



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/26/2021 (EHK 1202)

Sérologie HSV

Praha, červenec 2021

Obsah

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

Program zkoušení způsobilosti PT#M/26/2021 (EHK 1202) je zaměřen na detekci různých sérologických stavů protilátek proti HSV z krevního séra a krevní plazmy.

Návrh a realizace PT#M/26/2021 (EHK 1202) 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 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 pro každou zúčastněnou laboratoř k dispozici na webových stránkách SZÚ (<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>) po přihlášení kódem a heslem v záložce „Hodnocení sérií“.

Zprávu vypracoval:

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

Zprávu autorizoval:

Ing. Michaela Růžková, Ph.D.

Tel. 267 082 247 (476)

Dne: 29. 7. 2021

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/26/2021

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1202
Název:	Sérologie HSV
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 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 Požadavky na laboratoře: zajištění laboratorních procesů podle ČSN EN ISO 15189:2013
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2
Množství připravovaného testovaného materiálu:	85 sad (1 sada á 2 vzorky po 0,3 ml)
Označení vzorkovnic:	EHK 1202, PT # M/26, č. 1-2, 25. 5. 2021
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 950 ve výsledné koncentraci 0.01% ve vzorku
Test 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 3. Finální vzorek je testován na všechny cílové markery po uzavěření série
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Distribuce v předepsaném obalu. Přeprava a krátkodobé uchování vzorků v chladničce při teplotě 2-8°C, dlouhodobé uchování při -18 až -24°C, chránit před světlem, zamezit opakovanému rozmrazování
Možné zdroje chyb:	nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor
Počet účastníků:	72
Termín distribuce:	25. 5. 2021
Způsob distribuce:	Přepavní službou (zajišťuje Koordinační pracoviště)
Předání výsledků:	V elektronické podobě za použití aplikace EHK10
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neprovádí se
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Výsledky získané v NRL
Termín uveřejnění očekávaných výsledků	23. 6. 2021
Termín uveřejnění závěrečné zprávy	Do 7. 9. 2021

2. Způsob přípravy vzorků

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byly lidské plazmy, vyšetřené na přítomnost cílových markerů.

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. Při testování protilátek metodou NIF bylo pro IgM použito ředění 1:10 a 1:20, pro IgG ředící řada od 1:10.

3. Charakteristika materiálu

Série 1202 obsahovala 2 vzorky k vyšetření protilátek IgM a IgG, a navíc možné doplňkové detekce typově specifických anti-HSV IgG protilátek.

Vzorek 1 byl tvořen plazmou zdravého dárce s anamnestickými protilátkami proti HSV1 a HSV2

Vzorek 2 byl tvořen plazmou zdravého HSV séronegativního dárce

Tabulka 1 : Správné výsledky

	EIA HSV IgG	EIA HSV IgM	EIA HSV 2 IgG	NIF HSV IgG	NIF HSV IgM
Vzorek 1	Pozitivní	Negativní	Pozitivní	Pozitivní	Negativní
Vzorek 2	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní

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.):

- U každého markeru za správný výsledek 2 body; při částečné neshodě (např. hraniční) 1 bod.
- Za správnou celkovou interpretaci u vzorku 2 body.

EIA anti-HSV IgA

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

Metody na principu imunoblot:

- Hodnotí se pouze celková interpretace výsledku (2 body / vzorek).

Metody na principu KFR

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

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

Pro usnadnění komunikace jsou navrženy tyto předdefinované interpretace:

1. séronegativní
2. anamnestické protilátky proti HSV (typově nerozlišeno)
3. anamnestické protilátky proti HSV 1 (pokud laboratoř testuje typově specifické protilátky)
4. anamnestické protilátky proti HSV 2 (pokud laboratoř testuje typově specifické protilátky)
5. anamnestické protilátky proti HSV 1 a HSV 2 (pokud laboratoř testuje typově specifické protilátky)
6. sérologické známky akutní infekce
7. sérologické známky akutní infekce, přítomny typově specifické protilátky proti HSV 1
8. sérologické známky akutní infekce, přítomny typově specifické protilátky proti HSV 2
9. sérologické známky akutní infekce, přítomny typově specifické protilátky proti HSV 1+ HSV 2

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). Následně jsou tyto hodnoty porovnány a je stanovena hranice úspěšnosti v procentuálním vyjádření. Hranice úspěšnosti pro sérii EHK 1202 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 1

Vzorek 1 byla plazma zdravého dárce s **anamnestickými protilátkami** proti HSV1 a HSV2.

EIA anti-HSV IgG (bez stanovení typu)

Všech 56 laboratoří shodně hodnotilo jako pozitivní.

EIA typově specifické protilátky proti HSV1 (anti-HSV1 IgG)

Marker hodnotilo 17 laboratoří, všechny shodně jako pozitivní.

EIA typově specifické protilátky proti HSV2 (anti-HSV2 IgG)

Marker hodnotilo 22 laboratoří, všechny shodně jako pozitivní.

EIA anti-HSV IgM (bez stanovení typu)

Marker hodnotilo 65 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

EIA anti-HSV1 IgM

Marker hodnotilo 8 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

EIA anti-HSV2 IgM

Marker hodnotilo 8 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

NIF anti-HSV IgG

Marker hodnotily 2 laboratoře, obě shodně jako pozitivní.

NIF anti-HSV IgM

Marker hodnotily 2 laboratoře, obě soupravou IF VIDITEST anti-HSV IgM (Vidia), výsledky byly rozporné (1x pozitivní, 1x negativní).

Immunoblot HSV IgG

Test použilo 8 laboratoří, všechny se shodným výsledkem anti-HSV 1 IgG pozitivní a anti-HSV 2 IgG pozitivní.

Immunoblot HSV IgM

Test použilo 7 laboratoří, všechny se shodným výsledkem anti-HSV IgM negativní.

Komplement-fixační reakce

Všech 5 laboratoří, které test použily, shodně hodnotily vzorek jako pozitivní.

EIA anti-HSV IgA

Všech 6 laboratoří, které test použilo, shodně hodnotilo vzorek jako pozitivní.

Vzorek 2

Vzorek 2 byla plazma zdravého **HSV séronegativního dárce**.

EIA anti-HSV IgG (bez stanovení typu)

Všech 56 laboratoří shodně hodnotilo jako negativní.

EIA typově specifické protilátky proti HSV1 (anti-HSV1 IgG)

Marker hodnotilo 17 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

EIA typově specifické protilátky proti HSV2 (anti-HSV2 IgG)

Marker hodnotilo 22 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

EIA anti-HSV IgM (bez stanovení typu)

Marker hodnotilo 65 laboratoří, z toho 59 správně jako negativní, jedna jako hraniční a 5 jako pozitivní. Všech 6 neshodných výsledků bylo zaznamenáno soupravou Chorus Herpes Simplex 1+2 IgM (Diesse). Tuto soupravu použilo celkem 12 účastníků, přičemž většina hodnot (pozitivních i negativních) byla blízka cut-off.

EIA anti-HSV1 IgM

Marker hodnotilo 8 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

EIA anti-HSV2 IgM

Marker hodnotilo 8 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

NIF anti-HSV IgG

Markery hodnotily 2 laboratoře, obě shodně s negativním výsledkem.

NIF anti-HSV IgM

Marker hodnotily 2 laboratoře, obě s negativním výsledkem.

Immunoblot HSV IgG

Test použilo 8 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

Immunoblot HSV IgM

Test použilo 7 laboratoří, všechny se shodným výsledkem anti-HSV IgM negativní.

Komplement-fixační reakce

Všech 5 laboratoří, které test použilo, shodně hodnotilo vzorek jako negativní.

EIA anti-HSV IgA

Všech 6 laboratoří, které test použilo, shodně hodnotilo vzorek jako negativní.

6. Závěr

EHK 1202 – Sérologie HSV se zúčastnilo 72 laboratoří.

Uspěly všechny laboratoře, z toho 7 s bodovou ztrátou.

EHK 1202 byla zaměřena na detekci anamnestický protilátek včetně anti-HSV2 IgG. Jako problematická se ukázala pouze detekce anti-HSV IgM protilátek. U vzorku 1 vykazala jedna laboratoř falešnou pozitivitu testem IF VIDITEST anti-HSV IgM / Vidia (test použily celkem 2 laboratoře). U vzorku 2 vznikly problémy při použití soupravy Chorus Herpes Simplex 1+2 IgM; Diesse (6 výsledků negativních, 5 pozitivních, 1 hraniční). Detekce anti-HSV2 IgG v této sérii nečinila obtíže.

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

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY