



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/41/2025 (EHK 1470)

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

Program zkoušení způsobilosti PT#M/41/2025 (EHK 1470) byl zaměřen na detekci HIV-RNA.

Návrh a realizace PT#M/41/2025 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/41/2025

Identifikace cyklu:	EHK 1470
Název PT:	Detekce HIV-RNA
Koordinátor:	Mgr. Pavel Fritz (ve spolupráci s MUDr. Andreou Pavlíkovou) Národní referenční laboratoř pro virové hepatitidy ve spolupráci s Národní referenční laboratoří pro HIV/AIDS tel.: +420 267082484 (2455); email: pavel.fritz@szu.cz
Podstata a účel PT:	Průkaz HIV-RNA (RNA viru lidského imunodeficitu)
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:	34 přihlášených účastníků (všichni dodali 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:	PT#M/41/2025 EHK 1470, vzorky 1-5, 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 vztažené 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 či séra. 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 Testování cílového markeru (HIV-RNA) při přípravě vzorků

Výchozí materiál je testován na cílové markery metodou Real Time PCR (dle SOP NRL HIV/AIDS 19). Finální materiál (po případném ředění či tvorbě směsi) je znovu testován na cílové markery metodou Real Time PCR.

Vzorky byly připraveny v období do 1 měsíce před distribucí a ihned po přípravě a rozplnění zamrazeny. Distribuce probíhala v zamraženém stavu (na suchém ledu). Vzorky nejsou určeny

pro kvantitativní testování (případně kvantitativní výsledky získané účastníky se nepromítají do bodového hodnocení). Testy stability a homogenity nejsou z výše uvedených důvodů před distribucí prováděny. Stabilita (homogenita) materiálu po distribuci je analyzována z výsledků účastnických laboratoří a (v případě potřeby) z archivních vzorků uskladněných v referenční laboratoři.

2.3 Rozplnění materiálu

K rozplnění materiálu došlo v období do jednoho měsíce před distribucí. Materiál byl ihned po rozplnění zamražen při teplotě -20°C a/nebo -80°C a poté distribuován na suchém ledu.

Sérii EHK 1470 tvořilo 5 materiálů (vzorků), z nichž každý byl rozplněn do aliquotů po 1,5 ml.

Rozplnění jednotlivých materiálů (vzorků) probíhalo časově odděleně od ostatních, což zamezilo riziku vzájemné kontaminace.

3 / Charakteristika materiálu

Série EHK 1470 byla určena pro stanovení přítomnosti RNA viru lidského imunodeficitu. Sérii tvořilo 5 vzorků, z nichž 3 byly pozitivní (vzorky č. A/1, B/2 a D/4) a 2 negativní (vzorky č. C/3 a E/5). Objem vzorků činil cca 1,5 ml lidského séra nebo plazmy.

Vzorky nebyly určeny pro kvantitativní stanovení. NRL pro HIV/AIDS během přípravy otestovala kvantitu cílového markeru (HIV-RNA) s těmito výsledky:

Vzorek A/1: $5,42 \times 10^2$ cp/ml; vzorek B/2: $1,49 \times 10^3$ cp/ml; vzorek D/4: $5,49 \times 10^2$ cp/ml. 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

Každý neshodný výsledek znamená pro účastníka hodnocení „laboratoř neuspěla“.

Kvantifikace pozitivních výsledků není povinná ani bodově hodnocená, v případě jejich poskytnutí se však výraznější nepřesnosti promítnou 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.

Série se zúčastnilo celkem 34 laboratoří, z nichž pouze jedna vykázala neshodné výsledky, konkrétně falešné negativy u slabě pozitivních vzorků A/1 a D/4 (u silnějšího pozitivního vzorku B/2 získala správný pozitivní výsledek). Příčinou neshodných výsledků může být nižší citlivost použité metody PCR (výrobce laboratoř neuvedla).

Většina laboratoří použila při testování HIV-RNA nekvantifikující testy, tři účastníci však kvantitativní hodnoty získali a uvedli je v elektronickém výsledkovém formuláři (v poli pro komentář). Tyto hodnoty ukazuje tabulka 1 včetně hodnot získaných referenční laboratoří. Mezi výsledky panuje dobrá shoda. Mírné rozdíly mohou být dány typem použitého testu, typem jednotek, počtem rozmražení apod.

Tabulka 1: kvantitativní hodnoty u pozitivních vzorků

	Vzorek A/1	Vzorek B/2	Vzorek D/4	Jednotky
NRL-HIV-AIDS	5,42x10e2	1,49x10e3	5,49x10e2	cp/ml
Účastník 1	2,37x10e2	5,29x10e2	1,53x10e2	cp/ml
Účastník 2	4,88x10e2	1,45x10e3	2,43x10e2	IU/ml
Účastník 3	2,03x10e2	5,87x10e2	1,81x10e2	cp/ml

6 / Závěr

Série EHK 1470 byla určena pro stanovení přítomnosti RNA viru lidského imunodeficitu. Všechny 34 přihlášených laboratoří odevzdalo výsledky, přičemž pouze jedna byla hodnocena jako „neúspěšná“ (dvě falešné negativy zřejmě v důsledku nižší citlivosti metody).

Jednalo se v pořadí teprve o druhou sérii kontrolních vzorků pro marker HIV-RNA organizovanou Státním zdravotním ústavem v Praze. Série byla zavedena do programu EHK v reakci na skutečnost, že od r. 2024 tvoří testování HIV-RNA součást rozšířeného screeningu dárců krve.

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