



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/34/2019 (č. 1099)

Průkaz DNA HSV a VZV

Praha, prosinec 2019

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 - kvalitativní	
6.	Individuální výsledky laboratoře - kvantitativní	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/34/2019 je zaměřen na průkaz DNA virů HSV a VZV. Návrh a realizace PT#M/34/2019 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. 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. 12. 2019

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/34/2019

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/34/2019, EHK 1099
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 zorkovnic:	EHK 1099, PT # M/34, č. 1 -7, 29. 10. 2019
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:	29. 10. 2019
Způsob distribuce:	Přepravní službou v termínu určeném AP CEM (zajišťuje AP CEM)
Předání výsledků:	V elektronické podobě přes webové rozhraní SZÚ do 19. 11. 2019
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 odlehlé hodnoty
Termín uveřejnění závěrečné zprávy účastníkům:	Do 12 týdnů po obdržení výsledků k hodnocení

2. Hodnocení

Série EHK 1099 obsahovala 7 testovacích lyofilizovaných vzorků. Vzorky byly odeslány k testování 29. 10. 2019, termín pro ukončení testování byl 19. 11. 2019. Do série 1099 se přihlásilo 30 laboratoří v řádném termínu a jedna dodatečně, všechna vyhodnocení byla zaslána v elektronické podobě za použití programu EHK 10.

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 1099 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]
1/2019	negativní			negativní		
2/2019	negativní			VZV	25 000	2500 – 250 000
3/2019	negativní			VZV	21 178	2118 – 211 780
4/2019	HSV2	187 110	18711 - 1871100	negativní		
5/2019	HSV1	2 880 000	288 000 – 28 800 000	negativní		
6/2019	HSV1	260 000	26 000 – 2 600 000	negativní		
7/2019	HSV2	125 750	12 575 – 1 257 500	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
1/2019	negativní	31/31	
2/2019	negativní (VZV)	31/31	
3/2019	negativní (VZV)	31/31	
4/2019	HSV2	31/31	
5/2019	HSV1	31/31	
6/2019	HSV1	31/31	
7/2019	HSV2	31/31	

Tabulka 3: HSV použité komerční soupravy

Výrobce	Kit	Počet použití v sérii	Možnost kvantifikovat
BioMerieux	Argene HSV1,HSV2,VZV R-gene	2	ano
Elisabeth Farmacon	EliGene HSV1/HSV2 UNI	1	ano
Fast Track Diagnostics	FTD Herpes simplex virus	1	ano
GeneProof	Herpes Simplex virus (HSV-1/2) PCR Kit	8	ano
GeneProof	HSV-1 PCR Kit, HSV-2 PCR Kit	4	ano
In house_HSV	nd	2	nd
Inter Lab Service	AmpliSens HSV-typing-FRT	1	ano
Qiagen	Artus HSV-1/2 LC PCR Kit	3	ano
Sacace Biotechnologies	HSV 1/2 Typing Real-TM	6	ne
Seegene	Allplex Genital ulcer Assay	1	ne

*2x byla v sérii použita in-house metoda

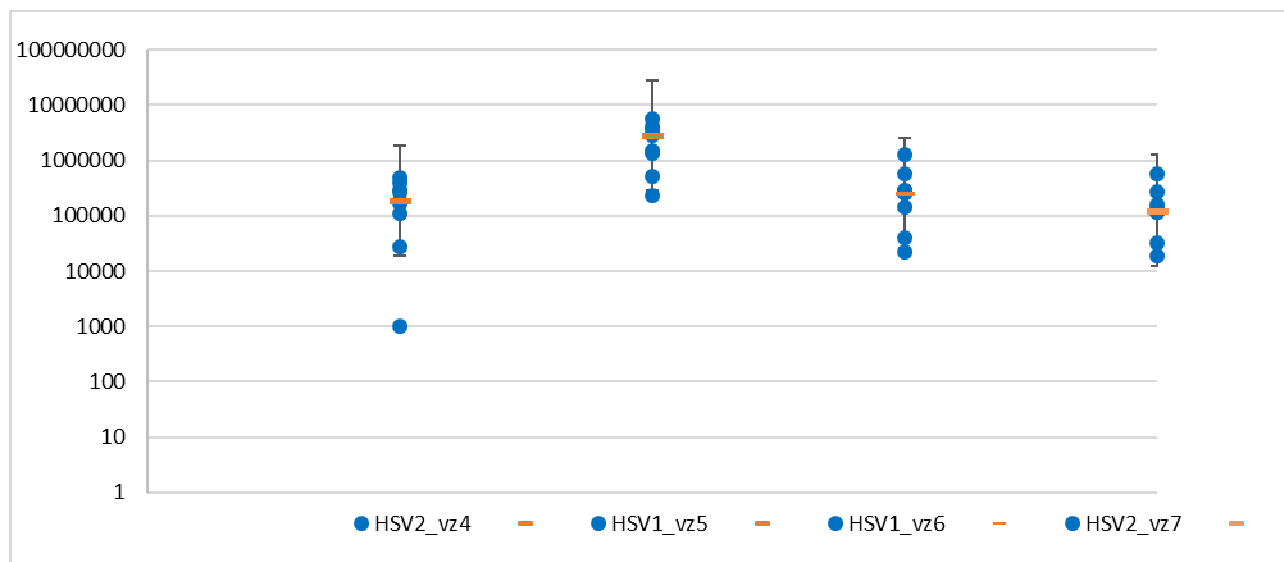
3.1.2. HSV Kvantitativní hodnocení

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*.

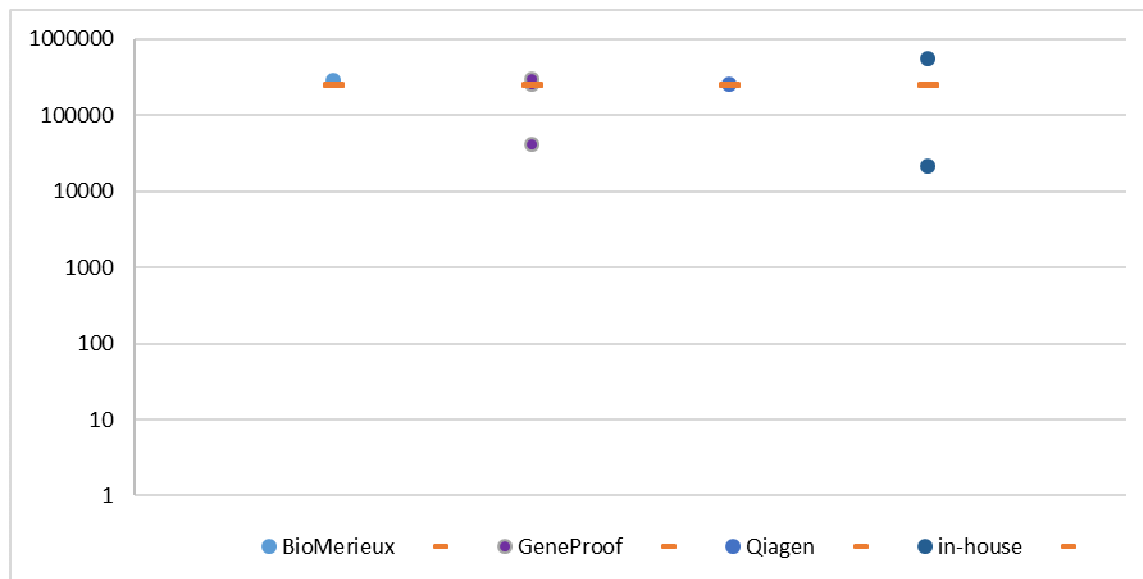
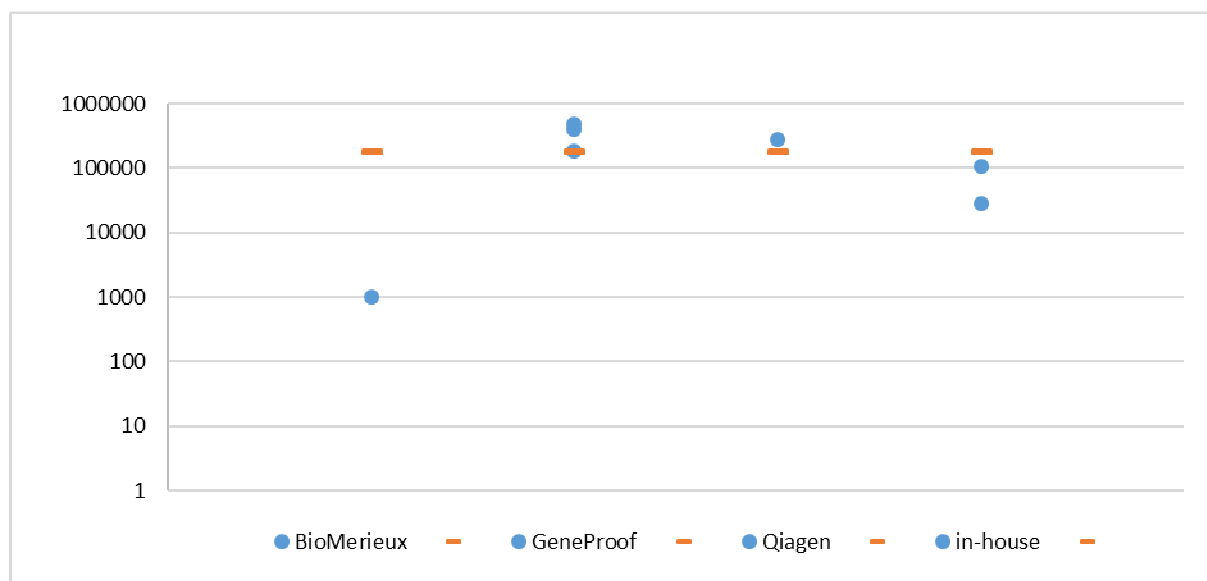
Tabulka 4: Souhrnné výsledky laboratoří – kvantitativní diagnostika HSV

Vzorek	Medián (kopie/ml)	2 body	1 bod	0 bodů
4/2019	187110		8/9	1/9
5/2019	2880000		8/9	1/9
6/2019	260000		8/9	1/9
7/2019	125750		9/9	0/9

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 4 (HSV2)*

Výsledky jsou uvedeny v kopiích na ml.

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

3.2. VZV**Kvalitativní hodnocení**

Zúčastnilo se 31 laboratoří. Souhrnné výsledky kvalitativní diagnostiky VZV jsou uvedeny v *Tabulce 5*. Použité komerční soupravy a počet použití v sérii jsou uvedeny v *Tabulce 6*. Kvantitativní výsledky jsou uvedeny v *Grafu 3* a kvantitativní výsledky dle souprav jsou uvedeny v *Grafech 4 a 5*

Tabulka 5: Souhrnné výsledky laboratoří – kvalitativní diagnostika VZV

Vzorek	Správný výsledek	Počet správných výsledků/celkem	Typ chyby
1/2019	negativní	31/31	
2/2019	VZV	31/31	
3/2019	VZV	31/31	
4/2019	negativní	31/31	
5/2019	negativní	31/31	
6/2019	negativní	31/31	
7/2019	negativní	31/31	

Tabulka 6: VZV použité komerční soupravy

Výrobce	Kit	Počet použití v sérii	Možnost kvantifikovat
BioMerieux	Argene HSV1,HSV2,VZV R-gene	2	ano
Clonit	Quanty Varicella zoster virus	1	ne
GeneProof	VZV PCR Kit	4	ano
In house_VZV	In house_VZV	1	ano
Inter Lab Service	AmpliSens HSV-typing-FRT	1	ne
Qiagen	Artus VZV LC PCR Kit	1	ano
Sacace Biotechnologies	VZV Real-TM	3	ne
Seegene	Allplex Genital ulcer Assay	1	ne
neuveđen	neuveđeno	15	

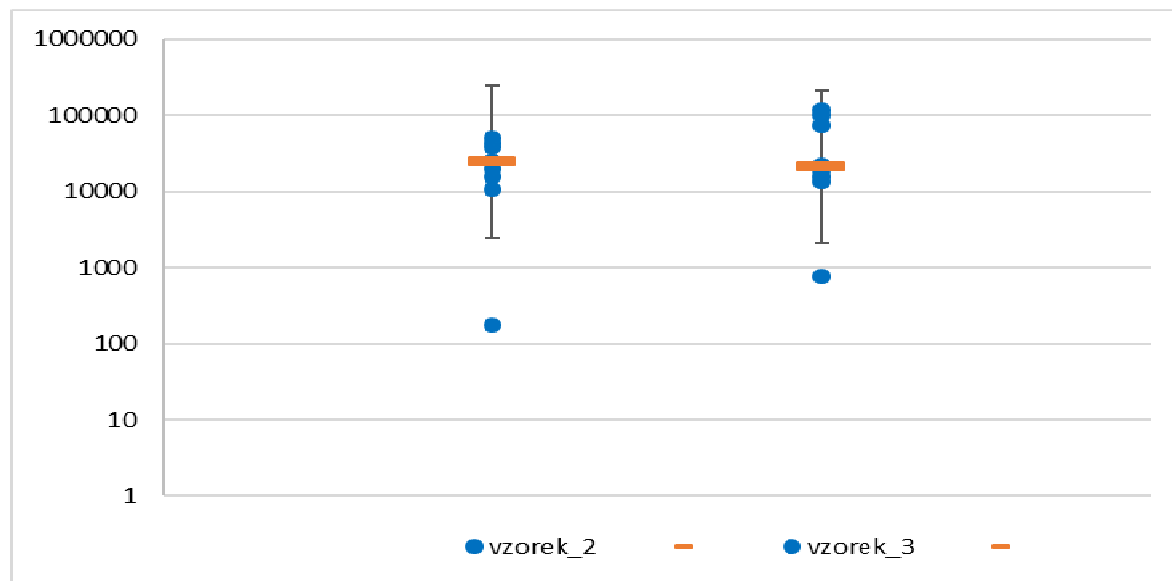
Kvantitativní hodnocení VZV

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

Tabulka 7: Souhrnné výsledky laboratoří – kvantitativní diagnostika VZV

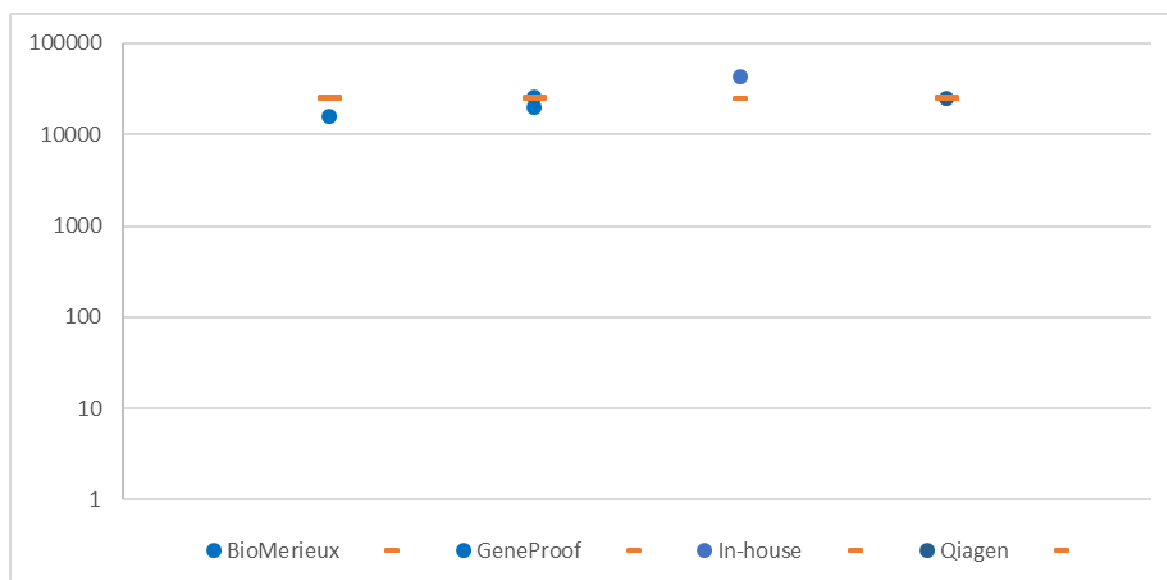
Vzorek	Medián (kopie/ml)	2 body	1 bod	0 bodů
2/2019	VZV (25000kopií /ml)	8/9	1/9	0/9
3/2019	VZV (21178 kopií /ml)	8/9	1/9	0/9

Graf 3: Souhrnné výsledky laboratoří – kvantitativní diagnostika VZV

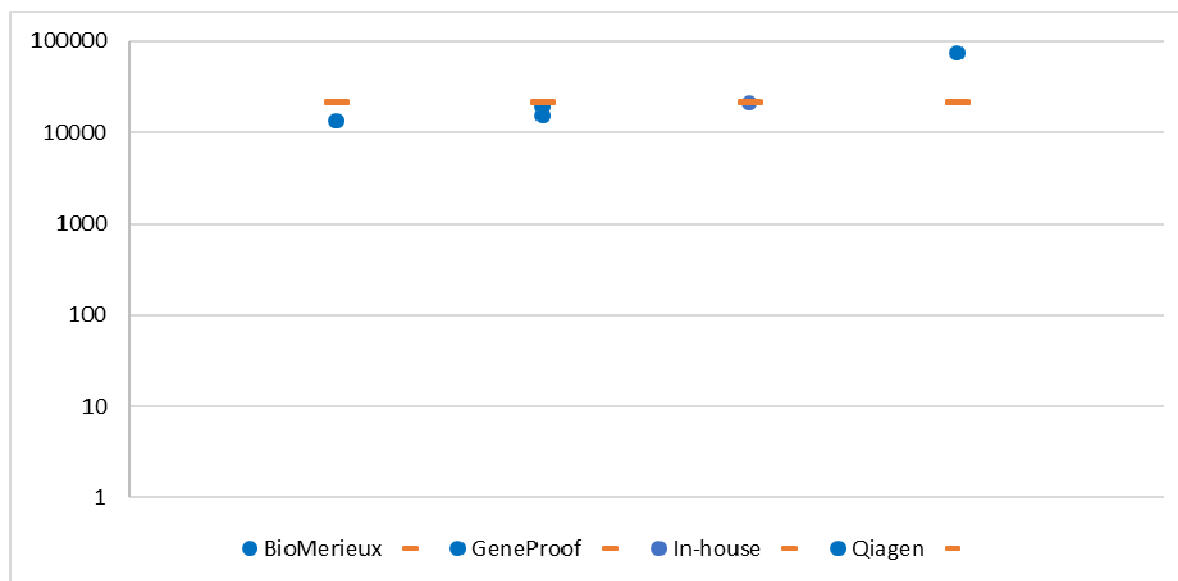


Výsledky jsou uvedeny v kopiích na ml. Chybové úsečky ukazují rozmezí akceptovaných hodnot za 2 body.

*Graf 4: kvantitativní výsledky vzorku 2 (VZV) dle souprav**



Výsledky jsou uvedeny v kopiích na ml, plné názvy souprav jsou uvedeny v *Tabulce 6*

Graf 5: kvantitativní výsledky vzorku 3 (VZV) dle souprav*

Výsledky jsou uvedeny v kopiích na ml, plné názvy souprav jsou uvedeny v Tabulce 6

4. Závěr

Série EHK č. 1099 „Průkaz DNA HSV a VZV“ se zúčastnilo 31 laboratoří, 1 laboratoř se přihlásila dodatečně. Výsledky byly nově podávány přes elektronický formulář na stránkách SZÚ. Formulář bude ještě opravován dle připomínek účastníků.

V kvalitativním hodnocení všechny laboratoře uspěly bez ztráty bodu.

V kvantitativním hodnocení měla problémy zejména 1 laboratoř, nižších hodnot dosáhla u 4 ze 6 kvantifikovaných vzorků (kvantifikovala o řád níže). Všechny laboratoře, které se zúčastnily kvantitativního porovnání, obdrží certifikát o účasti.

Všem děkujeme a těšíme se na další spolupráci.

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

MUDr. Klára Labská,
koordinátor série 1099.