



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/26/2018 (č. 1027)

Sérologie HSV

Praha, září 2018

Obsah

1.	Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2.	Příprava vzorků	4
3.	Charakteristika vzorků a série	4
4.	Způsob hodnocení	4
5.	Vyhodnocení	5
6.	Závěr	7
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/26/2018 (č.1027) byl zaměřen na detekci různých sérologických stavů protilátek proti HSV z krevního séra a krevní plazmy.

Návrh a realizace PT#M/26/2018 (č.1027) byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/26 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.

Příloha závěrečné zprávy, tj. ohodnocený výsledkový protokol, je rozesílána poštou.

Koordinátor:

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

Zprávu vypracoval:

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

Zprávu schválil: Mgr. Markéta Pumánová

Dne: 19.9. 2018

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/26/2018

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/26/2018 EHK-1027
Název:	Sérologie Herpes simplex viru
Organizátor:	ŠZÚ – Centrum epidemiologie a mikrobiologie - ESPT Šrobárova 48, Praha 10, 100 42 tel.: + 420 267082575, fax.: + 420 267082271
Vedoucí ESPT	Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor:	MUDr. Labská
Subdodavatel:	není
Charakteristika materiálu:	lidské sérum/plazma
Podstata a účel PT/EHK:	Průkaz protilátek třídy IgG a IgM proti antigenům viru Herpes simplex a souhrnná interpretace provedených testů
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Vyšetření obou vzorků imunoanalytickými metodami, minimálně 1x IgM a 1xIgG u každého vzorku a odeslání výsledků ve stanoveném termínu
Způsob přípravy:	Výchozím materiálem je lidské sérum/plazma.
Množství připravovaného test. Materiálu:	71 sad (1 sada á 2 vzorky - po 0,3 ml
Označení vzorkovnic:	EHK-1027 PT # M/26/2018 Č. 1 - 2 29. 5. 2018
Zabezpečení kvality vzorku:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Obsahuje-li výchozí materiál po rozmrazení viditelné částice organického materiálu (bílkoviny, tuky), je zcentrifugován. 2. Pro zajištění stability je do výchozího materiálu přidáván po rozmražení ProClin™ ve výsledné koncentraci 0,0095% ve vzorku
Termín testu homogenity a stability:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Výchozí materiál je testován na vhodné cílové markery 2. Finální vzorek je testován na všechny cílové markery před a po rozplnění
Podmínky distribuce a uchovávání vzorků:	Distribuce v předepsaném obalu. Přeprava a krátkodobé uchovávání vzorků v chladničce při teplotě 2-8°C, dlouhodobé uchovávání při -18 až -24°C, chránit před světlem, zamezit opakovanému rozmrazování
Možné zdroje chyb:	nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor
Počet účastníků:	71
Termín distribuce:	29. 5. 2018
Způsob distribuce:	Přepravní službou v termínu určeném AP CEM (zajišťuje AP CEM)
Předání výsledků:	V elektronické podobě přes webové rozhraní SZÚ
Způsob vyhodnocení výsledků:	Shodný výsledek každého markeru je hodnocen +2 body, částečná neshoda (malá chyba) +1 bod. Interpretace nálezu +2 body/vzorek. Hranice úspěšnosti bodů zvolenou kombinací testů byla stanovena na 83%.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neprovádí se
Určení přijaté vztažené hodnoty:	Výsledky získané v NRL
Termín semináře, uveřejnění závěrečné zprávy účastníkům:	3 měsíce po uzávěrce kola (9/2018)

2. Příprava vzorků

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byla defibrinovaná lidská plazma a lidská séra, která byla vyšetřena na přítomnost cílových markerů.

Pro zajištění stability byl do výchozího materiálu přidán po rozmražení ProClin™ ve výsledné koncentraci 0,0095% ve vzorku.

Finální (rozplněné) vzorky byly testovány na přítomnost cílových markerů metodami EIA a NIF dle SOP-NRL/HV-01 a -03. Při testování protilátek metodou NIF bylo pro IgM použito ředění 1:10 a 1:20, pro IgG ředící řada od 1:10.

3. Charakteristika série a vzorků

Série 1027 obsahovala 2 vzorky k vyšetření protilátek IgM a IgG, a navíc možné doplňkové detekce typově specifických anti HSV IgG protilátek. Vzorek B byl poolovaný.

Vzorek A byla poolem defibrinovaná plazma zdravého HSV séronegativního dárce.

Vzorek B byl pool sér poolovaných na základě anti HSV IgM positivity.

Správné výsledky jsou obsaženy v *Tabulce 1* a výsledky NRL pro herpetické viry jsou dostupné na webových stránkách SZÚ na adrese <http://www.szu.cz/pt-m-26-10-serologie-herpes-simplex-viru>

Tabulka 1 : Správné výsledky

	EIA HSV IgG	EIA HSV IgM	EIA HSV IgA	EIA HSV 2 IgG	NIF HSV IgG	NIF HSV IgM
Vzorek A	Negativní	Negativní	**Negativní	Negativní	Negativní	Negativní
Vzorek B	Pozitivní	*Pozitivní	** Pozitivní	Pozitivní	Pozitivní	*Pozitivní

*Pro rozdílné výsledky nebodováno

** Nebodováno, dále viz Vyhodnocení

4. Způsob hodnocení

Vztažnou hodnotou pro vyhodnocení jsou výsledky NRL, ale přihlíží se k výsledkům všech zúčastněných laboratoří jako celku. Ve výsledcích série se hodnotí výsledky kvalitativně (pozitivní, hraniční, negativní).

Metody na principu immunoassay (EIA, CLIA, NIF atd.):

- 2 body/vzorek při shodě markeru (v obou vzorcích 2+2), při částečné neshodě (např. hraniční) pouze +1 bod,
- celková interpretace výsledku +2body/vzorek.
- **V sérii 1027 bylo vyřazeno hodnocení vzorku B**

EIA anti HSV IgA

- výsledek má hodnotu mezilaboratorního porovnání a ve výsledku je uvedeno, zda mezi účastníky došlo ke shodě

Metody na principu imunoblot:

- hodnotila se pouze celková interpretace výsledku +2 body/vzorek.
- **V sérii 1027 bylo vyřazeno hodnocení vzorku B**

Metody na principu KFR

- výsledek má hodnotu mezilaboratorního porovnání a ve výsledku je uvedeno, zda mezi účastníky došlo ke shodě.

Následně jsou porovnány hodnoty získaných součtů bodů a stanovena hranice úspěšnosti v procentuálním vyjádření. Hranice úspěšnosti byla stanovena v této sérii na **83%**.

Kvantitativní výsledky, které jste zaslali, slouží k ověření, zda nedošlo k chybě při zápisu výsledku, dále k semikvantitativnímu porovnání výsledků a upřesnění vyhodnocení v souvislosti s konkrétní soupravou nebo šarží.

5. Vyhodnocení

Vzorek A

Vzorek A byla defibrinovaná plazma zdravého dárce, který byl HSV séronegativní.

EIA anti HSV IgG (bez stanovení typu)

Všech 55 laboratoří shodně hodnotilo jako negativní (1x prohozené vzorky)

EIA typově specifické protilátky proti HSV1 (anti HSV1 IgG)

Marker hodnotilo 14 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

EIA typově specifické protilátky proti HSV2 (anti HSV2 IgG)

Marker hodnotilo 20 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

EIA anti HSV IgM (bez stanovení typu)

Marker hodnotilo 63 laboratoří, byl zaznamenán neshodný výsledek soupravou Diesse, Chorus HSV1+2 IgM (**3/13 pozitivní**, 0/13 hraniční, 10/13 negativní), 2 různé šarže. *Graf 1 A* ukazuje výsledky indexů positivity ve vzorku vzhledem ke cut off této soupravy.

EIA anti HSV1 IgM

Marker hodnotilo 6 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

EIA anti HSV2 IgM

Marker hodnotilo 5 laboratoří, 1x byl zaznamenán neshodný výsledek soupravou Orgentec Alegria anti HSV2IgM (**1/3 pozitivní**, 0/3 hraniční, 2/3 negativní, odlišná šarže)

NIF anti HSV IgG a NIF anti HSV IgM

Markery hodnotily 3 laboratoře shodně s negativním výsledkem

Immunoblot HSV IgG

Test použilo 6 laboratoří, všichni identická souprava Euroimmun Anti HSV-1/ HSV -2 gG-2 EUROLINE WB IgG, 1x zachycen neshodný výsledek (0/6 pozitivní, **1/6 hraniční HSV2**, 5/6 negativní)

Immunoblot HSV IgM

Test použilo 6 laboratoří, všichni identická souprava Euroimmun Anti HSV-1/ HSV -2 gG-2 EUROLINE WB IgM, 1x zachycen neshodný výsledek (0/6 pozitivní, **1/6 hraniční HSV2**, 5/6 negativní)

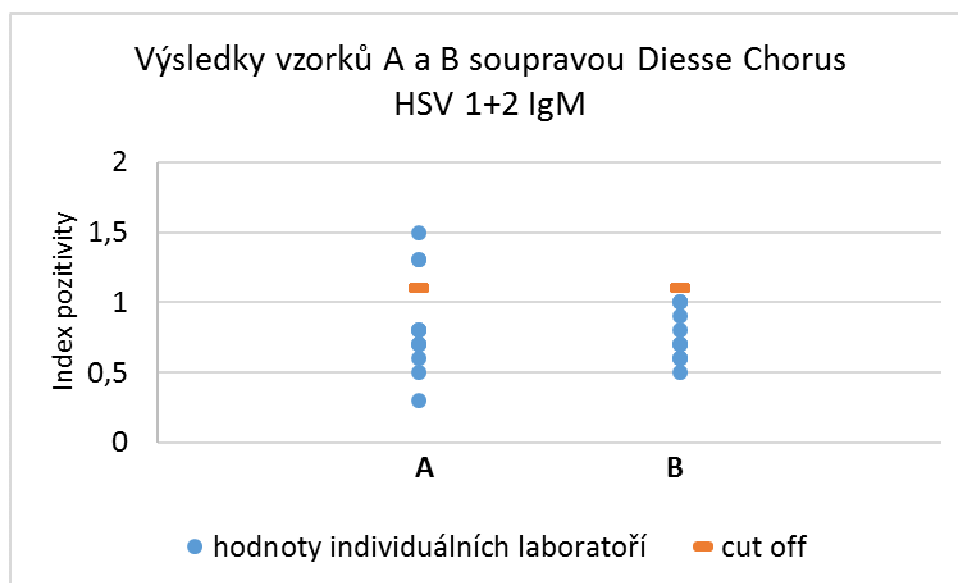
Komplement-fixační reakce

Všechny 3 laboratoře, které test použily, shodně hodnotily vzorek jako negativní.

EIA anti HSV IgA

Všech 6 laboratoří, které test použily, shodně hodnotily vzorek jako negativní.

Graf 1A : Výsledky indexů positivity vzhledem ke cut off soupravy



Zobrazena data od 12 laboratoří (všechny, které uvedly hodnoty a cut off).

Tabulka 3. Přehled výsledků testů anti HSV IgM dle souprav - vzorek B (poolované IgM)

EIA HSV IgM typově nespecifické

Souprava	Výrobce	Pozitivní	Hraniční	Negativní	%Pozitivních
Liaison	Diasorin	8x	5x	9x	36%
Chorus	Diesse	0x	4x	8x	0%
BEP anti-HSV	Enzygnost	0x	1x	0x	0%
EIA HSV	Euroimmun	0x	4x	2x	0%
Herpes 1/2 IgM	Immunolab GmbH	1x	0x	0x	100%
Novalisa HSV type 1+2	Nova Tec Immunodg. GmbH	0x	1x	0x	0%
Alegria Anti –HSV1/2 IgM	Orgentec	0x	0x	2x	0%
RIDASCREEN	r-biopharm	0x	0x	1x	0%
EIA HSV IgM	Test Line	12x	0x	0x	100%
ELISA-VIDITEST anti HSV 1+2 IgM	Vidia	2x	0x	0x	100%
Herpes simplex 1+2 VirClia IgM Monotest	Vircell	0x	0x	1x	0%
Herpes Simplex Virus 1/2 IgM	Virion\Serion GmbH	1x	0x	0x	100%
VIR-ELISA ANTI-HSV SCREENING –IgM	Viro-immun	0x	0x	2x	0%

EIA HSV IgM typově specifické

Chorus HS 1 IgM recombinant	Diesse	0x	0x	1x	0%
Chorus HS 2 IgM recombinant	Diesse	0x	0x	1x	0%
Herpes 1 IgM	Immunolab GmbH	1x	0x	0x	
Herpes 2 IgM	Immunolab GmbH	0x	0x	1x	0%
Novalisa HSV type 1	Nova Tec Immunodg. GmbH	0x	1x	0x	0%
Novalisa HSV type 2	Nova Tec Immunodg. GmbH	0x	0x	1x	0%
Alegria Anti –HSV1 IgM	Orgentec	0x	0x	3x	0%
Alegria Anti –HSV2 IgM	Orgentec	0x	0x	3x	0%
HSV1 IgM	Vircell	0x	0x	1x	0%
HSV 2 IgM	Vircell	0x	0x	1x	0%

Nepřímá imunofluorescence HSV IgM

IF Viditest anti HSV	Vidia	3x	0x	0x	100%
----------------------	-------	----	----	----	------

Immunoblot HSV IgM

Anti-HSV-1/HSV-2-gG-2 EUROLINE-WB IgM	Euroimmun	0x	1x	5x	0%
---------------------------------------	-----------	----	----	----	----

6. Závěr

Série 1027 – sérologie HSV se zúčastnilo 71 laboratoří, 1 laboratoř nedodala výsledky. Po zrušení bodového hodnocení anti HSV IgM protilátek a celkového hodnocení vzorku B uspělo 63 laboratoří bez bodové ztráty, 2 laboratoře s bodovou ztrátou a 5 laboratoří neuspělo.

Série 1027 byla zaměřena na detekci IgM protilátek, která se ukázala jako problematická. Soupravy vykazovaly odlišnou citlivost a objevily se záchyty IgM protilátek v séronegativní defibrinované plazmě.

Detekce anti HSV2 IgG v této sérii nečinila obtíže.

V celkovém hodnocení, pokud netestujete typově specifické protilátky, tak je neuvádějte prosím kódy výsledku, který typově specifické protilátky obsahuje.

Další typy souprav, které se v sérii vyskytly, budou přidány do formuláře.

Opravné kolo proběhne v podzimním termínu, přihlášky podávejte do 14ti dnů od obdržení výsledku.

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

Všem zúčastněným děkujeme a těším se na další spolupráci.

MUDr. Klára Labská
koordinátor série 1027 – sérologie HSV