



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/27/2023 (EHK 1354)
Sérologie Varicella-zoster viru

Praha, srpen 2023

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/27/2023 (EHK 1354) je zaměřen na sérologii Varicella-zoster viru (VZV).

Návrh a realizace PT#M/27/2023 (EHK 1354) byly prováděny podle standardního operačního postupu koordinátora programu EHK 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: <http://ehk.szu.cz/EHK10/> po přihlášení kódem laboratoře a heslem.

Zprávu vypracovaly:

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

Zprávu autorizoval:

Ing. Michaela Růžková, Ph.D.
Tel: +420 267 082 476

Dne: 8. 8. 2023

Pracoviště 2 ESPT

<https://szu.cz/sluzby/zkouseni-zpusobilosti/zkouseni-zpusobilosti-pro-lekarskou-mikrobiologii/>
e-mail: ehk@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/27/2023

Identifikace cyklu:	EHK 1354
Název PT:	Sérologie Varicella-zoster viru
Koordinátor:	Ing. Michaela Růžková, Ph.D.
Podstata a účel PT/EHK:	Průkaz protilátek třídy IgG a IgM proti antigenům Varicella-zoster viru a souhrnná interpretace provedených testů.
Kritéria pro účast na PT:	Znalost a technické vybavení pro vyšetření protilátek třídy IgG a IgM proti antigenům Varicella-zoster viru.
Charakteristika materiálu:	Výchozím materiálem byly lidské plazmy (viz kapitola 3 závěrečné zprávy).
Hodnocené ukazatele:	Přítomnost protilátek třídy IgG a IgM proti antigenům Varicella-zoster viru (kvalitativní výsledek: pozitivní /hraniční/ negativní), celková interpretace výsledků.
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Počet účastníků:	67
Termín distribuce vzorků:	23. 5. 2023
Informace účastníkům:	Viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky:	13. 6. 2023
Označení vzorkovnic:	EHK 1354, PT # M/27, č. 1 - 2, 23. 5. 2023
Zabezpečení jakosti vzorku:	Zabezpečení homogenity: Homogenita je zajištěna promícháním vzorků před zahájením alikvotování a rovněž v jejím 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 mikrozkupek na 3 náhodně vybraných vzorcích. Průkazem homogenity a stability vzorků je dosažení totožných výsledků v čase (viz kapitola 2.1 závěrečné zprávy).
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe a pokynů organizátora, záměna vzorků, selhání lidského faktoru.
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4 závěrečné zprávy
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Vztažnou hodnotou jsou očekávané výsledky NRL získané trojím opakovaným testováním.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Nestanovuje se
Termín uveřejnění předběžných výsledků	21. 6. 2023
Termín uveřejnění závěrečné zprávy	Do 5. 9. 2023

2. Způsob přípravy vzorků

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byly lidské plazmy. Výchozí materiál byl dlouhodobě skladován při teplotě -20°C a před použitím rozmražen a skladován při teplotě 2 až 8°C .

Pro zajištění stability byl do výchozího materiálu přidán po rozmražení ProClin 950 v koncentraci 0.01%. Organické nečistoty byly odstraněny pomocí centrifugace a filtrace.

Výchozí materiál byl testován na přítomnost cílových markerů v Národní referenční laboratoři (NRL) pro herpetické viry pomocí metod enzymové imunoanalýzy (EIA) a nepřímé imunofluorescence (NIF). Po vyšetření byl výchozí materiál rozplněn do sterilních mikrozkmavek se šroubovacím víčkem a předán Koordináčnímu pracovišti ESPT 2 k rozeslání.

2.1. Test homogenity a stability

Homogenita byla zajištěna promícháním vzorku před zahájením alikvotování a rovněž v jejím průběhu. Test homogenity byl proveden při 2. testování (po rozplnění vzorku do transportních mikrozkmavek) 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 (uchovávání vzorků při -20°C , po rozmražení až do vydání při 2 až 8°C).

Kvalita a stabilita je posuzována na základě trojího opakovaného testování: při přípravě, před distribucí a v blízkosti uzávěrky série. Průkazem homogenity a stability je dosažení totožných výsledků v čase.

Soupravy použité v NRL pro herpetické viry pro testování homogenity a stability jsou uvedeny v tabulce č. 2. Výsledky testu homogenity a stability jsou shrnuty v tabulce č. 3 a 4.

3. Charakteristika materiálu

Série EHK 1354 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. Výsledky jednotlivých markerů jsou shrnuty v tabulce č. 1.

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

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

Metoda	Marker	Výrobce	Souprava	Šarže
ELISA	VZV IgG	Euroimmun	CSF: Anti-VZV ELISA (IgG)	E221123AF
ELISA	VZV IgM	Vidia	ELISA-VIDITEST anti-VZV IgM	010421/176 010421/27
ELISA	VZV IgG avidita	Vidia	ELISA-VIDITEST anti-VZV IgG (CSF) a avidita IgG	100121/01 050123/14
NIF	VZV IgG	Vidia	IF-VIDITEST anti-VZV IgG	020622
NIF	VZV IgM	Euroimmun	Anti-VZV IIFT (IgM)	F220214CD

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)	3721 pozitivní	3279 pozitivní	3362 pozitivní	3234 pozitivní	3255 pozitivní
VZV IgG Titr	Test v 1:10 pozitivní	1:40 pozitivní	1:40 pozitivní	1:40 pozitivní	1:40 pozitivní
VZV IgM IP	0,10 negativní	0,11 negativní	0,10 negativní	0,10 negativní	0,13 negativní
VZV IgM Titr	1:10 negativní	1:10 negativní	1:10 negativní	1:10 negativní	1:10 negativní
Avidita VZV IgG	78 % vysokoavidní	88 % vysokoavidní	89 % vysokoavidní	90 % vysokoavidní	89 % 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)	10,25 negativní	< 10 negativní	< 10 negativní	< 10 negativní	10,14 negativní
VZV IgG Titr	1:10 negativní	1:10 negativní	1:10 negativní	1:10 negativní	1:10 negativní
VZV IgM IP	0,10 negativní	0,11 negativní	0,08 negativní	0,10 negativní	0,11 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 10. 5. 2023)
- 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 23. 5. 2023)
- A/B (3) 3. test stability – v blízkosti uzávěrky série (uzávěrka 13. 6. 2023)
- IP index positivity

4. Způsob hodnocení

Výsledky jednotlivých zúčastněných laboratoří se porovnávají s výsledky získanými v NRL a přihlíží se i k výsledkům ostatních účastníků jako celku. Vedle závěrů POZITIVNÍ či NEGATIVNÍ může být přípustný rovněž závěr HRANIČNÍ. Jednotlivé markery jsou hodnoceny samostatně.

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

Markery **VZV IgG** a **VZV IgM** jsou hodnoceny **2 body** za vzorek při shodě, při částečné neshodě (např. hraniční) pouze **1 bodem**, při neshodě **0 bodů**.

Marker **Avidita VZV IgG** je hodnocen **2 body** za vzorek při shodě, při neshodě **0 bodů**.

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).

Celková interpretace vzorku je hodnocena **2 body** za vzorek při shodě, **0 bodů** při neshodě.

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.

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.

U každé laboratoře je vypočtena procentuální úspěšnost, definovaná jako podíl skutečně dosaženého počtu bodů a maximálního dosažitelného počtu bodů (maximální dosažitelný počet bodů je dán počtem vyšetřovaných markerů). **Hranice úspěšnosti pro EHK 1354 byla stanovena na 80 %.**

V případě hrubé chyby, která by v praxi mohla vést k závažnému poškození zdraví nebo ohrožení života pacienta, je výsledek účastníka hodnocen celkově jako neúspěšný i při dosažení dostatečného počtu bodů.

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 65 laboratoří, všechny shodně pozitivní výsledek

Metody na bázi NIF: vyšetřily 3 laboratoře, všechny shodně pozitivní výsledek

Marker Avidita VZV IgG – vysokoavidní

Marker testovalo 7 laboratoří, všechny se shodným výsledkem – vysokoavidní. Rozmezí udaných hodnot se pohybovalo mezi 69 – 100 % (medián 94 %).

Marker VZV IgM – negativní

Metody na bázi EIA: vyšetřilo 64 laboratoří, všechny shodně negativní výsledek

Metody na bázi NIF: vyšetřily 3 laboratoře, všechny shodně negativní výsledek

Marker VZV IgA - negativní

Metody na bázi EIA: vyšetřilo 5 laboratoří, všechny shodně negativní výsledek

Komplement fixační reakce - pozitivní

Test použily 2 laboratoře, obě s pozitivním výsledkem.

Vzorek B

Celková interpretace: 1 - séronegativní

Marker VZV IgG – negativníMetody na bázi EIA: vyšetřilo 65 laboratoří, všechny shodně negativní výsledekMetody na bázi NIF: vyšetřily 3 laboratoře, všechny shodně negativní výsledek**Marker Avidita VZV IgG (7 laboratoří)** - nestanovuje se u VZV séronegativního vzorku**Marker VZV IgM – negativní**Metody na bázi EIA: vyšetřilo 64 laboratoří, všechny shodně negativní výsledekMetody na bázi NIF: vyšetřily 3 laboratoře, všechny shodně negativní výsledek**Marker VZV IgA - negativní**Metody na bázi EIA: vyšetřilo 5 laboratoří, všechny shodně negativní výsledek**Komplement fixační reakce - negativní**

Test použily 2 laboratoře, obě s negativním výsledkem.

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

Tabulka 5: Marker **VZV IgG** (N = 68)

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	20
Diesse	CHORUS Varicella IgG	12	12	0	0	0	0	12
Euroimmun	Anti-VZV-ELISA IgG	9	9	0	0	0	0	9
NovaTec Immunodg.	NovaLisa VZV IgG ELISA	1	1	0	0	0	0	1
Orgentec	Alegria Anti-VZV IgG	4	4	0	0	0	0	4
TestLine	EIA VZV IgG	7	7	0	0	0	0	7
TestLine	Smart EIA VZV IgG	1	1	0	0	0	0	1
Vidia	ELISA-VIDITEST anti-VZV IgG (CSF)	7	7	0	0	0	0	7
Vidia	IF-VIDITEST anti-VZV IgG	3	3	0	0	0	0	3
Vircell	VZV VirClia IgG Monotest	3	3	0	0	0	0	3

Tabulka 6: Marker **VZV IgM** (N = 67)

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	1	0	0	1	0	0	1
Orgentec	Alegria Anti-VZV IgM	4	0	0	4	0	0	4
TestLine	EIA VZV IgM	7	0	0	7	0	0	7
TestLine	Smart EIA VZV IgM	2	0	0	2	0	0	2
Vidia	ELISA-VIDITEST anti-VZV IgM	7	0	0	7	0	0	7
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

K testování EHK 1354 Sérologie Varicella-zoster viru se přihlásilo celkem 67 laboratoří; výsledky od všech laboratoří byly dodány v termínu. EHK 1354 bylo zaměřeno na stavy mimo aktivní VZV infekci – séronegativitu resp. anamnestické protilátky, což žádné laboratoři nečinilo potíže a všechny laboratoře uspěly s plným počtem bodů.

Přehled výsledků jednotlivých laboratoří a celkové bodové hodnocení v EHK 1354 lze nalézt v Příloze č. 1.

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

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY