



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/26/2020 (č. 1137)

Sérologie HSV

Praha, srpen 2020

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/26/2020 (č.1137) byl zaměřen na detekci různých sérologických stavů protilátek proti HSV z krevního séra a krevní plazmy.

Návrh a realizace PT#M/26/2020 (č.1137) 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 zpráva, 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

Dne: 6. 8. 2020

Pracoviště 2 ESPT

www.szu.cz/espt

email: apcem@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/26/2020

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/26/2020 EHK-1137
Název:	Sérologie Herpes simplex viru
Organizátor:	SZÚ, ESPT Šrobárova 49/48, Praha 10, 100 00 tel.: + 420 267082258
Vedoucí ESPT	Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor:	MUDr. Labská
Subdodavatel:	není
Charakteristika materiálu:	Defibrinovaná lidská plazma
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 1xIgG u každého vzorku a odeslání výsledků ve stanoveném termínu
Způsob přípravy:	Výchozím materiálem je lidské sérum/plazma.
Množství připravovaného test. Materiálu:	80 sad (1 sada á 2 vzorky po 0,3 ml)
Označení vzorkovnic:	EHK 1137, PT # M/26, č. 1 – 2, 26. 5. 2020
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 ProClinTM 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 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:	74
Termín distribuce:	25. 5. 2020
Způsob distribuce:	přepravní službou v termínu určeném AP CEM (zajišťuje AP CEM)
Předání výsledků:	V elektronické podobě za použití aplikace EHK10
Způsob vyhodnocení výsledků:	Shodný výsledek každého markeru je hodnocen +2 body, částečná neshoda (malá chyba) +1 bod. Interpretace nálezu + 2 body/vzorek Hranice úspěšnosti v této sérii je stanovena na 80%.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neprovádí se
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Výsledky získané v NRL
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 12 týdnů po obdržení výsledků k hodnocení

2. Příprava vzorků

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byla lidská séra a defibrinovaná lidská plazma, které byly 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 1137 obsahovala 2 vzorky k vyšetření protilátek IgM a IgG, a navíc možné doplňkové detekce typově specifických anti HSV IgG protilátek.

Vzorek A. Pool anti HSV IgM pozitivních sér obsahující protilátky proti HSV1 a HSV2 ,

*marker anti HSV IgM vyřazen z hodnocení

byla poolem defibrinovaná plazma zdravého HSV 2 séropozitivního dárce

Vzorek B byla defibrinovaná plazma od séronegativního zdravého

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>

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

Tabulka 1 : Správné výsledky

*Marker EIA HSV IgM byl vyřazen z hodnocení

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.

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.

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 **80%**.

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 byl anti HSV IgM pozitivních sér obsahující protilátky 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 16 laboratoří, všechny shodně jako pozitivní.

EIA typově specifické protilátky proti HSV2 (anti HSV2 IgG)

Marker hodnotilo 21 laboratoří, výsledky dle souprav jsou v *Tabulce 2*

výrobce	souprava	pozitivní	hraniční	negativní
DiaSorin	EIA HSV2 IgG	1	0	0
DiaSorin	Liaison HSV2 IgG	6	1	0
Diesse	Chorus Herpes simplex 2 IgG recombinant	0	0	1
Immunolab GmbH	Herpes 2 IgG	1	0	0
NovaTec Immunodg. GmbH	NovaLisa HSV Type2 IgG	0	1	2
Orgentec	Alegria Anti HSV 2 IgG	4	0	0
Roche	Cobas HSV-2 IgG	2	0	0
vircell	EIA HSV2 IgG	0	1	0
neveden	neuveдена	0	0	1

Tabulka 2: EIA typově specifické protilátky proti HSV2 dle souprav

EIA anti HSV IgM (bez stanovení typu)

Marker hodnotilo 65 laboratoří, pro neshodné výsledky byl vyřazen z hodnocení, výsledky dle souprav jsou v *Tabulce 3*.

EIA anti HSV1 IgM

Marker hodnotilo 5 laboratoří, pro neshodné výsledky byl vyřazen z hodnocení, výsledky dle souprav jsou v *Tabulce 3*.

EIA anti HSV2 IgM

Marker hodnotilo 7 laboratoří, všechny shodně jako negativní viz *Tabulka 3*. Marker byl vyřazen z hodnocení.

výrobce	souprava	pozitivní	hraniční	negativní
jiný test	jiný test	1	0	2
diaSorin	Liaison	24	0	0
Diesse	CHorus HSV 1+2 IgM	1	0	11
Euroimmun	EIA HSV1+2 IgM	2	2	2
Immunolab GmbH	Herpes 1/2 IgM	1	0	0
NovaTec Immunodg. GmbH	NovaLisa HSV Type 1+2	0	1	1
Orgentec	Alegria Anti HSV 1/2 IgM	0	0	2
TestLine	EIA HSV 1+2 IgM	0	0	13
VIDIA	anti-HSV1+2 IgM	2	0	0
*Immunolab GmbH	Herpes 1 IgM	1	0	0
*NovaTec Immunodg. GmbH	NovaLisa HSV Type1 IgM	0	1	0
*Orgentec	Alegria Anti HSV 1 IgM	0	0	2
*neueden H1	neuevedena H1	1	0	1
**Euroimmun	EIA HSV2 IgM	0	0	1
**Immunolab GmbH	Herpes 2 IgM	0	0	1
**NovaTec Immunodg. GmbH	NovaLisa HSV Type2 IgM	0	0	1
**Orgentec	Alegria Anti HSV 2 IgM	0	0	3
**Vircell	EIA HSV2 IgM	0	0	1

Tabulka 3: anti HSV IgM a typově specifické anti HSV IgM dle souprav

* EIA anti HSV1 IgM; ** EIA anti HSV2 IgM

NIF anti HSV IgG

Markery hodnotily 3 laboratoře shodně s pozitivním výsledkem

NIF anti HSV IgM

Marker hodnotily 3 laboratoře, všechny soupravou IF Viditest anti HSV, Vidia (2/3 pozitivní, 0/3 hraniční, 1/3 negativní), pozitivní i negativní výsledek dosažen stejnou šarží.

Immunoblot HSV IgG

Test použilo 7 laboratoří, všichni shodný výsledek anti HSV 1 IgG pozitivní, anti HSV 2 IgG nedetekovaly 2 laboratoře. Všechny laboratoře používají identickou soupravu viz *Tabulka 4*.

Immunoblot HSV IgM

Test použilo 7 laboratoří, všichni shodný výsledek anti HSV IgM negativní. Všechny laboratoře používají identickou soupravu viz *Tabulka 4*.

výrobce	souprava	HSV1 specifický antigen	HSV2 specifický antigen
Euroimmun	EUROLINE-WB: Anti HSV IgG	7xP, 0xH, 0xN	5xP, 0xH, 2xN
Euroimmun	EUROLINE-WB: Anti HSV IgM	0xP, 0xH, 7xN	0xP, 0xH, 7xN

Tabulka 4: Výsledky imunoblotu vzorek A, P-pozitivní, H-hraniční, N-negativní.

Komplement-fixační reakce

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

EIA anti HSV IgA

Marker hodnotilo 6 laboratoří (3 různé výrobci), 5x pozitivní a 1 x hraniční. Neshodný výsledek byl získán soupravou Euroimmun Anti-HSV-1/2-Pool ELISA, která byla v sérii použita 2x (1/2 pozitivní, 1/2 hraniční, 0/2 negativní), rozdílné šarže.

Vzorek B

Vzorek A byla defibrinovaná plazma anti HSV **séronegativního zdravého 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 16 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

EIA typově specifické protilátky proti HSV2 (anti HSV2 IgG)

Marker hodnotilo 21 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

EIA anti HSV IgM (bez stanovení typu)

Marker hodnotilo 65 laboratoří, všechny shodně jako negativní

EIA anti HSV1 IgM

Marker hodnotilo 5 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

EIA anti HSV2 IgM

Marker hodnotilo 7 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

NIF anti HSV IgG

Markery hodnotily 3 laboratoře 2 s negativním výsledkem a 1x pozitivní výsledek. Neshodný výsledek byl získán soupravou Vidia IF-Viditest Anti HSV IgG, která byla v sérii použita 3x (1/3 pozitivní, 0/3 hraniční, 2/3 negativní), rozdílné šarže.

NIF anti HSV IgM

Marker hodnotily 3 laboratoře shodně s negativním výsledkem

Immunoblot HSV IgG

Test použilo 7 laboratoří, všichni shodný výsledek- negativní.

Immunoblot HSV IgM

Test použilo 7 laboratoří, všichni shodný výsledek anti HSV IgM negativní

Komplement-fixační reakce

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

EIA anti HSV IgA

Všech 6 laboratoří shodně hodnotily vzorek jako negativní.

6. Závěr

EHK 1137 – sérologie HSV se zúčastnilo 74 laboratoří, 1 laboratoř nedodala výsledky.

Uspělo 72 laboratoří, z toho 11 laboratoří s bodovou ztrátou, 1 laboratoř neuspěla.

EHK 1137 byla zaměřena na detekci anti HSV IgM protilátek a detekci anti HSV2 IgG.

Jako problematická se opět ukázala detekce anti HSV IgM protilátek, soupravy vykazovaly odlišné výsledky a marker byl proto vyřazen z hodnocení. Některé soupravy měly problém zachytit anti HSV2 IgG.

V celkovém hodnocení se objevil problém, kdy laboratoře na základě absence anti HSV2 IgM za přítomnosti anti HSV2 IgG výsledek interpretovaly jako „sérologické známky akutní infekce, přítomny typově specifické protilátky proti HSV 1“. Toto hodnocení je nevhodné vzhledem k nekonstantní tvorbě typově specifických anti HSV IgM a doporučujeme hodnocení na základě tvorby typově specifických anti HSV IgG.

V celkovém hodnocení, pokud netestujete typově specifické protilátky, tak je neuvádějte prosím kódy výsledku, který typově specifické protilátky obsahuje (kódy 7,8 a 9), chyba se vyskytla opakovaně.

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

Opravné kolo proběhne v podzimním termínu, přihlášky podávejte do 14ti dnů po obdržení výsledku cestou Koordinačního pracoviště ESPT 2 (e-mailem, telefonem).

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