



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/13-14/2025 (EHK 1468-1469)

Detekce HBV-DNA a HCV-RNA

Praha, květen 2025

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	4-5
5.	Vyhodnocení	5-8
6.	Závěr	8
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/13-14/2025 (EHK 1468-1469) byl zaměřen na detekci HBV-DNA a HCV-RNA.

Návrh a realizace PT#M/13-14/2025 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: 20. 5. 2025

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/13-14/2025

Identifikace cyklu:	EHK1468-1469
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:	EHK1468: 61 přihlášených účastníků (60 dodalo výsledky) EHK1469: 67 přihlášených účastníků (66 dodalo výsledky)
Termín distribuce vzorků:	24. 3. 2025
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	Do 14. 4. 2025
Označení vzorkovnic:	a) PT#M/13/2025 EHK1468, vzorky 1-6, 24. 3. 2025 b) PT#M/14/2025 EHK1469, vzorky 1-6, 24. 3. 2025
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 vztažné hodnoty:	Neurčuje se
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neurčuje se
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	Do 23. 4. 2025
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 7. 7. 2025

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 (dle SOP koordinátora). 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 1468 i 1469 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.

Sérii EHK 1468 tvořilo 6 materiálů (vzorků), z nichž každý byl rozplněn do zkumavek po 1,5 ml. Sérii EHK 1469 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

Série EHK 1468 byla určena pro stanovení přítomnosti DNA viru hepatitidy B, série EHK 1469 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-1468)	poz. (+)	neg.	neg.	poz. (+++)	neg.	poz. (++)
HCV-RNA (EHK-1469)	neg.	neg.	poz. (+++)	poz. (++)	neg.	poz. (+)

V sérii EHK 1468 činily koncentrace HBV-DNA naměřené v NRL-VH $3,18 \times 10^2$ IU/ml (vzorek 1), $3,87 \times 10^3$ (vzorek 6) a $8,42 \times 10^4$ (vzorek 4). V sérii EHK 1469 činily naměřené koncentrace HCV-RNA $3,14 \times 10^2$ IU/ml (vzorek 6), $2,69 \times 10^3$ (vzorek 4) a $3,64 \times 10^4$ (vzorek 3).

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 sérií EHK 1468 - 1469 nebyl 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.

Koordinátor si vyhrazuje právo při vysokém výskytu atypických výsledků vyřadit z hodnocení celý vzorek.

Koordinátor je oprávněn v případě potřeby jmenovat odbornou poradní skupinu pro řešení konkrétního kola EHK.

5 / Vyhodnocení

Vzorky byly distribuovány 24. 3., konečným termínem pro dodání výsledků byl 14. 4. 2025.

K testování jedné či obou sérií se přihlásilo celkem 67 laboratoří, z nichž 6 testovalo pouze marker HCV-RNA, 60 oba markery a jedna nedodala výsledky.

U markeru HBV-DNA kvantifikovalo své výsledky 40 laboratoří (66,7%), u markeru HCV-RNA kvantifikovalo 44 laboratoří (66,7%).

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

V sériích EHK1468-1469 zaznamenaly neshodné výsledky dvě laboratoře:

- 1) Laboratoř s pořadovým č. 7 nezachytila přítomnost HCV-RNA u nejslabšího pozitivního vzorku 6 v EHK 1469. Příčinou může být nižší citlivost použité metody (izolační kit Saccace Biotechnologies; amplifikační kit GeneProof).
- 2) Laboratoř s pořadovým číslem 64 nezachytila přítomnost HBV-DNA u nejslabšího pozitivního vzorku 1 v EHK 1468 ani přítomnost HCV-RNA u nejslabšího pozitivního vzorku 6 v EHK 1469. Příčinou může být nižší citlivost použité metody (izolační kit Mole Bioscience, amplifikační kit GeneProof). Dále vykazala tato laboratoř ze všech účastníků největší odchylky v kvantifikaci (u všech pozitivních vzorků získala hodnoty zhruba o jeden řád nižší oproti výsledkům referenční laboratoře i průměru dalších účastníků).

Ostatní laboratoře nevykázaly žádné neshodné výsledky ani větší odchylky v kvantifikaci, pouze laboratoř s pořadovým č. 52 o jeden řád podhodnotila vzorek 6 v EHK 1469.

Kromě toho se vyskytla jedna administrativní chyba, když laboratoř s pořadovým číslem 44 přiřadila ke správné číselné hodnotě u vzorku 6 v EHK 1469 nesprávný závěr (zjevný překlep).

Číselné hodnoty všech účastníků lze studovat v tabulkách č. 2 a 3.

Tab. 2: výsledky vyšetření HBV-DNA v sérii EHK 1468 (P = pozitivní, N = negativní)

poř.č.	1	2	3	4	5	6	jednotky
	+	N	N	+++	N	++	
1-NRL	3,18x10e2	N	N	8,42x10e4	N	3,87x10e3	IU/ml
2	P	N	N	P	N	P	
3							
4	5,50x10e2	N	N	1,20x10e5	N	5,10x10e3	IU/ml
5	3,70x10e2	N	N	1,11x10e5	N	3,85x10e3	IU/ml
6	2,56x10e2	N	N	6,40x10e4	N	2,77x10e3	IU/ml
7	1,80x10e2	N	N	4,70x10e4	N	1,40x10e3	IU/ml
8	1,98x10e3	N	N	1,20x10e5	N	4,74x10e3	IU/ml
9	3,31x10e2	N	N	7,12x10e4	N	2,85x10e3	IU/ml
10	P	N	N	P	N	P	
11	4,03x10e2	N	N	1,32x10e5	N	5,70x10e3	IU/ml
12	3,26x10e2	N	N	6,81x10e4	N	3,06x10e3	IU/ml
13							
14	2,09x10e2	N	N	2,11x10e4	N	1,01x10e3	IU/ml
15	1,00x10e2	N	N	4,10x10e4	N	1,70x10e3	IU/ml
16	2,57x10e2	N	N	5,46x10e4	N	7,61x10e3	IU/ml

17	2,22x10e2	N	N	6,56x10e4	N	3,10x10e3	IU/ml
18	4,72x10e2	N	N	7,22x10e4	N	2,60x10e3	IU/ml
19	P	N	N	P	N	P	
20	P	N	N	P	N	P	
21	P	N	N	P	N	P	
22	P	N	N	P	N	P	
23	2,43x10e2	N	N	7,03x10e4	N	2,89x10e3	IU/ml
24	P	N	N	P	N	P	
25	P	N	N	P	N	P	
26	P	N	N	P	N	P	
27	P	N	N	P	N	P	
28	P	N	N	P	N	P	
29	2,17x10e2	N	N	6,50x10e4	N	2,10x10e3	IU/ml
30	P	N	N	P	N	P	
31	P	N	N	P	N	P	
32	2,11x10e2	N	N	5,17x10e4	N	2,10x10e3	IU/ml
33	P	N	N	P	N	P	
34	P	N	N	P	N	P	
35	3,90x10e2	N	N	5,40x10e4	N	3,00x10e3	IU/ml
36	2,39x10e2	N	N	5,77x10e4	N	3,43x10e3	IU/ml
37	2,55x10e2	N	N	6,04x10e4	N	2,56x10e3	IU/ml
38							
39	P	N	N	P	N	P	
40							
41	4,83x10e2	N	N	7,08x10e4	N	3,31x10e3	IU/ml
42	1,68x10e2	N	N	4,38x10e4	N	1,63x10e3	IU/ml
43	4,47x10e2	N	N	1,15x10e5	N	3,60x10e3	IU/ml
44	2,77x10e2	N	N	5,43x10e4	N	2,31x10e3	IU/ml
45	3,54x10e2	N	N	5,84x10e4	N	2,66x10e3	IU/ml
46	3,51x10e2	N	N	9,36x10e4	N	3,97x10e3	IU/ml
47	P	N	N	P	N	P	
48							
49	P	N	N	3,81x10e4	N	8,70x10e2	IU/ml
50	2,59x10e2	N	N	7,60x10e4	N	2,40x10e3	IU/ml
51	P	N	N	P	N	P	
52	2,70x10e2	N	N	1,70x10e5	N	5,80x10e3	IU/ml
53	1,59x10e3	N	N	1,73x10e5	N	3,26x10e3	IU/ml
54	1,91x10e2	N	N	5,18x10e4	N	1,97x10e3	IU/ml
55	2,61x10e2	N	N	5,98x10e4	N	2,24x10e3	IU/ml
56	2,25x10e2	N	N	9,25x10e4	N	2,64x10e3	IU/ml
57	2,55x10e2	N	N	8,21x10e4	N	2,78x10e3	IU/ml
58	2,36x10e2	N	N	5,31x10e4	N	2,12x10e3	IU/ml
59	P	N	N	P	N	P	
60	2,56x10e2	N	N	6,21x10e4	N	2,59x10e3	IU/ml
61	3,80x10e2	N	N	1,40x10e5	N	5,20x10e3	IU/ml
62							
63	P	N	N	P	N	P	
64	N	N	N	1,65x10e4	N	1,27x10e2	IU/ml
65	9,20x10e2	N	N	1,45x10e5	N	6,10x10e3	IU/ml
66	1,60x10e2	N	N	5,60x10e4	N	1,70x10e3	IU/ml
67	3,14x10e2	N	N	5,21x10e4	N	2,38x10e3	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 sérii EHK 1469 (P = pozitivní, N = negativní)

poř.č.	1	2	3	4	5	6	jednotky
	N	N	+++	++	N	+	
1-NRL	N	N	3,64x10e4	2,69x10e3	N	3,14x10e2	IU/ml
2	N	N	P	P	N	P	
3	N	N	2,34x10e4	1,29x10e3	N	1,65x10e2	IU/ml
4	N	N	2,10x10e4	1,80x10e3	N	1,90x10e2	IU/ml
5	N	N	2,23x10e4	1,34x10e3	N	1,30x10e2	IU/ml
6	N	N	1,61x10e4	1,46x10e3	N	1,74x10e2	IU/ml
7	N	N	1,50x10e4	7,10x10e2	N	N	IU/ml
8	N	N	1,40x10e4	1,54x10e3	N	5,60x10e1	IU/ml
9	N	N	1,97x10e4	1,40x10e3	N	1,35x10e2	IU/ml
10	N	N	P	P	N	P	
11	N	N	2,78x10e4	2,05x10e3	N	1,42x10e2	IU/ml
12	N	N	1,94x10e4	1,52x10e3	N	1,32x10e2	IU/ml
13	N	N	P	P	N	P	
14	N	N	1,00x10e5	4,33x10e3	N	5,27x10e2	IU/ml
15	N	N	2,94x10e4	2,53x10e3	N	3,62x10e2	IU/ml
16	N	N	1,44x10e4	9,80x10e2	N	1,24x10e2	IU/ml
17	N	N	1,93x10e4	1,65x10e3	N	1,45x10e2	IU/ml
18	N	N	2,01x10e4	1,48x10e3	N	1,22x10e2	IU/ml
19	N	N	P	P	N	P	
20	N	N	P	P	N	P	
21	N	N	P	P	N	P	
22	N	N	P	P	N	P	
23	N	N	1,89x10e4	1,37x10e3	N	2,09x10e2	IU/ml
24	N	N	P	P	N	P	
25	N	N	P	P	N	P	
26	N	N	P	P	N	P	
27	N	N	P	P	N	P	
28	N	N	P	P	N	P	
29	N	N	2,30x10e4	1,70x10e3	N	2,10x10e2	IU/ml
30	N	N	P	P	N	P	
31	N	N	P	P	N	P	
32	N	N	1,48x10e4	1,01x10e3	N	1,08x10e2	IU/ml
33	N	N	P	P	N	P	
34	N	N	P	P	N	P	
35	N	N	9,30x10e3	1,00x10e3	N	9,50x10e1	IU/ml
36	N	N	1,58x10e4	1,24x10e3	N	1,17x10e2	IU/ml
37	N	N	1,78x10e4	1,27x10e3	N	1,21x10e2	IU/ml
38	N	N	1,23x10e4	1,46x10e3	N	1,04x10e2	IU/ml
39	N	N	P	P	N	P	
40	N	N	1,59x10e4	1,22x10e3	N	1,51x10e2	IU/ml
41	N	N	2,02x10e4	1,83x10e3	N	5,10x10e2	IU/ml
42	N	N	1,91x10e4	2,83x10e3	N	5,20x10e2	IU/ml
43	N	N	3,92x10e4	3,27x10e3	N	1,59x10e2	IU/ml
44	N	N	3,39x10e4	2,74x10e3	N	1,81x10e2	IU/ml
45	N	N	1,88x10e4	1,38x10e3	N	1,03x10e2	IU/ml
46	N	N	4,93x10e4	2,73x10e3	N	2,55x10e2	IU/ml
47	N	N	P	P	N	P	
48	N	N	P	P	N	P	
49	N	N	1,22x10e4	5,04x10e2	N	P	IU/ml
50	N	N	1,67x10e4	1,05x10e3	N	1,85x10e2	IU/ml

51	N	N	P	P	N	P	
52	N	N	3,10x10 ⁴	2,40x10 ³	N	2,80x10 ¹	IU/ml
53	N	N	4,66x10 ⁴	6,22x10 ³	N	5,98x10 ²	IU/ml
54	N	N	1,86x10 ⁴	1,17x10 ³	N	1,25x10 ²	IU/ml
55	N	N	2,24x10 ⁴	1,53x10 ³	N	3,52x10 ²	IU/ml
56	N	N	1,38x10 ⁴	7,74x10 ²	N	1,27x10 ²	IU/ml
57	N	N	1,51x10 ⁴	1,27x10 ³	N	1,68x10 ²	IU/ml
58	N	N	1,55x10 ⁴	8,40x10 ²	N	1,17x10 ²	IU/ml
59	N	N	P	P	N	P	
60	N	N	1,72x10 ⁴	1,59x10 ³	N	9,70x10 ¹	IU/ml
61	N	N	3,10x10 ⁴	1,90x10 ³	N	3,20x10 ²	IU/ml
62	N	N	2,05x10 ⁴	1,58x10 ³	N	1,79x10 ²	IU/ml
63	N	N	P	P	N	P	
64	N	N	2,39x10 ³	1,13x10 ²	N	N	IU/ml
65	N	N	3,75x10 ⁴	4,59x10 ³	N	1,64x10 ²	IU/ml
66	N	N	2,50x10 ⁴	1,30x10 ³	N	1,20x10 ²	IU/ml
67	N	N	1,46x10 ⁴	1,06x10 ³	N	1,16x10 ²	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 1468 byla určena pro stanovení přítomnosti DNA viru hepatitidy B, série EHK 1469 pro stanovení RNA viru hepatitidy C.

Obou sérií se účastnilo celkem 66 laboratoří, z nichž dvě byly hodnoceny jako neúspěšné (jedna u markeru HCV-RNA, druhá současně u markerů HBV-DNA i HCV-RNA). Vzhledem k tomu, že obě laboratoře vykázaly neshodné výsledky pouze u nejslabších pozitivních vzorků, může být příčinou nižší citlivost použitých metod.

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 reklamáce použijte také webovou aplikaci SZÚ

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY