



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/37/2024 (EHK 1420)

Detekce RNA SARS-CoV-2

Praha, prosinec 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	6
5.	Vyhodnocení	7
6.	Závěr	14
	Příloha 1 – Přehled výsledků laboratoří a hodnocení pro vzorky 1 - 4	
	Příloha 2 – Přehled výsledků - edukativní vzorek 5	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/37/2024 byl zaměřen na detekci RNA SARS-CoV-2. Návrh a realizace PT#M/37/2024 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 vypracoval:

RNDr. Helena Jiřincová, NRL pro chřipku a nechřipková respirační virová onemocnění

Zprávu autorizoval:

RNDr. Helena Jiřincová

Tel: 725362602

Dne: 19. 12. 2024

Pracoviště 2 ESPT

e-mail: ehk@szu.cz

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

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/37/2024

Identifikace cyklu:	EHK 1420
Název:	Detekce RNA SARS-CoV-2
Koordinátor:	RNDr. Helena Jiřincová
Podstata a účel PT:	Ověření schopnosti detekovat vRNA SARS-CoV-2
Kritéria pro účast na PT:	Požadavky na laboratoře – zajištění bezpečnosti práce při manipulaci s infekčním materiálem obsahujícím živý virus SARS-CoV-2
Charakteristika materiálu:	Identifikované kmeny SARS-CoV-2 izolované na buněčné kultuře naředěné na koncentraci odpovídající klinickému materiálu. Jako edukativní vzorek je přidán vzorek obsahující inaktivovaný virus chřipky A/H5N1, clade 2.3.4.4. b
Hodnocené ukazatele:	Dosažené Ct v PCR a závěrečné hodnocení positivity/negativity. Edukativní vzorek není předmětem hodnocení.
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2 této zprávy
Počet účastníků:	84
Termín distribuce:	16. 9. 2024
Informace účastníkům:	Viz: Informace pro účastníky distribuované spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky:	7. 10. 2024
Označení vzorkovnic:	EHK 1420, PT # M/37, č. 1-4, 16. 9. 2024
Zabezpečení kvality vzorku:	Zabezpečení homogenity: Homogenita je zajištěna promícháním vzorků před zahájením alikvotování do vzorkovnic 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 zamražením na teplotu nižší než - 60 °C.
Test homogenity a stability:	Kvalita, homogenita a stabilita je posuzována na základě trojitého opakovaného testování: po rozplnění a rozdělení do UN3373 definovaných obalů, před distribucí a v termínu blízkém dni odeslání výsledků zpět k vyhodnocení. Na každé testování se použijí nové aliquoty, průkazem homogenity a stability vzorků je dosažení totožných výsledků v čase. Vzorky jsou skladovány při teplotě nižší než - 60 °C. Identita je zajištěna použitím stejné varianty SARS-CoV-2 a ověřena PCR.
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe a pokynů organizátora, záměna vzorků- Křížová kontaminace negativního vzorku silně pozitivním vzorkem, kdy virová nálož ve vzorku odpovídá situaci v klinické praxi.
Způsob vyhodnocení výsledků:	Pro počet účastníků větší je základem statistické vyhodnocení na základě určení směrodatné odchylky, pro menší počet účastníků je třeba dosáhnout alespoň 80% zisku bodů.

Určení vztažné hodnoty:	Vztažnou hodnotou jsou výsledky NRL, které byly získané trojitým testováním vzorků v termínu blízkém dni odeslání výsledků zpět k vyhodnocení (= očekávané výsledky).
Výpočet bodového limitu	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. Koordinátor si vyhrazuje právo výsledky zaokrouhlit. Pokud se v hodnocené skupině vyskytne pracoviště s extrémně nízkým bodovým ziskem (<50 % maximálního bodového zisku), je vyloučeno z výpočtu limitu. Takové pracoviště je automaticky hodnoceno jako neúspěšné. Jestliže stejný typ atypického výsledku vykáže větší počet účastníků, může být 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.
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	17. 10. 2024
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 30. 12. 2024

2. Způsob přípravy vzorků

Infikace tkáňové kultury VERO E6, nebo VERO E6-TMPRSS2 aktuálními variantami viru SARS-CoV-2 v režimu BL-3 (3 až 4 pasáže), množení viru v CO₂ termostatu (5% CO₂, 35 – 37°C), ověření přítomnosti RNA viru pomocí PCR, ověření sterility tkáňové tekutiny s pomnoženými viry v hovězím bujónu. Experimentální určení nejvhodnějšího ředění vzorků ve virologickém odběrovém mediu pomocí PCR tak, aby virová nálož odpovídala běžnému klinickému vzorku (CT 19 - 35±1). Rozplnění po 0,5 ml do vzorkovnic a zamražení na teplotu nižší než – 60 °C.

Edukativního vzorek: virus byl pomnožen ve druhé pasáži na kuřecích embryích, jako výchozí materiál pro ředění byla použita alantoidní tekutina o hemaglutinančním titru HT 256 a následná pasáž na MDCK buněčné linii. Virus byl před rozplněním inaktivován 4 hod při 80 °C. Po inaktivaci byla provedena kontrola viability na stejné buněčné kultuře a na KE za stejných podmínek po dobu 2 x 7 dnů.

Výchozím materiálem je:

1. izolovaný kmen ve druhé pasáži SARS-CoV-2 hCoV-19/Czech Republic/NRL_s324/2024 určen jako JN.1.1, WGS v GISAID pod kódem: EPI_ISL_19238240, zdroj pro pozitivní vzorky v kultivačním mediu
2. virologické odběrové médium (OM), šarže 6/23 (exp. 12/24) jako negativní vzorek a jako roztok pro naředění pozitivního materiálu

Edukativní vzorek: 2050/24 - izolovaný kmen H5N1, clade 2.3.4.4b, A/greater_white-fronted_goose/Czech_Republic/G9/2024, EPI_ISL_18929002, izolovaný na KE, P2, HT 256

3. Charakteristika materiálu

Vzorky obsahují patogenní a podmíněně patogenní mikroorganismy (SARS-CoV-2) klasifikované jako Biologické činitele skupiny 3 (Sbírka zákonů č. 361/2007), v tomto případě je třeba s nimi zacházet jako s infekčním materiálem za dodržování všech doporučených bezpečnostních opatření povinných v souvislosti s vyšetřováním COVID19. O této skutečnosti je nutno informovat všechny pracovníky, kteří se budou na jejich zpracování podílet. Při manipulaci s materiálem je tedy nezbytné zachovávat všechny zásady bezpečné laboratorní praxe pro práci s těmito činiteli, včetně správné likvidace zbylých vzorků po uplynutí 30 dnů od příjmu (<https://www.sujb.cz/?id=769>). Pro případné reklamace uchovávejte pouze izolovanou RNA.

Edukativní vzorek lze považovat po inaktivaci za neinfekční. Vzhledem k přísným pravidlům je třeba zbytek po uplynutí 30 dnů od příjmu rovněž zlikvidovat.

Zásilka obsahovala 4 x 0,5 ml simulovaných lidských klinických vzorků s obsahem SARS-CoV-2 viru ve virologickém odběrovém mediu. Vzorky neobsahovaly lidský genetický materiál, neboť se jednalo o viry pomnožené v tkáňové kultuře. Koncentrace viru v jednotlivých vzorcích nepřekročila obvyklou koncentraci viru v klinickém materiálu, tj. CT 15 - 28. Vzorky (vyjma edukativního) byly připraveny jako infekční neinaktivované, do expedice byly uloženy při teplotě nižší než - 60 °C a byly distribuovány na suchém ledu.

Očekávané výsledky

Označení	Očekávaná hodnota Ct	Varianta	GISAID accession kód	Hodnocení
Vzorek 1	15,2	Omikron JN.1.1	EPI_ISL_19238240	Pozitivní
Vzorek 2	Negativní	NA	NA	Negativní
Vzorek 3	Negativní	NA	NA	Negativní
Vzorek 4	27,0	Omikron JN.1.1	EPI_ISL_19238240	Pozitivní
Vzorek 5	19,5	Infl A/H5N1 HA clade 2.3.4.4.b	EPI_ISL_18929002	Infl A pozitivní, nelze určit subtypy H1pdm 2009, H3

4. Způsob hodnocení

a) Hodnocení výsledků obecně

Vztažnou hodnotou jsou výsledky NRL, které byly získané trojitým testováním vzorků v termínu blízkém dni odeslání výsledků zpět k vyhodnocení (= očekávané výsledky).

Výstupy laboratoří se očekávají v podobě pozitivní/hraniční/negativní a hodnota Ct.

Bodové hodnocení účastníků vychází z očekávaných výsledků NRL a je nastaveno tak, že se sčítají dosažené body za hodnocení Ct a slovní hodnocení. Započítanou hodnotou je celková získaná suma za obě dílčí hodnocení.

Hodnocení dle Ct:

- dvěma body je hodnocena shoda s očekávaným výsledkem, všechny hodnoty Ct, které jsou menší než očekávané hodnoty a všechny hodnoty Ct jejichž odchylka Ct je menší nebo rovna 3 jsou hodnoceny 2 body.
- jedním bodem je hodnocena částečná shoda (tedy odchylka očekávaného Ct > 3 a ≤ 6)
- bez bodového ohodnocení jsou výsledky, které se s očekávaným výsledkem neshodují. Za neshodné výsledky je považována odchylka hodnoty Ct od očekávané hodnoty Ct o více než 6 (> 6).
-

Hodnocení slovní:

Shoda – 2 body, částečná shoda (hraniční/pozitivní namísto pozitivní - 1 bod), neshoda negativní namísto pozitivní, 0 bodů.

Za průkaz virové RNA ve 4 vzorcích mohou laboratoře získat maximálně 16 bodů. Laboratoř úspěšně absolvuje kolo EHK, pokud dosáhne bodového limitu, který se vypočítává podle následujícího vzorce: Limit = aritmetický průměr výsledků všech laboratoří minus dvě směrodatné odchylky. Pokud se v hodnocené skupině vyskytne pracoviště s extrémně nízkým bodovým ziskem (< 50 % maximálního bodového zisku), je vyloučeno z výpočtu limitu. Takové pracoviště je automaticky hodnoceno jako

neúspěšné. Pro hodnocení může laboratoř použít jen jeden úsek sledovaného genu v PCR dle vlastní volby.

Laboratoře, které nemohou stanovit hodnotu Ct, protože používají izotermální metodu nebo metodu hybridizace po end point PCR, které neumožňují tuto hodnotu stanovit, jsou hodnoceny pouze dle slovního hodnocení, podmínkou je vyplnění komerční soupravy.

Zařazení edukativního vzorku a hodnocení výsledků bez bodového

I v případě edukativního vzorku bylo použito hodnocení Ct sledující odchylku od absolutní hodnoty o 3 Ct, respektive 6 Ct. Při účinnosti PCR blíží se 100 %, lze změnu Ct o 3 považovat za jedno dekadické ředění. Odchylka Ct o více než 6 od očekávaného výsledku, může znamenat snížení citlivosti metody až o 2 řády. Koordinátor si uvědomuje hrubé zjednodušení tohoto hodnocení, vzhledem k použití různých systémů PCR včetně přístrojového vybavení. Nicméně, vyšší hodnoty Ct než jsou očekávané hodnoty naznačují nižší citlivost vzorku, nebo manipulaci, která odporuje správné laboratorní praxi,

5. Vyhodnocení

Tabulka 1: Hodnocení detekce RNA

Průměr aritmetický	15,6	
SD	0,90	
SD * 2	1,80	
Minimální zisk bodů	12	
Maximální zisk bodů	16	
Prahová hodnota=limit	13,80	
Celkem účastníků EHK	84	Hodnoceno 81 laboratoří, 3 lab nedodaly výsledky
Uspělo na 100 %	62	82,72 % (v roce 2023 - 92 %)
Uspělo s neshodou	15	12,3 % (v roce 2023 - 4 %)
Uspělo celkem	77	93,83 % (v roce 2023 - 96 %)
Neuspělo	4	4,93 % (v roce 2023 - 4 %)

Z výpočtu limitu hodnocení nebyla vyloučena žádná laboratoř. V roce 2024 byly hodnoty Ct hodnoceny stejným bodovým ziskem jako a závěrečné slovní hodnocení. Vzhledem k tomu, že je velmi důležité zachovat citlivost průkazu detekce a současně není možné požadovat kvantifikaci stanovení, je stále hodnocena odchylka požadované hodnoty Ct. Nulovým hodnocením jsou bodovány vzorky s odchylkou větší než 6, což znamená snížení citlivosti detekce téměř o 2 řády. Významné snížení citlivosti detekce může mít faktický dopad na šíření infekce, případně na zdravotní stav vyšetřovaného pacienta/klienta.

Nulovým bodovým ohodnocením jsou rovněž hodnoceny negativní vzorky stanovené jako pozitivní. Falešná pozitivita v důsledku křížové kontaminace vzorku je kritickým faktorem ovlivňujícím validitu výsledků laboratoře.

Celkově absolvovalo úspěšně toto EHK 77 laboratoří z celkem 81 účastníků (jedna laboratoř neodeslala výsledky a proto se do hodnocení nezapočítává), což odpovídá 94 %. Procento úspěšných laboratoří je

poněkud nižší než v loňském roce, což je pravděpodobně dáno menším počtem zúčastněných laboratoří, kontaminací negativního vzorku pozitivním (u laboratoří 37 a 64) a poněkud přísnějším hodnocením Ct.

Neuspěly pouze 4 laboratoře (37, 64, 302 a 743). Ke kontaminaci negativního vzorku došlo u 2 ze 4 laboratoří (37 a 64), a pravděpodobnou příčinou neúspěchu a nevalidních výsledků laboratoře 743 mohla být také kontaminace negativního vzorku pozitivním. Nízká citlivost detekce byla pravděpodobnou příčinou neúspěchu laboratoře 302. Laboratoř 302 naopak excelovala v případě edukativního vzorku, kdy jako jediná správně určila subtyp H5N1.

V tomto případě bylo cílem zjistit, zda je laboratoř danou metodou schopna detekovat virus chřipky typu A, přičemž cirkulující subtypy v lidské populaci (H1pdm 2009, H3) jsou v tomto případě negativní. Pouze u tří laboratoří byla zřejmě použita komerční PCR souprava s nižší citlivostí. V tomto případě je vhodné zasílat vzorky s podezřením na chřipku a současně s negativním výsledkem PCR na chřipku či jiný odpovídající respirační patogen do NRL ke confirmaci.

Hodnocení úspěšnosti pro jednotlivé vzorky

Tabulka 2: Vzorek 1

	Počet laboratoří	Kód laboratoře	
Netestovalo:	3	002, 435, 595	
testovalo se 100 % shodou	74		93,67 % (hodnocení Ct – 79 laboratoří)
Ct větší než 3 a menší než 6	4		4,93 % (hodnocení Ct – 79 laboratoří)
Ct větší než 6 (7,2)	1	lab 302	1,27 % (hodnocení Ct – 79 laboratoří)
Jen pozitivní hodnocení bez možnosti zadání Ct, 100 %	2	lab 394, 529	Post end point PCR hybridizace s enzymatickou vizualizací výsledků

Tabulka 3: Vzorek 2:

	Počet laboratoří	Kód laboratoře	komentář
Netestovalo:	4	002, 435, 595 743	743 nezískala validní výsledek pro zadání, možnou příčinou může být kontaminace negativního vzorku pozitivním
testovalo se 100 % shodou	79		97,53 %
Falešně pozitivní výsledek	1	64	1,23 %

Tabulka 4: Vzorek 3:

	Počet laboratoří	Kód laboratoře	komentář
Netestovalo:	3	002, 435, 595	
testovalo se 100 % shodou	80		98,77 %
Falešně pozitivní výsledek	1	37	1,23 %

Tabulka 5: Vzorek 4

	Počet laboratoří	Kód laboratoře	
Netestovalo:	3	002, 435, 595	
testovalo se 100 % shodou	74		93,67 % (hodnocení Ct – 79 laboratoří)
Ct větší než 3 a menší než 6	4		5,06 % (hodnocení Ct – 79 laboratoří)
Ct větší než 6 (7,2)	1	302	1,27 % (hodnocení Ct – 79 laboratoří)
Jen pozitivní hodnocení bez možnosti zadání Ct, 100 %	2	394, 529	Post end point PCR hybridizace s enzymatickou vizualizací výsledků

V případě detekce SARS-CoV-2 u pozitivních vzorků pouze jedna laboratoř byla hodnocena jako neúspěšná pro velkou odchylku Ct od očekávané hodnoty. V tomto případě je třeba ověřit všechny kroky laboratorního procesu, od příjmu vzorku, přes izolaci NA, zda nevedou k degradaci NA ve vzorcích a tím ke snížení citlivosti, nebo zda hodnotu Ct ovlivňují pouze PCR reagentie a případně i podmínky amplifikace.

U negativních vzorků došlo ve dvou, a pravděpodobně i ve třech případech ke kontaminaci negativního vzorku pozitivním. Cílem této EHK bylo ověřit, zda ke kontaminaci silně pozitivním vzorkem nemůže při laboratorním postupu dojít. Laboratoře, které vyhodnotily negativní vzorky jako falešně pozitivní by měly zkontrolovat celý postup a najít slabinu, která může i v reálném testování takto nepříznivě ovlivnit výsledky testování u pacientů.

Tabulka 6: Edukativní vzorek 5 – příklad hodnocení (nemá vliv na úspěšnost absolvování EHK)

	Počet laboratoří	Kód laboratoře	Pozn.
Netestovalo:	16 (z 81)		19,75 %
Testovalo	65 (z 81)		80,25 %
Testovalo se 100 % shodou	57		87,69 %
Úspěšně hodnoceno	62		95,38 %
Ct větší než 3 a menší než 6	5		7,69 %
Ct větší než 6 (7,6 – 10,2)	3	302, 739, 784	4,62 %
Jen pozitivní hodnocení bez možnosti zadání Ct, 100 %	2	394, 529	Post end point PCR hybridizace s enzymatickou vizualizací výsledků

Použité komerční soupravy:

Přehled použitých souprav je uveden v tabulkách 7 až 9 a je převzat bez korekce dat poskytnutých účastníky.

Tabulka 7: Použité komerční soupravy pro izolaci RNA, PCR vzorky 1 - 5

Výrobce	Souprava	Počet	%
Bez izolace	bez izolace	11	15,94
Cepheid	Xpert® Xpress SARS-CoV-2	21	30,43
ECOLI	ePure Viral Nucleic Acid Extraction Kit	3	4,35
ELISABETH PHARMACON	Eligene Viral RNA/DNA FAST Isolation kit	1	1,45
ELITech	ELITech InGenius	1	1,45
GeneProof	CROBee 2.0 Univerzal Extraction Kit	1	1,45
GeneProof	CroBEE 201A Nucleic Acid Extraction Kit	1	1,45
GeneProof	PathogenFree RNA Isolation Kit	3	4,35
Genolution	NX-48S Viral NA Kit	3	4,35
Jiné	jiné	5	7,25
RBC Bioscience	MagCore® Viral Nucleic Acid Extraction Kit	1	1,45
Sacace	SaMag Viral Nucleic Acids Extraction kit	5	7,25
Seegene	STARMag 96 ProPrep	3	4,35
Zinexts	MagPurix Viral Nucleic Acid Extraction Kit	1	1,45
Zybio	Nucleic Acid Extraction Kit	9	13,04

Tabulka 8: Použité komerční soupravy amplifikace RNA, PCR vzorky 1-4

Výrobce	Souprava	Počet	%
Cepheid	Xpert Xpress SARS-CoV-2	33	43,42
Diagnovital	HS SARS-CoV-2 Real-Time PCR Kit v2.0	1	1,32
DIANA Biotechnologies	DBdirect COVID-19 Multiplex RT-PCR Kit	4	5,26
ELISABETH PHARMACON	EliGene® COVID19 TRIPLE RIC RT	1	1,32
GeneProof	GeneProof SARS-CoV-2 PCR Kit	2	2,63
GeneProof	SARS-CoV-2 Advanced PCR Kit	3	3,95
GENERI BIOTECH	gb SARS-CoV-2 Multiplex	1	1,32
Jiné	jiné	16	21,05
Perkin Elmer	PerkinElmer® SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR	1	1,32
Sacace	SARS-Cov-2 Real-TM	3	3,95
Seegene	Allplex SARS-COV-2 Assay	4	5,26
Seegene	Allplex SARS-CoV-2 fast PCR Assay	1	1,32
Vitassay	Vitassay qPCR SARS-CoV-2	1	1,32
Zybio	Molaccu COVID-19 Detection Kit	5	6,58

Tabulka 9: Použité komerční soupravy amplifikace RNA, PCR edukativní vzorek 5

Výrobce	Souprava	Počet	%
BioFire Diagnostic	RP 2.1 plus (FilmArray)	2	3,08
Cepheid	Genexpert Xpert Xpress CoV2/FLU/RSV	18	27,69
Cepheid	Genexpert Xpert Xpress FLU/RSV	13	20
Diana Technologies	Dbdirect: RP1 SARS-CoV-2/FLU/RSV	2	3,08
Diana technologies	RP1 SARS-CoV-2/FLU/RSV	1	1,54
Geneproof	Chřipka A, B, RSV	3	4,62
Jiné	viz poznámka	11	16,92
Kogene	PowerChek SARS-CoV-2, Infl A-B, RSV	1	1,54
Seegene	Allplex RP1	6	9,23
Seegene	Allplex RV Master Assay	4	6,15
Seegene	Allplex SARS-CoV-2/FluA,B/RSV	1	1,54
Vitassay	Vitassay A+B+RSV	2	3,08
Vitro Mastzer	Respiratory Flow Chip	1	1,54

Přehled vyhodnocení laboratoří

V tomto případě jsou hodnoty uvedené v této tabulce opraveny koordinátorem dle deklarovaného způsobu hodnocení.

Tabulka 10 a: Celkové hodnocení laboratoří

Lab.	celkem bodů	Max.bodů	Podíl správně určených vzorků	Hodnocení
5	16	16	1	U
11	16	16	1	U
16	16	16	1	U
18	16	16	1	U
20	16	16	1	U
23	16	16	1	U
26	16	16	1	U
28	16	16	1	U
31	16	16	1	U
32	16	16	1	U
33	16	16	1	U
34	15	16	1	U
35	16	16	1	U
37	12	16	1	N
39	16	16	1	U
51	15	16	1	U
53	16	16	1	U
55	15	16	1	U
56	16	16	1	U
58	16	16	1	U
64	12	16	1	N
65	16	16	1	U
66	16	16	1	U
68	16	16	1	U
71	16	16	1	U
77	16	16	1	U
88	16	16	1	U
89	15	16	1	U
156	16	16	1	U
184	16	16	1	U
192	15	16	0,75	U
207	16	16	1	U
208	16	16	1	U
227	16	16	1	U
228	15	16	0,75	U
241	15	16	1	U

Tabulka 10 b: Celkové hodnocení laboratoří – pokračování

Lab.	celkem bodů	Max.bodů	Podíl správně určených vzorků	Hodnocení
299	16	16	1	U
302	13	16	0,5	N
313	16	16	1	U
316	16	16	1	U
317	16	16	1	U
332	16	16	1	U
333	16	16	1	U
350	16	16	1	U
354	16	16	1	U
355	16	16	1	U
356	14	16	0,75	U
362	16	16	1	U
364	16	16	1	U
365	16	16	1	U
369	16	16	1	U
370	16	16	1	U
373	16	16	1	U
379	15	16	1	U
388	16	16	1	U
394	8	8		U
396	16	16	1	U
406	15	16	1	U
407	16	16	1	U
430	16	16	1	U
456	15	16	1	U
460	16	16	1	U
529	8	8	1	U
539	16	16	1	U
541	16	16	1	U
552	16	16	1	U
554	15	16	1	U
560	16	16	1	U
598	15	16	1	U
638	16	16	1	U
690	16	16	1	U
702	16	16	1	U
710	16	16	1	U
737	16	16	1	U

Tabulka 10 c: Celkové hodnocení laboratoří – pokračování

Lab.	celkem bodů	Max.bodů	Podíl správně určených vzorků	Hodnocení
742	16	16	1	U
743	12	16	1	N
757	16	16	1	U
783	16	16	1	U
784	15	16	1	U
786	16	16	1	U
792	15	16	0,75	U

6. Závěr

EHK 1420 se účastnilo 84 laboratoří. Pracoviště ESPT SZU obdrželo výsledky od 81 laboratoří, a tento počet laboratoří byl i hodnocen. Bylo distribuováno celkem 5 vzorků v jedné sadě, 2 vzorky byly pozitivní a 2 vzorky negativní, 1 vzorek byl edukativní a sloužil pro ověření, zda terénní laboratoře disponují PCR soupravami, které umožňují detekci viru chřipky typu A, s negativní subtypizací, u vzorků obsahující virus A/H5N1 clade 2.3.4.4b. Dvě laboratoře určily jeden z negativních vzorků jako pozitivní. Pouze 2 laboratoře použily komerční soupravu, kde nebylo možné určit hodnotu Ct, tyto laboratoře mohly dosáhnout pouze 8 bodů, obě byly hodnoceny jako úspěšné. Tímto se NRL omlouvá všem laboratořím, které mohou považovat tento přístup za nespravedlivý.

Pro úspěšné absolvování by nutno získat bodový zisk 13,80 bodů. Absolutní 100% bodový zisk obdrželo 67, tedy 83 % laboratoří což je v porovnání s rokem 2023, kdy 100% úspěšných laboratoří bylo 92 %, mírné zhoršení. Počet neúspěšně hodnocených laboratoří je stejný jako v roce 2023, v absolutním vyjádření (4 laboratoře), ale v relativním vyjádření je tento parametr horší než v roce 2023 (6,2 % neúspěšných laboratoří v porovnání s rokem 2023, kdy neúspěšné laboratoře představovaly jen 4% podíl. Přehled získaných bodových hodnot je uveden v tabulce 10 a v příloze 1 této zprávy..

Celkově absolvovalo úspěšně toto EHK 77 laboratoří z celkem 81 účastníků (jedna laboratoř neodeslala výsledky a proto se do hodnocení nezapočítává), což odpovídá 94 %. Procento úspěšných laboratoří je poněkud nižší než v loňském roce, což je pravděpodobně dáno menším počtem zúčastněných laboratoří, kontaminací negativního vzorku pozitivním (u laboratoří 37 a 64) a poněkud přísnějším hodnocením Ct.

Neuspěly pouze 4 laboratoře (37, 64, 302 a 743). Ke kontaminaci negativního vzorku došlo u 2 ze 4 laboratoří (37 a 64), a pravděpodobnou příčinou neúspěchu a nevalidních výsledků laboratoře 743 mohla být také kontaminace negativního vzorku pozitivním. Nízká citlivost detekce byla pravděpodobnou příčinou neúspěchu laboratoře 302. Laboratoř 302 naopak excelovala v případě edukativního vzorku, kdy jako jediná správně určila subtyp H5N1.

Edukativní vzorek:

V tomto případě bylo cílem zjistit, zda je laboratoř danou metodou schopna detekovat virus chřipky typu A, přičemž cirkulující subtypy v lidské populaci (H1pdm 2009, H3) jsou v tomto případě negativní. Pouze u tří laboratoří byla zřejmě použita komerční PCR souprava s nižší citlivostí. V tomto případě je vhodné zasílat vzorky s podezřením na chřipku a současně s negativním výsledkem PCR na chřipku či jiný odpovídající respirační patogen do NRL ke confirmaci. Celkově lze hodnotit vyšetření edukativního vzorku velmi pozitivně. Dobrovolně testovalo více než 80 % laboratoří, všechny laboratoře správně

vyhodnotily vzorek jako chřipky typu A, u které nelze detekovat subtyp hemagglutininu H1pdm ani H3. Jedna laboratoř dokonce určila správně subtyp H5 (zapsala výsledek jako H5N1, ale neuvedla, zda testovala i subtyp neuraminidázy). Pouze u 3 laboratoří lze konstatovat, že chřipka typu A byla určena metodou s nižší citlivostí /odchylka Ct od očekávané hodnoty byla vyšší než 6), což přibližně odpovídá o dva až 3 řády nižší citlivosti detekce.

Edukativní vzorek byl zařazen s ohledem na epizootické globální šíření virů H5Nx, především pak H5N1, clade 2.3.4.4b.

Koordinátor děkuje všem laboratořím, které dobrovolně tento vzorek testovaly.

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

Pro zadání reklamace použijte webovou aplikaci SZÚ: <http://ehk.szu.cz/EHK10/>.

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.

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY