



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/34/2018 (č. 1044)

Průkaz DNA HSV a VZV

Praha, leden 2018

Obsah

1.	Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2.	Hodnocení	4
3.	Výsledky zúčastněných laboratoří	5
4.	Závěr	10
5.	Příloha: Individuální výsledky laboratoře - kvalitativní	11
	Individuální výsledky laboratoře - kvantitativní	12

Program zkoušení způsobilosti PT#M/34/2018 je zaměřen na průkaz DNA virů HSV a VZV. Návrh a realizace PT#M/34/2018 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.

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: 28. 12. 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/34/2018

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/34/1044/2018
Název:	Průkaz DNA HSV, VZV
Poskytovatel:	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. 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:	EHK - 1044, PT # M/34, č. 1 – 7, 30. 10. 2018
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:	31
Termín distribuce:	30. 10. 2018
Způsob distribuce:	přepravní služba Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	písemně do 20. 11. 2018 na předepsaných formulářích
Způsob vyhodnocení výsledků:	Kvalitativní vyšetření: shodný výsledek 2 body za vzorek Kvantitativní vyšetření: hodnoty do 1 dekadického 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 uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 12 týdnů po obdržení výsledků k hodnocení

2. Hodnocení

Série EHK 1044 obsahovala 7 testovacích lyofilizovaných vzorků. Vzorky byly odeslány k testování 30. 10. 2018, termín pro ukončení testování byl 20. 11. 2018. Do série 1044 se přihlásilo 31 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 1044 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 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]
1/2018	negativní			VZV	218626	21863 - 2186260
2/2018	negativní			VZV	33938	3394 - 339375
3/2018	HSV2	1430	143 - 14300	negativní		
4/2018	HSV2	81900	8190 - 819000	negativní		
5/2018	negativní			negativní		
6/2018	HSV1	134000	13400 - 1340000	negativní		
7/2018	HSV1	1430	143 - 14300	negativní		

3. Výsledky zúčastněných laboratoří

3.1.1. HSV Kvalitativní hodnocení

Zúčastnilo se 31 laboratoří, 3 laboratoře použily 2 testy. Pouze kvalitativní stanovení použilo 20 laboratoří. Výsledky laboratoří a typy chyb 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
1/2018	negativní (VZV)	32/34	1xHSV1 pozitivní 1xHSV2 pozitivní
2/2018	negativní (VZV)	33/34	1xHSV1 pozitivní
3/2018	HSV2	33/34	1xHSV1 pozitivní
4/2018	HSV2	33/34	1xHSV1 pozitivní
5/2018	negativní	33/34	1xHSV1 pozitivní
6/2018	HSV1	34/34	
7/2018	HSV1	33/34	1x nezachyceno HSV1

Tabulka 3: HSV použité komerční soupravy

Výrobce	Kit	Počet použití v sérii	Možnost kvantifikovat
Altona Diagnostics	RealStar HSV PCR Kit	1/32*	ano
AmpliSens	AmpliSens HSV-typing-FRT PCR Kit	1/32*	ano
BioMerieux	Argene HSV1,HSV2,VZV R-gene	2/32*	ano
Elizabeth Pharmacon	EliGene HSV1/HSV2 UNI	1/32*	ano
Fast Track Diagnostics	FTD Herpes simplex virus	1/32*	ano
Fast Track Diagnostics	FTD Neuro 9	1/32*	ne
GeneProof	Herpes Simplex Virus (HSV-1/2) PCR Kit	9/32*	ano
GeneProof	HSV-1 PCR Kit, HSV-2 PCR Kit	3/32*	ano
Inter Lab Service	AmpliSens HSV-typing-FRT	1/32*	ano
KitGen	HSV-1, HSV-2	1/32*	ano
Qiagen	Artus HSV-1/2 LC PCR Kit	3/32*	ano
Qiagen	Artus HSV-1/2 RG PCR Kit	1/32*	ano
Sacace Biotechnologies	HSV 1/2 Typing Real-TM	5/32*	ne
Seegene	Allplex Genital ulcer Assay	2/32*	ne

*2x byla v sérii použita in-house metoda

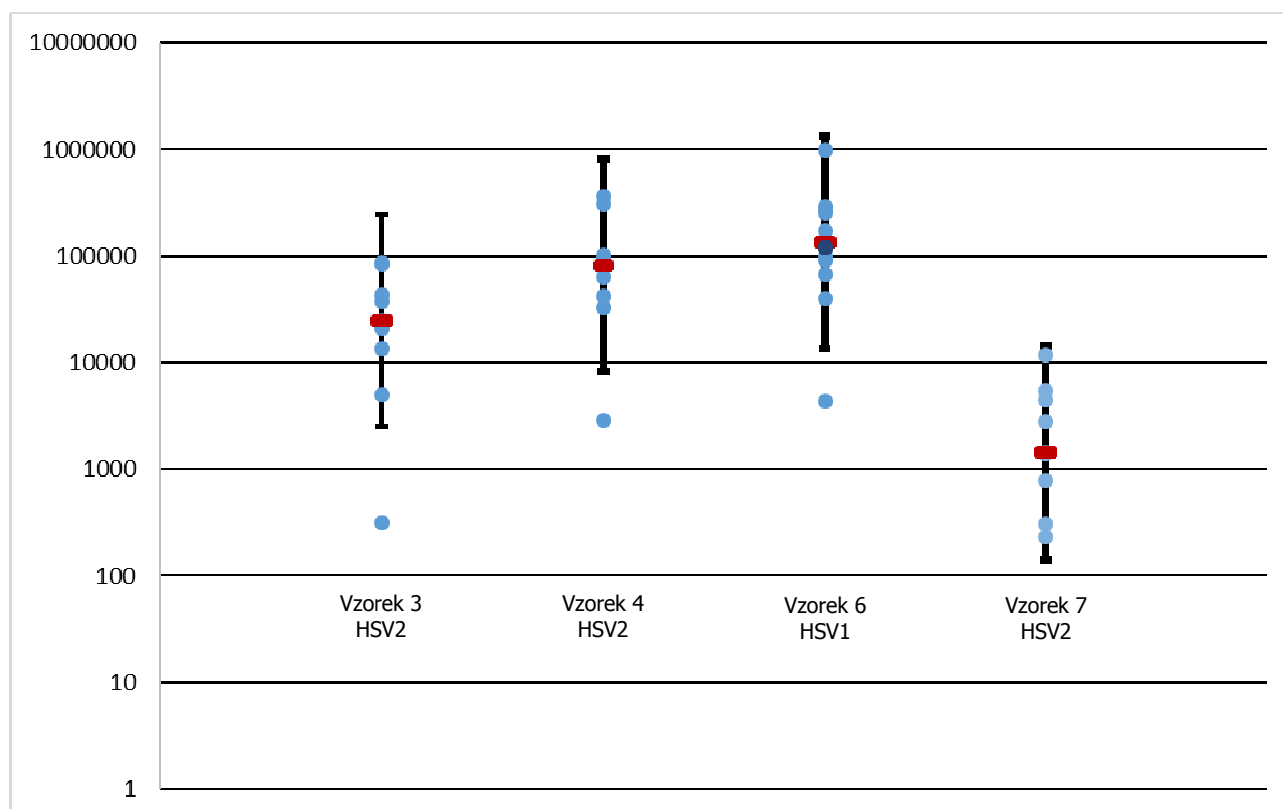
3.1.2. HSV Kvantitativní hodnocení

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*.

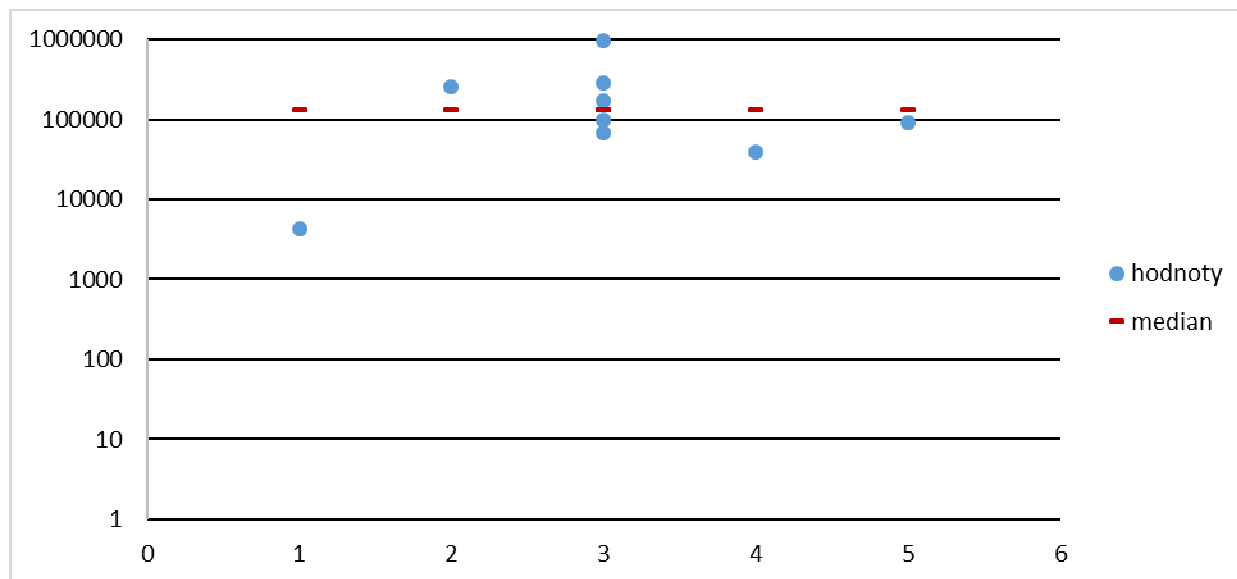
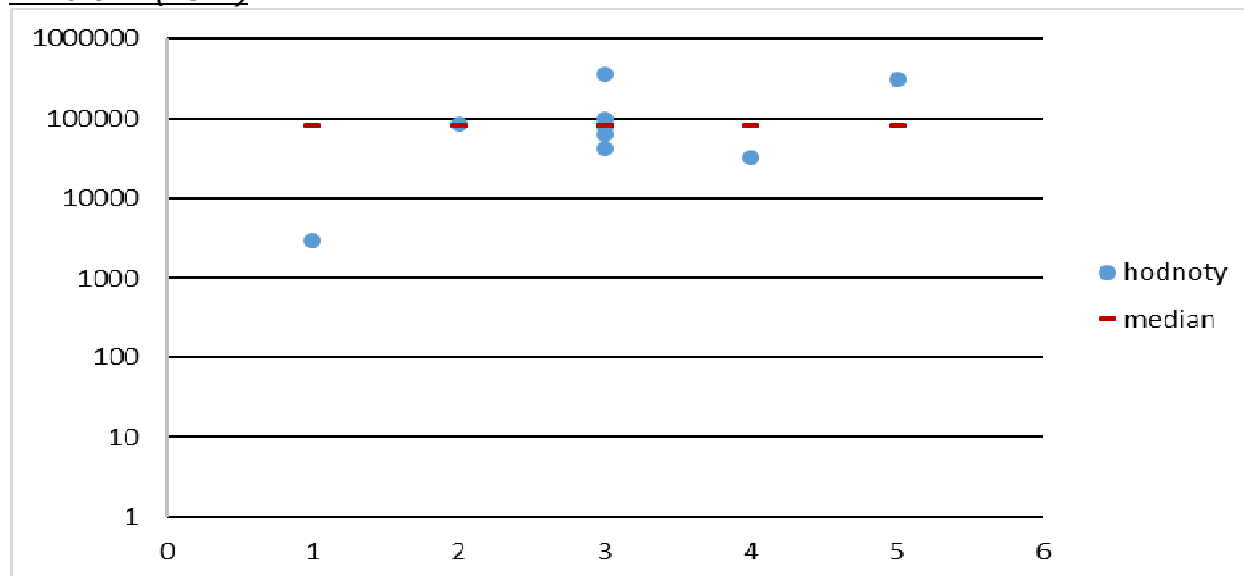
Tabulka 4: Souhrnné výsledky laboratoří – kvantitativní diagnostika HSV

Vzorek	medián	2 body	1 bod	0 bodů
3/2018	HSV2 (24 750 kopií/ml)	9/10	1/10	
4/2018	HSV2 (81 900 kopií/ml)	9/10	1/10	
6/2018	HSV1 (134 000 kopií/ml)	9/10	1/10	
7/2018	HSV1 (1 430 kopií/ml)	10/10		

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 100 000 kopií/ml**A vzorek 6 (HSV1)**B vzorek 4 (HSV2)*

Výsledky jsou uvedeny v kopiích na ml.

Použité soupravy*: 1- Altona Diagnostics, 2- BioMerieux, 3- GeneProof, 4- Kitgen-, 5- Qiagen

*plné názvy souprav jsou uvedeny v Tabulce 3, soupravy jsou identické pro HSV1 i HSV2

3.2. VZV**Kvalitativní hodnocení**

Zúčastnilo se 30 laboratoří, 3 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
1/2018	VZV	33/33	
2/2018	VZV	33/33	
3/2018	negativní	32/33	1x VZV pozitivní
4/2018	negativní	33/33	
5/2018	negativní	32/33	1x VZV pozitivní
6/2018	negativní	33/33	
7/2018	negativní	33/33	

Tabulka 6: VZV použité komerční soupravy

Výrobce	Kit	Počet použití v sérii	Kvantitativní
Altona Diagnostics	RealStar VZV PCR Kit	1/33	ano
BioMerieux	Argene HSV1,HSV2,VZV R-gene	2/33	ano
Clonit	Quanty Varicella zoster virus	1/33	
Elisabeth Pharmacon	EliGene VZV UNI	1/33	ne
Fast Track Diagnostics	FTD Neuro 9	1/33	ne
GeneProof	VZV PCR Kit	13/33	ano
Inter Lab Service	AmpliSens VZV-FRT	1/33	ne
KitGen	VZV	1/33	ano
Qiagen	Artus VZV RG PCR Kit	3/33	ano
Sacace Biotechnologies	VZV Real-TM	5/33	ne
Seegene	Allplex Genital ulcer Assay	2/33	ne
In house	In house	2/33	ano

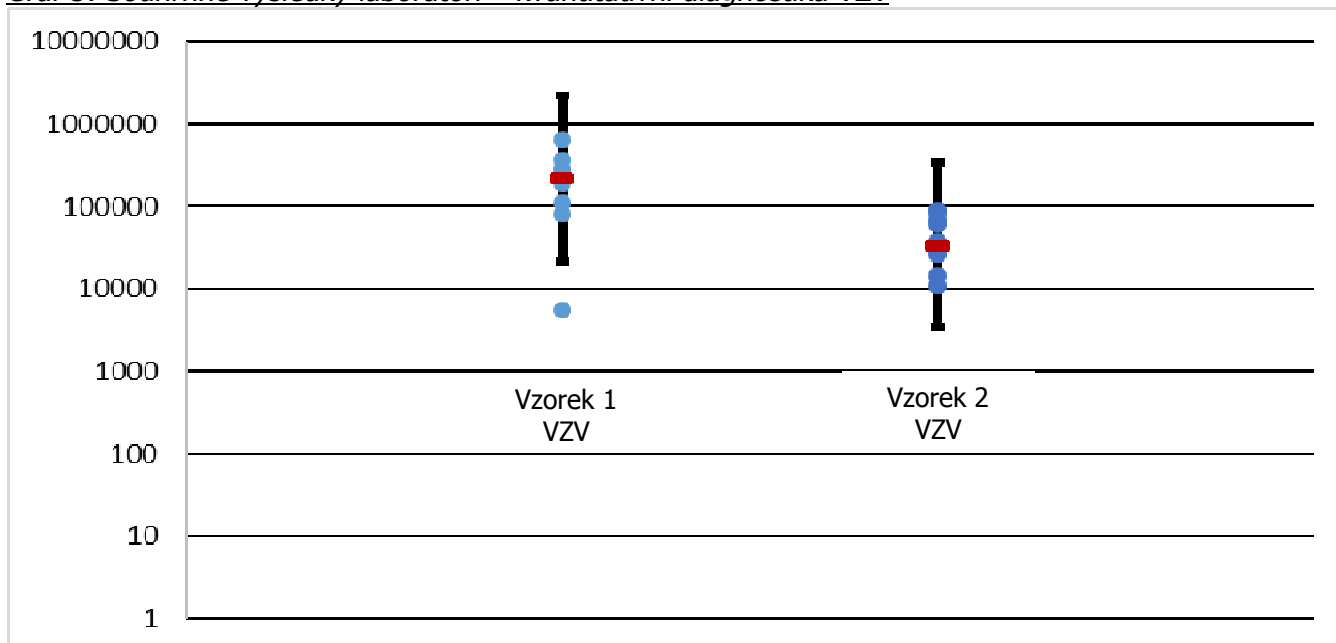
Kvantitativní hodnocení VZV

Kvantitativní hodnocení odevzdalo 10 laboratoří, výsledky jsou uvedeny v *Tabulce 7 a Grafu 3*.

Tabulka 7: Souhrnné výsledky laboratoří – kvantitativní diagnostika VZV

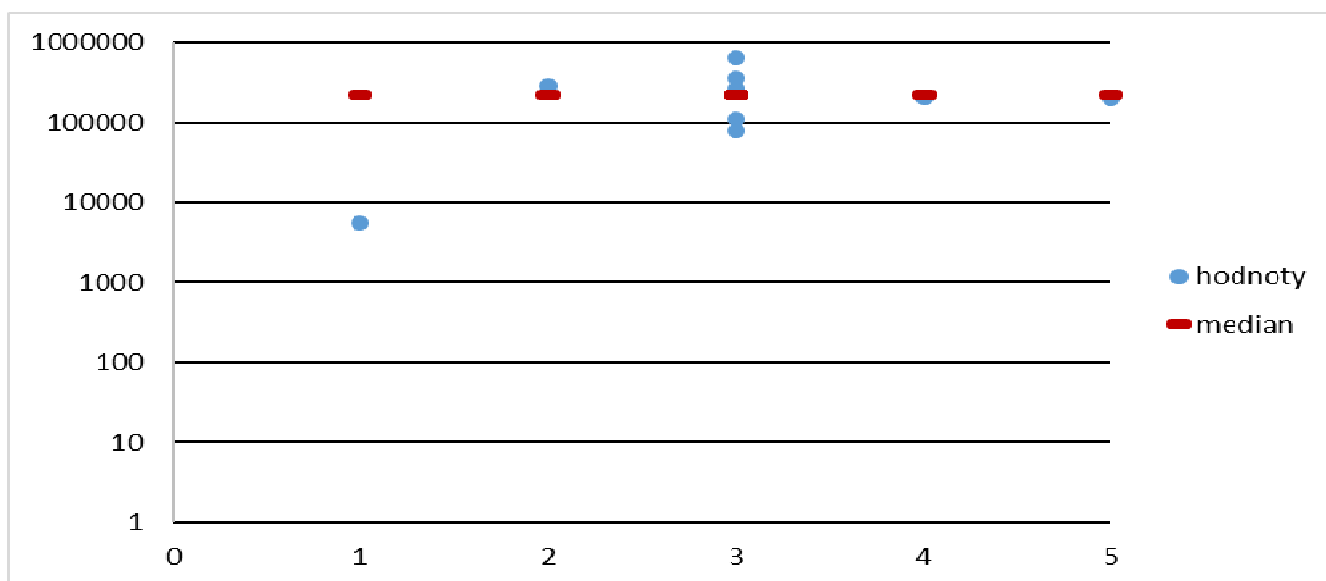
Vzorek	medián	2 body	1 bod	0 bodů
1/2018	VZV (218 626 kopií /ml)	9/10	1/10	
2/2018	VZV (33 938 kopií /ml)	9/10	1/10	

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**



Výsledky jsou uvedeny v kopiích na ml.

Použité soupravy: 1- Altona Diagnostics, 2 - BioMerieux, 3 - GeneProof, 4 - KitGen, 5

*plné názvy souprav jsou uvedeny v Tabulce 6

4. Závěr

Série EHK č. 1044 „Průkaz DNA HSV a VZV“ se zúčastnilo 31 laboratoří. Dvě laboratoře v sérii neuspěly. První laboratoř neuspěla, protože detekovala HSV1 i ve 3 HSV1 negativních vzorcích (suspektní problémy s přesvědčováním kanálu pro interní standard, žádný vzorek nevyhodnotila jako negativní) a druhá laboratoř zachytila VZV i ve 3 VZV negativních vzorcích (opět nejspíš problémy s přesvědčováním kanálů), obě laboratoře používaly kity výrobce Gene Proof (1 z 9 a 1 z 13 použití v sérii). Jedna laboratoř ztratila 2 body za falešnou pozitivitu HSV2 ve vzorku 1 a jedna laboratoř ztratila 2 body za nedetekování HSV1 ve vzorku 7 (medián 1430 kopií/ml). Ostatní laboratoře uspěly v kvalitativním hodnocení bez ztráty bodu.

V kvantitativním hodnocení měla problémy pouze 1 laboratoř u 5 ze 6 kvantitativních vzorků (kvantifikovala o řád níže). Všechny laboratoře, které se zúčastnily kvantitativního porovnání, obdrží certifikát o účasti s počtem dosažených bodů.

Všem děkujeme a těšíme se další spolupráci.

V případě reklamací vyhodnocení série postupujte dle reklamačního řádu. Laboratoře, které neuspěly, mohou do 14 dnů po obdržení výsledků požádat o opravnou sérii vzorků EHK.

MUDr. Klára Labská,
koordinátor série 1044.