



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001 akreditovaný ČIA
podle ČSN EN ISO/IEC 17043: 2010
Šrobárova 49/48, 100 00, Praha 10



Závěrečná zpráva

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii
(Externí hodnocení kvality)

PT#M/27/2022 (EHK 1278)

Sérologie VZV

Praha, srpen 2022

Obsah

1.	Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2.	Způsob přípravy vzorků	4
3.	Charakteristika materiálu	4
4.	Způsob hodnocení	5
5.	Vyhodnocení	6
6.	Závěr	8
	Příloha 1 – přehled výsledků jednotlivých laboratoří a použitých testů	
	Příloha 2 – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/27/2022 (EHK 1278) je zaměřen na detekci různých sérologických stavů protilátek proti VZV z krevního séra nebo plazmy.

Návrh a realizace PT#M/27/2022 (EHK 1278) byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/27 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 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 pro každou zúčastněnou laboratoř k dispozici ve webové aplikaci SZÚ v odkazu: <https://ehk.szu.cz/EHK10/> po přihlášení kódem laboratoře a heslem.

Zprávu vypracovaly:

Ing. Michaela Růžková, Ph.D. a Mgr. Markéta Pumánová, NRL pro herpetické viry, SZÚ Praha

Zprávu autorizoval:

Ing. Michaela Růžková, Ph.D.

Tel. 267 082 476

Dne: 12. 8. 2022

Pracoviště 2 ESPT

<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>

e-mail: ehk@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/27/2022

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1278
Název:	Sérologie VZV
Koordinátor:	Ing. Michaela Růžková, Ph.D.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3
Podstata a účel PT/EHK:	Průkaz protilátek třídy IgG a IgM proti antigenům viru Varicella-zoster a souhrnná interpretace provedených testů.
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Vyšetření obou vzorků imunoanalytickými metodami, minimálně 1x IgM a 1x IgG u každého vzorku a odeslání výsledků ve stanoveném termínu. Požadavky na laboratoře: zajištění laboratorních procesů podle ČSN EN ISO 15189:2013
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2
Množství připravovaného testovaného materiálu:	86 sad (1 sada á 2 vzorky po 0,3 ml)
Označení vzorkovnic:	EHK 1278, PT # M/27, vzorky 1-2, 24. 5. 2022
Zabezpečení kvality vzorku:	Zabezpečení homogenity: Homogenita je zajištěna promícháním vzorků před zahájením alikvotování a rovněž v jeho průběhu. Zabezpečení stability vzorků: Stabilita je zajištěna vhodným skladováním, rychlým transportem ke zpracování a určením termínu, do kterého musí být odeslán výsledek zpět k vyhodnocení. Dlouhodobá stabilita vzorků je zajištěna přidáním ProClin 950 s antibakteriálními účinky v koncentraci 0,01 %.
Test homogenity a stability:	Kvalita, homogenita a stabilita jsou posuzovány na základě trojího opakovaného testování: před alikvotováním, před distribucí a v blízkosti uzávěrky série. Test homogenity je proveden po rozplnění vzorku do transportních mikrozkuvek na 3 náhodně vybraných vzorcích. Průkazem homogenity a stability vzorků je dosažení totožných výsledků v čase.
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Distribuce v předepsaném obalu. Přeprava a krátkodobé uchování vzorků v chladničce při teplotě 2-8°C. Zbytek vzorků po otestování uchovat při teplotě vhodné pro dlouhodobé skladování klinického materiálu tohoto typu (-20°C a nižší). Zamezit opakovanému rozmrazování.
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe a pokynů organizátora, záměna vzorků, selhání lidského faktoru.
Počet účastníků:	66
Termín distribuce:	24. 5. 2022
Způsob distribuce:	Přepravní službou (zajišťuje Koordinační pracoviště)
Předání výsledků:	V elektronické podobě za použití aplikace EHK10 do 14. 6. 2022
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4
Určení maximální směrodatné odchylky:	Nestanovuje se.
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Vztažnou hodnotou jsou očekávané výsledky NRL získané trojím opakovaným testováním.
Termín uveřejnění očekávaných výsledků	20. 6. 2022
Termín uveřejnění závěrečné zprávy	Do 6. 9. 2022

2. Způsob přípravy vzorků

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byly lidské plazmy, které byly vyšetřeny na přítomnost cílových markerů před alikvotováním, před distribucí a v blízkosti uzávěrky série (viz Test homogenity a stability).

Pro zajištění stability byl do výchozího materiálu přidán po rozmražení ProClin 950 ve výsledné koncentraci 0,01%.

Finální (rozplněné) vzorky byly testovány na přítomnost cílových markerů metodami EIA a NIF dle SOP-NRL/HV-01 a SOP-NRL/HV-03.

3. Charakteristika materiálu

Série 1278 obsahovala 2 vzorky (po 0,3 ml) k vyšetření protilátek třídy IgM a IgG, a navíc možné doplňkové stanovení avidity VZV IgG.

Vzorek A byl tvořen plazmou zdravého dárce s anamnestickými protilátkami proti VZV

Vzorek B byl tvořen plazmou zdravého VZV séronegativního dárce

Vzorky byly kódovány, Vaše individuální kódování je uvedeno na výsledkovém protokolu.

Tabulka 1: Správné výsledky

	EIA VZV IgG	EIA VZV IgM	NIF VZV IgG	NIF VZV IgM	Avidita VZV IgG
Vzorek A	pozitivní	negativní	pozitivní	negativní	vysokoavidní
Vzorek B	negativní	negativní	negativní	negativní	nelze

3.1. Test homogenity a stability

Homogenita byla zajištěna promícháním vzorku před zahájením alikvotování a rovněž v jeho průběhu. Test homogenity byl proveden při 2. testování (po rozplnění vzorku do transportních mikrozkuvek) před odesláním účastníkům na 3 náhodně vybraných vzorcích.

Stabilita vzorků byla zajištěna přidáním ProClin 950 s antibakteriálními účinky v koncentraci 0,01 % a vhodným skladováním (dle potřeby při -20°C, resp. +2 až +8°C).

Kvalita, homogenita a stabilita jsou posuzovány na základě tří opakovaných testování: při přípravě, před distribucí a v blízkosti uzávěrky série. Průkazem homogenity a stability je dosažení totožných výsledků v čase. Výsledky testu homogenity a stability jsou uvedeny v Tabulce 3 a 4.

Tabulka 2: Soupravy použité v NRL pro test homogenity a stability

Metoda	Marker	Výrobce	Souprava
ELISA	VZV IgG	Euroimmun	CSF: Anti-VZV ELISA (IgG)
ELISA	VZV IgM	Vidia	ELISA-VIDITEST anti-VZV IgM
ELISA	Avidita VZV IgG	Vidia	ELISA-VIDITEST anti-VZV IgG (CSF) a avidita IgG
NIF	VZV IgG	Vidia	IF-VIDITEST anti-VZV IgG
NIF	VZV IgM	Euroimmun	Anti-VZV IIFT (IgM)

Tabulka 3: Test homogenity a stability u vzorku A

Marker	A (1)	A (2-1)	A (2-2)	A (2-3)	A (3)
VZV IgG (IU/l)	3819 pozitivní	4040 pozitivní	4029 pozitivní	4080 pozitivní	4058 pozitivní
VZV IgG Titr	1:40 pozitivní	1:40 pozitivní	1:40 pozitivní	1:40 pozitivní	1:40 pozitivní
VZV IgM IP	0,27 negativní	0,25 negativní	0,30 negativní	0,27 negativní	0,15 negativní
VZV IgM Titr	1:10 negativní	1:10 negativní	1:10 negativní	1:10 negativní	1:10 negativní
Avidita VZV IgG	92 % vysokoavidní	83 % vysokoavidní	81 % vysokoavidní	83 % vysokoavidní	74 % vysokoavidní

Tabulka 4: Test homogenity a stability u vzorku B

Marker	B (1)	B (2-1)	B (2-2)	B (2-3)	B (3)
VZV IgG (IU/l)	< 10 negativní	< 10 negativní	< 10 negativní	< 10 negativní	< 10 negativní
VZV IgG Titr	1:10 negativní	1:10 negativní	1:10 negativní	1:10 negativní	1:10 negativní
VZV IgM IP	0,14 negativní	0,10 negativní	0,08 negativní	0,11 negativní	0,15 negativní
VZV IgM Titr	1:10 negativní	1:10 negativní	1:10 negativní	1:10 negativní	1:10 negativní
Avidita VZV IgG	nelze	nelze	nelze	nelze	nelze

Vysvětlivky k tabulce č.2 a 3:

- A/B (1) 1. test stability - před rozplněním vzorků do transportních mikrozkuvek (rozplnění 6. 5. 2022)
- A/B (2-1), A/B (2-2), A/B (2-3) 2. test stability společně s testem homogenity na třech náhodně vybraných vzorcích - před odesláním účastníkům (odeslání 24. 5. 2022)
- A/B (3) 3. test stability – v blízkosti uzávěrky série (uzávěrka 14. 6. 2022)
- IP index positivity

4. Způsob hodnocení

Za vztažnou hodnotu pro vyhodnocení jsou brány výsledky NRL, ale přihlíží se k výsledkům všech zúčastněných laboratoří jako celku. Výsledky jsou hodnoceny jako kvalitativní (pozitivní, hraniční, negativní).

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

Jednotlivé markery jsou hodnoceny samostatně. Markery **VZV IgG a VZV IgM** jsou hodnoceny **2 body** za vzorek při shodě, při částečné neshodě (např. hraniční) pouze **1 bodem**.

Celková interpretace vzorku je hodnocena **2 body** za vzorek. Interpretace musí odpovídat získaným výsledkům, jsou-li výsledky v rozporu s interpretací, musí laboratoř interpretaci zdůvodnit komentářem.

Marker **VZV IgA**

Výsledek není bodován, má hodnotu mezilaboratorního porovnání (v komentáři je uvedeno, zda mezi účastníky došlo ke shodě).

Metody na principu KFR

Výsledek není bodován, má hodnotu mezilaboratorního porovnání (v komentáři je uvedeno, zda mezi účastníky došlo ke shodě).

Kvantitativní výsledky, které účastníci zaslali, slouží k ověření, zda byl přiřazen odpovídající závěr, dále k vzájemnému porovnání hodnot a analýze dat v souvislosti s konkrétní soupravou nebo šarží.

Pro usnadnění komunikace jsou navrženy tyto předdefinované **interpretace**:

1. séronegativní
2. anamnestické protilátky
3. sérologické známky akutní infekce
4. stav po recentně proběhlé primoinfekci (pouze v případě, že laboratoř testuje aviditu protilátek)

Interpretace musí odpovídat dosaženým výsledkům, pokud jsou výsledky některých testů v rozporu s interpretací, laboratoř musí hodnocení zdůvodnit komentářem.

U každé laboratoře je vypočtena procentuální úspěšnost, definovaná jako podíl maximálního dosažitelného počtu bodů a skutečně dosaženého počtu bodů (maximální dosažitelný počet bodů je dán počtem vyšetřovaných markerů). **Hranice úspěšnosti pro EHK 1278 byla stanovena na 80%.**

V případě mimořádně závažné chyby si koordinátor při posuzování úspěšnosti laboratoře vyhrazuje právo rozhodnout direktivně bez ohledu na dosaženou procentuální úspěšnost. Koordinátor si dále vyhrazuje právo v případě rozporuplných výsledků u některého z testů vyřadit tento test z hodnocení.

5. Vyhodnocení

Vzorek A

Celková interpretace: **2 - anamnestické protilátky**

Marker VZV IgG – pozitivní

Metody na bázi EIA: vyšetřilo 64 laboratoří, z toho 62 jako pozitivní, 2 jako negativní

Metody na bázi NIF: vyšetřily 3 laboratoře, všechny jako pozitivní

Marker Avidita VZV IgG – vysokoavidní

Maker testovalo 8 laboratoří, z toho 7 jako vysokoavidní, 1 jako nízkoavidní

Marker VZV IgM – negativní

Metody na bázi EIA: vyšetřilo 63 laboratoří, všechny jako negativní

Metody na bázi NIF: vyšetřily 3 laboratoře, všechny jako negativní

Marker VZV IgA - negativní

Metody na bázi EIA: vyšetřily 3 laboratoře, všechny jako negativní

Komplement fixační reakce - pozitivní

Test použily 2 laboratoře, obě s výsledkem pozitivním.

Vzorek BCelková interpretace: **1 - séronegativní****Marker VZV IgG – negativní**Metody na bázi EIA: vyšetřilo 64 laboratoří, z toho 63 jako negativní, 1 jako pozitivníMetody na bázi NIF: vyšetřily 3 laboratoře, všechny jako negativní**Marker Avidita VZV IgG – nestanovuje se u VZV séronegativního vzorku****Marker VZV IgM – negativní**Metody na bázi EIA: vyšetřilo 63 laboratoří, všechny jako negativníMetody na bázi NIF: vyšetřily 3 laboratoře, všechny jako negativní**Marker VZV IgA - negativní**Metody na bázi EIA: vyšetřily 3 laboratoře, všechny jako negativní**Komplement fixační reakce - negativní**

Test použily 2 laboratoře, obě s výsledkem negativním

Přehled používaných testů u vybraných diagnostických markerů shrnují Tabulky č. 5 a 6.

Tabulka 5: Marker **VZV IgG** (N = 67)

Výrobce	Souprava	Celkem	A			B		
			P	H	N	P	H	N
bioMérieux	VIDAS Varicella-Zoster igG	1	1	0	0	0	0	1
DiaSorin	LIAISON VZV IgG	20	20	0	0	0	0	0
Diesse	CHORUS Varicella IgG	12	12	0	0	0	0	0
Euroimmun	Anti-VZV-ELISA IgG	9	9	0	0	0	0	0
NovaTec Immunodg.	NovaLisa VZV IgG ELISA	2	1	0	1	1	0	1
Orgentec	Alegria Anti-VZV IgG	4	4	0	0	0	0	0
TestLine	EIA VZV IgG	8	8	0	0	0	0	0
Vidia	ELISA-VIDITEST anti-VZV IgG (CSF)	5	5	0	0	0	0	0
Vidia	IF-VIDITEST anti-VZV IgG	3	3	0	0	0	0	0
Vircell	VZV VirCLIA IgG Monotest	3	2	0	1	0	0	3

Tabulka 6: Marker **VZV IgM** (N = 66)

Výrobce	Souprava	Celkem	A			B		
			P	H	N	P	H	N
DiaSorin	LIAISON VZV IgM	19	0	0	19	0	0	19
Diesse	CHORUS Varicella IgM	12	0	0	12	0	0	12
Euroimmun	Anti-VZV-ELISA-IgM	9	0	0	9	0	0	9
NovaTec Immunodg.	NovaLisa VZV IgM ELISA	2	0	0	2	0	0	2
Orgentec	Alegria Anti-VZV IgM	4	0	0	4	0	0	4
TestLine	EIA VZV IgM	9	0	0	9	0	0	9
Vidia	ELISA-VIDITEST anti-VZV IgM	5	0	0	5	0	0	5
Vidia	IF-VIDITEST anti-VZV IgM	3	0	0	3	0	0	3
Vircell	VZV VirCLIA IgM Monotest	3	0	0	3	0	0	3

Vysvětlivky k tabulkám č. 5 a 6:

A, B vzorek A, B (vzorky byly individuálně kódované)

P, H, N pozitivní, hraniční, negativní výsledek

6. Závěr

EHK 1278 „Sérologie VZV“ byla zaměřena na stavy mimo aktivní VZV infekci - séronegativita resp. anamnestické protilátky.

K testování série EHK 1278 se přihlásilo celkem 66 laboratoří, všechny dodaly výsledky v termínu. Uspělo 65 laboratoří, z toho dvě s bodovou ztrátou. Neuspěla pouze 1 laboratoř, která vykázala dva neshodné výsledky, zřejmě v důsledku záměny vzorků.

Laboratoř, která neuspěla má možnost objednat si opravnou sérii EHK přes webovou aplikaci SZÚ: <https://ehk.szu.cz/EHK10/>, viz informace o změnách v objednávání opravných sérií a zadávání reklamací na webových stránkách SZÚ: <http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-promikrobiologicke-laboratore>. Opravná série se bude rozesílat dne 11. 10. 2022.

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamace použijte také webovou aplikaci SZÚ.

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY