bodovým ziskem. Vzhledem k celkově dobrým výsledkům a ke statistickému hodnocení nestačil 75% bodový zisk na překonání hranice úspěšnosti. 4 laboratoře s 6 bodovým ziskem byly hodnoceny jako neúspěšné. Přehled použitých souprav je uveden v tabulce 4.

Hodnocení jednotlivých vzorků:

Vzorek A byl všemi účastníky hodnocen správně jako negativní, vzorek B činil největší problémy, 4 laboratoře určily tento pozitivní vzorek jako falešně negativní (přehled souprav je uveden v tabulce 5a) a 3 laboratoře jako hraniční (přehled souprav je uveden v tabulce 5b).

Tabulka 5a: Soupravy, kterými byl určen vzorek B jako negativní

vzorek B	určen jako "falešně" negativní	
Výrobce	Souprava	Šarže
Vidia	E-VIDITEST anti-SARS-CoV-2 (S1) IgG kvanti	060221/124
Testline	CLIA COVID-19 RBD IgG	200089467
Testline	CLIA Covid-19 RBD IgG	0200089467P01
Testline	EIA COVID-19 RBD IgG	100073359

Tabulka 5B: Soupravy, kterými byl pozitivní vzorek B určen jako hraniční

vzorek B	určen jako hraničně pozitivní namísto pozitivní	
Výrobce	Souprava	Šarže
Testline	Smart EIA COVID-19 RBD IgG	100083432
Siemens	ADVIA Centaur XP SARS-CoV-2 IgG(sCOVG)	19529015

Přehled použitých komerčních souprav je uveden v tabulce 6:

Tabulka 6:

Výrobce	Počet kitů	Výrobce	Souprava	Počet
Abbott	8	Abbott	Architect SARS-CoV-2 IgG II Quant	5
Beckman Coulter	1	Abbott	Architect COV-2IgGII	1
Biomérieux	1	Abbott	SARS-CoV-2 IgG II Quant Alinity	1
DiaSorin	12	Beckman Coulter	anti-SARS-Cov-2 IgG	1
Euroimmun	5	Biomérieux	VITEK Anti-SARS-CoV-2	1
neuveдено	2	DiaSorin	LIAISON	1
Roche	2	DiaSorin	LIAISON SARS-CoV-2 S1/S2	3
Siemens	1	DiaSorin	LIAISON SARS-CoV-2 Trimerics IgG	7
Testline	7	DiaSorin	LIAISON XL	1
Vidia	2	Euroimmun	anti-SARS-CoV-2 ELISA (IgG)	1
Celkový součet	41	EUROIMMUN	Anti-SARS-CoV-2 QuantiVac ELISA (IgG)	4
		neuveдено	neuveдено	3
		Roche	Elecsys anti-SARS-COV-2 S	2
		Siemens	ADVIA Centaur XP SARS-CoV-2 IgG(sCOVG)	1
		Testline	CLIA COVID-19 RBD IgG	2
		Testline	EIA COVID-19 RBD IgG	3
		Testline	Smart EIA COVID-19 RBD IgG	2
		Vidia	EVIDITEST anti-SARS-CoV-2 (RBD) IgG kvanti	1
		Vidia	E-VIDITEST anti-SARS-CoV-2 (S1) IgG kvanti	1

Přehled výsledků pro jednotlivé vzorky je uveden v tabulce 4 v příloze zprávy



### 3. skupina anti N IgG protilátky (účast 13 laboratoří)

Ve skupině anti N IgG bylo hodnoceno všech 13 laboratoří jako úspěšné, 4 laboratoře získaly 8 bodů, 100% hodnocení, 8 laboratoří získalo 7 bodů a 1 laboratoř získala 6 bodů (75% shoda). (tabulka 1, příloha tabulka 1 a 2).

Tabulka 7: Sumární přehled hodnocení anti N IgG

maximální počet bodů <b>antiN IgG</b>	100%	8 bodů
hranice úspěšnosti	75%	6 bodů

Procentuální hodnocení <b>antiN IgG</b>	Počet bodů	Počet laboratoří
75	6	1
88	7	8
100	8	4

Podrobný přehled zasláných výsledků je uveden v příloze v tabulce 5.

V této části EHK bylo použito 7 souprav od 6 výrobců. V jednom případě laboratoř výrobce a název soupravy neuvedla. Přehled je uveden v tabulce 8.

Tabulka 8: Přehled souprav výrobců anti N IgG

Výrobce	Souprava <b>antiN IgG</b>	počet
EUROIMMUN	Anti-SARS-CoV-2 NCP ELISA (IgG)	2
Abbott	Architect SARS-CoV-2 IgG	2
TestLine	CLIA COVID-19 NP IgG	1
TESTLINE	EIA COVID-19 NP IgG	2
Roche	Elecsys anti-SARS-COV-2	1
Vidia	ELISA-VIDITEST anti-SARS-CoV-2 (NP) IgG	2
NA	neuvedeno	2
Viramed	SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG	1

Vzorky A a C byly hodnoceny ve shodě s očekávaným hodnocením, u vzorku B byl 1 hodnocen jako hraniční namísto pozitivní, a u vzorku D byly uvedeny 4 výsledky jako negativní namísto hraniční a 5 vzorků jako pozitivní namísto hraniční. Přehled výsledků zasláných k jednotlivým vzorkům ve skupině anti N IgG je uveden v příloze v tabulce 6.

**Přehled účasti v jednotlivých skupinách testů (anti S IgA, Anti S IgG, anti N IgG):**

Jediný typ testu absolvovalo 23 laboratoří, 21 laboratoř detekovala pouze protilátky anti S IgG a 2 laboratoře detekovaly pouze protilátky anti N IgG (tabulka 9a).

Dva typy testů absolvovalo 14 laboratoří, 5 laboratoří anti N IgG a anti S IgG, a 9 laboratoří anti S IgA a IgG (tabulka 9b).

Tři skupiny testů absolvovalo pouze 6 laboratoří (tabulka 9c). Pouze jedna laboratoř neuspěla ve dvou testech ze tří, ostatní laboratoře uspěly vždy alespoň v jednom typu testu.

Sumární přehled je uveden v příloze v tabulce 7.

**Tabulka 9: Přehled účasti v jednotlivých skupinách testů (anti S IgA, Anti S IgG, anti N IgG)**

**9a: Jeden typ testů**

Skupina	anti N IgG	anti S IgA	anti S IgG	Absolvovaný počet
16			ANO	1
18			ANO	1
33			ANO	1
34			ANO	1
38			ANO	1
47			ANO	1
58	ANO			1
68			ANO	1
70			ANO	1
89			ANO	1
117			ANO	1
156			ANO	1
230			ANO	1
350			ANO	1
365			ANO	1
370			ANO	1
392			ANO	1
396			ANO	1
397			ANO	1
401			ANO	1
529			ANO	1
737			ANO	1
738			ANO	1
350			ANO	1

**9b: Dva typy testů**

Skupina	anti N IgG	anti S IgA	anti S IgG	Absolvovaný počet
20		ANO	ANO	2
32		ANO	ANO	2
64		ANO	ANO	2
65	ANO		ANO	2
66		ANO	ANO	2
290		ANO	ANO	2
373		ANO	ANO	2
386		ANO	ANO	2
388	ANO		ANO	2
398	ANO		ANO	2
456	ANO		ANO	2
554		ANO	ANO	2
566		ANO	ANO	2
743	ANO		ANO	2
759	ANO		ANO	2

**9c: Tři typy testů**

Skupina	anti N IgG	anti S IgA	anti S IgG	Absolvovaný počet
13	ANO	ANO	ANO	3
28	ANO	ANO	ANO	3
138	ANO	ANO	ANO	3
376	ANO	ANO	ANO	3
560	ANO	ANO	ANO	3
736	ANO	ANO	ANO	3

## 6. Závěr

Vzorky byly rozeslány do 45 laboratoří, 44 laboratoří zaslalo výsledky k vyhodnocení. Stanovení anti S IgG a IgA a anti N IgG protilátek provedlo 6 laboratoří, 6 laboratoří vyšetřilo anti N IgG a anti S IgG protilátky, 9 laboratoří vyšetřilo anti S IgA a IgG protilátky. 22 laboratoří detekovalo pouze protilátky anti S IgG a 1 laboratoř detekovala pouze protilátky anti N IgG. Ve skupině detekující anti N IgG uspělo všech 13 laboratoří, ve skupině detekujících protilátky anti S IgA uspělo 13 laboratoří, 2 neuspěly, ve skupině detekující anti S IgG protilátky uspělo 39 laboratoří a 4 neuspěly.

Ve dvou skupinách testů bylo méně účastníků než 20 a statistické hodnocení tedy nebylo vhodné. Proto byl stanovena hranice úspěšnosti jako 75% shoda hodnocení s očekávanými výsledky. Koordinátor nezahrnul do původního způsobu hodnocení možnost, účasti méně než 20 účastníků, a že tedy hodnocení s použitím statistického výpočtu využívající průměrného zisku a směrodatné odchylky nebude adekvátním. Proto přistoupil v hodnocených skupinách anti S IgA anti N IgG ke stanovení prahu úspěšnosti na 75 %, tedy například 3 vzorky určeny shodně jeden neshodně.

### Anti S IgA protilátky

Bodový limit potřebný pro úspěšné absolvování EHK 1320 ve stanovení anti S IgA protilátek činí 6 bodů z 8 (75 %). Uspělo 13 laboratoří, z toho 10 laboratoří se 100% bodovým ziskem. V této skupině neuspěly dvě laboratoře (66 a 376).

### Anti S IgG protilátky

Bodový limit potřebný pro úspěšné absolvování EHK 1320 ve stanovení anti S IgG protilátek činí 7 bodů. Uspělo 39 laboratoří z toho 36 se 100% bodovým ziskem. V této skupině neuspěly 4 laboratoře (376, 398, 529 a 560).

### Anti N IgG protilátky

Bodový limit potřebný pro úspěšné absolvování EHK 1320 ve stanovení anti S IgA protilátek činí 6 bodů z 8 (75 %). Uspělo všech 13 laboratoří, z toho 4 laboratoří se 100% bodovým ziskem.

## Závěr:

Závěrečné hodnocení bylo provedeno kumulativně z výsledků všech dílčích testů.

V tomto sumárním hodnocení byla hranice úspěšnosti stanovena jako 75 % bodového zisku ze všech provedených testů.

Toto závěrečné hodnocení umožnilo tedy hodnotit všechny laboratoř jako úspěšné, přestože některé v dílčích testech byly hodnoceny jako neúspěšné.

K tomuto způsobu hodnocení jsme museli přistoupit, protože aktuálně systém EHK neumožňuje oddělené hodnocení dle dílčích výsledků (v testovaných skupinách anti S IgA, anti S IgG a anti N IgG) a takto změněné sumární hodnocení je vůči laboratořím spravedlivější. Laboratoře si přesto mohou udělat obrázek dle dílčích výsledků a přijmout změny ke zlepšení, což je cílem EHK.

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

Konec závěrečné zprávy

Další podrobné výsledky uvedeny v tabulkách 1 až 7 v příloze tohoto dokumentu.