



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/28/2022 (EHK 1279)**  
**Sérologie klíšťové encefalitidy**

**Praha, září 2022**

## 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 1 – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/28/2022 byl zaměřen na sérologii klíšťové encefalitidy. Návrh a realizace PT#M/28/2022 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 pro každou zúčastněnou laboratoř k dispozici ve webové aplikaci SZÚ v odkazu: <https://ehk.szu.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. 2022

### **Pracoviště 2 ESPT**

<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>

e-mail: [ehk@szu.cz](mailto:ehk@szu.cz)

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/28/2022**

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1279
Název:	Sérologie klíšťové encefalidity
Koordinátor:	MUDr. Hana Zelená, Ph.D.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3
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 vzorkovnic:	EHK 1279, PT # M/28, č. 1 – 4, 24. 5. 2022
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 rozeseřlané 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 uchování vzorků:	přepřava a krátkodobé uchování při 2 – 8 ° C chránit před světlem
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe
Poččet účastníků:	74 laboratoří
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Pro kvalitativní hodnocení je za vztažnou hodnotu považován výsledek získaný v NRL.
Termín distribuce:	24. 5. 2022
Způsob distribuce:	Rozvoz přepravní službou, zajišťuje Koordinační pracoviště ESPT 2
Předání výsledků:	V elektronické podobě za použití aplikace EHK 10
Způsob vyhodnocení výsledků:	Bodové ohodnocení: za 1 vzorek max 5 bodů. Maximálním možným počtem získaných bodů je 20. Laboratoř se dle svých technických možností může účastnit pouze stanovení IgG protilátek. Pro takovou laboratoř jsou potřebným maximem získaných bodů 8 bodů.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Nepřevádí se
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Pro kvalitativní hodnocení je za vztažnou hodnotu považován výsledek získaný v NRL.
Termín uveřejnění očekávaných výsledků:	22. 6. 2022
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 6. 9. 2022

## 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 9. 5. 2022 do 11. 5. 2022 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 zamražena při  $-20^{\circ}\text{C}$ . 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. encefalidity (TBEV) IgG nebo total, anti-v. klíšť. encefalidity (TBEV) IgM, VNT.

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 čísly 1 až 4 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 chladicími vložkami, která je označena samolepkou s názvem EHK Sérologie klíšťové encefalidity, 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 1-4, číslem EHK a datem rozeslání a uskladněny při teplotě 2 až  $8^{\circ}\text{C}$  až do distribuce účastníkům EHK. Přeprava vzorků je zajišťována přepravcem.

## 3. Charakteristika materiálu

Vzorky A a B byly pozitivní v IgG a negativní v IgM, vzorek C byl pozitivní v IgG i v IgM, vzorek D byl negativní v IgG i IgM. Avidita IgG byla vysoká u vzorku A, B, C, u vzorku D nebyla hodnocena.

**Vzorek A** byl poelem lidských sér obsahujících vysokoavidní protilátky třídy IgG proti klíšťové encefalitidě ve 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 potvrzena virusneutralizačním testem (VNT), zařazeny byly vzorky s hodnotou VNT 32 nebo vyšší. Poolovaný vzorek byl v NRL testován s výsledky: KFR 64, ELISA IgG indirect pozit., avidita IgG vysoká, ELISA Ig competitive pozit., ELISA IgM negat.

**Vzorek B** byl poelem lidských sér obsahujících vysokoavidní protilátky třídy IgG proti klíšťové encefalitidě v středně 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 potvrzena virusneutralizačním testem (VNT), zařazeny byly pozitivní vzorky s hodnotou VNT do 32. Poolovaný vzorek byl v NRL testován s výsledky: KFR 32, ELISA IgG indirect pozit., avidita IgG vysoká, ELISA Ig competitive pozit., ELISA IgM negat.

**Vzorek C** byl poelem lidských sér obsahujících protilátky IgM a vysokoavidní protilátky třídy IgG proti klíšťové encefalitidě v různě vysokém titru. Přítomnost specifických protilátek proti klíšťové encefalitidě byla u všech jednotlivých vzorků potvrzena virusneutralizačním testem (VNT).

Poolovaný vzorek byl v NRL testován s výsledky: KFR 32, ELISA IgG indirect pozit., avidita IgG vysoká, ELISA Ig competitive pozit., ELISA IgM pozit.

**Vzorek D** byl poolem lidských sér negativních ve třídách IgG i IgM proti klíšťové encefalidě. Negativní výsledky byly ověřeny u všech jednotlivých virusneutralizačním testem (VNT). Poolovaný vzorek byl v NRL testován s výsledky: KFR <4, ELISA IgG indirect negat., avidita IgG nehodnocena, ELISA Ig competitive negat., ELISA IgM negat.

## 4. Způsob hodnocení

Hodnocení výsledků 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 encefalidity metodami: ELISA IgG indirect, ELISA total Ig competitive, ELISA IgM indirect, KFR (komplementfixační reakce).

Bodové ohodnocení: za 1 vzorek maximálně 5 bodů (4 body za výsledky testů +1 bod za interpretaci výsledků).

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 8 bodů, interpretace se nehodnotí.

Vyhodnocení:

Laboratoř uspěla při získání alespoň 16 bodů (z maximálního počtu 20), resp. při získání 6 bodů z maximálního počtu 8.

V případě nižšího dosaženého počtu bodů laboratoř neuspěla.

## 5. Vyhodnocení

ELISA soupravy k vyšetření **Ig/IgG** použilo 74 laboratoří.

ELISA soupravy k vyšetření **avidity IgG** použilo 22 laboratoří.

ELISA soupravy k vyšetření **IgM** použilo 73 laboratoří.

Všechny zúčastněné laboratoře zaslaly správné výsledky Ig/IgG a IgM u všech 4 vzorků, s výjimkou laboratoře č. 16, která zaslala negativní výsledky u všech 4 vzorků v obou třídách protilátek.

Z laboratoří, které hodnotily aviditu IgG, zaslaly 2 laboratoře chybný výsledek (nízká avidita) u vzorku A a jedna laboratoř zaslala chybný výsledek (nízká avidita) u vzorku C. Tři laboratoře hodnotily aviditu IgG pouze u vzorku C, u ostatních vzorků výsledek avidity nezaslaly.

**Interpretace výsledků** byla komplikována skutečností, že nebylo možno využít legendy k jednotlivým vzorkům z důvodu jejich kódování. Z toho důvodu bylo u vzorku C, jehož jednoznačná interpretace bez znalosti základní anamnestických údajů není možná, akceptováno

více možností (3,4,5 a 6) jako správné. U vzorků A a B byla jako správná hodnocena interpretace č. 2 a u vzorku D interpretace č. 1.

Hodnocení interpretace neuvedla 1 laboratoř u žádného ze vzorků – hodnoceno jako chyba s odečtením 1 bodu za každý vzorek s chybějící interpretací. Jedna laboratoř testující pouze IgG rovněž neuvedla interpretaci, ale v tomto případě k hodnocení není vyžadována, proto nedošlo k bodové ztrátě.

Z ostatních laboratoří u vzorku A chybovalo v interpretaci 5 laboratoří, u vzorku B chybovaly 4 laboratoře, u vzorku C chybovala 1 laboratoř a u vzorku D uvedly všechny laboratoře správnou interpretaci.

**Tabulka 1 - Bodové hodnocení jednotlivých pracovišť**

Laboratoř	Max.bodů	Dosaženo	A	B	C	D
2	20	20	5	5	5	5
11	20	20	5	5	5	5
13	20	20	5	5	5	5
16	20	9	2	2	0	5
18	20	20	5	5	5	5
20	20	18	4	4	5	5
26	20	20	5	5	5	5
28	20	20	5	5	5	5
31	20	20	5	5	5	5
32	20	20	5	5	5	5
34	20	20	5	5	5	5
35	20	20	5	5	5	5
38	20	20	5	5	5	5
39	20	20	5	5	5	5
44	20	19	5	4	5	5
51	20	20	5	5	5	5
56	20	20	5	5	5	5
58	20	16	4	4	4	4
64	20	20	5	5	5	5
65	20	20	5	5	5	5
68	20	20	5	5	5	5
89	20	20	5	5	5	5
115	20	20	5	5	5	5
138	20	20	5	5	5	5
156	20	20	5	5	5	5
209	8	8	2	2	2	2
211	20	20	5	5	5	5
214	20	20	5	5	5	5
230	20	20	5	5	5	5
241	20	20	5	5	5	5
287	20	20	5	5	5	5
290	20	20	5	5	5	5

299	20	20	5	5	5	5
312	20	20	5	5	5	5
316	20	20	5	5	5	5
332	20	20	5	5	5	5
333	20	20	5	5	5	5
344	20	20	5	5	5	5
350	20	20	5	5	5	5
354	20	20	5	5	5	5
365	20	20	5	5	5	5
373	20	20	5	5	5	5
388	20	20	5	5	5	5
390	20	20	5	5	5	5
398	20	20	5	5	5	5
406	20	20	5	5	5	5
407	20	20	5	5	5	5
448	20	20	5	5	5	5
456	20	20	5	5	5	5
460	20	20	5	5	5	5
529	20	20	5	5	5	5
532	20	20	5	5	5	5
550	20	20	5	5	5	5
551	20	20	5	5	5	5
554	20	20	5	5	5	5
560	20	19	4	5	5	5
566	20	20	5	5	5	5
569	20	20	5	5	5	5
595	20	19	4	5	5	5
598	20	20	5	5	5	5
601	20	20	5	5	5	5
637	20	20	5	5	5	5
641	20	18	4	4	5	5
647	20	20	5	5	5	5
672	20	20	5	5	5	5
675	20	20	5	5	5	5
702	20	20	5	5	5	5
737	20	20	5	5	5	5
743	20	20	5	5	5	5
746	20	20	5	5	5	5
755	20	20	5	5	5	5
759	20	20	5	5	5	5
760	20	20	5	5	5	5
792	20	20	5	5	5	5

## 6. Závěr

Čtyři kontrolní vzorky sér v rámci EHK 1279 (sérologie klíšťové encefalidity) byly rozeslány 74 laboratořím.

Vyplněné protokoly k vyšetření EHK 1279 ke dni uzávěrky vrátilo 74 laboratoří.

V EHK 1279 sérologie klíšťové encefalidity neuspěla jen jedna laboratoř (č. 16).

Ostatní laboratoře uspěly, z toho 66 laboratoří s plným počtem bodů 20, tři laboratoře s 19 body, dvě laboratoře s 18 body, jedna laboratoř s 16 body.

Letošní kolo EHK bylo prvním rokem hodnoceno prostřednictvím elektronického formuláře. Z toho důvodu došlo k některým nepřesnostem, za což se omlouváme a do příštího kola chyby napravíme. Došlo ke zvýšení počtu vzorků na 4. Z důvodu kódování vzorků již nebude možno zohledňovat legendu ke vzorkům, což je škoda, ale na druhou stranu zvýšený počet vzorků zařazených do EHK poskytuje reprezentativnější výsledek.

V letošním kole se nevyskytly vážnější problémy s výsledky testů s výjimkou jediné laboratoře, která měla u všech 4 vzorků negativní výsledky v obou třídách protilátek. U ostatních byly bodové ztráty výhradně z důvodu nesprávné interpretace, což bylo zřejmě ovlivněno tím, že nebylo možno přihlídnout k legendě ke vzorkům.

Laboratoř, která neuspěla, má možnost objednat si opravnou sérii EHK 1306 přes webovou aplikaci SZÚ: <https://ehk.szu.cz/EHK10/>, viz informace o změnách v objednávání opravných sérií a zadávání reklamací na webových stránkách SZÚ: <http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>. Opravné série se budou rozesílat dne 11. 10. 2022.

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamáce použijte také webovou aplikaci SZÚ.

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY