



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Odborně způsobilý poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001TC posouzený ČIA
podle ČSN EN ISO/IEC 17043:2023
Šrobárova 49/48, 100 00, Praha 10

Závěrečná zpráva

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii
(Externí hodnocení kvality)

PT#M/17/2025 (EHK 1474)

Sérologie HBV markery

Praha, květen 2025

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
6.	Závěr	7
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/17/2025 (EHK 1474) byl zaměřen na sérologii HBV. Návrh a realizace PT#M/17/2025 byly prováděny podle standardního operačního postupu koordinátora programu EHK na pracovišti Expertní skupiny pro zkoušení způsobilosti (ESPT) Státního zdravotního ústavu (SZÚ).

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: 29. 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/17/2025

Identifikace cyklu:	EHK 1474
Název PT:	Sérologie HBV markery
Koordinátor:	Mgr. Pavel Fritz Národní referenční laboratoř pro virové hepatitidy tel.: +420 267082484 (2455); email: pavel.fritz@szu.cz
Podstata a účel PT:	Průkaz alespoň jednoho z 6 diagnostických markerů hepatitidy B (HBsAg a HBeAg antigenu, anti-HBc total, anti-HBc IgM, anti-HBe a anti-HBs protilátek)
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:	127 přihlášených, všichni odevzdali výsledky (7x požadován větší objem materiálu)
Termín distribuce vzorků:	8. 4. 2025
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	do 29. 4. 2025
Označení vzorkovnic:	PT#M/17/2025, EHK1474, vzorky 1-5, 8. 4. 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:	12. 5. 2025
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 22. 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 rozmražení viditelné částice organického materiálu (bílkoviny, tuky), je zcentrifugován. Plazmy mohou být pro dosažení potřebného objemu ředěny fyziologickým roztokem.

2.2 Vyšetření cílových markerů, testování homogenity a stability

Výchozí materiál je testován na cílové markery diagnostickými systémy EIA. Finální materiál (po případném ředění či tvorbě směsi) je znovu testován na cílové markery diagnostickými systémy EIA.

Testování není prováděno kvantitativními metodami; kvantitativní výstup nevyžadován ani od účastníků; homogenita neanalyzována. Test stability je prováděn pouze, existuje-li prodleva mezi přípravou vzorků a distribucí. V EHK 1474 byly vzorky připraveny bezprostředně před distribucí (bez zmrazení). Stabilita 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 3-týdenním období mezi jeho přípravou a distribucí. Materiál byl před rozplněním i po něm uchovávan při teplotě 2-8°C (nebyl zmrazován a rozmrazován). Sérii EHK 1474 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 vylučuje možnost vzájemné kontaminace.

3 / Charakteristika materiálu

Série EHK 1474 obsahovala 5 vzorků po 1,5 ml, určených k testování 6 diagnostických markerů hepatitidy B (HBsAg, HBeAg, anti-HBc total, anti-HBc IgM, Anti-HBe a anti-HBs).

Dva vzorky reprezentovaly probíhající hepatitidu B (pozitivní HBsAg), dva stav po očkování (pozitivní pouze anti-HBs) a jeden byl negativní – viz tabulka 1.

Tabulka 1: Očekávané výsledky

MARKER	VZOREK				
	A	B	C	D	E
HBsAg	-	+	-	+	-
Anti-HBc total	-	+	-	+	-
Anti-HBc IgM	-	-	-	-	-
HBeAg	-	-	-	-	-
Anti-HBe	-	+	-	+	-
Anti-HBs	+	-	-	-	+

4 / Způsob hodnocení

Antigen HBsAg je hodnocen samostatně, přičemž každý chybný výsledek znamená pro účastníka hodnocení „laborať neuspěla“.

Zbývajících 5 diagnostických markerů je hodnoceno společně. Pokud účastník vyšetřuje 1-3 markery z této skupiny, nesmí zaznamenat žádný chybný výsledek, při testování 4-5 markerů je tolerována jedna chyba. Neshodné výsledky mohou být tolerovány rovněž v případě, kdy je zjevné, že vznikly buď pouhým „překlepem“ při zadávání některé z položek do elektronického formuláře, nebo byly zapříčiněny vlastnostmi použitého testu, které uživatel nemohl ovlivnit.

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

K testování série EHK 1474 se přihlásilo celkem 127 laboratoří, přičemž všechny dodaly výsledky. Kombinace vyšetřovaných markerů i počty neshodných výsledků ukazují tabulky 2 a 3.

Tabulka 2: Kombinace vyšetřovaných markerů

Vyšetřované markery	Počet laboratoří
Všech 6 markerů	91
Pouze HBsAg, anti-HBc total a anti-HBs	7
Jiné kombinace	29
Celkem	127

Tabulka 3: Výsledky laboratoří podle jednotlivých markerů

Počet Chyb	Počet laboratoří (% vyšetřujících laboratoří)					
	HBsAg	anti-HBc total	anti-HBc IgM	HBeAg	anti-HBe	anti-HBs
0	111 (91,7%)	120 (99,2%)	101 (100,0%)	99 (97,1%)	100 (99,0%)	111 (91,7%)
1	10 (8,3%)	1 (0,8%)	-	3 (2,9%)	1 (1,0%)	9 (7,4%)
2	-	-	-	-	-	1 (0,8%)
3	-	-	-	-	-	-
Netestuje	6	6	26	25	26	6
Celkem	127	127	127	127	127	127

Série kontrolních vzorků EHK 1474 se vyznačovala nadprůměrným počtem problematických výsledků.

Většina nesrovnalostí byla spojena se vzorkem C (negativním na všechny sérologické markery hepatitidy B), při jehož testování zaznamenali účastníci celkem 18 falešně reaktivních výsledků, z toho 6 u markeru HBsAg, 3 u markeru HBeAg a 9 u markeru anti-HBs. O výše zmíněné reaktivity se „podělilo“ celkem 12 účastníků.

Frekvenci reaktivních výsledků u vzorku C podle typu použitého testu ukazuje tabulka 4. Z dat vyplývá, že nejčastěji se reaktivity vyskytly u testů ACCESS, Advia Centaur XP a Atellica IM, přičemž poslední dva mají shodného výrobce (Siemens).

Tabulka 4: Počet negativních výsledků u vzorku C / počet reaktivních výsledků u vzorku C

Test / výrobce	marker		
	HBsAg	HBeAg	Anti-HBs
Alinity / Abbott	21 / 0	17 / 0	21 / 0
Architect / Abbott	32 / 0	31 / 1	37 / 0
ACCESS / Beckman	2 / 1	-	1 / 2
Hepanostika / bioMérieux	1 / 0	-	-
VIDAS /bioMérieux	3 / 0	3 / 0	3 / 0
Monolisa / Bio-Rad	-	1 / 0	-
HBe Ag-Ab / DiaPro Diag. BioProbes	-	1 / 0	-
Immulite 2000 / DPC	-	-	1 / 0
Cobas Core / Roche	2 / 0	1 / 0	2 / 0
Elecsys / Roche	27 / 1	21 / 0	24 / 0
Advia Centaur XP / Siemens	5 / 2	3 / 1	3 / 3
Atellica IM / Siemens	6 / 2	5 / 1	3 / 4
LIAISON Murex / Sorin	16 / 0	16 / 0	17 / 0
celkem	115 / 6	99 / 3	112 / 9

Vzhledem k občasným změnám nemusí jméno některého z výrobců v tabulce 4 odpovídat aktuální situaci.

Kumulace falešných reaktivit u téhož vzorku ukazuje, že jejich příčinou (minimálně ve většině případů) nejsou laboratorní chyby, nýbrž nespecifické reakce testů na vyšetřovaný materiál. Laboratořím proto bylo ponecháno hodnocení „uspěla“, ovšem se ztrátou dvou bodů za každou reaktivitu (počet bodů kopíruje počet shodných a neshodných výsledků bez ohledu na „zavinění“).

Skutečnost, že některé testy vykázaly u vzorku C zvýšenou frekvenci nespecifických reaktivit, nelze brát jako negativní indikátor jejich kvality. Nespecifické výsledky vykazují všechny schválené diagnostické soupravy a frekvenci těchto nespecifit je možné statisticky vyhodnotit pouze na velkém souboru vzorků.

V souvislosti se vzorkem C je třeba ještě dodat, že čistě negativní výsledky většiny účastnických laboratoří vylučují možnost kontaminace materiálu během jeho přípravy v SZÚ.

U dalších vzorků byl počet neshodných výsledků podstatně nižší. Konkrétně se jednalo o dvě slabé falešné reaktivity HBsAg u vzorku A (z toho jedna testem Elecsys / Roche, druhá testem Architect / Abbott). Ani v jednom případě účastník reaktivitu nekonfirmoval, což by mu poskytlo možnost odhalit případný nespecifický původ.

Dále jedna laboratoř označila svůj správný, silně reaktivní výsledek HBsAg u vzorku D (získaný testem Atellica / Siemens) za konfirmaci nepotvrzený. V tomto případě může jít o pouhý překlep.

Poslední případ spadá do jiné kategorie. Jedna z laboratoří vykazovala zvýšený počet neshodných výsledků, daný zjevně testováním nestandardní sestavy vzorků. Příčinou může být chyba při balení v SZÚ, stejně jako záměna materiálu při zpracování v laboratoři účastníka (v minulosti byly zaznamenány případy, kdy účastník omylem použil špatné vzorky – např. uskladněný materiál ze starších sérií EHK). Této laboratoři bylo doporučeno vrátit zbytkový materiál do SZÚ k přetestování. Referenční laboratoř opakovaně vyzývá účastníky, aby uchovávali vzorky do doby, než obdrží vyhodnocení svých výsledků. Zmíněný apel je mimo jiné součástí každého příbalového letáku ke vzorkům. Jedná se o základní předpoklad případné reklamace.

Na závěr třeba zmínit, že někteří účastníci uvádějí u markeru anti-HBs pouze kvantitativní hodnotu bez závěru. Vycházejí zřejmě z faktu, že za pozitivní má být považován každý výsledek nad 10 mIU/ml, avšak hodnotící software v SZÚ chápe prázdné pole pro závěr jako neprovedené

vyšetření a automaticky strhává body (což ručně opravuje koordinátor). Žádáme proto, aby byly závěry uváděny i u tohoto markeru.

6 / Závěr

V EHK 1474 bylo nejvíce neshodných výsledků (18) zaznamenáno u negativního vzorku C, přičemž se ve většině (či ve všech) případech jednalo o nespecifické reaktivity a nikoli laboratorní chyby. Dále byly zaznamenány dva neshodné výsledky u vzorku A a jeden u vzorku D (možná pouze překlep). Do tohoto výčtu není zahrnuta laboratoř, která z nezjištěného důvodu netestovala správnou sadu vzorků.

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