



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/28/2023 (EHK 1355)
Sérologie klíšťové encefalitidy

Praha, září 2023

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/28/2023 byl zaměřen na sérologii klíšťové encefalitidy. Návrh a realizace PT#M/28/2023 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: 1.9.2023

Pracoviště 2 ESPT

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

email: ehk@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/28/2023

Identifikace cyklu:	EHK 1355
Název:	Sérologie klíšťové encefalidity
Koordinátor:	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
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:	78
Termín distribuce vzorků:	23. 5. 2023
Informace účastníkům:	Viz informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků:	13. 6. 2023
Označení vzorkovnic:	EHK 1355, PT # M/28/2023, č. 1-4, 23.5.2023
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 rozesílané 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:	27. 6. 2023
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 5. 9. 2023

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 5.4. do 13.4.2023 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°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 nebo total, anti-v. klíšť. encefalitidy (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 ($0,22\ \mu\text{m}$). Připravené poolované vzorky označené čísly 1 až 4 byly opět vyšetřeny na přítomnost anti-TBEV total Ig, IgG a anti-TBEV 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°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 a stability vzorků jsou použity 3 náhodně vybrané zkumavky od každého vzorku, které jsou otestovány v NRL pro arboviry před odesláním na Koordinační pracoviště ESPT2 a následně ještě jednou ihned 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

Vzorky 1 a 2 byly 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 indirect negat., avidita IgG nehodnocena, ELISA Ig competitive negat., ELISA IgM negat.

Vzorek 3 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 potvrzena virusneutralizačním testem (VNT). Poolovaný vzorek byl v NRL testován s výsledky: KFR 32, ELISA IgG indirect pozit., avidita IgG vysoká, ELISA Ig competitive pozit., ELISA IgM pozit.

Vzorek 4 byl poolem lidských sér obsahujících protilátky třídy IgG proti klíšťové encefalitidě ve středně vysokém 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). Poolovaný vzorek byl v NRL

testován s výsledky: KFR 16, ELISA IgG indirect pozit., avidita IgG vysoká, ELISA Ig competitive pozit., ELISA IgM negat.

Vzhledem ke kódování vzorků nebylo možno využít v interpretaci legendu k jednotlivým vzorkům. U vzorku č. 3 byly jako správné akceptovány možnosti interpretace č. 3 nebo 4. U vzorků 1 a 2 byla jako správná hodnocena interpretace č. 1 a u vzorku 4 interpretace č. 2.

4. Způsob hodnocení

Hodnocení výsledků EHK 1355 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 indirect, ELISA total Ig competitive, ELISA IgM indirect, KFR (komplementfixační reakce).

Bodové ohodnocení: za 1 vzorek maximálně 5 bodů (4 body za výsledky testů +1 bod za interpretaci výsledků).

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.

Výsledek avidity IgG není bodově hodnocen, rozdílné výsledky u vzorku č. 3 tedy na závěrečné hodnocení neměly vliv.

Chybějící nebo nesprávná interpretace je hodnocena jako chyba s odečtením 1 bodu za každý vzorek s chybějící interpretací.

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

Laboratoř uspěla při získání alespoň 16 bodů (z maximálního počtu 20), resp. při získání 6 bodů z maximálního počtu 8.

V případě nižšího dosaženého počtu bodů laboratoř neuspěla.

5. Vyhodnocení

Vyplněné protokoly s výsledky EHK 1355 ke dni posunutí uzávěrky 20. 6. 2023 vrátilo 76 laboratoří ze 78. Dvě laboratoře výsledky bez udání důvodu nevrátily.

Soupravy k vyšetření **IgG** použilo 76 laboratoří.

35x ELISA soupravy TestLine, 16x Euroimmun, 8x Vidia, 7x Diesse, 3x Vircell, 2x Novatec, 5x jiné

Soupravy k vyšetření **avidity IgG** použilo 18 laboratoří.

7x ELISA soupravy TestLine, 6x Vidia, 5x Euroimmun

Soupravy k vyšetření **IgM** použilo 74 laboratoří.

37x ELISA soupravy TestLine, 13x Euroimmun, 8x Vidia, 7x Diesse, 3x Vircell, 1x NovaTec, 5x jiné

72 laboratoře zaslaly 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 nechybovala žádná laboratoř.

Ve vyšetření IgM chybovaly 2 laboratoře.

Laboratoř č. 211 zaslala chybné výsledky IgM u vzorků 3 a 4. Nelze vyloučit, že došlo k jejich záměně (vzorek č. 3 chybně vyhodnotila jako IgM negativní a naopak vzorek č. 4 jako IgM pozitivní). Zároveň byla u obou těchto vzorků nesprávná interpretace.

Laboratoř č. 406 zaslala chybně pozitivní výsledek IgM u vzorku č. 2 a zároveň u tohoto vzorku měla nesprávnou interpretaci.

Laboratoř č. 543 neuviedla žádnou interpretaci ani u jednoho vzorku, přestože výsledky vyšetření IgG i IgM měla správně u všech 4 vzorků.

Laboratoře č. 332 a 448 uvedly chybnou interpretaci u vzorku č. 3 při jinak správných výsledcích IgG i IgM.

Laboratoř č. 34 nevyplnila interpretaci k výsledkům na příslušné místo výsledkového formuláře, nýbrž jen do poznámky. Na výsledné hodnocení to nemělo vliv, ale doporučujeme příště vyplnit přímo do formuláře z důvodu automatizace hodnocení.

Aviditu IgG vyšetřilo alespoň u jednoho vzorku 18 laboratoří, použily k tomu soupravy 3 různých výrobců.

U vzorku č. 3 vyšetřilo aviditu IgG 18 laboratoří s rozdílnými výsledky. 8 laboratoří uvedlo vysokou aviditu (použité soupravy - 4x Vidia a 4x Euroimmun), 4 laboratoře měly střední aviditu (2x TestLine, 1x Vidia, 1x Euroimmun) a 6 laboratoří uvedlo nízkou aviditu (5x TestLine a 1x Vidia).

U vzorku č. 4 vyšetřilo aviditu IgG 15 laboratoří, všechny změřily aviditu jako vysokou (6x soupravami TestLine, 6x Vidia a 3x Euroimmun).

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	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
11	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
13	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
16	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
18	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
20	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
23	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
26	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
28	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
31	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
32	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
34	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
35	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
37	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
38	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
39	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
44	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
51	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
56	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
58	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
64	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
65	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
68	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
70	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
89	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
115	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
138	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
156	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
209	8	8	2	2	2	2		8		uspěla
211	20	14	5	5	2	2	4	8	2	neuspěla
214	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
230	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
241	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
290	20	20	5	5	5	5	8	8	4	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
299	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
312	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
316	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
324	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
332	20	19	5	5	4	5	8	8	3	uspěla
333	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
344	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
350	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
354	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
362	8	8	2	2	2	2		8		uspěla
365	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
373	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
388	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
390	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
398	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
406	20	17	5	2	5	5	6	8	3	uspěla
407	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
448	20	19	5	5	4	5	8	8	3	uspěla
456	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
460	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
529	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
532	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
543	20	16	4	4	4	4	8	8	0	uspěla
550	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
551	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
554	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
560	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
569	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
595	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
598	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
637	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
641	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
647	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
672	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
675	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
702	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
737	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
743	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
746	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
755	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
760	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla
792	20	20	5	5	5	5	8	8	4	uspěla

6. Závěr

EHK 1355 sérologie klíšťové encefalitidy se účastnilo 78 laboratoří, 2 laboratoře nevrátily výsledky k hodnocení, jedna laboratoř neuspěla (č. 211), protože získala pouze 14 bodů z 20 (minimum pro úspěšné absolvování EHK 1355 je 16 bodů z 20).

Ostatní laboratoře uspěly, z toho 69 laboratoří s plným počtem 20 bodů z 20 a dvě laboratoře s plným počtem 8 bodů z 8. Dvě laboratoře uspěly s 19 body, jedna laboratoř se 17 body a jedna laboratoř s 16 body z 20.

Letošní kolo prokázalo vysokou kvalitu práce laboratoří i používaných diagnostických souprav. Zvýšený počet vzorků zařazených do EHK poskytuje reprezentativnější výsledek.

V letošním kole se vyskytly problémy s výsledky IgM u 2 laboratoří, tyto ojedinělé chyby pravděpodobně nesouvisí s konkrétními soupravami, protože jiní účastníci používající tytéž soupravy měli výsledky správné. U ostatních laboratoří byly bodové ztráty výhradně z důvodu nesprávné nebo chybějící interpretace.

Překvapivé byly rozdílné výsledky avidity IgG u vzorku č. 3, které se vyskytly u laboratoří používajících soupravy 3 různých výrobců.

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 reklamace použijte také webovou aplikaci SZÚ.

Konec závěrečné zprávy