



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/13/2024 (EHK 1417)**

**Detekce HBV-DNA**

**PT#M/14/2024 (EHK 1418)**

**Detekce HCV-RNA**

**Praha, listopad 2024**

## Obsah

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

Program zkoušení způsobilosti PT#M/13-14/2024 (EHK 1417-1418) byl zaměřen na detekci HBV-DNA a HCV-RNA.

Návrh a realizace PT#M/13-14/2024 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:** 27. 11. 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/13-14/2024

Identifikace cyklu:	<b>EHK 1417-1418</b>
Název PT:	Detekce HBV-DNA, Detekce HCV-RNA
Koordinátor:	Mgr. Pavel Fritz Národní referenční laboratoř pro virové hepatitidy tel.: +420 267082484 (2455); email: pavel.fritz@szu.cz
Podstata a účel PT:	Průkaz HBV-DNA (DNA viru hepatitidy B) a HCV-RNA (RNA viru hepatitidy C)
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:	EHK1417: 59 přihlášených účastníků (58 dodalo výsledky) EHK1418: 65 přihlášených účastníků (64 dodalo výsledky)
Termín distribuce vzorků:	9. 9. 2024
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	Do 30. 9. 2024
Označení vzorkovnic:	a) EHK 1417, PT#M/13, č. 1-6, 9. 9. 2024 b) EHK 1418, PT#M/14, č. 1-6, 9. 9. 2024
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 vztažené hodnoty:	Neurčuje se
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neurčuje se
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	Do 10. 10. 2024
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 23. 12. 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 rozmrazení viditelné částice organického materiálu (bílkoviny, tuky), je zcentrifugován. Plazmy mohou být pro dosažení potřebného objemu ředěny fyziologickým roztokem, případně jinou plazmou (směsné vzorky).

### 2.2 Vyšetření cílových markerů, testování homogenity a stability

Výchozí materiál je testován na cílové markery metodou Real Time PCR. Finální materiál (po případném ředění či tvorbě směsi) je znovu testován na cílové markery metodou Real Time PCR.

Test stability před distribucí je prováděn pouze, existuje-li prodleva mezi přípravou vzorků a distribucí, případně mezi přípravou vzorků a jejich zamražením. V EHK 1417 i EHK 1418 byly vzorky připraveny do 1 měsíce před distribucí a bezprostředně po přípravě zamrazeny. Distribuce proběhla v zamraženém stavu (na suchém ledu).

Stabilita materiálu po distribuci (stejně jako homogenita) je analyzována z výsledků účastnických laboratoří a (v případě potřeby) z archivních vzorků uskladněných v referenční laboratoři. Základní soubor dat použitých k analýze je dostupný všem účastníkům jako součást závěrečné zprávy (tabulky č. 2 a 3). Ačkoli jsou kvantitativní hodnoty analyzovány a komentovány, netvoří součást bodového hodnocení účastníků.

### 2.3 Rozplnění materiálů

Rozplnění jednotlivých biologických materiálů do zkumavek bylo uskutečněno do 1 měsíce před distribucí. Ihned po rozplnění byly materiály zmrazeny při teplotě -20°C a/nebo -80°C a poté distribuovány na suchém ledu.

EHK 1417 tvořilo 6 materiálů (vzorků), z nichž každý byl rozplněn do zkumavek po 1,5 ml.

EHK 1418 tvořilo 6 materiálů (vzorků), z nichž každý byl rozplněn do zkumavek po 1,5 ml.

Rozplnění jednotlivých materiálů (vzorků) probíhalo časově odděleně od ostatních, což bránilo vzájemné kontaminaci.

## 3 / Charakteristika materiálu

EHK 1417 byla určena pro stanovení přítomnosti DNA viru hepatitidy B, EHK 1418 pro stanovení RNA viru hepatitidy C.

Každou ze sérií tvořilo 6 vzorků, z nichž 3 byly pozitivní a 3 negativní. Objem vzorků činil cca 1,5 ml lidského séra nebo plazmy.

Tabulka 1: Očekávané výsledky (síla positivity znázorněna orientačně křížky)

marker	č. vzorku					
	1	2	3	4	5	6
HBV-DNA (EHK-1417)	neg.	<b>poz.</b> (+)	neg.	neg.	<b>poz.</b> (++)	<b>poz.</b> (+++)
HCV-RNA (EHK-1418)	neg.	neg.	<b>poz.</b> (+)	<b>poz.</b> (+++)	<b>poz.</b> (++)	neg.

V sérii EHK 1417 činily koncentrace HBV-DNA naměřené v NRL-VH 1,35x10<sup>2</sup> IU/ml (vzorek 2), 4,80x10<sup>3</sup> (vzorek 5) a 4,25x10<sup>4</sup> (vzorek 6). V sérii EHK 1418 činily naměřené koncentrace HCV-RNA 1,99x10<sup>2</sup> IU/ml (vzorek 3), 2,22x10<sup>4</sup> (vzorek 4) a 1,74x10<sup>3</sup> (vzorek 5).

Výsledky získané v referenční laboratoři nelze brát jako přesný standard. Při testování nukleových kyselin metodou PCR existuje přirozený rozptyl hodnot v závislosti na typu použité soupravy i specifických podmínkách každého běhu.

#### 4 / Způsob hodnocení

Do EHK1417-1418 nebyl (na rozdíl od předchozích let) zařazen žádný nebodovaný vzorek, takže každý neshodný výsledek znamenal pro účastníka hodnocení „laboratoř neuspěla“.

Kvantifikace pozitivních výsledků nebyla povinná ani bodově hodnocená, výraznější nepřesnosti se však promítly do komentáře referenční laboratoře.

#### 5 / Vyhodnocení

Vzorky byly distribuovány 9. 9., konečným termínem pro dodání výsledků byl 30. 9. 2024.

Obou sérií se zúčastnilo celkem 65 laboratoří, z nichž 6 testovalo jen HCV-RNA, 58 testovalo oba markery a jedna nedodala výsledky.

U markeru HBV-DNA kvantifikovalo své výsledky 39 laboratoří (67,2%), u markeru HCV-RNA kvantifikovalo 45 laboratoří (70,3%).

Celkové výsledky účastníků jsou shrnuty v tabulkách 2-3 (*Národní referenční laboratoř pro virové hepatitidy* figuruje v obou tabulkách pod pořadovým č. 1).

V EHK1417-1418 zaznamenaly neshodné výsledky celkem 4 laboratoře, přičemž ve dvou případech existuje podezření na záměnu vzorků při testování, či při zápisu výsledků do elektronického formuláře. Laboratoř s pořadovým č. 27 vykázala u markeru HBV-DNA jednu falešnou pozitivitu (vzorek 1) a jednu falešnou negativitu (vzorek 2), laboratoř s pořadovým č. 49 vykázala u markeru HCV-RNA dvě falešné positivity (vzorky 2 a 6) a dvě falešné negativy (vzorky 3 a 4). Bližší analýze brání skutečnost, že obě laboratoře poskytly nekvantitativní výsledky. O chybné polepení zkumavek v SZÚ se zřejmě nejedná vzhledem k zavedeným pravidlům při přípravě vzorků, laboratoře mají přesto možnost vrátit zbytkový materiál k přezkoumání.

U dalších dvou laboratoří byla příčinou neshodného výsledku zřejmě nižší citlivost použité metody PCR. Laboratoř s pořadovým č. 57 vykázala při testování markeru HBV-DNA falešnou negativitu u nejslabšího pozitivního vzorku 2, laboratoř s pořadovým č. 37 vykázala při testování markeru HCV-RNA falešnou negativitu u nejslabšího pozitivního vzorku 3.

Kvantifikace pozitivních výsledků netvoří součást bodového hodnocení, některé laboratoře však obdržely upozornění na výraznější odchylky od průměru. Největší problémy měla laboratoř s pořadovým č. 6, jejíž kvantifikace byla u obou markerů zcela nefunkční. Dále vykázaly značně nepřesné hodnoty laboratoře s pořadovými č. 5 (pouze u markeru HBV-DNA) a 37 (pouze u markeru HCV-RNA). Zbylí účastníci se drželi v tolerovatelném rozmezí, nebo vybočili méně výrazným způsobem. Číselné hodnoty všech účastníků lze studovat v tabulkách č. 2 a 3.

Tab. 2: výsledky vyšetření HBV-DNA v EHK 1417 (P = pozitivní, N = negativní)

poř.č.	1	2	3	4	5	6	jednotky
	N	+	N	N	++	+++	
1 - NRL	N	1,35x10e2	N	N	4,80x10e3	4,25x10e4	IU/ml
2	N	P	N	N	P	P	
3							
4	N	1,50x10e2	N	N	5,00x10e3	7,80x10e4	IU/ml
5	N	1,67x10e1	N	N	9,95x10e4	2,92x10e5	IU/ml
6	N	0,35x10e1	N	N	0,91x10e1	6,70x10e1	Neuved.
7	N	2,20x10e1	N	N	1,50x10e3	1,60x10e4	IU/ml
8	N	1,26x10e2	N	N	4,96x10e3	4,38x10e4	IU/ml
9	N	P	N	N	P	P	
10	N	1,03x10e2	N	N	5,88x10e3	4,73x10e4	IU/ml
11	N	P	N	N	P	P	
12	N	1,80x10e2	N	N	5,60x10e3	5,50x10e4	Neuved.
13	N	5,50x10e1	N	N	4,54x10e3	4,03x10e4	IU/ml

14	N	1,63x10e2	N	N	4,98x10e3	4,71x10e4	IU/ml
15	N	1,43x10e2	N	N	4,81x10e3	5,14x10e4	IU/ml
16	N	P	N	N	P	P	
17	N	P	N	N	P	P	
18	N	1,45x10e2	N	N	5,07x10e3	5,11x10e4	IU/ml
19	N	P	N	N	P	P	
20	N	P	N	N	P	P	
21	N	P	N	N	P	P	
22	N	P	N	N	P	P	
23	N	1,52x10e2	N	N	4,24x10e3	5,12x10e4	IU/ml
24	N	P	N	N	P	P	
25	N	8,60x10e1	N	N	2,80x10e3	4,20x10e4	IU/ml
26	N	P	N	N	P	P	
27	P	N	N	N	P	P	
28	N	1,44x10e2	N	N	5,12x10e3	4,52x10e4	IU/ml
29	N	P	N	N	P	P	
30	N	P	N	N	P	P	
31	N	1,07x10e2	N	N	2,63x10e3	2,04x10e4	IU/ml
32	N	1,59x10e2	N	N	3,93x10e3	5,30x10e4	IU/ml
33							
34	N	P	N	N	P	P	
35							
36	N	3,68x10e2	N	N	3,04x10e4	1,25x10e5	IU/ml
37	N	1,72x10e2	N	N	2,34x10e3	2,91x10e4	IU/ml
38	N	4,00x10e1	N	N	1,50x10e3	2,00x10e4	IU/ml
39	N	1,48x10e2	N	N	5,28x10e3	5,34x10e4	IU/ml
40	N	1,43x10e2	N	N	3,71x10e3	3,48x10e4	IU/ml
41	N	1,63x10e2	N	N	5,69x10e3	4,94x10e4	IU/ml
42	N	1,68x10e2	N	N	5,85x10e3	5,53x10e4	IU/ml
43	N	P	N	N	P	P	
44							
45	N	P	N	N	8,58x10e2	1,41x10e4	IU/ml
46	N	2,00x10e2	N	N	5,20x10e3	5,20x10e4	IU/ml
47	N	P	N	N	P	P	
48							
49	N	1,50x10e2	N	N	3,53x10e3	4,10x10e4	IU/ml
50	N	3,20x10e2	N	N	9,10x10e3	8,00x10e4	IU/ml
51	N	4,26x10e2	N	N	1,56x10e4	1,26x10e5	IU/ml
52	N	1,52x10e2	N	N	5,42x10e3	5,47x10e4	IU/ml
53	N	1,91x10e2	N	N	4,94x10e3	5,01x10e4	IU/ml
54	N	1,45x10e2	N	N	4,74x10e3	4,58x10e4	IU/ml
55	N	2,00x10e2	N	N	5,27x10e3	6,46x10e4	IU/ml
56	N	1,39x10e2	N	N	4,96x10e3	4,09x10e4	Neued.
57	N	N	N	N	P	P	IU/ml
58	N	1,63x10e2	N	N	4,77x10e3	5,63x10e4	Neued.
59	N	3,00x10e1	N	N	5,50x10e3	4,70x10e4	IU/ml
60							
61	N	7,7x10e1	N	N	4,40x10e3	6,70x10e4	IU/ml
62	N	P	N	N	P	P	
63	N	7,40x10e1	N	N	6,11x10e3	6,28x10e4	IU/ml
64	N	2,50x10e2	N	N	4,20x10e3	5,70x10e4	IU/ml
65	N	1,58x10e2	N	N	5,12x10e3	5,17x10e4	IU/ml

Laboratoře, u nichž nejsou uvedeny číselné hodnoty, své výsledky nekvantifikovaly. Pořadová čísla laboratoří v této tabulce nemají souvislost s jejich zavedenými kódy v EHK (NRL pro VH uvedena pod číslem 1).

Tab. 3: výsledky vyšetření HCV-RNA v EHK 1418 (P = pozitivní, N = negativní)

poř.č.	1	2	3	4	5	6	jednotky
	N	N	+	+++	++	N	
1 - NRL	N	N	1,99x10e2	2,22x10e4	1,74x10e3	N	IU/ml
2	N	N	P	P	P	N	
3	N	N	7,90x10e1	1,18x10e4	1,04x10e3	N	IU/ml
4	N	N	2,80x10e2	1,20x10e4	1,50x10e3	N	IU/ml
5	N	N	1,36x10e2	1,55x10e4	1,38x10e3	N	IU/ml
6	N	N	0,57x10e1	5,30x10e1	0,81x10e1	N	Neuved.
7	N	N	3,30x10e2	2,20x10e4	2,00x10e2	N	IU/ml
8	N	N	1,05x10e2	1,04x10e4	1,13x10e3	N	IU/ml
9	N	N	P	P	P	N	
10	N	N	1,39x10e2	1,34x10e4	1,33x10e3	N	IU/ml
11	N	N	P	P	P	N	
12	N	N	4,40x10e2	2,60x10e4	2,50x10e3	N	IU/ml
13	N	N	1,58x10e2	1,59x10e4	1,70x10e3	N	IU/ml
14	N	N	1,67x10e2	1,48x10e4	1,38x10e3	N	IU/ml
15	N	N	1,30x10e2	1,01x10e4	1,17x10e3	N	IU/ml
16	N	N	P	P	P	N	
17	N	N	P	P	P	N	
18	N	N	1,70x10e2	1,22x10e4	3,28x10e2	N	IU/ml
19	N	N	P	P	P	N	
20	N	N	P	P	P	N	
21	N	N	P	P	P	N	
22	N	N	P	P	P	N	
23	N	N	1,36x10e2	1,15x10e4	1,45x10e3	N	IU/ml
24	N	N	P	P	P	N	
25	N	N	1,58x10e2	1,70x10e4	1,70x10e3	N	IU/ml
26	N	N	P	P	P	N	
27	N	N	P	P	P	N	
28	N	N	1,16x10e2	1,36x10e4	1,09x10e3	N	IU/ml
29	N	N	P	P	P	N	
30	N	N	P	P	P	N	
31	N	N	7,90x10e1	7,33x10e3	9,23x10e2	N	IU/ml
32	N	N	1,09x10e2	1,14x10e4	1,13x10e3	N	IU/ml
33	N	N	1,22x10e2	1,09x10e4	1,29x10e3	N	IU/ml
34	N	N	P	P	P	N	
35	N	N	9,50x10e1	1,02x10e4	1,50x10e3	N	IU/ml
36	N	N	3,61x10e2	1,68x10e4	8,68x10e2	N	IU/ml
37	N	N	0	4,50x10e2	3,64x10e1	N	IU/ml
38	N	N	3,50x10e1	5,60x10e3	2,40x10e2	N	IU/ml
39	N	N	1,99x10e2	2,05x10e4	1,58x10e3	N	IU/ml
40	N	N	2,36x10e2	1,16x10e4	1,65x10e3	N	IU/ml
41	N	N	9,60x10e2	1,25x10e4	1,01x10e3	N	IU/ml
42	N	N	2,40x10e2	2,14x10e4	2,30x10e3	N	IU/ml
43	N	N	P	P	P	N	
44	N	N	1,32x10e2	1,49x10e4	1,32x10e3	N	IU/ml
45	N	N	P	9,21x10e3	5,46x10e2	N	IU/ml
46	N	N	1,40x10e2	8,80x10e3	9,80x10e2	N	IU/ml
47	N	N	P	P	P	N	
48	N	N	1,14x10e2	1,13x10e4	1,26x10e3	N	IU/ml
49	N	1,50x10e2	N	N	3,53x10e3	P	IU/ml
50	N	N	1,50x10e1	2,30x10e4	1,40x10e3	N	IU/ml
51	N	N	4,53x10e2	1,53x10e5	1,83x10e4	N	IU/ml
52	N	N	1,39x10e2	1,32x10e4	1,52x10e3	N	IU/ml
53	N	N	1,27x10e2	9,07x10e3	1,22x10e3	N	IU/ml
54	N	N	1,28x10e2	1,19x10e4	9,41x10e2	N	IU/ml
55	N	N	1,48x10e2	5,68x10e3	1,23x10e3	N	IU/ml
56	N	N	1,86x10e2	6,49x10e3	2,02x10e3	N	IU/ml

57	N	N	P	P	P	N	
58	N	N	2,07x10e2	1,46x10e4	1,08x10e3	N	Neuved.
59	N	N	1,30x10e2	4,90x10e4	2,90x10e3	N	IU/ml
60	N	N	1,20x10e2	1,31x10e4	1,57x10e3	N	IU/ml
61	N	N	8,00x10e1	8,20x10e3	3,40x10e2	N	IU/ml
62	N	N	P	P	P	N	
63	N	N	1,05x10e2	1,79x10e4	1,82x10e3	N	IU/ml
64	N	N	5,80x10e1	1,50x10e4	9,20x10e2	N	IU/ml
65	N	N	1,38x10e2	1,61x10e4	1,58x10e3	N	IU/ml

Laboratoře, u nichž nejsou uvedeny číselné hodnoty, své výsledky nekvantifikovaly. Pořadová čísla laboratoří v této tabulce nemají souvislost s jejich zavedenými kódy v EHK (NRL pro VH uvedena pod číslem 1).

## 6 / Závěr

Série EHK 1417 byla určena pro stanovení přítomnosti DNA viru hepatitidy B, série EHK 1418 pro stanovení RNA viru hepatitidy C. Obou sérií se účastnilo 65 laboratoří, z nichž jedna nedodala výsledky zpět k hodnocení.

Celkem neuspěly 4 laboratoře, přičemž ve dvou případech byla zřejmě příčinou nižší citlivost použité metody PCR (1x u HBV-DNA, 1x u HCV-RNA), ve zbylých nelze vyloučit záměnu vzorků při testování, či při zápisu výsledků do elektronického formuláře (1x u HBV-DNA, 1x u HCV-RNA).

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