



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/22/2021 (EHK 1197)**

**Sérologie respiračních virů**

**Praha, červen 2021**

**Obsah**

1.	Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2.	Způsob přípravy vzorků	4
3.	Charakteristika materiálu	4
4.	Způsob hodnocení	4
5.	Vyhodnocení	5
6.	Závěr	9
	Příloha 1 – Přehled výsledků a použitých diagnostik	
	Příloha 2 – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/22/2021 byl zaměřen na sérologii respiračních virů. Návrh a realizace PT#M/22/2021 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/22 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 na webových stránkách SZÚ (<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>) po přihlášení kódem a heslem v záložce „Hodnocení sérií“.

**Zprávu vypracoval:**

MUDr. Radomíra Limberková, NRL pro chřipku a nechřipkové respirační nákazy virového původu a NRL pro zarděnky, spalničky, parotitidu a parvovirus B19, SZÚ Praha

**Zprávu autorizoval:**

MUDr. Radomíra Limberková  
Tel: 267082412  
Dne: 2. 6. 2021

**Pracoviště 2 ESPT**

<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>  
e-mail: ehk@szu.cz

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/22/2021**

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1197
Název:	Sérologie respiračních virů
Koordinátor:	MUDr. Limberková
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3
Podstata a účel PT/EHK:	Ověření schopnosti určit titer komplement fixačních protilátek nebo stanovit přítomnost IgG a IgM protilátek proti respiračním virům jinými sérologickými metodami
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Požadavky na laboratoře: zajištění laboratorních procesů podle ČSN EN ISO 15189:2013
Způsob přípravy:	viz kapitola 2
Množství připravovaného testovaného materiálu:	Cca pro 40 laboratoří
Označení vzorkovnic:	EHK 1197, PT # M/22, č. 1 – 4, 27. 4. 2021
Zabezpečení kvality vzorku:	Kvalita výchozího materiálu je zabezpečena tím, že z testování jsou předem vyloučena séra hemolytická, chylózní a antikomplementární. Výchozí materiál – lidská séra - je dlouhodobě uskladněn při teplotě -18° C a nižší a za stejných podmínek jsou vzorky uchovávány do jejich předání k distribuci (maximálně 1 den před rozesláním). Zabezpečení homogenity: Homogenita je zajištěna promícháním vzorků před zahájením alikvotování do vzorkovnic a rovněž v jejím průběhu. Zabezpečení stability vzorků: Stabilita je zajištěna vhodným skladováním, rychlým transportem ke zpracování a určením termínu, do kterého musí být odeslán výsledek zpět k vyhodnocení. Dlouhodobá stabilita vzorků je zajištěna jejich charakterem.
Test homogenity a stability:	Homogenita a stabilita je posuzována na základě trojitěho opakovaného testování: po přípravě vzorků, před distribucí a v termínu blízkém dni odeslání výsledků zpět k vyhodnocení. Na každé testování se použije nová alikvota, průkazem homogenity a stability vzorků je dosažení totožných výsledků v čase.
Podmínky distribuce a uchovávání vzorků:	Distribuce v předepsaném obalu. Vzorky jsou před expedicí skladovány při teplotě -18 °C a nižší. Přeprava a krátkodobé uchovávání vzorků v chladničce při teplotě 2 – 8 °C, dlouhodobé uchovávání při -18°C až -24°C, chránit před světlem, zamezit opakovanému rozmrazování.
Možné zdroje chyb:	nedodržení správné laboratorní praxe, záměna vzorků, lidský faktor
Počet účastníků:	32
Termín distribuce:	27. 4. 2021
Způsob distribuce:	přepravní službou (zajišťuje Koordinační pracoviště)
Předání výsledků:	V elektronické podobě za použití aplikace EHK10
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4
Určení maximální směrodatné odchylky:	Výpočet: aritmetický průměr bodového zisku všech hodnocených laboratoří mínus 2 směrodatné odchylky definuje bodový limit. Laborať úspěšně absolvuje PT, pokud dosáhne bodového limitu pro danou sérii. Pokud se v hodnocené skupině vyskytne pracoviště s extrémně nízkým bodovým ziskem (<50 % maximálního bodového zisku), je vyloučeno z výpočtu limitu. Takové pracoviště je automaticky hodnoceno jako neúspěšné. Jestliže stejný typ atypického výsledku vykáže větší počet účastníků, může být přihlédnuto k tomu, zda neexistuje statisticky významná souvislost mezi typem použitého testu a zmíněnou odchylkou. V takovém případě koordinátor provede hodnocení po odborné konzultaci s poradní skupinou.

Určení přijaté vztažné hodnoty:	Vztažnou hodnotou jsou výsledky NRL, které byly získány trojhitým opakovaným testováním vzorků (= očekávané výsledky)
Termín uveřejnění očekávaných výsledků:	28. 5. 2021
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 10. 8. 2021

## 2. Způsob přípravy vzorků

Vzorky tvořila směsná lidská neinaktivovaná séra, která byla připravena v sérologické laboratoři NRL pro chřipku a nechřipkové respirační nákazy virového původu, a to následovně:

- testování jednotlivých archivovaných sér metodou KFR
- spojení sér s podobnými hodnotami titrů protilátek
- přetestování poolovaných vzorků sér metodou KFR
- přetestování poolovaných vzorků sér metodou EIA IgG a EIA IgM
- alikvotování poolovaných vzorků po 0,3 ml do vzorkovnic (1 – 4)
- uložení při teplotě -18°C a nižší (do expedice)

## 3. Charakteristika materiálu

Zásilka obsahovala 4 séra k určení titru komplement fixačních protilátek či ke stanovení přítomnosti IgG a IgM protilátek (ELISA, IF) proti virům chřipky typu A a B, proti adenovirům a proti respiračnímu syncytiálnímu viru (RSV) – výběr metody v závislosti na rutinní praxi jednotlivých pracovišť.

## 4. Způsob hodnocení

Bodové hodnocení účastníků vychází z očekávaných výsledků získaných opakovaným testováním vzorků v NRL (= vztažná hodnota). Dvěma body je hodnocena shoda s očekávaným výsledkem, jedním bodem je hodnocena částečná shoda (posun  $\pm 1$  ředění při určování titru či hraniční výsledky IgM a IgG protilátek při použití ELISA, IFT) a bez bodového ohodnocení jsou takové výsledky, které se s očekávaným neshodují.

Limit požadovaných bodů byl stanoven výpočtem (limit=aritmetický průměr hodnot získaných bodů účastníků dané skupiny – dvě směrodatné odchylky). Pokud se v hodnocené skupině vyskytuje pracoviště s extrémně nízkým bodovým ziskem ( $\leq 50$  % maximálního bodového zisku), je vyloučeno z výpočtu limitu.

V případě, že tento způsob hodnocení není možné aplikovat, byla úspěšnost hodnocena procentuálně a limit požadovaných bodů byl stanoven ve výši 75% maximálního možného bodového zisku.

Volba metody pro testování vzorků závisí na rutinní praxi účastníka, pokud jsou vzorky vyšetřeny více metodami – tzn. komplement fixačním testem a ELISA/EIA/IF IgM a IgG, hodnotí se každá metoda či třída protilátek zvlášť.

Maximální bodový zisk za určení titru protilátek v KFR ve 4 vzorcích (včetně vyšetření subtypů viru influenzy A) je 40 bodů, bez určení subtypů pak 32. Při stanovení přítomnosti protilátek imunoglobulinové řady IgG je maximální bodový zisk 32 stejně jako při stanovení protilátek IgM. V případě nevyšetření všech markerů se maximální bodový zisk úměrně krátí. Laboratoře jsou hodnoceny ve skupinách podle druhu použité diagnostické metody a počtu vyšetřovaných markerů.

**Očekávané výsledky**

## Komplement fixační reakce - titr

Vzorek	Influenza A/H1N1	Influenza A/H3N2	Influenza B	Adenovirus	RSV
1	64 - 128	128 - 512	<8 - 8	8 - 16	32
2	0 - 8	0 - 16	64	8 - 16	16 - 32
3	0 - 16	16	16 - 32	8 - 16	32 - 64
4	0	0	0	0	0

Rozmezí titrů dle použitých komplement fixačních antigenů (SZÚ, Vidia, Virion).

## ELISA IgG

Vzorek	Influenza A	Influenza B	Adenovirus	RSV
1	pozitivní	pozitivní	pozitivní	pozitivní
2	pozitivní	pozitivní	pozitivní	pozitivní
3	pozitivní	pozitivní	pozitivní	pozitivní
4	negativní	pozitivní	hraniční/negativní	pozitivní

## ELISA IgM

Vzorek	Influenza A	Influenza B	Adenovirus	RSV
1	negativní	negativní	negativní	negativní
2	negativní	negativní	negativní	negativní
3	negativní	negativní	negativní	negativní
4	negativní	negativní	negativní	negativní

**5. Vyhodnocení**

Vzorky byly rozeslány do 32 laboratoří, všechna pracoviště, kromě jednoho, zaslala své protokoly k vyhodnocení. Některé laboratoře vyšetřily vzorky více metodami, tato pracoviště byla hodnocena vícekrát podle jednotlivých použitých metod. Vzhledem k tomu, že laboratoře vyšetřovaly vzorky v různých kombinacích, bylo nutné zvolit hodnocení po skupinách podle typu metody a druhu vyšetřovaných antigenů (skupina 1 – 7). Stanovení protilátek IgA není předmětem EHK a výsledky tedy nejsou bodově hodnoceny, pouze je předložen jejich přehled k porovnání.

**1. Skupina – metoda KFR, 5 vyšetřovaných antigenů****maximální bodový zisk****40 bodů****limit****30 bodů (zaokrouhлено dolů)****počet laboratoří****3**

<b>Počet bodů</b>	<b>37</b>	<b>33</b>
<b>Počet laboratoří</b>	<b>1</b>	<b>2</b>

Všechny laboratoře získaly požadovaný počet bodů, při stanovení limitu (zaokrouhlení) , při stanovení limitu (zaokrouhlení) byl zohledněn procentuální bodový zisk (75 %).

**2. Skupina – metoda KFR, 4 vyšetřované antigeny (bez subtypů Infl.A)**

<b>maximální bodový zisk</b>	<b>32 bodů</b>
<b>limit</b>	<b>22 bodů</b>
<b>počet laboratoří</b>	<b>8</b>

<b>Počet bodů</b>	<b>30</b>	<b>29</b>	<b>28</b>	<b>27</b>	<b>25</b>	<b>24</b>	<b>23</b>
<b>Počet laboratoří</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>

Všechny laboratoře získaly požadovaný počet bodů.

**3. Skupina – IgM, 4 vyšetřované antigeny**

<b>maximální bodový zisk</b>	<b>32 bodů</b>
<b>limit</b>	<b>30 bodů (zaokrouhлено dolů)</b>
<b>počet laboratoří</b>	<b>16</b>

<b>Počet bodů</b>	<b>32</b>	<b>31</b>	<b>30</b>
<b>Počet laboratoří</b>	<b>14</b>	<b>1</b>	<b>1</b>

Všechny laboratoře získaly požadovaný počet bodů, čtrnáct z nich maximální počet, při stanovení limitu (zaokrouhlení) byl zohledněn procentuální bodový zisk (93,75 %).

**4. Skupina – IgG, 4 vyšetřované antigeny**

<b>maximální bodový zisk</b>	<b>32 bodů</b>
<b>limit</b>	<b>26 bodů</b>
<b>počet laboratoří</b>	<b>20</b>

<b>Počet bodů</b>	<b>32</b>	<b>31</b>	<b>30</b>	<b>29</b>	<b>28</b>	<b>27</b>
<b>Počet laboratoří</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>2</b>	<b>3</b>

Všechny laboratoře získaly požadovaný počet bodů, pět z nich maximální počet.

**5. Skupina – IgM, 2 vyšetřované antigeny (AV, RSV)**

<b>maximální bodový zisk</b>	<b>16 bodů</b>
<b>limit</b>	<b>12 bodů (75 % max. bodového zisku)</b>
<b>počet laboratoří</b>	<b>2</b>

<b>Počet bodů</b>	<b>16</b>
<b>Počet laboratoří</b>	<b>2</b>

Obě laboratoře získaly maximální počet bodů.

**6. Skupina – IgG, 2 vyšetřované antigeny (AV, RSV)**

<b>maximální bodový zisk</b>	<b>16 bodů</b>
<b>limit</b>	<b>12 bodů (75 % max. bodového zisku)</b>
<b>počet laboratoří</b>	<b>1</b>

<b>Počet bodů</b>	<b>15</b>
<b>Počet laboratoří</b>	<b>1</b>

Laboratoř získala požadovaný počet bodů.

**7. Skupina – IgG, 1 vyšetřovaný antigen (RSV nebo AV)**

<b>maximální bodový zisk</b>	<b>8 bodů</b>
<b>limit</b>	<b>6 bodů (75 % max. bodového zisku)</b>
<b>počet laboratoří</b>	<b>2</b>

<b>Počet bodů</b>	<b>7</b>
<b>Počet laboratoří</b>	<b>2</b>

Obě laboratoře získaly požadovaný počet bodů.

**8. Skupina – IgM, 1 vyšetřovaný antigen (RSV)**

<b>maximální bodový zisk</b>	<b>8 bodů</b>
<b>limit</b>	<b>6 bodů (75 % max. bodového zisku)</b>
<b>počet laboratoří</b>	<b>1</b>

<b>Počet bodů</b>	<b>8</b>
<b>Počet laboratoří</b>	<b>1</b>

Laboratoř získala maximální počet bodů.

**5.1. Souhrnné tabulky bodového hodnocení****5.1.1 Přehled bodového hodnocení jednotlivých laboratoří - KFR**

KFR					
kód	1	2	3	4	body
20	8	8	7	10	33/40
39	6	5	5	8	24/32
38	6	5	6	8	25/32
65	8	9	10	10	37/40
595	7	7	9	10	33/40
787	6	6	8	8	28/32
115	6	7	6	8	27/32
230	6	6	8	8	27/32
344	6	5	4	8	23/32
365	7	7	8	8	30/32
759	6	7	8	8	29/32

**5.1.2. Přehled bodového hodnocení jednotlivých laboratoří - IgM, IgG**

IgM					
kód	1	2	3	4	body
65	8	8	8	8	32/32
373	8	8	8	8	32/32
390	8	8	8	8	32/32
760	8	8	8	8	32/32
344	7	8	8	8	31/32
13	8	8	8	8	32/32
554	8	8	8	8	32/32
566	8	8	8	8	32/32
333	8	8	8	8	32/32
598	6	8	8	8	30/32
743	8	8	8	8	32/32
211	8	8	8	8	32/32
633	8	8	8	8	32/32
637	8	8	8	8	32/32
230	8	8	8	8	32/32
647	8	8	8	8	32/32
20	4	4	4	4	16/16
64	2	2	2	2	8/8
365	4	4	4	4	16/16



IgG					
kód	1	2	3	4	body
32	8	8	8	8	32/32
214	8	8	8	8	32/32
290	8	8	8	7	31/32
16	8	8	8	8	32/32
569	8	8	8	6	30/32
316	8	8	8	8	32/32
373	8	8	8	6	30/32
390	8	8	8	5	29/32
760	8	8	8	5	29/32
344	8	7	8	4	27/32
13	8	8	8	8	32/32
554	8	8	8	7	31/32
633	8	8	8	5	29/32
637	8	8	7	8	31/32
230	8	8	8	4	28/32
566	8	8	8	3	27/32
333	8	8	8	3	27/32
598	8	8	8	5	29/32
647	7	8	8	6	29/32
743	8	8	8	4	28/32
211	2	2	2	1	7/8
20	4	4	4	3	15/16
64	2	2	2	1	7/8

## 6. Závěr

### Komplement fixační protilátky

Hodnoceno bylo 11 laboratoří. Bodový limit potřebný pro úspěšné absolvování EHK PT#M/22/2021 (č. 1197) ve stanovení komplement fixačních protilátek je 30/40 bodů pro laboratoře vyšetřující 5 antigenů a 22/32 bodů pro laboratoře vyšetřující 4 antigeny (influenza A bez subtypů). Všechny laboratoře dosáhly požadovaného počtu bodů.

### IgG protilátky

Hodnoceno bylo 23 laboratoří. Bodový limit potřebný pro úspěšné absolvování EHK PT#M/22/2021 (č. 1197) ve stanovení IgG protilátek je 26/32 bodů pro laboratoře vyšetřující všechna čtyři agens (20 pracovišť). Zbývající tři laboratoře vyšetřují dvě anebo jedno agens a jejich limity jsou 12/16 respektive 6/8 bodů. Všechny laboratoře dosáhly požadovaného počtu bodů s omezením podle vyšetřovaných agens.

### IgM protilátky

Hodnoceno bylo celkem 19 laboratoří, dvě z nich vyšetřují 2 a jedna jedno agens. Bodový limit potřebný pro úspěšné absolvování EHK PT#M/22/2021 (č. 1197) ve stanovení IgM protilátek je 30/32 bodů. Všechny laboratoře dosáhly požadovaného počtu bodů s omezením podle vyšetřovaných agens.

**Stanovení IgA protilátek** nebylo předmětem EHK (NRL toto vyšetření neprovádí), proto jsou uvedeny pouze výsledky a použita diagnostika pro porovnání či informaci bez hodnocení.

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu.

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY