



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001 akreditovaný 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/28/2025 (EHK 1488)
Sérologie klíšťové encefalitidy

Praha, září 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. Závěr	8

Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře

Program zkoušení způsobilosti PT#M/28/2025 byl zaměřen na sérologii klíšťové encefalitidy. Návrh a realizace PT#M/28/2025 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.gov.cz/EHK10/> po přihlášení kódem laboratoře a heslem.

Zprávu vypracovala:

MUDr. Hana Zelená, Ph.D.

Zprávu autorizovala:

MUDr. Hana Zelená, Ph.D. (NRL pro arboviry, Ostrava)

Tel.: 596 200 310

Dne: 1. 9. 2025

Pracoviště 2 ESPT

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

email: ehk@szu.gov.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/28/2025

Identifikace cyklu:	EHK 1488
Název PT:	Sérologie klíšťové encefalitidy
Koordinátor:	MUDr. Hana Zelená, Ph.D.
Podstata a účel PT/EHK:	ověřit schopnost účastníků identifikovat přítomnost protilátek proti klíšťové encefalitidě (IgM a IgG) v séru a interpretovat dosažené výsledky
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Znalost a technické vybavení pro vyšetření protilátek proti klíšťové encefalitidě
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3 závěrečné zprávy
Hodnocené ukazatele:	Pozitivita, negativita vzorku
Způsob přípravy:	Výchozím materiálem pro přípravu vzorků je lidská plazma/sérum, které je vyšetřeno na přítomnost cílových markerů. K dosažení potřebného objemu (daného přihlášeným počtem účastníků EHK) může být výchozí materiál doředěn fetálním bovinním sérem do maximálního objemového podílu 50 %.
Počet účastníků:	76
Termín distribuce vzorků:	27. 5. 2025
Informace účastníkům:	Viz informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků:	17. 6. 2025
Označení vzorkovnic:	EHK 1488, PT # M/28/2025, č. 1-4, 27. 5. 2025
Zabezpečení kvality vzorku:	Manipulace za sterilních podmínek, vhodné skladování, rychlý transport ke zpracování, testy homogenity a stability
Testy homogenity a stability:	Pro zajištění stability a omezení případné infekčnosti je do výchozího materiálu přidávána směs antibiotik a betapropiolakton v koncentraci 0,5µl/ml. Vybrané vzorky ze série rozesílané zákazníkům jsou testovány na přítomnost cílového markeru v NRL pro arboviry v den před distribucí vzorků a po termínu doručení zásilek zákazníkům.
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe
Způsob vyhodnocení výsledků:	Bodové ohodnocení: za 1 vzorek max 4 body. Maximálním možným počtem získaných bodů je 16. Laboratoř se dle svých technických možností může účastnit pouze stanovení IgG protilátek. Pro takovou laboratoř jsou potřebným maximem získaných bodů 8 bodů.
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Pro kvalitativní hodnocení je za vztažnou hodnotu považován výsledek získaný v NRL.
Určení maximální směrodatné odchylky:	80% z maxima bodů
Termín uveřejnění očekávaných výsledků:	24. 6. 2025
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 9. 9. 2025

2. Způsob přípravy vzorků

Vzorky byly připraveny na pracovišti koordinátora – v Národní referenční laboratoři pro arboviry, ve Zdravotním ústavu se sídlem v Ostravě, vedoucí: MUDr. Hana Zelená, Ph.D. v termínu od 18. 4. do 2. 5. 2025 dle SOP koordinátora.

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byla lidská plazma/sérum.

Simulované klinické vzorky pro EHK byly připraveny z vyšetřených sér pacientů. Séra jsou dlouhodobě zamražena při -20°C . Před přípravou okružních vzorků byla vhodná séra vybrána a rozmrazena při teplotě $+4^{\circ}\text{C}$.

Po kontrole vnějšího vzhledu byla vybraná séra vyšetřena na přítomnost anti-v. klíšť. encefalitidy (TBEV) IgG, IgM, KFR, VNT.

Vyhovující vzorky sér byly poté poolovány podle obsahu IgG a IgM protilátek anti-TBEV na potřebný objem podle počtu účastníků EHK.

Vyhovující vzorky poolovaných sér byly opracovány BPL, konzervovány směsí antibiotik a filtrovány ($0,22\ \mu\text{m}$). Připravené poolované vzorky označené čísly 1 až 4 byly opět vyšetřeny na přítomnost anti-TBEV IgG a IgM protilátek. Výchozí materiál byl rozplněn do potřebného počtu plastových zkumavek se šroubovacím uzávěrem o objemu min. 0,3 ml.

Jednotlivé alikvoty (série 4 zkumavek jednotlivě označených 1-4, číslem EHK a datem rozeslání) jsou v přepravních nádobách uloženy do polystyrénové krabice s chladicími vložkami, která je označena samolepkou s názvem EHK Sérologie klíšťové encefalitidy. Až do odeslání do SZÚ (Koordinační pracoviště ESPT2) jsou vzorky uskladněny při teplotě 2 až 8°C . Krabice s alikvoty je dopravena z NRL pro arboviry, Centra klinických laboratoří v rámci Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě do SZÚ Praha.

Pro testování homogenity jsou použity 3 náhodně vybrané zkumavky od každého vzorku, které jsou otestovány v NRL pro arboviry před odesláním na Koordinační pracoviště ESPT2. Pro ověření stability jsou otestovány vzorky před rozplněním, po rozplnění před odesláním, po odeslání a po ukončení příslušné série EHK. Tímto postupem je ověřena homogenita a stabilita vzorků v celém procesu od okamžiku jejich přípravy v NRL pro arboviry v Ostravě (pracoviště koordinátora), přes transport do SZÚ (Koordinační pracoviště ESPT2) a transport rozplněných vzorků do cílové laboratoře účastníci se EHK.

3. Charakteristika materiálu

Vzorek 1 byl poolem lidských sér obsahujících protilátky třídy IgG proti klíšťové encefalitidě ve středně vysokém titru. Všechna séra v poolu byla negativní na protilátky třídy IgM proti klíšťové encefalitidě. Přítomnost specifických protilátek proti klíšťové encefalitidě byla u všech jednotlivých vzorků potvrzena virusneutralizačním testem (VNT). Poolovaný vzorek byl v NRL testován s výsledky: KFR 16, VNT 64, ELISA IgG pozit., avidita IgG vysoká, ELISA IgM negat.

Vzorek 2 byl poolem lidských sér obsahujících protilátky třídy IgG proti klíšťové encefalitidě ve vysokém titru. Všechna séra v poolu byla negativní na protilátky třídy IgM proti klíšťové encefalitidě. Přítomnost specifických protilátek proti klíšťové encefalitidě byla u všech jednotlivých vzorků potvrzena virusneutralizačním testem (VNT). Poolovaný vzorek byl v NRL testován s výsledky: KFR 64, VNT 256, ELISA IgG pozit., avidita IgG vysoká, ELISA IgM negat.

Vzorek 3 byl poolem lidských sér negativních na přítomnost IgG i IgM protilátek proti klíšťové encefalitidě. Negativní výsledky byly ověřeny u všech jednotlivých sér virusneutralizačním testem (VNT). Poolovaný vzorek byl v NRL testován s výsledky: VNT <4, KFR <4, ELISA IgG negat., avidita IgG nehodnocena, ELISA IgM negat.

Vzorek 4 byl poolem lidských sér obsahujících protilátky třídy IgG proti klíšťové encefalitidě v nízkém až středním titru. Všechna séra v poolu byla negativní na protilátky třídy IgM proti klíšťové encefalitidě. Přítomnost specifických protilátek proti klíšťové encefalitidě byla u všech jednotlivých vzorků potvrzena virusneutralizačním testem (VNT). Poolovaný vzorek byl v NRL testován s výsledky: KFR 8, VNT 8, ELISA IgG pozit., avidita IgG střední až vysoká, ELISA IgM negat.

U vzorků 1, 2 a 4 byla správná interpretace č. 2.

U vzorku 3 byla správná interpretace č. 1.

Interpretace výsledků nebyla zahrnuta do závěrečného hodnocení, jelikož nebyly uvedeny anamnestické údaje.

4. Způsob hodnocení

Hodnocení výsledků EHK 1488 je prováděno kvalitativně.

Za správný je považován výsledek získaný v NRL pro arboviry.

Všechny vzorky byly v NRL pro arboviry vyšetřeny na přítomnost protilátek proti viru klíšťové encefalitidy metodami: ELISA IgG, ELISA IgM, KFR (komplementfixační reakce).

Bodové ohodnocení: za 1 vzorek maximálně 4 body (2 body za výsledek IgG a 2 body za výsledek IgM). Výsledek avidity IgG není bodově hodnocen. V případě uvedení hraničního výsledku u vzorku, který má být správně pozitivní či negativní, je odečten jeden bod.

Laboratoř se dle svých technických možností může účastnit pouze stanovení IgG protilátek. Pro takovou laboratoř jsou potřebným maximem získaných bodů 8 bodů, interpretace se nehodnotí.

Laboratoř uspěla při získání alespoň 80 % z maximálního možného počtu bodů, což odpovídá minimálně 13 bodům z maximálního počtu 16 bodů, resp. 6 bodům z maximálního počtu 8.

V případě nižšího dosaženého počtu bodů laboratoř neuspěla.

5. Vyhodnocení

Vyplněné protokoly s výsledky EHK 1488 ke dni uzávěrky 17. 6. 2025 vrátilo 76 laboratoří.

Soupravy k vyšetření **IgG** použilo 76 laboratoří.

36x ELISA soupravy TestLine (TL), 16x Euroimmun (EI), 7x Vidia (VID), 6x Diesse (DIE), 5x Vircell (VC), 4x TestLine CLIA (TL-CLIA), 2 laboratoře neuvedly použitou soupravu.

Soupravy k vyšetření **avidity IgG** použilo 17 laboratoří.

8x ELISA soupravy TestLine, 5x Vidia, 4x Euroimmun

Soupravy k vyšetření **IgM** použilo 75 laboratoří.

36x ELISA soupravy TestLine (TL), 15x Euroimmun (EI), 7x Vidia (VID), 6x Diesse (DIE), 5x Vircell (VC), 4x TestLine CLIA (TL-CLIA), 2 laboratoře neuvedly použitou soupravu.

62 laboratoře zaslaly správné výsledky IgG a IgM u všech 4 vzorků, 1 laboratoř vyšetřující pouze IgG zaslala správné výsledky IgG u všech 4 vzorků.

Chybné výsledky IgG i IgM zaslaly 2 laboratoře.

Laboratoř č. 550 zaslala chybné výsledky IgG i IgM u vzorku č. 2, interpretace však byla správná. Pravděpodobně došlo k prohození výsledků IgG a IgM.

Laboratoř č. 702 neuvedla žádný výsledek IgG ani IgM u vzorků č. 2 a 3. Došlo zřejmě k opomenutí zapsání výsledku do výsledkové tabulky. U vzorku č. 4 uvedla hraniční IgM a nesprávnou interpretaci č. 3. (K interpretaci se však v tomto případě v celkovém vyhodnocení EHK nepřihlíží.)

11 laboratoří chybovalo pouze ve vyšetření IgM. Potíže ve stanovení IgM činily vzorky č. 2 a 4, které měly být správně IgM negativní, ale některé laboratoře zaslaly hraniční nebo pozitivní výsledky.

U vzorku č. 2 zaslaly 4 laboratoře nesprávný pozitivní výsledek IgM, konkrétně laboratoře č. 65, 138, 460 a 746. Všechny použily soupravy Vidia TBEV IgM.

U vzorku č. 4 zaslalo 6 laboratoří nesprávně pozitivní a 1 laboratoř hraniční výsledek IgM, šlo o laboratoře č. 370, 532, 554, 560, 633, 675 a laboratoř č. 20 (hraniční výsledek). Všechny použily soupravy Euroimmun TBEV IgM ELISA. Soupravu Euroimmun použila i laboratoř č. 702, která měla hraniční výsledek IgM u vzorku č. 4.

V důsledku falešně pozitivních či hraničních výsledků IgM zaslaly laboratoře také nesprávnou interpretaci:

U vzorku č. 2 uvedla 1 laboratoř interpretaci 3 (akutní infekce) a 3 laboratoře interpretaci 4 (infekce u očkovaného – průlomová infekce).

U vzorku č. 4 uvedlo 6 laboratoř interpretaci 3 (akutní infekce) a 2 laboratoře interpretaci 4 (infekce u očkovaného – průlomová infekce).

Vzhledem k chybění anamnestických údajů ale není interpretace zohledněna v celkovém hodnocení.

Aviditu IgG vyšetřilo 17 laboratoří u vzorků č. 1, 2 a 4, použily k tomu soupravy 3 různých výrobců. U vzorku č. 1 uvedlo všech 17 laboratoří shodně vysokou aviditu (8x soupravy TestLine, 5x Vidia, 4x Euroimmun).

U vzorku č. 2 uvedlo 16 laboratoří vysokou aviditu (8x TestLine, 4x Vidia, 4x Euroimmun), 1 laboratoř uvedla střední aviditu (souprava Vidia).

U vzorku č. 4 změřilo 7 laboratoří vysokou aviditu (2x TestLine, 2x Vidia, 3x Euroimmun), 4 laboratoře střední aviditu (3x TestLine, 1x Vidia), 6 laboratoří nízkou aviditu (3x TestLine, 2x Vidia, 1x Euroimmun).

Na základě nízké avidity uvedla jedna laboratoř u vzorku č. 4 nesprávnou interpretaci (č. 3 – akutní infekce). Ostatní laboratoře měly interpretaci správnou, popřípadě uvedly komentář či hodnocení vlastními slovy.

Tabulka – Bodové hodnocení jednotlivých laboratoří

Č. lab.	Max. bodů	Dosažen o bodů	Body za vz. 1	Body za vz. 2	Body za vz. 3	Body za vz. 4	Body za IgG	Body za IgM	Použité soupravy	Celkové hodnocení
2	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
11	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
13	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
16	16	16	4	4	4	4	8	8	VC	uspěla
18	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
20	16	15	4	4	4	3	8	3	EI	uspěla
23	16	16	4	4	4	4	8	8	VC	uspěla
26	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
28	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
31	16	16	4	4	4	4	8	8	TL-CLIA	uspěla
32	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
34	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
35	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
37	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
38	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
39	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
44	16	16	4	4	4	4	8	8	DIE	uspěla
51	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
55	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
56	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
58	16	16	4	4	4	4	8	8	VID	uspěla
64	16	16	4	4	4	4	8	8	EI	uspěla
65	16	14	4	2	4	4	8	6	VID	uspěla
66	16	16	4	4	4	4	8	8	DIE	uspěla
68	16	16	4	4	4	4	8	8	EI	uspěla
89	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
115	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
138	16	14	4	2	4	4	8	6	VID	uspěla
156	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
211	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
214	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
228	16	16	4	4	4	4	8	8	EI	uspěla
230	16	16	4	4	4	4	8	8	neuv.	uspěla
241	16	16	4	4	4	4	8	8	VID	uspěla
287	16	16	4	4	4	4	8	8	VC	uspěla
290	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
299	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
312	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
316	16	16	4	4	4	4	8	8	DIE	uspěla
332	16	16	4	4	4	4	8	8	EI	uspěla
333	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
344	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
350	16	16	4	4	4	4	8	8	TL-CLIA	uspěla
354	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
362	8	8	2	2	2	2	8	0	EI	uspěla
365	16	16	4	4	4	4	8	8	EI	uspěla
370	16	14	4	4	4	2	8	6	EI	uspěla
373	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
388	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
398	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
406	16	16	4	4	4	4	8	8	DIE	uspěla
407	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
456	16	16	4	4	4	4	8	8	VC	uspěla
460	16	14	4	2	4	4	8	6	VID	uspěla
529	16	16	4	4	4	4	8	8	DIE	uspěla
532	16	14	4	4	4	2	8	6	EI	uspěla
543	16	16	4	4	4	4	8	8	EI	uspěla
550	16	12	4	0	4	4	6	6	VC	neuspěla
551	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla

Č. lab.	Max. bodů	Dosažen o bodů	Body za vz. 1	Body za vz. 2	Body za vz. 3	Body za vz. 4	Body za IgG	Body za IgM	Použité soupravy	Celkové hodnocení
554	16	14	4	4	4	2	8	6	EI	uspěla
560	16	14	4	4	4	2	8	6	EI	uspěla
569	16	16	4	4	4	4	8	8	DIE	uspěla
595	16	16	4	4	4	4	8	8	VID	uspěla
598	16	16	4	4	4	4	8	8	TL-CLIA	uspěla
627	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
633	16	14	4	4	4	2	8	6	EI	uspěla
637	16	16	4	4	4	4	8	8	TL-CLIA	uspěla
641	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
647	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
672	16	16	4	4	4	4	8	8	neuv.	uspěla
675	16	14	4	4	4	2	8	6	EI	uspěla
702	16	7	4	0	0	3	4	3	EI	neuspěla
737	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
746	16	14	4	2	4	4	8	6	VID	uspěla
760	16	16	4	4	4	4	8	8	TL	uspěla
792	16	16	4	4	4	4	8	8	EI	uspěla

6. Závěr

EHK 1488 sérologie klíšťové encefalitidy se účastnilo 76 laboratoří. 2 laboratoře neuspěly, protože dosáhly méně než požadovaného minima 80 % z maximálního počtu bodů, tedy méně než 13 bodů. U obou laboratoří šlo pravděpodobně o nepozornost při vkládání výsledků do elektronického formuláře – jedna laboratoř u 2 vzorků výsledky vůbec nevložila a jedna laboratoř zřejmě u jednoho vzorku přehodila výsledky IgG a IgM.

10 laboratoří uspělo s počtem bodů 14 ze 16, 1 laboratoř uspěla s počtem 15 bodů ze 16.

1 laboratoř uspěla s počtem 8 bodů z 8, ostatní uspěly s plným počtem bodů 16 ze 16.

V letošním kole činily problémy 2 vzorky ve stanovení IgM, kdy některé laboratoře měly falešně pozitivní či hraniční výsledky. Zdá se, že chybné výsledky souvisí s konkrétními použitými soupravami.

U vzorku č. 2 měly chybné výsledky 4 laboratoře ze 7, které použily soupravy Vidia. Zbývající 2 laboratoře používající soupravy Vidia měly u tohoto vzorku správný negativní výsledek, ale naměřené absorbance se blížily hodnotě cut-off.

U vzorku č. 4 mělo chybné výsledky 8 laboratoří z 15, které použily soupravy Euroimmun. Zbývajících 7 laboratoří používajících soupravy Euroimmun měly u tohoto vzorku správný negativní výsledek, ale naměřené absorbance se blížily hodnotě cut-off.

Laboratoře používající ostatní soupravy neměly falešnou pozitivitu u žádného ze vzorků zařazených do letošního kola EHK, to však neznamená, že toto riziko je u souprav ostatních výrobců vyloučeno. Každý vzorek je unikátní a falešně pozitivní i falešně negativní výsledky se mohou objevit při použití jakékoliv diagnostické soupravy. Proto je vhodné v nejasných případech vyšetřit vzorek soupravou jiného výrobce, vyžádat si další vzorek od pacienta, popřípadě zaslat ke confirmaci do NRL.

Stanovení avidity IgG může být nápomocno při celkové interpretaci výsledků, i když u některých vzorků může být výsledek nejednoznačný, jak se prokázalo v letošní sérii EHK u vzorku č 4, u něhož byly různými laboratořemi naměřeny různé výsledky avidity (vysoká, střední i nízká) bez ohledu na použité diagnostické soupravy.

Zásadní pro interpretaci výsledků je znalost anamnézy a klinického stavu pacienta, bohužel tyto informace dosti často laboratořím nejsou sdělovány. V letošní sérii EHK nebyla uvedena legenda k jednotlivým vzorkům, což imitovalo reálnou situaci v laboratořích. Proto také nebyla interpretace výsledků započítána do celkového hodnocení. V příštím kole EHK opět legenda ke vzorkům bude.

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