



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

Externí hodnocení kvality

PT#M/13-14/2020 (č. 1123-1124)

Detekce HBV-DNA a HCV-RNA

Praha, květen 2020

Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing) 3
2. Hodnocení 4-6
3. Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře

Program zkoušení způsobilosti PT#M/13-14/2020 byl zaměřen na detekci HBV-DNA a HCV-RNA. Návrh a realizace PT#M/13-14/2020 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 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:

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

Dne: 25. 5. 2020

Souhrnné informace o přípravě a hodnocení EHK 1123 a EHK 1124

Identifikace kola:	PT#M/13-14/2020 (EHK1123-1124)
Název:	Detekce HBV-DNA (EHK1123) a HCV-RNA (EHK1124)
Poskytovatel:	SZÚ, ESPT, Šrobárova 49/48, Praha 10, 100 00
Vedoucí ESPT	Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor:	Mgr. Pavel Fritz Národní referenční laboratoř pro virové hepatitidy TEL.: +420 267082484 (2455); email: pavel.fritz@szu.cz
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:	40 sad pro HBV-DNA a 45 sad pro HCV-RNA (1 sada = 6 vzorků po 1,5 ml)
Označení vzorkovnic:	a) PT#M/13/2020 EHK1123, vzorky 1-6, HBV-DNA b) PT#M/14/2020 EHK1124, vzorky 1-6, HCV-RNA
Zabezpečení kvality vzorku:	1. Obsahuje-li výchozí materiál po rozmražení 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 ^o C), krátkodobě rovněž při pokojové teplotě.
Počet účastníků:	32
Datum rozeslání vzorků:	23. 3. - 3. 4. 2020
Způsob distribuce:	Účastníci si vyzvedávají vzorky se suchým ledem v NRL pro virové hepatitidy.
Termín odevzdání výsledků:	24. 4. 2020
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 1123-1124 A ZPŮSOB HODNOCENÍ

Série EHK 1123 byla určena pro stanovení přítomnosti DNA viru hepatitidy B, série EHK 1124 pro stanovení RNA viru hepatitidy C. Obou sérií se zúčastnilo celkem 32 laboratoří, z nichž 6 testovalo pouze HCV-RNA, zbývajících 26 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. 6 v sérii EHK 1123 a vzorek č. 2 v sérii EHK 1124) 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 23. 3. do 3. 4. 2020, konečným termínem pro odevzdání výsledků byl 24. 4. 2020.

KONCENTRACE CÍLOVÝCH MARKERŮ V POZITIVNÍCH VZORCÍCH

V sérii EHK 1123 činily koncentrace HBV-DNA naměřené v NRL-VH $8,0 \times 10^1$ IU/ml (vzorek 6), $2,1 \times 10^2$ (vzorek 2), $1,8 \times 10^3$ (vzorek 5) a $2,7 \times 10^4$ (vzorek 4). V sérii EHK 1124 činily naměřené koncentrace HCV-RNA $6,5 \times 10^1$ IU/ml (vzorek 2), $1,4 \times 10^2$ (vzorek 6), $2,5 \times 10^3$ (vzorek 1) a $2,4 \times 10^4$ (vzorek 3).

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 19 laboratoří u markeru HBV-DNA (73%) a 26 u markeru HCV-RNA (81%).

VÝSLEDKY LABORATOŘÍ

Celkové výsledky účastníků jsou shrnuty v tabulkách 1-2 (*Národní referenční laboratoř pro virové hepatitidy* figuruje v obou tabulkách pod pořadovým č. 1).

Hned na úvod je třeba zmínit, že oba cykly EHK byly ovlivněny probíhajícími epidemiemi koronaviru. Z 39 laboratoří, které si objednaly (a zaplatily) vzorky, dodalo výsledky pouze 32. Zbýlých 7 se většinou odvolalo na zátěž spojenou s testováním covid-19, či na problémy s dopravou (výjimečně důvod nesdělen). Je pravděpodobné, že těmto laboratořím bude nabídnut náhradní podzimní termín.

Z laboratoří, které svoji účast neodvolaly, žádná nevykázala neshodný výsledek a to ani u dvojice nejslabších pozitivních vzorků (vzorek č. 6 v sérii 1123 a vzorek č. 2 v sérii 1124). V obou těchto vzorcích se koncentrace cílových markerů pohybovala pod hranicí 100 IU/ml a případná falešná negativita by neznamenal bodový postih. Na první pohled jde o jednoznačný úspěch a zlepšení oproti minulým cyklům, zároveň je však třeba zmínit, že roli mohou hrát i výše zmíněné absence. Z pěti laboratoří, které v roce 2019 vykázaly mírně sníženou citlivost svých metod (nezachycením jednoho či obou nejslabších pozitivních vzorků), se jedna letos nepřihlásila a tři testování zrušily. Poslední se účastnila a s citlivostí již problémy neměla (s kvantifikací trochu ano).

Rozptyl kvantitativních hodnot lze studovat v tabulkách. Výraznější odchylky od průměru byly vzácné a s jedinou výjimkou (laboratoř č. 11, série 1124, vzorek 2) se vešly do rozmezí plus mínus jeden řád.

Všem zúčastněným laboratořím děkujeme za dobře odvedenou práci a těšíme se na budoucí spolupráci.

Tab. 1: výsledky vyšetření HBV-DNA v sérii EHK-1123 (P = pozitivní, N = negativní)

poř.č.	1	2	3	4	5	6	jednotky
	N	++	N	++++	+++	+	
1-NRL	N	2,13x10e2	N	2,69x10e4	1,84x10e3	8,00x10e1	IU/ml
2	N	P	N	P	P	P	
3	N	4,14x10e2	N	3,75x10e4	4,02x10e3	2,34x10e2	IU/ml
4	N	5,10x10e1	N	3,22x10e3	3,02x10e2	3,00x10e1	IU/ml
5	N	6,41x10e2	N	6,37x10e4	5,56x10e3	4,00x10e2	IU/ml
6	N	P	N	P	P	P	
7	N	P	N	P	P	P	
8	N	P	N	P	P	P	
9							
10	N	2,36x10e2	N	2,50x10e4	1,70x10e3	1,08x10e2	IU/ml
11	N	9,80x10e2	N	9,60x10e4	9,90x10e3	2,60x10e2	IU/ml
12	N	P	N	P	P	P	
13							
14	N	2,91x10e2	N	4,48x10e4	3,30x10e3	1,57x10e2	IU/ml
15							
16	N	3,04x10e2	N	2,51x10e4	2,48x10e3	1,43x10e2	IU/ml
17	N	2,46x10e2	N	2,62x10e4	2,61x10e3	1,38x10e2	IU/ml
18	N	3,44x10e2	N	3,11x10e4	2,80x10e3	1,40x10e2	IU/ml
19	N	P	N	P	P	P	
20	N	2,09x10e2	N	2,31x10e4	1,95x10e3	8,37x10e1	IU/ml
21	N	3,80x10e2	N	1,30x10e4	1,50x10e3	4,00x10e1	IU/ml
22	N	1,83x10e3	N	1,30x10e5	1,55x10e4	4,34x10e2	IU/ml
23	N	2,81x10e2	N	2,33x10e4	2,61x10e3	1,35x10e2	IU/ml
24							
25	N	P	N	P	P	P	
26	N	2,55x10e2	N	2,54x10e4	2,74x10e3	1,29x10e2	IU/ml
27							
28	N	6,68x10e2	N	7,43x10e4	1,02x10e4	3,12x10e2	IU/ml
29	N	3,30x10e1	N	8,00x10e3	8,40x10e2	1,80x10e2	IU/ml
30							
31	N	4,40x10e2	N	7,00x10e4	7,10x10e3	1,00x10e2	IU/ml
32	N	1,30x10e2	N	1,40x10e4	1,30x10e3	7,60x10e1	IU/ml
33	N	3,30x10e2	N	3,57x10e4	4,13x10e3	7,69x10e1	IU/ml

Laboratoře, u nichž nejsou uvedeny číselné hodnoty, své výsledky nekvantifikovaly. Pořadová čísla laboratoří v této tabulce nemají souvislost s jejich zavedenými kódy v EHK (NRL pro VH uvedena pod číslem 1).

Tab. 2: výsledky vyšetření HCV-RNA v sérii EHK-1124 (P = pozitivní, N = negativní)

poř.	1	2	3	4	5	6	jednotky
	+++	+	++++	N	N	++	
1-NRL	2,46x10e3	6,51x10e1	2,37x10e4	N	N	1,41x10e2	IU/ml
2	8,07x10e2	1,13x10e2	3,26x10e4	N	N	2,62x10e2	IU/ml
3	3,33x10e3	6,70x10e1	2,97x10e4	N	N	3,45x10e2	IU/ml
4	1,55x10e4	3,67x10e2	1,32x10e5	N	N	1,64x10e3	IU/ml
5	3,07x10e3	1,51x10e2	2,89x10e4	N	N	3,47x10e2	IU/ml
6	P	P	P	N	N	P	
7	P	P	P	N	N	P	
8	P	P	P	N	N	P	
9	1,80x10e3	7,10x10e1	2,53x10e4	N	N	2,71x10e2	IU/ml
10	3,69x10e3	9,05x10e1	2,91x10e4	N	N	3,47x10e2	IU/ml
11	1,20x10e4	2,00x10e3	1,30x10e5	N	N	2,40x10e2	IU/ml
12	P	P	P	N	N	P	
13	3,13x10e3	1,59x10e2	2,43x10e4	N	N	2,98x10e2	IU/ml
14	2,49x10e3	9,20x10e1	2,20x10e4	N	N	1,76x10e2	IU/ml
15	2,25x10e3	8,40x10e1	1,89x10e4	N	N	2,54x10e2	IU/ml
16	1,37x10e3	5,94x10e1	1,37x10e4	N	N	2,04x10e2	IU/ml
17	2,46x10e3	1,79x10e2	2,46x10e4	N	N	2,34x10e2	IU/ml
18	3,10x10e3	1,07x10e2	1,90x10e4	N	N	1,78x10e2	IU/ml
19	P	P	P	N	N	P	
20	3,08x10e3	2,75x10e2	3,81x10e4	N	N	4,84x10e2	IU/ml
21	1,30x10e3	7,00x10e1	1,50x10e4	N	N	1,60x10e2	IU/ml
22	2,10x10e3	8,90x10e1	2,72x10e4	N	N	2,61x10e2	IU/ml
23	2,15x10e3	9,20x10e1	2,12x10e4	N	N	2,38x10e2	IU/ml
24	2,86x10e3	7,10x10e1	1,81x10e4	N	N	2,73x10e2	IU/ml
25	P	P	P	N	N	P	
26	2,48x10e3	1,01x10e2	2,37x10e4	N	N	2,91x10e2	IU/ml
27	1,97x10e3	9,80x10e1	2,27x10e4	N	N	2,16x10e2	IU/ml
28	6,05x10e3	2,34x10e2	5,55x10e4	N	N	8,47x10e2	IU/ml
29	5,50x10e2	9,10x10e1	1,40x10e4	N	N	1,10x10e2	IU/ml
30	1,92x10e3	1,67x10e2	1,96x10e4	N	N	5,25x10e2	IU/ml
31	5,30x10e3	1,50x10e2	4,90x10e4	N	N	3,70x10e2	IU/ml
32	4,20x10e3	1,50x10e2	4,50x10e4	N	N	3,80x10e2	IU/ml
33	2,28x10e3	8,90x10e1	1,93x10e4	N	N	3,02x10e2	IU/ml

Laboratoře, u nichž nejsou uvedeny číselné hodnoty, své výsledky nekvantifikovaly. 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 cestou koordinálního pracoviště ESPT 2 (tel. 267 082 258, e-mail: lenka.hradkova@szu.cz).