



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/34/2017 (č. 998)

Průkaz DNA HSV a VZV

Praha, prosinec 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	11

Program zkoušení způsobilosti PT#M/34/2017 je zaměřen na průkaz DNA virů HSV a VZV. Návrh a realizace PT#M/34/2017 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. Markéta Pumannová

Dne: 28. 12. 2017

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

www.szu.cz/espt

email: apcem@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/34/2017

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/34/998/2017
Název:	Průkaz DNA HSV, VZV
Poskytovatel:	SZÚ – Centrum epidemiologie a mikrobiologie - ESPT Šrobárova 48, Praha 10, 100 42 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 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 vzorkovnic:	ESPT SZÚ PT # M/34/2017 – EHK998 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:	28
Termín distribuce:	31.10.2017
Způsob distribuce:	přepavní služba Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	písemně do 21.11.2017 na předepsaných formulářích
Způsob vyhodnocení výsledků:	Kvalitativní vyšetření: shodný výsledek 2 body za vzorek Kvantitativní vyšetření: hodnoty do 1dekadického logaritmu od vztažné hodnoty +2 body za vzorek 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 U kvantitativního vyšetření je to medián hodnot získaný od účastníků po vyloučení nejvyšší a nejnižší odlehle hodnoty
Termín semináře, rozeslání zprávy účastníkům:	Leden 2018

2. Hodnocení

Série EHK 998 obsahovala 7 testovacích lyofilizovaných vzorků. Vzorky byly odeslány k testování 31. 10. 2017, termín pro ukončení testování byl 21. 11. 2017. Do série 998 se přihlásilo 28 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 998 byla stanovena hranice 80%.

Kvantitativní hodnocení

Výsledky jsou porovnávány s mediánem hodnot získaných od všech účastníků včetně výsledků NRL. Odchylna do 1 dekadického logaritmu od vztažné hodnoty je hodnocena 2 body, odchylna do 2 dekadických logaritmů od vztažné hodnoty je hodnocena 1 bodem. Odchylna 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 výsledky kvalitativní	Vztažná hodnota (median) [kopie/ml]	Kvantitativní rozsah pro 2 body [kopie/ml]	VZV výsledky kvalitativní	Vztažná hodnota (median) [kopie/ml]	Kvantitativní rozsah pro 2 body [kopie/ml]
1/2017	HSV1	870	87 - 8700	negativní		
2/2017	negativní			negativní		
3/2017	negativní			VZV	11875	1187 - 118750
4/2017	negativní			VZV	454	45 - 4540
5/2017	HSV2	34300	3430 - 343000	negativní		
6/2017	HSV1	101000	10100 - 1010000	negativní		
7/2017	HSV2	410000	41000 - 4100000	negativní		

3. Výsledky zúčastněných laboratoří

3.1. HSV

Kvalitativní hodnocení

Zúčastnilo se 28 laboratoří, 2 laboratoře použily 2 testy. Pouze kvalitativní stanovení použilo 19 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	HSV1	28/30	2x nestanoven typ
2/2016	negativní	30/30	
3/2016	Negativní (VZV)	30/30	
4/2016	negativní (VZV)	30/30	
5/2016	HSV2	28/30	1x nezachyceno HSV2 1x nestanoven typ
6/2016	HSV1	28/30	2x nestanoven typ
7/2016	HSV2	27/30	1x nezachyceno HSV2 1x nestanoven typ 1x špatný typ

Tabulka 3: HSV použité komerční soupravy

Výrobce	Kit	Počet použití v sérii	Kvantitativní
Altona Diagnostics	RealStar HSV PCR Kit	1/30	ano
AmpliSens	AmpliSens HSV-typing-FRT PCR Kit	1/30	ne
BioMerieux	Argene HSV1,HSV2,VZV R-gene	2/30	ano
Elizabeth Pharmacon	EliGene HSV1/HSV2 UNI	2/30	ano
ELITechGroup	Meningitis Viral ELITe MGB Panel	1/30	ne
Federal Budget Inst.of Science	AmpliSens HSV-typing-FRT	1/30	ano
GeneProof	Herpes Simplex Virus (HSV-1/2) PCR Kit	8/30	ano
GeneProof	HSV-1 PCR Kit, HSV-2 PCR Kit	2/30	ano
Genetrac Molecular Diagnostics	HSV Type 1/2 DNA Quantitative Kit	1/30	ano
Qiagen	Artus HSV-1/2 LC PCR Kit	3/30	ano
Qiagen	Artus HSV-1/2 RG PCR Kit	1/30	ano
Sacace Biotechnologies	HSV 1/2 Typing Real-TM	5/30	ne
Shanghai ZJ Bitech	HSV I & II Real Time PCR Kit	1/30	ne
In house	In house	1/30	ano

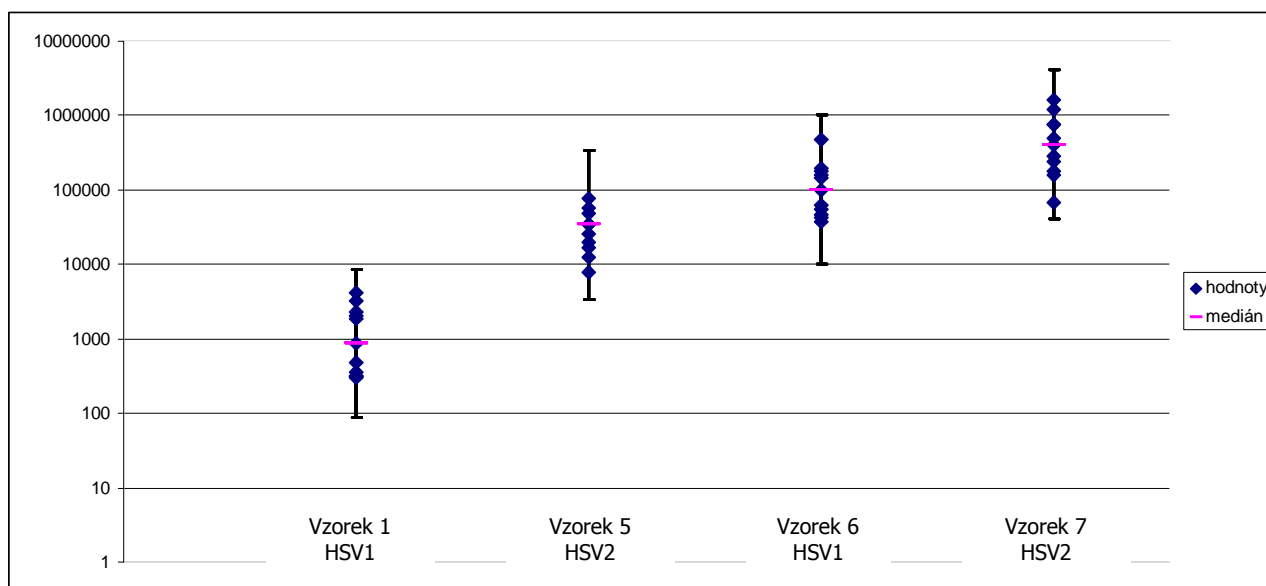
Kvantitativní hodnocení

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
1/2017	HSV1 (870 kopií/ml)	9/9		
5/2017	HSV2 (34300 kopií/ml)	9/9		
6/2017	HSV1 (101000 kopií/ml)	9/9		
7/2017	HSV2 (41000 kopií/ml)	9/9		

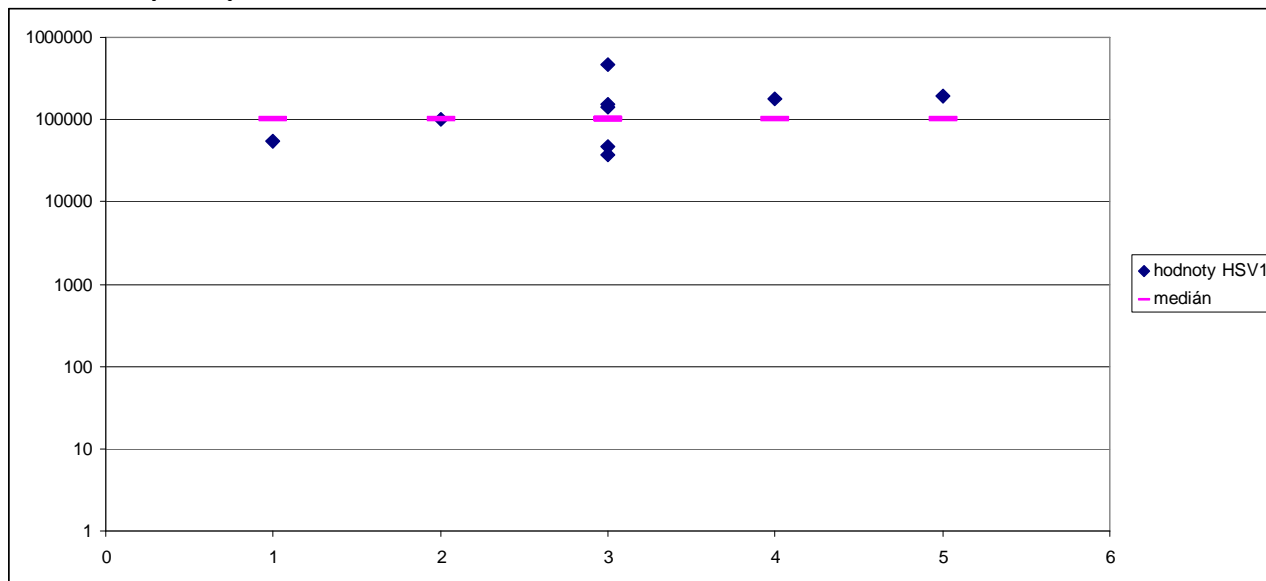
Graf 1: Souhrnné výsledky laboratoří – kvantitativní diagnostika HSV



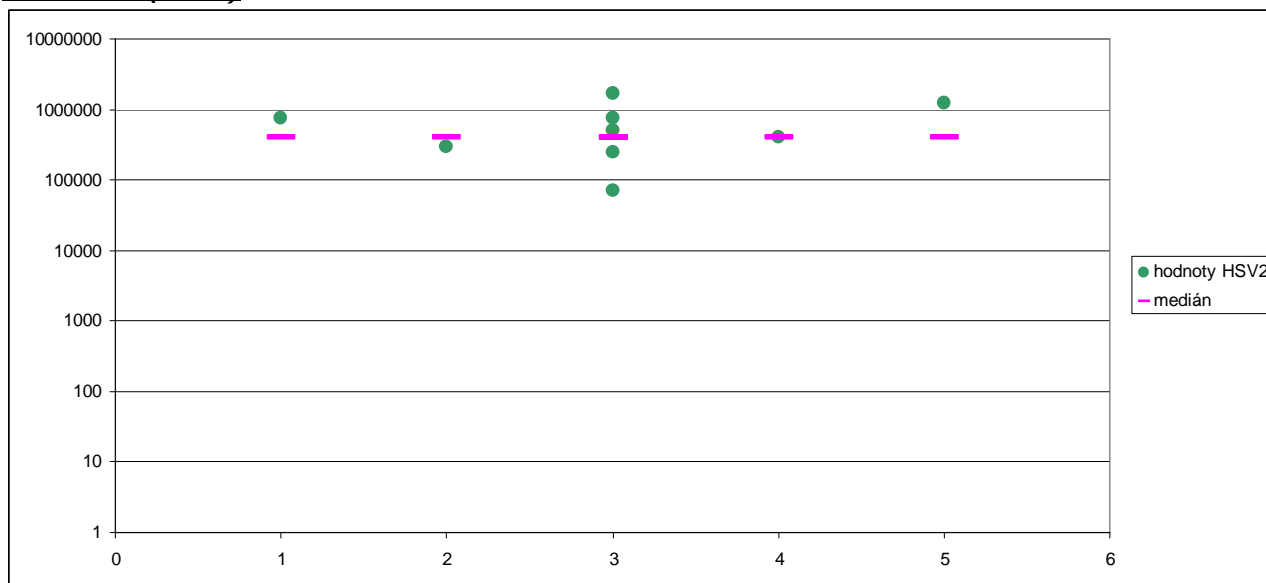
Výsledky jsou uvedeny v kopiích na ml. Chybové úsečky ukazují rozmezí akceptovaných hodnot za 2 body.

Graf 2: kvantitativní výsledky HSV dle souprav na hladině 100 000 kopií/ml

A vzorek 6 (HSV1)



B vzorek 7 (HSV2)



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

3.2. VZV**Kvalitativní hodnocení**

Zúčastnilo se 27 laboratoří, 2 laboratoře použily 2 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
1/2017	negativní	29/29	
2/2017	negativní	29/29	
3/2017	VZV	29/29	
4/2017	VZV	29/29	
5/2017	negativní	29/29	
6/2017	negativní	29/29	
7/2017	negativní	29/29	

Tabulka 6: VZV použité komerční soupravy

Výrobce	Kit	Počet použití v sérii	Kvantitativní
Altona Diagnostics	RealStar VZV PCR Kit	1/29	ano
BioMerieux	Argene HSV1,HSV2,VZV R-gene	2/29	ano
Elisabeth Pharmacon	EliGene VZV UNI	2/29	ne
ELITechGroup	Meningitis Viral ELITE MGB Panel	1/29	ne
Federal Budget Inst.of Science	AmpliSens VZV-typing-FRT	1/29	ano
GeneProof	VZV PCR Kit	12/29	ano
Genetrac Molecular Diagnostics	VZV DNA Quantitative Kit	1/29	ano
Qiagen	Artus VZV RG PCR Kit	3/29	ano
Sacace Biotechnologies	VZV Real-TM	5/29	ne
In house	In house	1/29	ano

Kvantitativní hodnocení VZV

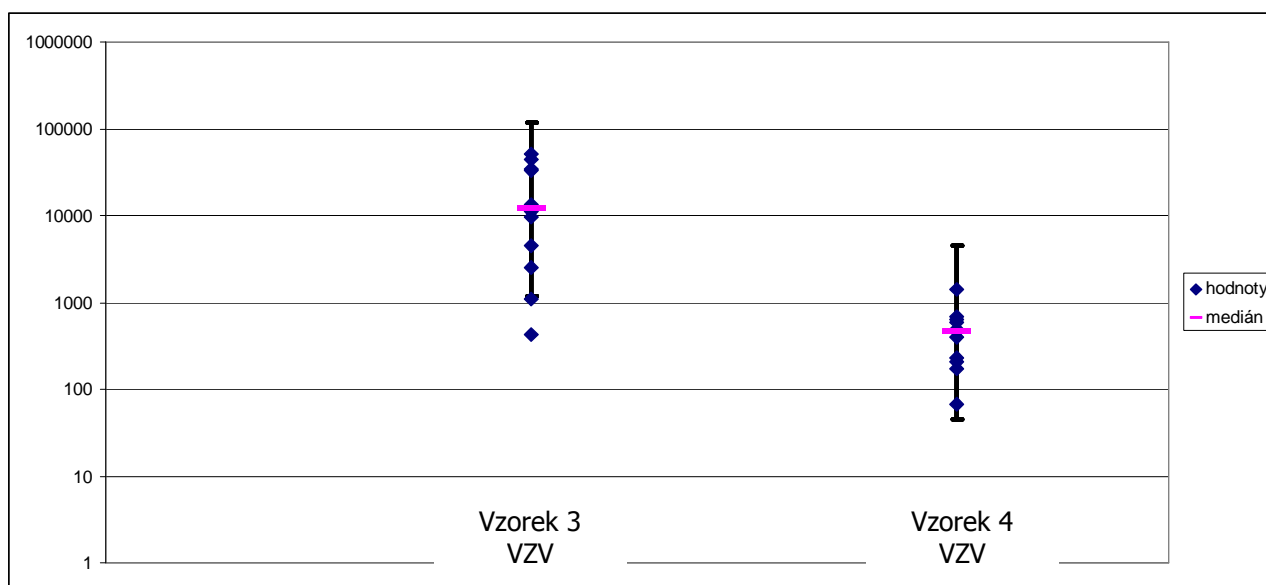
Kvantitativní hodnocení odevzdalo 11 laboratoří, výsledky jsou uvedeny v *Tabulce 7 a Grafu 3*. Vzorek 1 sloužil ke stanovení citlivosti souprav a nebyl proto v kvantifikaci bodově hodnocen. Níže (o řád proti ostatním soupravám) kvantifikovaly soupravy Qiagen Artus VZV RG PCR Kit a KitGen, viz *Graf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

Tabulka 7: Souhrnné výsledky laboratoří – kvantitativní diagnostika VZV

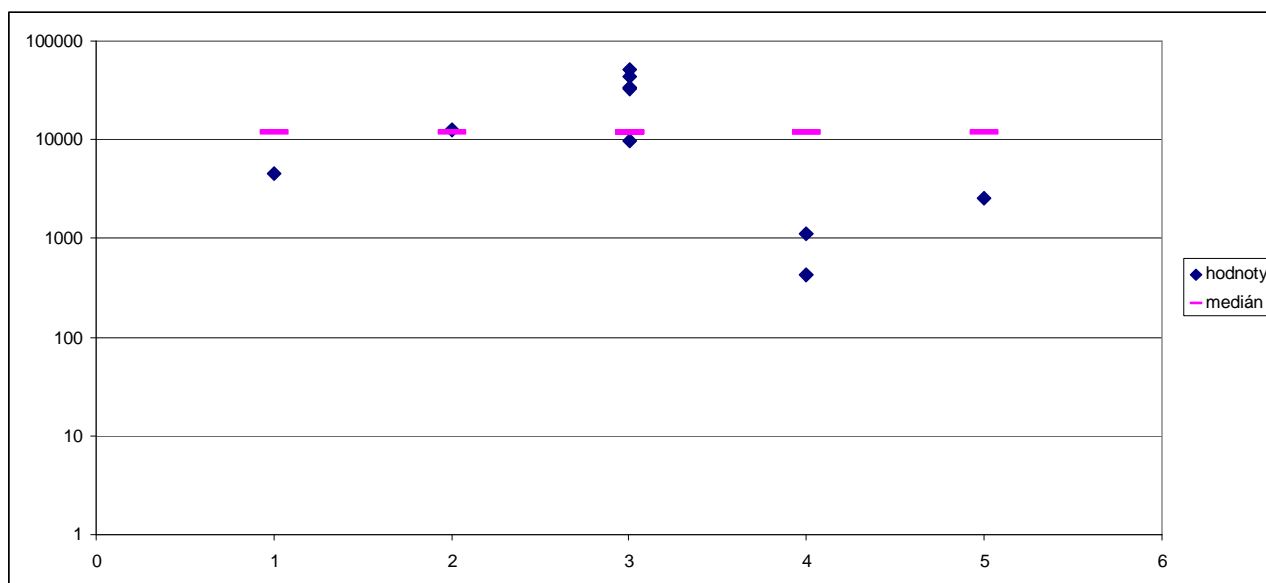
Vzorek	medián	2 body	1 bod	0 bodů
3/2017	VZV (11875 kopií/ml)	9/11	2/11	
4/2017	VZV (454 kopií /ml)	*11/11		

**rozsah hodnot za 2 body obsahoval hodnoty nižší než 100 kopií/ml, proto byla za plný počet bodů akceptována i odpověď nekvantifikováno.*

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 3 (VZV) dle souprav*

Použité soupravy: 1- Altona Diagnostics , 2 - BioMerieux, 3 - GeneProof, 4 - Qiagen, 5 - In-house (real-time)
 *plné názvy souprav jsou uvedeny v Tabulce 6

4. Závěr

Série EHK č. 998 „Průkaz DNA HSV a VZV“ se zúčastnilo 28 laboratoří. Jedna laboratoř v sérii neuspěla, protože nedetekovala HSV2. Jedna laboratoř ztratila 2 body za špatnou typizaci HSV. Ostatní laboratoře uspěly v kvalitativním hodnocení bez ztráty bodu.

Chyby se vyskytly v hodnocení typu HSV, jedna laboratoř chybně vyhodnotila HSV2 jako HSV1 (souprava Artus HSV-1/2 RG PCR Kit, výrobce Qiagen 1/1 použití v sérii) a jedna laboratoř neprovedla typové rozlišení HSV (Herpes Simplex virus (HSV-1/2) PCR Kit, výrobce Gene Proof, 1/8 použití v sérii)

V kvantitativním hodnocení panovaly rozdíly zejména u VZV, 2 laboratořím byl stržen 1 bod. Všechny laboratoře, které se zúčastnily kvantitativního porovnání, obdrží certifikát o účasti s počtem dosažených bodů.

Všem děkuji a těším se další spolupráci.

V případě reklamací vyhodnocení série postupujte dle reklamačního řádu. Laboratoř, která neuspěla, může do 14 dnů po obdržení závěrečné zprávy požádat o opravnou sérii vzorků EHK.

MUDr. Klára Labská,
 koordinátor série 998.

5. Výsledky laboratoře č.

HSV kvalitativně

vzorek	Správný výsledek	Výsledek vaší laboratoře	Počet bodů
1/2017	HSV1	HSV1	2
2/2017	negativní	negativní	2
3/2017	negativní	negativní	2
4/2017	negativní	negativní	2
5/2017	HSV2	HSV2	2
6/2017	HSV1	HSV1	2
7/2017	HSV2	HSV2	2
celkem			14/14

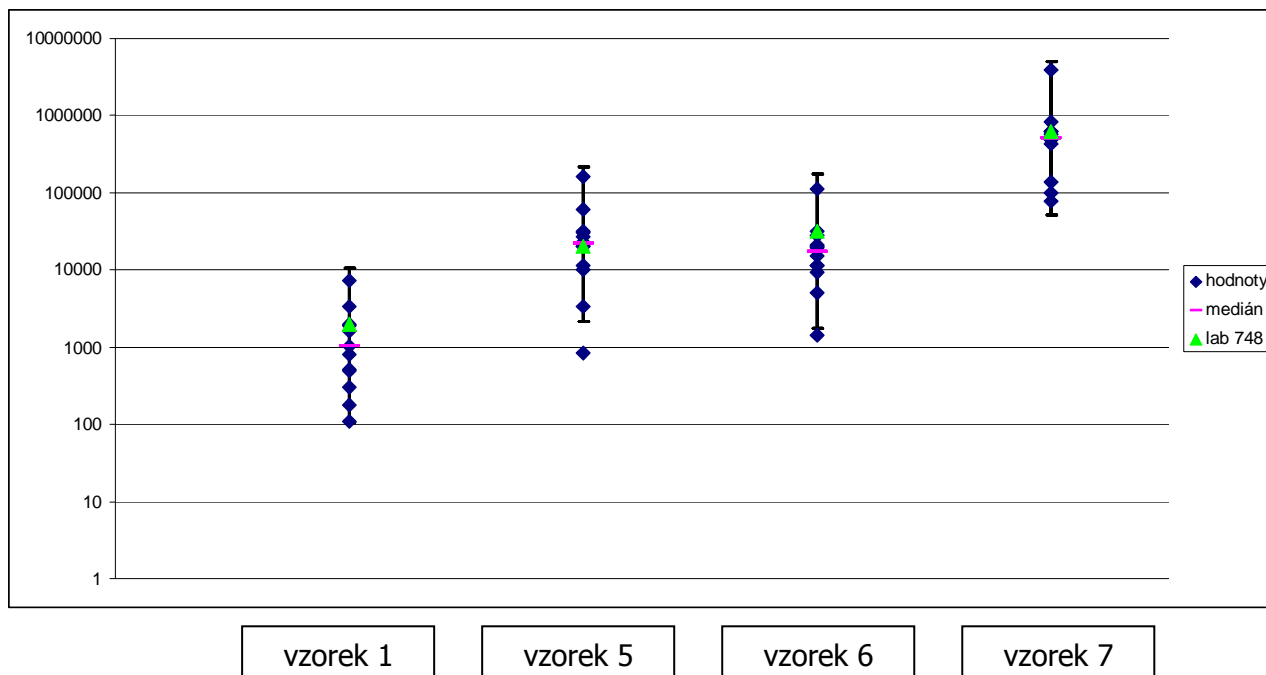
Laboratoř č. získala 14/14 bodů v sérii EHK 998 Průkaz DNA HSV a **uspěla**.

VZV kvalitativně

vzorek	Správný výsledek	Výsledek vaší laboratoře	Počet bodů
1/2017	negativní	negativní	2
2/2017	negativní	negativní	2
3/2017	VZV	VZV	2
4/2017	VZV	VZV	2
5/2017	negativní	negativní	2
6/2017	negativní	negativní	2
7/2017	negativní	negativní	2
celkem			14/14

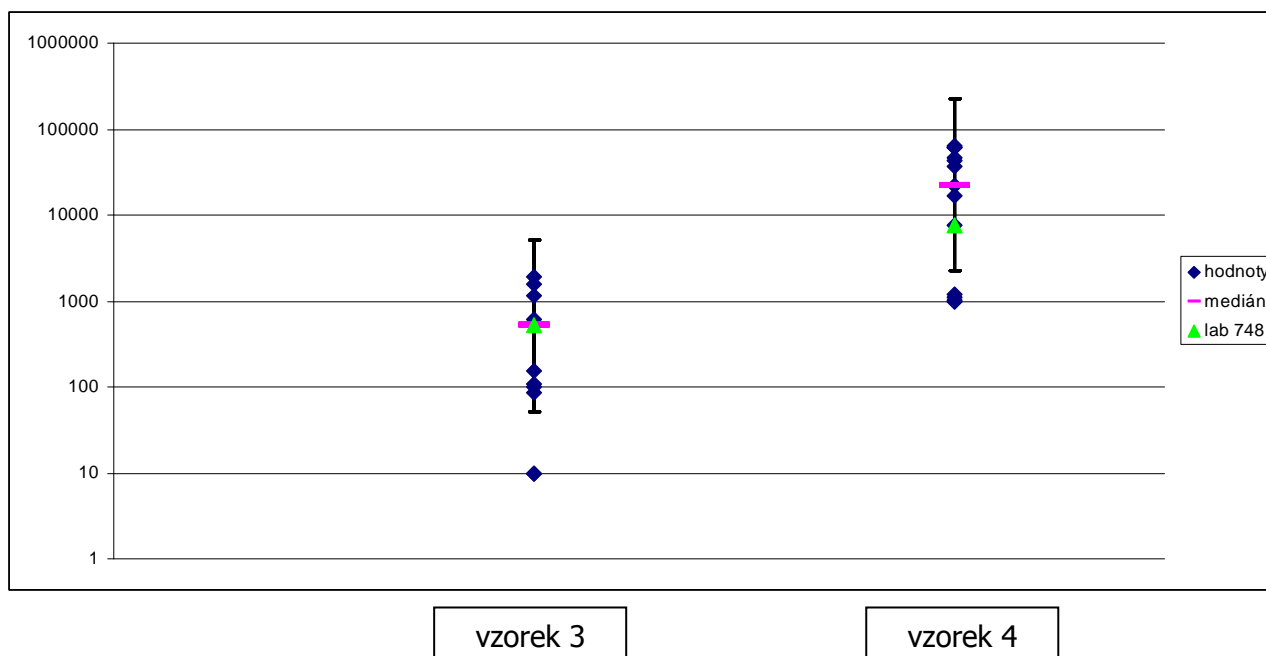
Laboratoř č. získala 14/14 bodů v sérii EHK 998 Průkaz DNA VZV a **uspěla**.

HSV kvantitativně



Laboratoř č. se zúčastnila kvantitativního hodnocení Průkaz DNA HSV a v sérii EHK 998 získala 8/8 bodů.

VZV kvantitativně



Laboratoř č.748 se zúčastnila kvantitativního hodnocení Průkaz DNA VZV a v sérii EHK 953 získala 4/4 bodů.