



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/34/2016 (č. 953)**

**Průkaz DNA HSV a VZV**

**Praha, leden 2017**

## Obsah

|    |  |    |
|----|--|----|
| 1. | Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing) | 3  |
| 2. | Hodnocení  | 4  |
| 3. | Výsledky zúčastněných laboratoří                                   | 5  |
| 4. | Závěr  | 10 |
| 5. | Individuální výsledky laboratoře                                   | 10 |

Program zkoušení způsobilosti PT#M/34/2016 je zaměřen na průkaz DNA virů HSV a VZV. Návrh a realizace PT#M/34/2016 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/34 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 zkoušení způsobilosti č. 7001.

S veškerými informacemi dodanými účastníky je zacházeno jako s důvěrnými a nejsou bez souhlasu účastníka poskytovány třetím stranám.

Nedílnou součástí závěrečné zprávy je výsledkový protokol jednotlivé laboratoře.

**Koordinátor:**

MUDr. Klára Labská  
Tel: 267 082 247(2476)

**Zprávu vypracoval:**

MUDr. Klára Labská, NRL pro herpetické viry, SZÚ Praha

**Zprávu schválil:** Mgr. Hana Plodková

**Dne: 5. 1. 2017**

**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)

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/34/2016**

|   |   |
|---|---|
| Identifikace kola/cyklu:                      | <b>PT#M/34/953/2016</b>   |
| Název:  | Průkaz DNA HSV, VZV   |
| Poskytovatel:                                 | SZÚ – Centrum epidemiologie a mikrobiologie - ESPT<br>Šrobárova 48, Praha 10, 100 42<br>tel.: + 420 267082575, fax.: + 420 267082271  |
| Vedoucí ESPT                                  | Ing. Věra Vrbíková  |
| Koordinátor:                                  | MUDr. Klára Labská  |
| Subdodavatel:                                 | není  |
| Charakteristika materiálu:                    | lyofilizát tkáňové kultury infikované lidskými herpetickými viry HSV1, HSV2 a VZV<br>7 vzorků   |
| Podstata a účel PT/EHK:                       | kvalitativní a kvantitativní průkaz DNA virů HSV1, HSV2 a VZV   |
| Kritéria pro účast na PT/EHK:                 | vyšetření všech zaslaných vzorků metodami amplifikace nukleových kyselin (NAAT) a odeslání výsledků ve stanoveném termínu   |
| Způsob přípravy:                              | viz. Protokol o přípravě vzorků   |
| Množství připravovaného test. materiálu:      | nejméně 30 ml od každého vzorku   |
| Označení zorkovnic:                           | ESPT SZÚ<br>PT#M/34/2016 – EHK953<br>DNA HSV a VZV  |
| Zabezpečení kvality vzorku:                   | lyofilizace   |
| Metrologická návaznost:                       | viz. Protokol o přípravě vzorků   |
| Termín testu homogenity a stability:          | vzorek je opakovaně testován na přítomnost cílových markerů dle SOP NRL/HV-07 a to po lyofilizaci, před distribucí a v den ukončení kola  |
| Podmínky distribuce a uchování vzorků:        | distribuce v předepsaném obalu, přeprava a uchování lyofilizátu při teplotě +2 - +8°C, po rekonstituci vodou (PCR grade nebo pro tkáňové kultury) při teplotě +2 - +8°C, dlouhodobě -18°C a nižší                           |
| Možné zdroje chyb:                            | nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor u kvantitativního hodnocení neexistence jednotného kvantitativního standardu  |
| Počet účastníků:                              | 29  |
| Termín distribuce:                            | 1. 11. 2016   |
| Způsob distribuce:                            | přepravní služba<br>přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům  |
| Předání výsledků:                             | písemně do 29. 11. 2016 na předepsaných formulářích   |
| Způsob vyhodnocení výsledků:                  | kvalitativní vyšetření: shodný výsledek 2 body za vzorek<br>kvantitativní vyšetření: hodnoty do 1dekadického logaritmu od vztažné hodnoty +2 body za vzorek<br>hodnoty do 2 dekadických logaritmů od vztažné hodnoty +1 bod |
| Určení maximální směrodatné odchylky:         | neužívá se  |
| Určení přijaté vztažné hodnoty:               | za vztažnou hodnotu kvalitativního vyšetření je považován výsledek NRL<br>u kvantitativního vyšetření je to medián hodnot získaný od účastníků po vyloučení nejvyšší a nejnižší odlehlé hodnoty                             |
| Termín semináře, rozeslání zprávy účastníkům: | leden 2017  |

## 2. Hodnocení

Série EHK 953 obsahovala 7 testovacích lyofilizovaných vzorků. Vzorky byly odeslány k testování 1. 11. 2016, termín pro ukončení testování byl 29. 11. 2016. Do série 953 se přihlásilo 29 laboratoří, všechna vyhodnocení byla do NRL zaslána písemně.

Pro porovnání výsledků jsou podstatné výsledky NRL, ale přihlíží se také k výsledkům všech zúčastněných laboratoří jako celku.

### Kvalitativní hodnocení

Vztažnou hodnotou je výsledek získaný v NRL pro herpetické viry. Shodný výsledek každého vzorku je hodnocen dvěma body. Negativní výsledek u vzorku obsahujícího méně než 1000 kopií/ml je hodnocen ztrátou 1 bodu. Následně jsou porovnány hodnoty získaných součtů bodů a je stanovena hranice úspěšnosti v procentuálním vyjádření. Pro sérii 953 byla stanovena hranice 80%.

### Kvantitativní hodnocení

Výsledky jsou porovnávány s mediánem hodnot získaných od všech účastníků včetně výsledků NRL. Odchylka do 1 dekadického logaritmu od vztažné hodnoty je hodnocena 2 body, odchylka do 2 dekadických logaritmů od vztažné hodnoty je hodnocena 1 bodem. Odchylka větší než 2 dekadické logaritmy je bez bodů. Do hodnocení jsou zahrnuty jen vzorky pozitivní.

Laboratoře dostávají potvrzení o účasti s bodovým ohodnocením.

Tabulka 1: Správné výsledky

| Vzorek | HSV<br>výsledky<br>kvalitativní | Vztažná<br>hodnota<br>(median) | Kvantitativní<br>rozsah pro<br>2 body<br>[kopie/ml] | VZV<br>výsledky<br>kvalitativní | Vztažná<br>hodnota<br>(median) | Kvantitativní<br>rozsah pro<br>2 body<br>[kopie/ml] |
|--------|---------------------------------|--------------------------------|---|---------------------------------|--------------------------------|---|
| 1/2016 | Negativní                       |                                |   | VZV                             | 520                            | 52 - 52000  |
| 2/2016 | HSV2                            | 17 411                         | 1741 -174 110                                       | Negativní                       |                                |   |
| 3/2016 | HSV1                            | 1047                           | 105 -10470  | Negativní                       |                                |   |
| 4/2016 | Negativní                       |                                |   | Negativní                       |                                |   |
| 5/2016 | Negativní                       |                                |   | VZV                             | 22 000                         | 2 200 – 220 000                                     |
| 6/2016 | HSV2                            | 507 750                        | 50 775 – 5 077 500                                  | Negativní                       |                                |   |
| 7/2016 | HSV1                            | 21 825                         | 2183 – 218 250                                      | Negativní                       |                                |   |

### 3. Výsledky zúčastněných laboratoří

#### 3.1. HSV

##### Kvalitativní hodnocení

Zúčastnilo se 29 laboratoří, 2 laboratoře použily 2 testy a 1 laboratoř 3 testy. Pouze kvalitativní stanovení použilo 24 laboratoří. Všechny laboratoře správně zachytili a identifikovaly HSV1 i HSV2. Výsledky laboratoří jsou shrnuty v *Tabulce 2*. Použité komerční soupravy a počet použití v sérii jsou uvedeny v *Tabulce 3*.

*Tabulka 2: Souhrnné výsledky laboratoří – kvalitativní diagnostika HSV*

| Vzorek | Správný výsledek | Počet správných výsledků/celkem | Typ chyby |
|--------|------------------|---------------------------------|-----------|
| 1/2016 | Negativní (VZV)  | 34/34                           |           |
| 2/2016 | HSV2             | 34/34                           |           |
| 3/2016 | HSV1             | 34/34                           |           |
| 4/2016 | Negativní        | 34/34                           |           |
| 5/2016 | Negativní (VZV)  | 34/34                           |           |
| 6/2016 | HSV2             | 34/34                           |           |
| 7/2016 | HSV1             | 34/34                           |           |

*Tabulka 3: HSV použité komerční soupravy*

| Výrobce                | Kit                                    | Počet použití v sérii | Kvantitativní |
|------------------------|--|-----------------------|---------------|
| Altona Diagnostics     | RealStar HSV PCR Kit                   | 1/34                  | ano           |
| AmpliSens              | AmpliSens HSV-typing-FRT PCR Kit       | 2/34                  | ne            |
| BioMerieux             | Argene HSV1,HSV2,VZV R-gene            | 3/34                  | ano           |
| Elisabeth Pharmacon    | EliGene HSV1/HSV2 UNI                  | 3/34                  | ano           |
| Fast-Track diagnostics | FTD Neuro 9                            | 1/34                  | ne            |
| GeneProof              | Herpes Simplex Virus (HSV-1/2) PCR Kit | 7/34                  | ano           |
| GeneProof              | HSV-1 PCR Kit, HSV-2 PCR Kit           | 3/34                  | ano           |
| KitGen                 | HSV1, HSV2                             | 1/34                  | ano           |
| Qiagen                 | Artus HSV-1/2 LC PCR Kit               | 4/34                  | ano           |
| Seegene                | Allplex Genital Ulcer Assay            | 1/34                  | ne            |
| Sacace Biotechnologies | HSV 1/2 Typing Real-TM                 | 5/34                  | ne            |

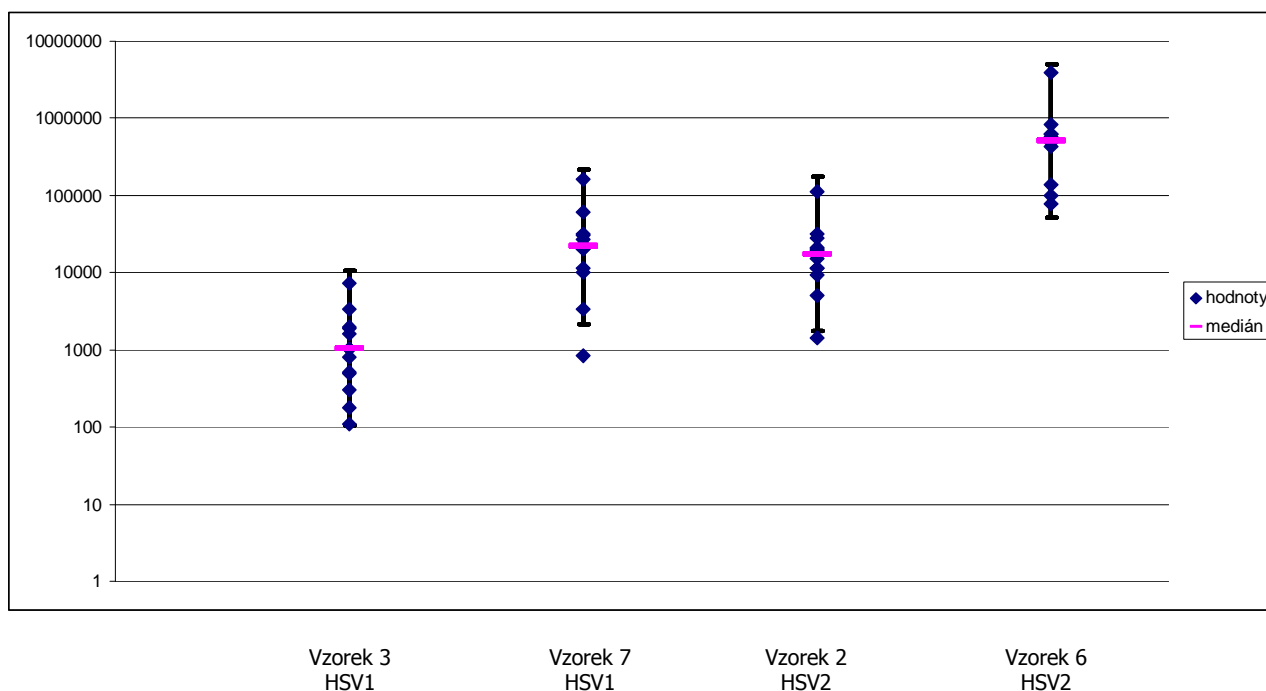
**Kvantitativní hodnocení**

Výsledky kvantitativní diagnostiky jsou uvedeny v *Tabulce 4 a Grafu 1*. Porovnání kvantifikace jednotlivými soupravami na hladině 10 000 kopií/ml je znázorněno v *Grafu 2*.

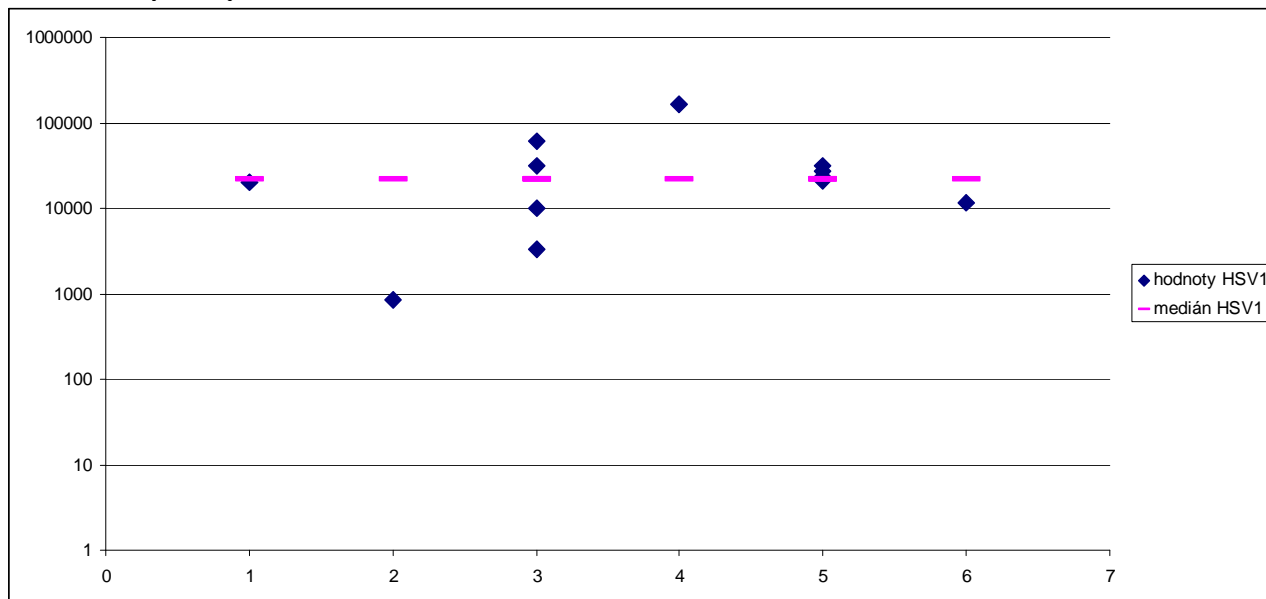
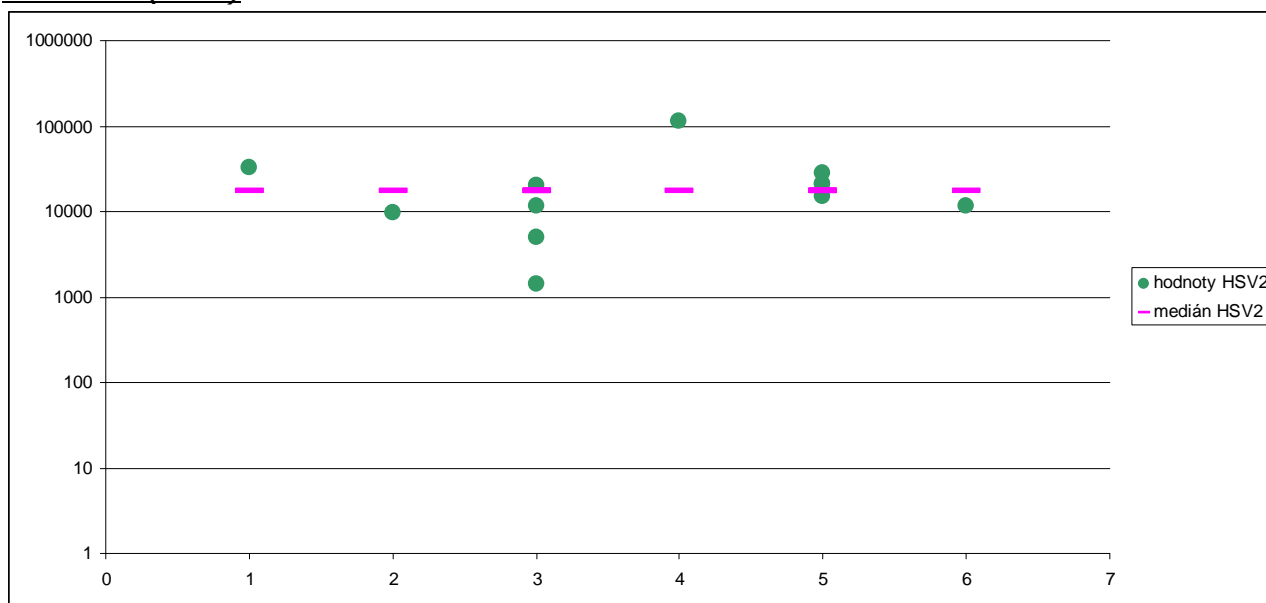
*Tabulka 4: Souhrnné výsledky laboratoří – kvantitativní diagnostika HSV*

| Vzorek | medián                 | 2 body | 1 bod | 0 bodů |
|--------|------------------------|--------|-------|--------|
| 2/2016 | HSV2 (17 411 kopií/ml) | 9/10   | 1/10  |        |
| 3/2016 | HSV1 (1047 kopií/ml)   | 10/10  |       |        |
| 6/2016 | HSV2 (507750 kopií/ml) | 10/10  |       |        |
| 7/2016 | HSV1 (21825 kopií/ml)  | 9/10   | 1/10  |        |

*Graf 1: Souhrnné výsledky laboratoří – kvantitativní diagnostika HSV*



*Výsledky jsou uvedeny v kopiích na ml. Chybové úsečky ukazují rozmezí akceptovaných hodnot za 2 body.*

Graf 2: kvantitativní výsledky HSV dle souprav na hladině 10 000 kopií/mlA vzorek 7 (HSV1)B vzorek 2 (HSV2)

Použité soupravy\*: 1- Altona Diagnostics, 2- BioMerieux, 3- GeneProof, 4- KitGen, 5- Qiagen, 6- in house  
 \*plné názvy souprav jsou uvedeny v Tabulce 3, soupravy jsou identické pro HSV1 i HSV2

**3.2. VZV****Kvalitativní hodnocení**

Zúčastnilo se 28 laboratoří, 2 laboratoře použily 2 testy a 1 laboratoř 3 testy. Souhrnné výsledky kvalitativní diagnostiky VZV jsou uvedeny v *Tabulce 5*. Použité komerční soupravy a počet použití v sérii jsou uvedeny v *Tabulce 6*.

*Tabulka 5: Souhrnné výsledky laboratoří – kvalitativní diagnostika VZV*

| Vzorek | Správný výsledek | Počet správných výsledků/celkem | Typ chyby |
|--------|------------------|---------------------------------|-----------|
| 1/2016 | VZV              | 32/32                           |           |
| 2/2016 | negativní        | 32/32                           |           |
| 3/2016 | negativní        | 32/32                           |           |
| 4/2016 | negativní        | 32/32                           |           |
| 5/2016 | VZV              | 32/32                           |           |
| 6/2016 | negativní        | 32/32                           |           |
| 7/2016 | negativní        | 32/32                           |           |

*Tabulka 6: VZV použité komerční soupravy*

| Výrobce                | Kit                         | Počet použití v sérii | Kvantitativní |
|------------------------|-----------------------------|-----------------------|---------------|
| Altona Diagnostics     | RealStar VZV PCR Kit        | 1/32                  | ano           |
| AmpliSens              | AmpliSens VZV-FRT PCR Kit   | 1/32                  | ne            |
| BioMerieux             | Argene HSV1,HSV2,VZV R-gene | 3/32                  | ano           |
| Elisabeth Pharmacon    | EliGene VZV UNI             | 3/32                  | ne            |
| Fast-Track Diagnostics | FTD Neuro 9                 | 1/32                  | ne            |
| GeneProof              | VZV PCR Kit                 | 11/32                 | ano           |
| KitGen                 | VZV                         | 1/32                  | ano           |
| Qiagen                 | Artus VZV RG PCR Kit        | 2/32                  | ano           |
| Sacace Biotechnologies | VZV Real-TM                 | 5/32                  | ne            |
| Seegene                | Allplex Genital Ulcer Assay | 1/32                  | ne            |
| TIB Molbiol            | LightMix Kit VZV            | 1/32                  | ano           |



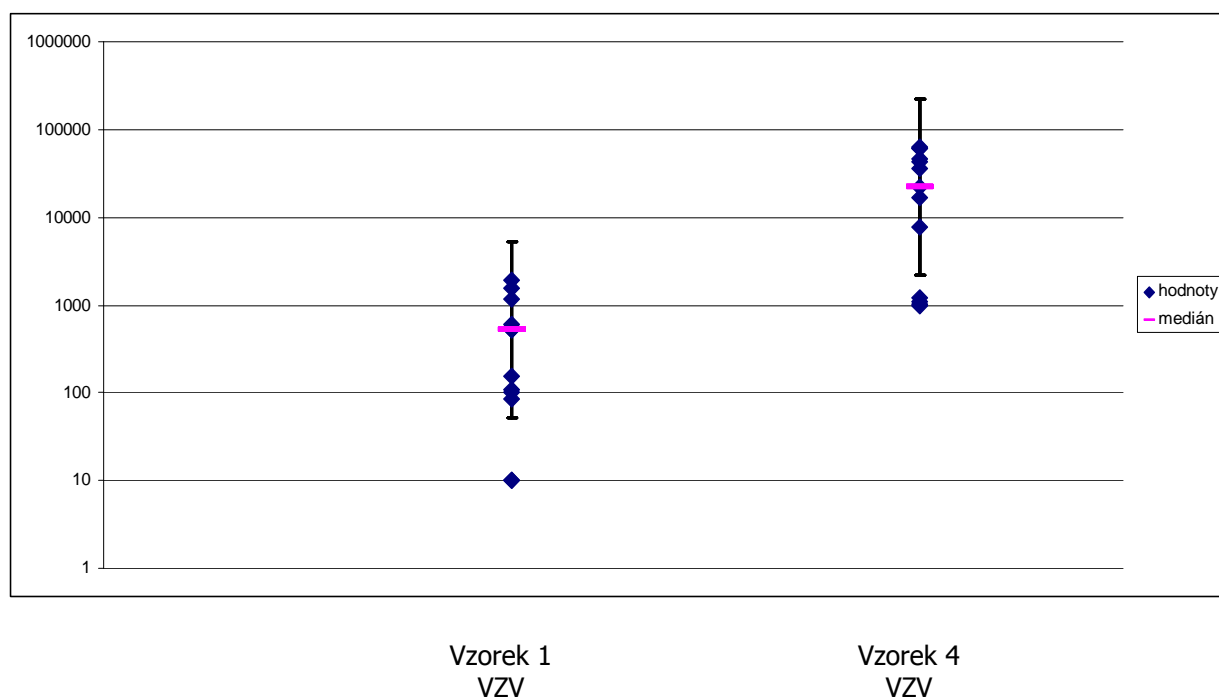
**Kvantitativní hodnocení VZV**

Kvantitativní hodnocení odevzdalo 11 laboratoří, výsledky jsou uvedeny v *Tabulce 7 a Grafu 3*. Vzorek 1 sloužil ke stanovení citlivosti souprav a nebyl proto v kvantifikaci bodově hodnocen. Níže (o řád proti ostatním soupravám) kvantifikovaly soupravy Qiagen Artus VZV RG PCR Kit a KitGen, viz *Graf 4*.

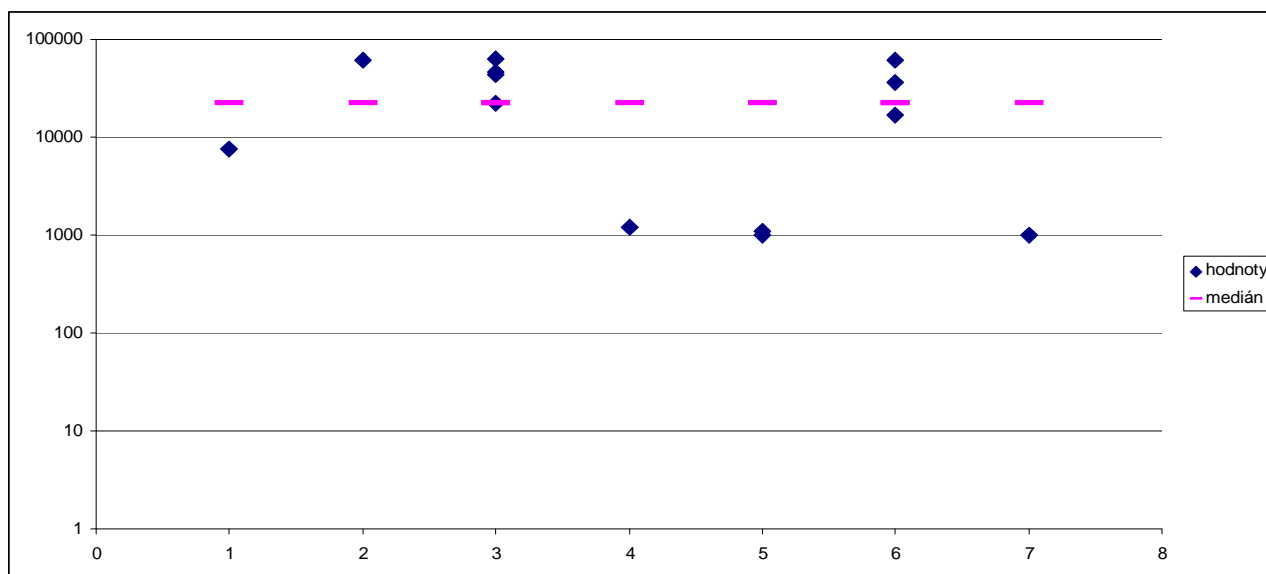
*Tabulka 7: Souhrnné výsledky laboratoří – kvantitativní diagnostika VZV*

| Vzorek | medián                | 2 body      | 1 bod       | 0 bodů      |
|--------|-----------------------|-------------|-------------|-------------|
| 1/2016 | VZV (520kopii/ml)     | nehodnoceno | nehodnoceno | nehodnoceno |
| 5/2016 | VZV (22 000kopii /ml) | 7/11        | 4/11        |             |

*Graf 3: Souhrnné výsledky laboratoří – kvantitativní diagnostika VZV*



*Výsledky jsou uvedeny v kopiích na ml. Chybové úsečky ukazují rozmezí akceptovaných hodnot za 2 body.*

*Graf 4: kvantitativní výsledky vzorku 5 (VZV) dle souprav\**

Použité soupravy: 1- Altona Diagnostics , 2 BioMerieux, 3 GeneProof, 4 KitGen, 5 Qiagen, 6 TIB Molbiol, 7 In-house (real-time)

\*plné názvy souprav jsou uvedeny v Tabulce 6

## 4. Závěr

Série EHK č. 953 „Průkaz DNA HSV a VZV“ se zúčastnilo 29 laboratoří. Všechny laboratoře správně zachytily všechny testované viry a v této sérii uspěly bez ztráty bodu.

V kvantitativním hodnocení panovaly rozdíly zejména u VZV, 4 laboratořím byl stržen 1 bod. Všechny laboratoře, které se zúčastnily kvantitativního porovnání, obdrží certifikát o účasti. Všem děkuji a těším se další spolupráci.

MUDr. Klára Labská,  
koordinátor série 953.