



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/28/2020 (č. 1139)
Sérologie klíšťové encefalitidy

Praha, srpen 2020

Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2. Příprava vzorku	4
3. Hodnocení	4
4. Shrnutí	6
5. Souhrny výsledků	8
6. Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/28/2020 byl zaměřen na sérologii klíšťové encefalitidy. Návrh a realizace PT#M/28/2020 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/28 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 rozesílána poštou.

Koordinátor:

MUDr. Barbora Macková
Tel: 267 082 101

Zprávu vypracoval:

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

Zprávu schválil: MUDr. Barbora Macková

Dne: 21. 8. 2020

Pracoviště 2 ESPT

www.szu.cz/espt

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/28/2020

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/28/2020 – EHK 1139
Název:	Sérologie klíšťové encefalidity
Organizátor:	SZU – ESPT Šrobárova 49/48, Praha 10, 100 00 tel.: + 420 267082258
Vedoucí ESPT	Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor:	MUDr. Barbora Macková
Subdodavatel:	NRL pro arboviry, Centrum klinických laboratoří v rámci Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě, MUDr. Hana Zelená, Ph.D.
Charakteristika materiálu:	2 vzorky s 0,3 ml séra pro stanovení protilátek proti klíšťové encefalitidě
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
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 fyziologickým roztokem.
Množství připravovaného test. materiálu:	cca pro 80 laboratoří (a pro ověření homogenity a stability vzorků)
Označení vzorků:	EHK 1139, PT # M/28, č. 1 – 2, 26. 5. 2020
Zabezpečení jakosti vzorku:	Manipulace za sterilních podmínek, vhodné skladování, rychlý transport ke zpracování, testy homogenity a stability
Metrologická návaznost:	klinický materiál
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 rozèsílané zákazníkům jsou testovány na přítomnost cílového markeru v NRL pro arboviry v den před distribucí vzorků a po termínu doručení zásilek zákazníkům.
Podmínky distribuce a uchovávání vzorků:	přeprava a krátkodobé uchovávání při 2 – 8 ° C chránit před světlem
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe
Počet účastníků:	74 laboratoří
Termín distribuce:	26. 5. 2020
Způsob distribuce:	Rozvoz přepravní službou Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	písemně do 16.6.2020 na předepsaných formulářích
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Pro kvalitativní hodnocení je za vztažnou hodnotu považován výsledek získaný v NRL.
Způsob vyhodnocení výsledků:	Bodové ohodnocení: za 1 vzorek max 4 body, závažná chyba (měnící interpretaci nálezu) minus 2 body, méně závažná chyba (nemění interpretaci nálezu) minus 1 bod. Maximálním možným počtem získaných bodů je 8. Laboratoř se dle svých technických možností může účastnit pouze stanovení IgG protilátek. Pro takovou laboratoř jsou potřebným maximem získaných bodů 4 body.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neprovádí se
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 12 týdnů po předání výsledků k hodnocení

2. Příprava vzorků

Vzorky byly připraveny na pracovišti subdodavatele – v Národní referenční laboratoři pro arboviry, ve Zdravotním ústavu se sídlem v Ostravě, vedoucí: MUDr. Hana Zelená, Ph.D. v termínu od 18. 5. 2020 do 20. 5. 2020 dle SOP M/28.

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byla lidská plazma/sérum.

Simulované klinické vzorky pro EHK byly připraveny z vyšetřených sér pacientů. Séra jsou dlouhodobě zamražená 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 nebo total, anti-v. klíšť. encefalitidy (TBEV) IgM.

Vyhovující vzorky sér byly poté poolovány podle obsahu total Ig, 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 (200nm). Připravené poolované vzorky označené 1 a 2 byly opět vyšetřeny na přítomnost anti-TBEV total Ig, IgG a anti-TBEV IgM protilátek.

Připravené označené vzorky sér byly v přepravních nádobách uloženy do polystyrénové krabice s chladícími vložkami, která je označena samolepkou s názvem EHK Sérologie klíšťové encefalitidy, a dopraveny z NRL pro arboviry do SZÚ Praha.

V SZÚ Praha (NRL pro herpetické viry) byl otestovaný výchozí materiál rozplněn do jednotlivých vzorků o objemu min. 0,3 ml.

Jednotlivé alikvoty (série 2 zkumavek) byly označeny číslem 1-2, číslem EHK a datem rozeslání a uskladněny při teplotě 2 až 8°C až do distribuce účastníkům EHK. Přeprava vzorků je zajišťována přepravcem.

3. Hodnocení

Dva kontrolní vzorky sér v rámci EHK-1139 (sérologie klíšťové encefalitidy) byly rozeslány 26.5.2020 celkem 74 laboratořím. Vzorek 1 byl pozitivní na protilátky třídy IgG a negativní na IgM proti viru klíšťové encefalitidy, protilátky IgG byly vysokoavidní. Vzorek 2 byl negativní na protilátky třídy IgG i IgM.

Vyplněné protokoly k vyšetření EHK-1139 ke dni uzávěrky 16.6.2020 vrátilo 74 laboratoří.

ELISA soupravy k vyšetření **Ig/IgG** použilo 74 laboratoří, 4 laboratoře vyšetřily Ig/IgG paralelně 2 různými soupravami.

ELISA soupravy k vyšetření **avidity IgG** použilo 17 laboratoří.

ELISA soupravy k vyšetření **IgM** použilo 73 laboratoří, 2 laboratoře vyšetřily IgM paralelně 2 různými soupravami.

Princip hodnocení:

Hodnocení výsledků EHK-1139 je prováděno kvalitativně.

Za správný je považován výsledek získaný v NRL pro arboviry, u avidity IgG i s ohledem na výsledky dosažené v zúčastněných laboratořích.

Oba vzorky byly v NRL pro arboviry vyšetřeny na přítomnost protilátek proti viru klíšťové encefalitidy metodami: ELISA IgG indirect, ELISA total Ig competitive, ELISA IgM indirect, ELISA IgM capture, KFR (komplementfixační reakce).

Vzorek 1 byl poolem lidských sér obsahujících vysokoavidní protilátky třídy IgG proti klíšťové encefalitidě ve středním a vysokém titru. Všechna séra v poolu byla současně negativní na protilátky třídy IgM proti klíšťové encefalitidě. Přítomnost specifických protilátek proti klíšťové encefalitidě byla u všech jednotlivých vzorků konfirmována virusneutralizačním testem (VNT), zařazeny byly vzorky s hodnotou VNT 32 nebo vyšší. Poolovaný vzorek byl v NRL testován s výsledky: KFR 32, ELISA IgG indirect pozit., avidita IgG vysoká, ELISA Ig competitive pozit., ELISA IgM negat., ELISA IgM capture negat.

Vzorek 2 byl poolem lidských sér bez přítomnosti protilátek proti klíšťové encefalitidě. Séronegativita byla u všech jednotlivých vzorků konfirmována metodou virusneutralizačního testu (VNT). Poolovaný vzorek byl v NRL testován s výsledky: KFR <4, ELISA IgG indirect negat., avidita netestována, ELISA Ig competitive negat., ELISA IgM indirect negat., ELISA IgM capture negat.

Bodové ohodnocení: za 1 vzorek maximálně 4 body

Závažná chyba měnící interpretaci výsledku - minus 2 body, méně závažná chyba neměící interpretaci výsledku, chybějící interpretace nebo chybná interpretace při správném výsledku - minus 1 bod.

Maximálním možným počtem získaných bodů je 8.

Laboratoř se dle svých technických možností může účastnit pouze stanovení IgG protilátek. V tomto případě není vyžadována interpretace. Pro takovou laboratoř jsou potřebným maximem získaných bodů 4 body.

Vyhodnocení:

Laboratoř uspěla při získání alespoň 7 bodů (z maximálního počtu 8), resp. při získání alespoň 3 bodů z maximálního počtu 4.

V případě nižšího dosaženého počtu bodů laboratoř neuspěla.

Výsledky vyšetření:

Vzorek 1

Správné výsledky: Ig/IgG pozitivní, avidita vysoká, IgM negativní, interpretace kód 2 (anamnestické protilátky – po očkování nebo po prodělané infekci).

Vyšetření ELISA Ig/IgG:

Všech 74 laboratořích zaslalo správný výsledek: pozitivní.

Vyšetření avidity IgG:

Všech 17 laboratořích vyšetřujících aviditu IgG zaslalo správný výsledek: vysoká avidita.

Vyšetření ELISA IgM:

73 laboratořích zaslalo správný výsledek: negativní.

1 laboratoř IgM nevyšetřuje

Interpretace výsledků:

73 laboratoří uvedlo správnou interpretaci – kód 2 (anamnestické protilátky – po očkování nebo po prodělané infekci), 3 laboratoře uvedly jako možnou interpretaci navíc i kód 4 (infekce u očkovaného – selhání očkování).

U 1 laboratoře vyšetřující pouze IgG nebyla interpretace hodnocena.

Vzorek 2

Správné výsledky: Ig/IgG negativní, avidita netestována, IgM negativní, interpretace kód 1 (séronegativní).

Vyšetření ELISA Ig/IgG:

Všech 74 laboratoří zaslalo správný výsledek: negativní.

Vyšetření avidity IgG:

nehodnoceno

Vyšetření ELISA IgM:

73 laboratoří zaslalo správný výsledek: negativní.

1 laboratoř IgM nevyšetřuje.

Interpretace výsledků:

73 laboratoří uvedlo správnou interpretaci – kód 1 (séronegativní).

U 1 laboratoře vyšetřující pouze IgG nebyla interpretace hodnocena.

Závěr:

V rámci EHK-1139 sérologie klíšťové encefalidity uspělo všech 74 zúčastněných laboratoří, všechny tentokrát uspěly s plným počtem bodů.

Výsledky jednotlivých laboratoří jsou uvedeny v kapitole 5 (Souhrny výsledků).

4. Shrnutí

Vzorek 1, který byl séropozitivní ve třídě IgG a negativní ve třídě IgM, zhodnotilo správně všech 74 zúčastněných laboratoří. Všech 17 laboratoří testujících aviditu IgG ji vyhodnotilo správně jako vysokou. Rovněž interpretaci uvedly správně všechny zúčastněné laboratoře. 3 laboratoře uvedly navíc jako možnou interpretaci infekci u očkovaného (selhání vakcinace), jejíž potvrzení by vyžadovalo vyšetření dalšího vzorku krve.

Vzorek 2, který byl séronegativní v obou třídách protilátek, testovalo se správnými výsledky všech 74 zúčastněných laboratoří, interpretace byla rovněž ve všech laboratořích správná.

Letošní kolo EHK potvrdilo vysokou kvalitu práce zúčastněných laboratoří, diagnostických souprav i schopnost interpretace. Úspěšnost letošního kola byla stoprocentní, jelikož tentokrát nebyly zařazeny žádné problematické vzorky. Všechny laboratoře správně uvedly i interpretaci svých výsledků v kontextu s anamnestickými údaji. Interpretace je nedílnou součástí laboratorního výsledku, proto chybějící nebo nesprávná interpretace by se odrazila v bodové ztrátě, která ovšem letos nenastala u žádné laboratoře. Některé laboratoře se nad probematičkou zamyslely hlouběji a vyjádřily i další možnosti interpretace svých výsledků nebo doporučily další postup při objasňování diagnózy pacientů. Oceňuji také rostoucí počet laboratoří vyšetřujících i aviditu IgG protilátek, jejichž výsledky byly ve všech případech správné.

V letošním kole EHK již jen jeden účastník nesdělil výrobce diagnostických souprav, se kterými pracoval. Opět ovšem některé laboratoře nevyplnily hodnotu cut-off, tedy naměřenou optickou denzitu kalibrátoru, a optickou denzitu (OD) vyšetřovaných vzorků. Trvá požadavek na vyplnění těchto údajů do výsledkového formuláře pro EHK. Žádáme zúčastněné laboratoře, aby hodnoty cut-off a OD do formuláře uváděly, popřípadě zdůvodnění, proč uvedeny nejsou.

V případě reklamací vyhodnocení série prosím postupujte dle reklamačního řádu.

5. Souhrny výsledků

Tabulka č. 3: Výsledky laboratoří a jejich bodové hodnocení

Kód lab.	<u>Vzorek 1</u> IgG/Ig pozitivní, avidita vysoká IgM negativní				<u>Vzorek 2</u> IgG/Ig negativní, avidita netestována, IgM negativní				Bodové hodnocení (z max. možných)		Získané body z možných	Výrobce soupravy		Poznámka
	IgG, Ig	Avidita IgG (%)	IgM	Interpret.	IgG, Ig	Avidita IgG (%)	IgM	Interpret.						
	Pozit.	V	Negat.	2	Negat.		Negat.	1	Vzorek 1	Vzorek 2	IgG, Ig	IgM		
2	P	V	N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
11	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
13	P	V	N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
16	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	VC	VC	
18	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
20	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	EI	EI	
26	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
28	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	EI	TL	
31	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
32	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
34	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
35	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
38	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
39	P	V	N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
44	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	DI/TL	DI/TL	
51	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
56	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
58	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
64	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	EI	EI	
65	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	VID	VID	
68	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
115	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
138	P	V	N	2, 4	N		N	1	4/4	4/4	8/8	VID	VID	
156	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
179	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	VID	VID	
192	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
209	P		-	2	N		-	-	2/2	2/2	4/4	NOV	-	
211	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
214	P	V	N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
230	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	

Kód lab.	<u>Vzorek 1</u> IgG/Ig pozitivní, avidita vysoká IgM negativní				<u>Vzorek 2</u> IgG/Ig negativní, avidita netestována, IgM negativní				Bodové hodnocení (z max. možných)		Získané body z možných	Výrobce soupravy		Poznámka
	IgG, Ig	Avidita IgG (%)	IgM	Interpret.	IgG, Ig	Avidita IgG (%)	IgM	Interpret.						
	Pozit.	V	Negat.	2	Negat.		Negat.	1	Vzorek 1	Vzorek 2	IgG, Ig	IgM		
241	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	VID	VID	
287	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
290	P	V	N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	DI	DI	
299	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
312	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
316	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	DI	DI	
332	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	DI	DI	
333	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
344	P	V	N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	VID	VID	
	P		N		N	TL	TL							
350	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
354	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
365	P	V	N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	EI	EI	
373	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
388	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
390	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
398	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	DI	DI	
406	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
407	P	V	N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
448	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
456	P		N	2, 4	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
460	P	V	N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	VID	VID	
	P		-		N	-	TL					-		
497	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
529	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
532	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	EI	EI	
550	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	neuveden	neuveden	
554	P	V	N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	EI	EI	
566	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	NOV	NOV	
569	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
595	P		N	2, 4	N		N	1	4/4	4/4	8/8	VS	VS	
598	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	NOV	NOV	
601	P	V	N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
637	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	DI	DI	

Kód lab.	<u>Vzorek 1</u> IgG/Ig pozitivní, avidita vysoká IgM negativní				<u>Vzorek 2</u> IgG/Ig negativní, avidita netestována, IgM negativní				Bodové hodnocení (z max. možných)		Získané body z možných	Výrobce soupravy		Poznámka
	IgG, Ig	Avidita IgG (%)	IgM	Interpret.	IgG, Ig	Avidita IgG (%)	IgM	Interpret.						
	Pozit.	V	Negat.	2	Negat.		Negat.	1	Vzorek 1	Vzorek 2	IgG, Ig	IgM		
641	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
647	P	V	N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
	P		-		N		-						TL	-
672	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
675	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	EI	EI	
702	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	EI	EI	
737	P	V	N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
743	P	V	N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	VID	VID	
746	P	V	N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	VID	VID	
755	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
759	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
	P		N		N		N					VC	VC	
760	P		N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
792	P	V	N	2	N		N	1	4/4	4/4	8/8	EI	EI	

LEGENDA

Výsledek: P – pozitivní, H – hraniční, N – negativní

Avidita IgG: V – vysoká, S – střední, N - nízká

Interpretace: 1 – séronegativní, 2 – anamnestické protilátky (po očkování nebo po prodělané infekci), 3 – akutní infekce VKE (u neočkovaného), 4 – infekce u očkovaného (selhání očkování), 5 – nespecifická/zkřížená reakce, 6 – jiná interpretace (uvést)

Použité zkratky:

IP	...	index pozitivita
P	...	pozitivní
H	...	hraniční
N	...	negativní

Výrobci souprav:

DI	...	Diesse
DRG	...	DRG
EI	...	Euroimmun
MA	...	Mastazyme
NOV	...	Novatec
PRO	...	Progen
TL	...	Test-Line
VID	...	Vidia
VC	...	Virclia
VS	...	Virion Serion
VI	...	Viroimmun
VT	...	Virotech