



Státní zdravotní ústav  
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti  
Poskytovatel programů zkoušení způsobilosti akreditovaný ČIA  
podle ČSN EN ISO/IEC 17043, reg. č. 7001  
Šrobárova 48, 100 42 Praha 10 – Vinohrady



# **Závěrečná zpráva**

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii  
(Externí hodnocení kvality)

**PT#M/13-14/2019 (č. 1068-1069)**

**Detekce HBV-DNA a HCV-RNA**

**Praha, květen 2019**

## Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing) 3
2. Hodnocení 4-8
3. Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře

Program zkoušení způsobilosti PT#M/13-14/2019 byl zaměřen na detekci HBV-DNA a HCV-RNA. Návrh a realizace PT#M/13-14/2019 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/13-14 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 programů 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:**

Mgr. Pavel Fritz  
tel: 267 082 484 (2 455)  
email: pavel.fritz@szu.cz

### **Zprávu vypracoval:**

Mgr. Pavel Fritz, NRL pro virové hepatitidy, SZÚ Praha

### **Zprávu schválil:**

RNDr. Vratislav Němeček, CSc., NRL pro virové hepatitidy, SZÚ Praha

**Dne:** 27. 5. 2019

**Pracoviště 2 ESPT (AP CEM - Akreditační pracoviště Centra epidemiologie a mikrobiologie)**

[www.szu.cz/espt](http://www.szu.cz/espt)  
email: [apcem@szu.cz](mailto:apcem@szu.cz)

**Souhrnné informace o přípravě a hodnocení EPT#M/13-14/2019 (EHK1068-1069)**

Identifikace kola:	PT#M/13-14/2019 (EHK1068-1069)
Název:	Detekce HBV-DNA (EHK1068) a HCV-RNA (EHK1069)
Poskytovatel:	SZÚ – CEM – ESPT, Šrobárova 48, Praha 10, 100 42
Vedoucí ESPT	Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor:	Mgr. Pavel Fritz Národní referenční laboratoř pro virové hepatitidy TEL.: +420 267082484 (2455); email: <a href="mailto:pavel.fritz@szu.cz">pavel.fritz@szu.cz</a>
Charakteristika materiálu:	Lidské sérum / plazma
Podstata a účel PT:	Průkaz HBV-DNA (DNA viru hepatitidy B) a HCV-RNA (RNA viru hepatitidy C)
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Vyšetření všech vzorků metodou PCR a odeslání výsledků ve stanoveném termínu
Způsob přípravy:	Výchozím materiálem je lidská plazma/sérum, otestovaná na přítomnost cílových markerů. Pozitivní vzorky mohou být použity v ředěném stavu.
Množství připravovaného materiálu:	35 sad pro HBV-DNA a 40 sad pro HCV-RNA (1 sada = 6 vzorků po 1,5 ml)
Označení vzorkovnic:	a) PT#M/13/2019 EHK1068, vzorky 1-6, HBV-DNA b) PT#M/14/2019 EHK1069, vzorky 1-6, HCV-RNA
Zabezpečení kvality vzorku:	1. Obsahuje-li výchozí materiál po rozmrazení viditelné částice organického původu (bílkoviny, tuky), jsou tyto nečistoty odstraněny centrifugací. 2. Pro zajištění stability je do výchozího materiálu přidáván ProClin 950 s antibakteriálními účinky v koncentraci 0,05-0,1%.
Testy homogenity a stability:	1. Výchozí materiál (neředěný nebo v požadovaném ředění) je testován na přítomnost cílového markeru (dle SOP-NRL/VH-16) 2. Finální vzorek je testován na přítomnost cílového markeru (dle SOP-NRL/VH-16)
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Vzhledem k přidání antibakteriálního činidla lze vzorky po dobu 1 měsíce (do vypršení termínu pro jejich vyšetření) uchovávat zamražené nebo v chladu (2-8 <sup>0</sup> C), krátkodobě rovněž při pokojové teplotě.
Počet účastníků:	37
Datum rozeslání vzorků:	25. 3. - 5. 4. 2019
Způsob distribuce:	Účastníci si vyzvedávají vzorky se suchým ledem v NRL pro virové hepatitidy.
Termín odevzdání výsledků:	30. 4. 2019
Způsob vyhodnocení výsledků:	Nejslabší pozitivní vzorky v obou sériích nejsou hodnoceny (slouží účastníkům k ověření citlivosti používaných metod). U silně reaktivních nebo negativních vzorků znamená každý neshodný výsledek konečné hodnocení „laboratoř neuspěla“.
Určení vztažné hodnoty:	Hodnoty získané v NRL
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	12 týdnů po obdržení výsledků k hodnocení

## CHARAKTERISTIKA SÉRIÍ EHK 1068-1069 A ZPŮSOB HODNOCENÍ

Série EHK 1068 byla určena pro stanovení přítomnosti DNA viru hepatitidy B, série EHK 1069 pro stanovení RNA viru hepatitidy C. Obou sérií se zúčastnilo celkem 37 laboratoří, z nichž 6 testovalo pouze HCV-RNA, zbývajících 31 oba markery.

Každou ze sérií tvořilo 6 vzorků, z nichž 4 byly pozitivní a 2 negativní. Objem vzorků činil cca 1,5 ml lidského séra nebo plazmy.

Nejslabší pozitivní vzorky v obou sériích (vzorek č. 2 v sérii EHK 1068 a vzorek č. 4 v sérii EHK 1069) sloužily účastníkům k ověření citlivosti používaných metod a nebyly součástí bodového hodnocení. U zbývajících vzorků znamenal každý neshodný výsledek pro účastníka hodnocení „laboratoř neuspěla“ (netýká se odchylek v kvantifikaci).

Vzorky byly distribuovány v Národní referenční laboratoři pro virové hepatitidy (NRL-VH) od 25. 3. do 5. 4. 2019, konečným termínem pro odevzdání výsledků byl 30. 4. 2019.

## KONCENTRACE CÍLOVÝCH MARKERŮ V POZITIVNÍCH VZORCÍCH

V sérii EHK 1068 činily koncentrace HBV-DNA naměřené v NRL-VH  $6,5 \times 10^1$  IU/ml (vzorek 2),  $1,6 \times 10^2$  (vzorek 1),  $1,3 \times 10^3$  (vzorek 5) a  $2,2 \times 10^4$  (vzorek 6). V sérii EHK 1069 činily naměřené koncentrace HCV-RNA  $1,8 \times 10^2$  IU/ml (vzorek 4),  $5,6 \times 10^2$  (vzorek 5),  $4,3 \times 10^3$  (vzorek 6) a  $2,6 \times 10^4$  (vzorek 1).

Výsledky získané v referenční laboratoři nelze brát jako přesný standard. Při testování nukleových kyselin metodou PCR existuje přirozený rozptyl hodnot v závislosti na typu použité soupravy i specifických podmínkách každého běhu.

Kvantifikace pozitivních výsledků nebyla povinná ani bodově hodnocená, výraznější nepřesnosti se však promítly do komentáře referenční laboratoře. Celkem kvantifikovalo své výsledky 23 laboratoří u markeru HBV-DNA (74%) a 29 u markeru HCV-RNA (78%).

## VÝSLEDKY LABORATOŘÍ

Celkové výsledky ukazuje tabulka 1, kvantitativní hodnoty získané účastníky jsou shrnuty v tabulkách 2-3 (Národní referenční laboratoř pro virové hepatitidy figuruje ve všech tabulkách pod pořadovým č. 1). Laboratoře, které testovaly některý z markerů více testy, jsou v tabulkách 2-3 uvedeny ve dvou řádcích.

Počínaje rokem 2018 začala NRL-VH zařazovat do kontrolních sérií velmi slabě pozitivní vzorky (méně než 100 IU/ml) pro lepší zmapování citlivosti používaných souprav. V loňském roce bylo tímto způsobem prověřeno testování HCV-RNA, v letošním roce HBV-DNA. Zaznamenané výsledky jsou celkově příznivější u HBV-DNA. Pro ilustraci uvádíme srovnání úspěšnosti u nejslabších pozitivních vzorků za oba roky:

- 1) Rok 2018; HBV-DNA (EHK-1013); vzorek 6; koncentrace  $1,5 \times 10^2$  IU/ml: pozitivitu nezachytila 1 z 29 laboratoří (3,5%)
- 2) Rok 2018; HCV-RNA (EHK-1014); vzorek 5; koncentrace  $7,2 \times 10^1$  IU/ml: pozitivitu nezachytilo 13 z 34 laboratoří (38,2%)
- 3) Rok 2019; HBV-DNA (EHK-1068); vzorek 2; koncentrace  $6,5 \times 10^1$  IU/ml: pozitivitu nezachytily 2 z 31 laboratoří (6,5%)
- 4) Rok 2019; HCV-RNA (EHK-1069); vzorek 4; koncentrace  $1,8 \times 10^2$  IU/ml: pozitivitu nezachytily 4 z 37 laboratoří (10,8%)

Celkem chybovalo v letošním roce 5 laboratoří, z toho tři vykázaly po jednom neshodném výsledku a dvě po dvou neshodných výsledcích:

- 1) Laboratoř s poř. č. 3 nezachytila pozitivitu HCV-RNA u nejslabšího (nebodovaného) vzorku 4 v sérii EHK-1069
- 2) Laboratoř s poř. č. 7 nezachytila pozitivitu HBV-DNA u nejslabšího (nebodovaného) vzorku 2 v sérii EHK-1068
- 3) Laboratoř s poř. č. 12 nezachytila pozitivitu HCV-RNA u nejslabšího (nebodovaného) vzorku 4 v sérii EHK-1069
- 4) Laboratoř s poř. č. 28 nezachytila pozitivitu HBV-DNA u nejslabšího (nebodovaného) vzorku 2 v sérii EHK-1068 ani pozitivitu HCV-RNA u nejslabšího (nebodovaného) vzorku 4 v sérii EHK-1069
- 5) Laboratoř s poř. č. 34 nezachytila pozitivitu HCV-RNA u nejslabšího (nebodovaného) vzorku 4 v sérii EHK-1069 ani pozitivitu HCV-RNA u silnějšího (bodovaného) vzorku 5 v sérii EHK-1069

Z uvedeného přehledu plyne, že 6 neshodných výsledků bylo zaznamenáno u nebodovaných (nejslabších pozitivních) vzorků (2x HBV-DNA, 4x HCV-RNA) a pouze 1 u bodovaného vzorku. Bodovanou chybou byla falešná negativita HCV-RNA u vzorku 5 v sérii EHK-1069 a laboratoř, která ji vykázala, jako jediná za tento marker neuspěla.

Kvantitativní hodnoty lze studovat v tabulkách 2-3, přičemž ojediněle se některé laboratoře vzdálily až o řád od koncentrace naměřené v NRL-VH. Největší odchylky zaznamenala laboratoř s poř. č. 34 při kvantifikaci pozitivních výsledků HCV-RNA (jediná neúspěšná laboratoř – viz výše). Celkově byl rozptyl hodnot zhruba srovnatelný s předchozími ročníky.

Série EHK 1068 a 1069 lze hodnotit pozitivně. Všechny laboratoře, které obdržely hodnocení „uspěla“, splňují minimální požadovaná kritéria, byť někdy používají metody s mírně nižší citlivostí a měly by si být této skutečnosti vědomy.

Tab.1: souhrnné výsledky v sériích EHK 1068 a 1069 (P = pozitivní, N = negativní)

lab.	HBV-DNA						HCV-RNA					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
	+	+	N	N	+++	+++	+++	N	N	+	++	+++
<b>1-NRL</b>	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
2	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
3	P	P	N	N	P	P	P	N	N	N	P	P
4	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
5	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
6	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
7	P	N	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
8	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
9	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
10	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
11	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
12	P	P	N	N	P	P	P	N	N	N	P	P
13	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
14	-	-	-	-	-	-	P	N	N	P	P	P
15	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
16	-	-	-	-	-	-	P	N	N	P	P	P
17	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
18	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
19	-	-	-	-	-	-	P	N	N	P	P	P
20	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
21	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
22	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
23	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
24	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
25	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
26	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
27	-	-	-	-	-	-	P	N	N	P	P	P
28	P	N	N	N	P	P	P	N	N	N	P	P
29	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
30	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
31	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
32	-	-	-	-	-	-	P	N	N	P	P	P
33	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
34	P	P	N	N	P	P	P	N	N	N	N	P
35	-	-	-	-	-	-	P	N	N	P	P	P
36	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
37	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P
38	P	P	N	N	P	P	P	N	N	P	P	P

V záhlaví tabulky je uveden cílový marker, číslo vzorku a správný výsledek (pozitivní vzorky jsou prezentovány jedním až třemi křížky podle koncentrace cílového markeru). Problematické výsledky jsou vybarveny šedě; proškrtnuté pole znamená, že laboratoř marker netestovala. Vzorky nebyly individuálně kódovány, takže jejich čísla v tabulce jsou shodná s čísly, pod kterými je laboratoře vyšetřovaly. Pořadová čísla laboratoří v tabulce nemají souvislost s jejich zavedenými kódy v EHK. NRL pro VH je v tabulce uvedena pod č. 1.

Tab. 2: kvantitativní výsledky HBV-DNA v sérii EHK-1068 (P = pozitivní, N = negativní)

poř. č.	1	2	3	4	5	6	jednotky
	+	+	N	N	+++	+++	
1-NRL	1,57x10e2	6,47x10e1	N	N	1,34x10e3	2,22x10e4	IU/ml
2	P	P	N	N	P	P	
3	1,79x10e2	7,26x10e1	N	N	3,10x10e3	1,27x10e3	IU/ml
4	1,68x10e2	3,99x10e1	N	N	2,57x10e3	2,12x10e4	IU/ml
5	6,21x10e2	2,32x10e2	N	N	3,62x10e3	1,99x10e4	IU/ml
6	3,44x10e2	1,21x10e2	N	N	4,38x10e3	4,42x10e4	IU/ml
7	P	N	N	N	P	P	
8	P	P	N	N	P	P	
9	P	P	N	N	P	P	
10	P	P	N	N	P	P	
11	1,33x10e2	1,35x10e2	N	N	2,61x10e3	2,19x10e4	IU/ml
12	3,21x10e2	3,65x10e1	N	N	3,38x10e3	2,77x10e4	IU/ml
13	P	P	N	N	P	P	
14							
15	2,25x10e2	1,39x10e2	N	N	2,74x10e3	2,75x10e4	IU/ml
16							
17	2,70x10e2	1,34x10e2	N	N	2,42x10e3	2,07x10e4	IU/ml
18	2,28x10e2	1,14x10e2	N	N	2,26x10e3	2,04x10e4	IU/ml
19							
20	P	P	N	N	P	P	
21	1,93x10e2	8,90x10e1	N	N	2,16x10e3	2,08x10e4	IU/ml
22	1,30x10e2	4,30x10e1	N	N	1,10x10e3	1,00x10e4	IU/ml
23	3,30x10e1	1,50x10e1	N	N	2,02x10e2	1,78x10e3	IU/ml
24	5,19x10e2	2,36x10e2	N	N	3,86x10e3	6,61x10e4	IU/ml
25	3,05x10e2	1,72x10e2	N	N	1,22x10e3	1,49x10e4	IU/ml
	2,68x10e2	1,36x10e2	N	N	2,61x10e3	2,57x10e4	IU/ml
26	2,34x10e2	1,16x10e2	N	N	2,47x10e3	3,21x10e4	IU/ml
27							
28	4,34x10e2	N	N	N	1,48x10e3	1,02x10e4	IU/ml
29	P	P	N	N	P	P	
30	2,26x10e2	1,42x10e2	N	N	2,70x10e3	1,87x10e4	IU/ml
31	1,70x10e2	1,83x10e2	N	N	5,28x10e3	3,78x10e4	IU/ml
32							
33	4,20x10e2	1,30x10e2	N	N	6,60x10e3	6,10x10e4	IU/ml
34	3,83x10e2	1,05x10e2	N	N	5,80x10e3	7,22x10e4	cop/ml
35							
36	3,30x10e2	1,50x10e2	N	N	3,10x10e3	2,50x10e4	IU/ml
37	1,55x10e2	8,00x10e1	N	N	2,25x10e3	2,11x10e4	IU/ml
38	4,62x10e1	3,62x10e1	N	N	5,65x10e2	5,28x10e3	IU/ml

Laboratoře, u nichž nejsou uvedeny číselné hodnoty, své výsledky nekvantifikovaly. Laboratoř č. 25 vyšetřovala HBV-DNA dvěma testy. Pořadová čísla laboratoří v této tabulce nemají souvislost s jejich zavedenými kódy v EHK (NRL pro VH uvedena pod číslem 1).

Tab. 3: kvantitativní výsledky HCV-RNA v sérii EHK-1069 (P = pozitivní, N = negativní)

poř.	1	2	3	4	5	6	jednotky
	+++	N	N	+	++	+++	
1-NRL	2,62x10e4	N	N	1,81x10e2	5,58x10e2	4,31x10e3	IU/ml
2	P	N	N	P	P	P	
3	4,30x10e4	N	N	N	8,98x10e2	2,82x10e3	IU/ml
4	2,23x10e4	N	N	1,29x10e2	2,43x10e2	2,71x10e3	IU/ml
5	7,58x10e4	N	N	3,58x10e2	3,50x10e2	4,24x10e3	IU/ml
6	2,75x10e4	N	N	1,99x10e2	3,60x10e2	2,50x10e3	IU/ml
7	P	N	N	P	P	P	
8	P	N	N	P	P	P	
9	P	N	N	P	P	P	
10	P	N	N	P	P	P	
11	2,59x10e4	N	N	1,30x10e2	4,78x10e2	4,02x10e3	IU/ml
12	7,12x10e4	N	N	N	9,14x10e2	1,16x10e3	IU/ml
13	P	N	N	P	P	P	
14	3,29x10e4	N	N	3,24x10e2	6,42x10e2	4,28x10e3	IU/ml
15	3,22x10e4	N	N	1,05x10e2	2,49x10e2	2,42x10e3	IU/ml
16	1,90x10e4	N	N	9,60x10e1	2,96x10e2	2,63x10e3	IU/ml
17	3,50x10e4	N	N	1,71x10e2	4,11x10e2	3,26x10e3	IU/ml
18	3,63x10e4	N	N	9,84x10e1	2,80x10e2	3,58x10e3	IU/ml
19	2,11x10e4	N	N	1,26x10e2	2,62x10e2	2,90x10e3	IU/ml
20	P	N	N	P	P	P	
21	2,84x10e4	N	N	2,27x10e2	4,83x10e2	4,37x10e3	IU/ml
22	2,60x10e4	N	N	1,20x10e2	3,80x10e2	3,60x10e3	IU/ml
23	2,44x10e4	N	N	4,29x10e2	1,29x10e3	4,71x10e3	IU/ml
	4,23x10e4	N	N	4,90x10e1	3,49x10e2	3,42x10e3	IU/ml
24	3,75x10e4	N	N	9,90x10e1	2,37x10e2	2,74x10e3	IU/ml
25	7,60x10e3	N	N	1,65x10e1	6,60x10e1	8,20x10e2	IU/ml
	2,06x10e4	N	N	9,50x10e1	2,41x10e2	2,59x10e3	IU/ml
26	1,99x10e4	N	N	5,60x10e1	1,89x10e2	2,11x10e3	IU/ml
27	5,95x10e4	N	N	9,00x10e1	3,21x10e2	2,79x10e3	IU/ml
28	1,94x10e4	N	N	N	5,60x10e1	1,47x10e3	IU/ml
29	P	N	N	P	P	P	
30	5,61x10e4	N	N	3,39x10e2	7,63x10e2	5,35x10e3	IU/ml
31	3,55x10e4	N	N	9,50x10e1	5,07x10e2	3,48x10e3	IU/ml
32	3,00x10e4	N	N	1,00x10e2	2,00x10e2	2,00x10e3	IU/ml
33	3,60x10e4	N	N	4,10x10e2	2,00x10e2	4,90x10e3	IU/ml
34	1,15x10e3	N	N	N	N	1,28x10e2	IU/ml
35	2,24x10e4	N	N	1,03x10e2	2,01x10e2	2,38x10e3	IU/ml
36	8,80x10e3	N	N	5,60x10e1	9,50x10e1	5,90x10e2	IU/ml
37	6,00x10e4	N	N	2,50x10e2	4,40x10e2	4,20x10e3	IU/ml
38	3,03x10e4	N	N	1,24x10e2	2,26x10e2	3,52x10e3	IU/ml

Laboratoře, u nichž nejsou uvedeny číselné hodnoty, své výsledky nekvantifikovaly. Laboratoře č. 23 a 25 vyšetřovaly HCV-RNA dvěma testy. Pořadová čísla laboratoří v této tabulce nemají souvislost s jejich zavedenými kódy v EHK (NRL pro VH uvedena pod číslem 1).

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

*Mgr. Pavel Fritz*  
 NRL pro virové hepatitidy  
 SZÚ-CEM