



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/15/2020 (EHK 1125)**

**Detekce CMV-DNA**

**Praha, srpen 2020**

**Obsah**

- |   |         |
|---|---------|
| 1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing) | 3       |
| 2. Celkové vyhodnocení  | 4 - 9   |
| 3. Doplnující informace   | 10 - 11 |
| 4. Příloha – individuální vyhodnocení jednotlivých laboratoří         |         |

Program zkoušení způsobilosti PT#M/15/2020 byl zaměřen na detekci CMV-DNA. Návrh a realizace PT#M/15/2020 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/15 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. Vzorky byly připraveny na pracovišti subdodavatele: FN Hradec Králové, ÚKM, NRL pro CMV, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové.

S veškerými informacemi dodanými účastníky je zacházeno jako s důvěrnými a nejsou bez souhlasu účastníka poskytovány třetím stranám.

Příloha závěrečné zprávy, tj. individuální vyhodnocení jednotlivých laboratoří, je rozesílána poštou.

Za správnost výsledků odpovídá koordinátor příslušného cyklu EHK.

**Koordinátor:**

MUDr. Barbora Macková  
Tel: 267 082 101

**Zprávu vypracoval:**

MUDr. Vlasta Štěpánová, Ph.D. (NRL pro CMV)

**Zprávu schválil:**

MUDr. Barbora Macková

**Dne:** 11. 8. 2020

**Pracoviště 2 ESPT**

www.szu.cz/espt  
email: [apcem@szu.cz](mailto:apcem@szu.cz)

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT#M/15/2020**

Identifikace kola/cyklu:	<b>EHK 1125</b>
Název:	Detekce CMV DNA
Poskytovatel:	SZÚ, ESPT Šrobárova 49/48, Praha 10, 100 00 Tel. 267 082 258
Vedoucí ESPT	Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor:	MUDr. Barbora Macková
Subdodavatel:	FN Hradec Králové, ÚKM, NRL pro CMV, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové, MUDr. Vlasta Štěpánová, Ph.D.
Charakteristika materiálu:	6 vzorků s 1 ml plazmy pro stanovení CMV DNA
Podstata a účel PT/EHK:	Kvalitativní a kvantitativní průkaz CMV DNA
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Znalost a technické vybavení pro vyšetření CMV DNA
Způsob přípravy:	Výchozím materiálem pro přípravu kontrolních vzorků byl kmen CMV AD169, uskladněný dlouhodobě při -80°C. Kmen CMV AD169 byl před použitím rozmražen a opakovaně pasážován na buněčné kultuře lidských embryonálních fibroblastů, poté byl z infikovaných buněk uvolněn opakovaným krátkodobým zmražením (-20° C), rozmražením a sonikací ultrazvukem. Následně byla provedena orientační kvantifikace CMV DNA. Pak byl kmen poolován do lidské testované plazmy tak, aby vznikly požadované cílové kvantitativní CMV DNA jednotlivých kontrolních vzorků.
Množství připravovaného test. materiálu:	pro 31 laboratoří
Označení vzorkovnic:	EHK 1125, PT#M/15 , č. 1 – 6, 24. 3. 2020
Zabezpečení kvality vzorku:	Zjištění stability a homogenity se provádí na pracovišti subdodavatele v rámci předtestování, 3 x u náhodně vybraných vzorků 1-6, a to v den přípravy, v den před distribucí a v termínu po distribuci vzorků.
Metrologická návaznost:	viz Protokol o přípravě vzorků
Termín testu homogenity a stability:	den před distribucí vzorků a po termínu jednotného zahájení rozborů všemi účastníky
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	přeprava autem z Hradce Králové v označené polystyrénové krabici se suchým ledem, v SZÚ v Praze jsou vzorky uskladněny při teplotě -70 ° C do distribuce
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe
Počet účastníků:	29 laboratoří
Termín distribuce vzorků:	24. 3. 2020
Způsob distribuce vzorků:	Osobní odběr v SZÚ Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	písemně do 24. 4. 2020 na předepsaných formulářích
Způsob vyhodnocení výsledků:	Kvalitativní výsledky silně pozitivní (3 body), pozitivní (2 body), slabě pozitivní (1 bod), negativní (3 body). Kvantitativní výsledky – hodnoceny pouze pozitivní vzorky (do +/- 1SD 1 bod, do +/- 2 SD 2 body, do +/- 3 SD 3 body, nad 3 SD 4 body, falešně negativní vzorek 5 bodů a falešně negativní u slabě pozitivního vzorku 3 body
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Za správnou hodnotu (kopie/ml) je považován výsledek získaný jako průměr ze všech hodnot získaných ze zúčastněných laboratoří
Termín zveřejnění závěrečné zprávy účastníkům:	Do 12 týdnů po obdržení výsledků k hodnocení

## Statistika EHK:

počet přihlášených účastníků	29 laboratoří
počet zúčastněných	23 laboratoří (laboratoř 541 nevyšetřovala, laboratoře 35,64,554,598 a 748 neodebraly vzorky)
počet hodnocených panelů	23 (79,3 %)
počet panelů s kvalitativními výsledky	23 (100 %), 6 (26,1 %) pouze s výsledky kvalitativního stanovení
počet panelů s kvantitativními výsledky	17 (73,9 %)

## 2. Celkové hodnocení

Tab. č. 1: Panel EHK

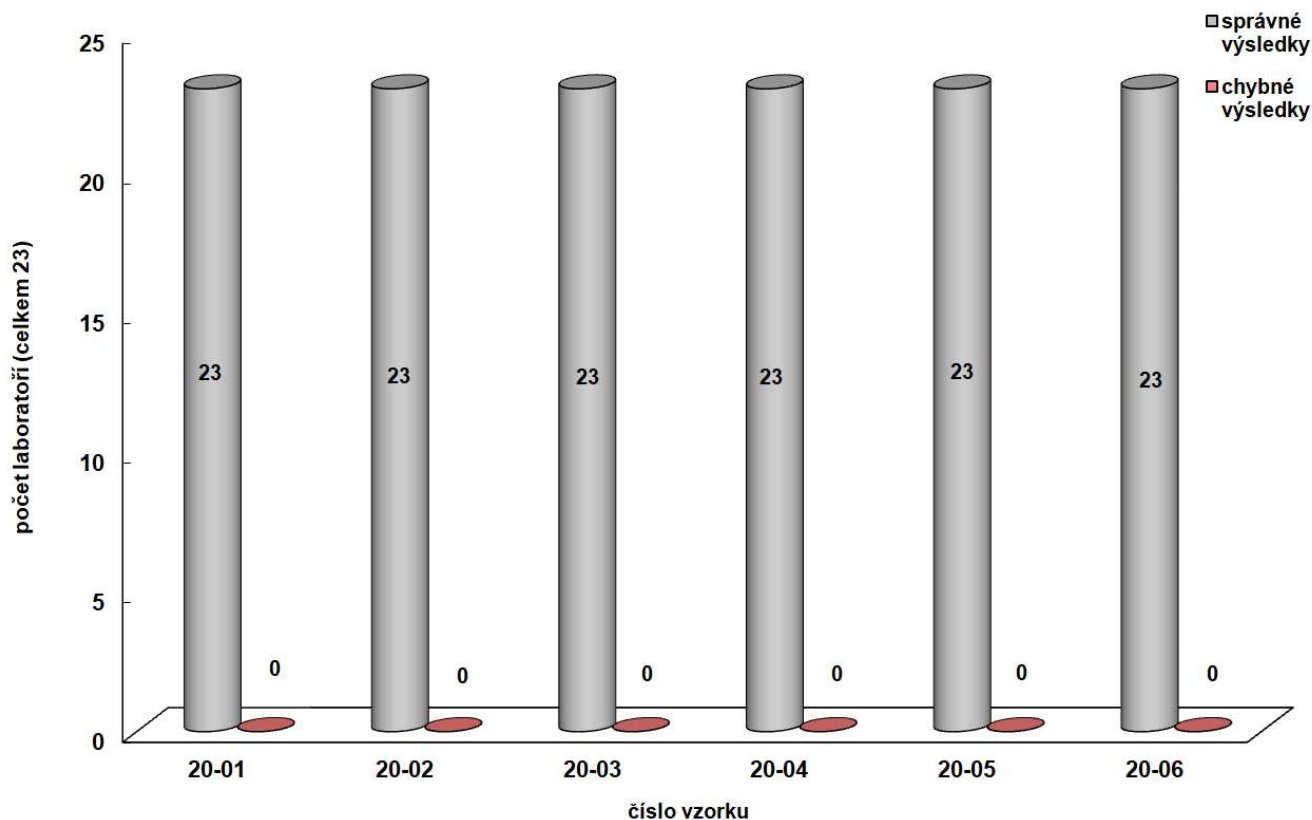
Vzorek	Obsah vzorku <sup>1</sup>	Správný výsledek EHK	
		kvalitativně	kvantitativně (kopie/ml)
NRL CMV 20-01	CMV AD169	pozitivní	1,83.10 <sup>4</sup>
NRL CMV 20-02	CMV AD169	pozitivní	3,10.10 <sup>3</sup>
NRL CMV 20-03	CMV AD169	silně pozitivní	1,89.10 <sup>5</sup>
NRL CMV 20-04	CMV AD169	negativní	0
NRL CMV 20-05	CMV AD169	pozitivní	3,79.10 <sup>4</sup>
NRL CMV 20-06	CMV AD169	pozitivní	1,11.10 <sup>4</sup>

<sup>1</sup>Jako matrice vzorku byla u vzorků 20-01 až 20-06 použita testovaná negativní plazma.

## Kvalitativní vyhodnocení – celkem 23 laboratoří

Tab. č. 2: Vyhodnocení kvalitativních výsledků (celkem 23 panelů)

Vzorek	Výsledek EHK	Získaný počet bodů za správný výsledek	Počet výsledků - správných/celkem	Úspěšnost
NRL CMV 20-01	pozitivní	2	23/23	100,0 %
NRL CMV 20-02	pozitivní	2	23/23	100,0 %
NRL CMV 20-03	silně pozitivní	3	23/23	100,0 %
NRL CMV 20-04	negativní	3	23/23	100,0 %
NRL CMV 20-05	pozitivní	2	23/23	100,0 %
NRL CMV 20-06	pozitivní	2	23/23	100,0 %



**Graf č. 1: Vyhodnocení kvalitativních výsledků u jednotlivých vzorků.**

Celkem bylo možné získat **14 bodů**, kterých dosáhlo 23 laboratoří (tj. 100 %), kvalitativní hodnocení všech laboratoří bylo **výborné**.

### **Kvantitativní vyhodnocení – celkem 17 laboratoří**

Všechny kvantitativní výsledky byly převedeny do dekadického logaritmu, spočítán jejich průměr a směrodatná odchylka, pomocí kterých byly vytvořeny intervaly správnosti:  $\pm 1$  směrodatná odchylka (SD), resp.  $\pm 2$  a  $\pm 3$  směrodatné odchylky. Kvantitativní výsledky jednotlivých vzorků (resp. jejich logaritmy) byly následně zařazeny do daných intervalů. Rozmezí  $\pm 2$  SD přibližně odpovídá 95% intervalu dle Gaussova rozložení logaritmických hodnot a nemělo by přesáhnout přibližně 2 řády.

Výsledky, které jsou v rozmezí intervalu  $\pm 1$  SD a  $\pm 2$  SD, jsou hodnoceny jako správné. Kvantitativní výsledky v rozmezí  $\pm 3$  SD a více jsou hodnoceny jako chybné (mimo 95% interval Gaussova rozložení).

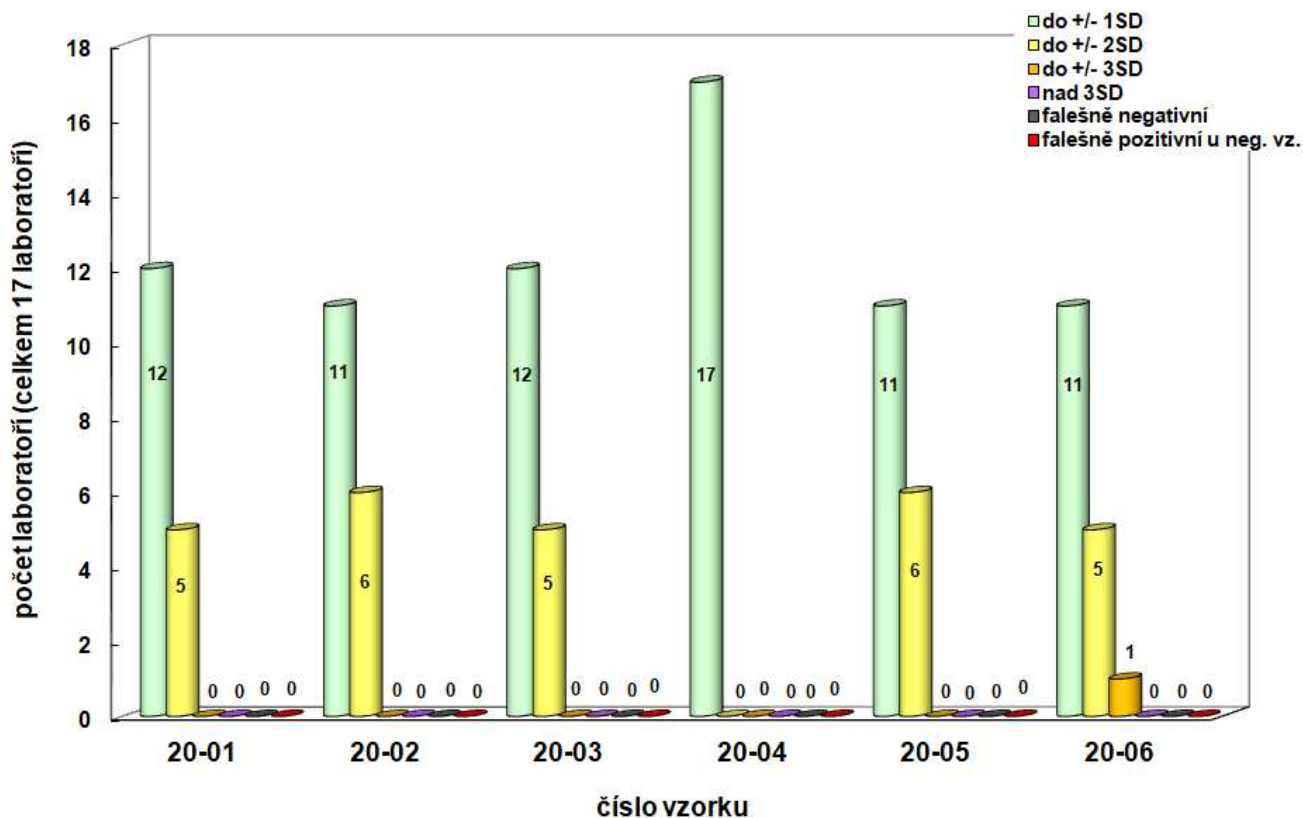
**Tab. č. 3: Kvantitativní výsledky vzorků EHK a jednotlivá rozmezí směrodatných odchylek**

Vzorek	Výsledek EHK kopie/ml <sup>1</sup>	Rozmezí		
		+/- 1 SD <sup>2</sup> (kopie/ml)	+/- 2 SD <sup>2</sup> (kopie/ml)	+/- 3 SD <sup>2</sup> (kopie/ml)
NRL CMV 20-01	1,83.10 <sup>4</sup>	7,84.10 <sup>3</sup> – 4,30.10 <sup>4</sup>	3,35.10 <sup>3</sup> – 1,01.10 <sup>5</sup>	1,43.10 <sup>3</sup> – 2,36.10 <sup>5</sup>
NRL CMV 20-02	3,10.10 <sup>3</sup>	1,42.10 <sup>3</sup> – 6,78.10 <sup>3</sup>	6,47.10 <sup>2</sup> – 1,48.10 <sup>4</sup>	2,96.10 <sup>2</sup> – 3,24.10 <sup>4</sup>
NRL CMV 20-03	1,89.10 <sup>5</sup>	9,02.10 <sup>4</sup> – 3,96.10 <sup>5</sup>	4,30.10 <sup>4</sup> – 8,29.10 <sup>5</sup>	2,06.10 <sup>4</sup> – 1,74.10 <sup>6</sup>
NRL CMV 20-04	0	0	0	0
NRL CMV 20-05	3,79.10 <sup>4</sup>	1,95.10 <sup>4</sup> – 7,36.10 <sup>4</sup>	1,00.10 <sup>4</sup> – 1,43.10 <sup>5</sup>	5,16.10 <sup>3</sup> – 2,78.10 <sup>5</sup>
NRL CMV 20-06	1,11.10 <sup>4</sup>	5,26.10 <sup>3</sup> – 2,35.10 <sup>4</sup>	2,49.10 <sup>3</sup> – 4,97.10 <sup>4</sup>	1,18.10 <sup>3</sup> – 1,05.10 <sup>5</sup>

<sup>1</sup>Průměr hodnot všech laboratoří u jednotlivých vzorků. <sup>2</sup> pozn. SD – směrodatná odchylka

**Tab. č. 4: Vyhodnocení kvantitativních výsledků (celkem 17 hodnocených panelů)**

Vzorek	Počet výsledků jednotlivých metod v daném rozmezí					
	+/- 1 SD	+/- 2 SD	+/- 3 SD	mimo 3 SD	falešně negativní výsledek u pozitiv. vzorku	falešně pozitivní výsledek u negativ. vzorku
NRL CMV 20-01	12	5	0	0	0	0
NRL CMV 20-02	11	6	0	0	0	0
NRL CMV 20-03	12	5	0	0	0	0
NRL CMV 20-04	17	0	0	0	0	0
NRL CMV 20-05	11	6	0	0	0	0
NRL CMV 20-06	11	5	1	0	0	0
<b>Počet přidělených bodů za výsledek v daném intervalu</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>



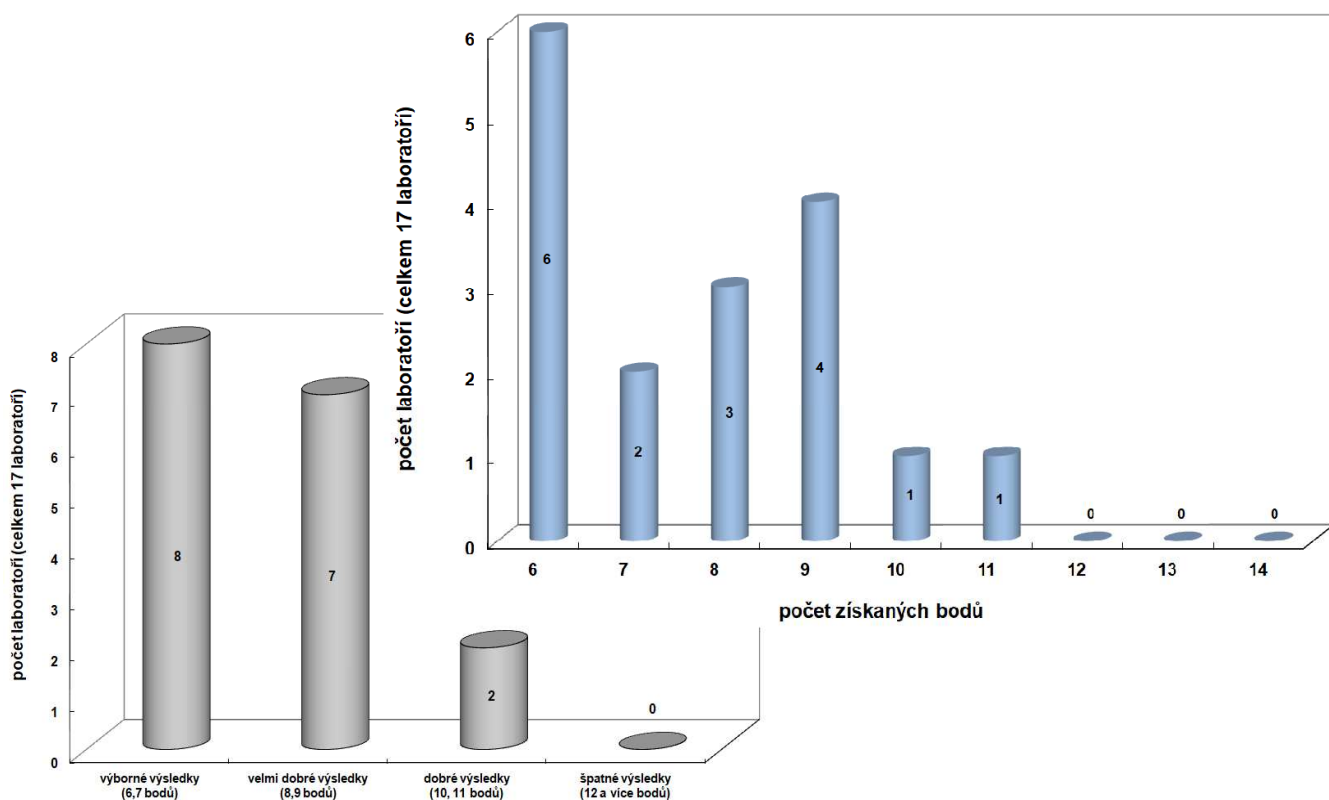
Graf č. 2: Vyhodnocení kvantitativních výsledků u jednotlivých vzorků

Tab. č. 5: Vyhodnocení laboratoří podle počtu získaných bodů (celkem 17 panelů)

Celkový počet získaných bodů	Počet panelů	Procentuální zastoupení
6 bodů (nejlepší)	6	35,3 %
7 bodů	2	11,8 %
8 bodů	3	17,6 %
9 bodů	4	23,5 %
10 bodů	1	5,9 %
11 bodů	1	5,9 %
12 bodů	0	--
13 bodů	0	--
14 bodů	0	--

Z celkového počtu 17 hodnocených laboratoří mělo všechny kvantitativní výsledky v rozmezí +/- 1 SD (tj. zisk 6 bodů) 6 laboratoří. Nejvyšší počet získaných bodů - 11 bodů - získala jedna laboratoř, která výsledky systematicky podhodnocovala (celkové hodnocení = dobré výsledky).

Celkové zhodnocení kvantitativních výsledků je v grafu č. 3. Laboratoře, které získaly 6 až 11 bodů, mají akceptovatelné kvantitativní výsledky – v letošním roce se jedná o všech 17 zúčastněných laboratoří. Všechny laboratoře v EHK 1125 – průkaz CMV DNA 2020 - uspěly.



Graf č. 3: Celkové zhodnocení kvantitativních výsledků všech laboratoří



### 3. Doplnující informace

Dotazník vyplnilo všech 23 laboratoří (6 laboratoří s kvalitativním průkazem a 17 s kvantitativním průkazem).

#### Akreditace ČIA, SAK, SNAS

- ano – 15 laboratoří (4 laboratoří s kvalitativním průkazem, 11 s kvantitativním průkazem) - 13× ČIA, 2× SAK
- ne – 8 laboratoří (2 laboratoře s kvalitativním průkazem, 6 s kvantitativním průkazem)

**Audit NASKL** (není akreditace!! – stále v dotaznících považováno za akreditaci, jedná se o dozorový audit)

- ano – 10 laboratoří (audit NASKL II)
- ne – 11 laboratoří
- nevyplněno – 2 laboratoře

#### Izolace

Typ izolace	Počet laboratoří	Izolační kit od firmy	Název izolačního kitu
<b>Kolonky</b>	11 laboratoří	<i>GeneProof</i> – 5 laboratoří	Pathogen Free DNA Isolat. Kit (5×)
		<i>QIAGEN</i> – 5 laboratoří	QIAamp DNA Mini Kit (4×) QIAamp Viral RNA Mini Kit (1×)
		<i>Roche</i> – 1 laboratoř	High Pure Viral NA Kit (1×)
<b>magnetické partikule</b>	12 laboratoří	<i>ELITech group</i> – 1 laboratoř	ELITe InGenius SP200 (1×)
		<i>GeneProof</i> – 3 laboratoř	croBEE 201A Nucleic Acid Extraction Kit (3×)
		<i>QIAGEN</i> – 1 laboratoř	Biorobot EZ1+EZ1 DSP Virus Kit (1×)
		<i>RBCBioscience</i> – 2 laboratoř	MagCore Viral Nucleic Acid Extraction Kit (2×)
		<i>Roche</i> – 2 laboratoře	MagNA Pure Nucleic Acid Isolation Kit (1×)
			COBAS AmpliPrep Total Nucleic Acid (1×)
		<i>Sacace</i> – 2 laboratoře	SaMag SACACE Viral nucleic acid extraction (2×)
<i>STRATEC MOLECULAR</i> – 1 laboratoř	InviMag Universal Kit (1×)		
<b>Jiné</b>	---		

**Metodika**

- kvalitativní vyšetření – 6 laboratoří
- kvantitativní vyšetření – 17 laboratoří

z toho:

konvenční PCR (žádná laboratoř)	komerční	---
	in-house	---
real-time PCR (23 laboratoří)	komerční	21 laboratoří
	in-house	2 laboratoře

Pozn.:

- všechny laboratoře používají pouze real-time PCR
- všech 6 laboratoří, které provádí kvalitativní stanovení, používají komerční kity
- v případě kvantitativního stanovení 15 laboratoří používá komerční kit a 2 in-house real-time PCR

***použité komerční kity (21 laboratoří)***

- 20 laboratoří používá kity s CE značkou
- 1 laboratoř využívá kit bez CE značky, kdy je nutné v laboratoři provést kompletní validaci!

Firma	Počet laboratoří	Název kitu
Argene	1 laboratoř	CMV, HHV 6,7,8 Rgene
ELITech group	1 laboratoř	CMV Q ELITe Kit
GeneProof	10 laboratoří	Cytomegalovirus PCR Kit
InterLabService	1 laboratoř	AmpliSens CMV-FRT
QIAGEN	2 laboratoře	artus CMV RG PCR Kit (1×)
		artus CMV LC PCR Kit (1×)
Roche	1 laboratoř	COBAS TaqMan CMV Test
Sacace Biotechnologies	4 laboratoří	CMV Real-TM Quant
<b>TIB MOLBIOL (bez CE)</b>	1 laboratoř	LightMix Kit Human Cytomegalovirus

***použité přístroje***

<b>Firma</b>	<b>Přístroj</b>	<b>Počet laboratoří</b>	<b>Typ přístroje</b>
BioRad	Bio-Rad CFX	1 laboratoř	CFX96 (1×)
Cepheid	SmartCycler	1 laboratoř	Smart Cycler (1×)
ELITech group	ELITe In Genius	1 laboratoř	ELITe In Genius (1×)
GeneProof	croBEE Real-Time PCR System	3 laboratoře	croBEE Real-Time PCR System (3×)
Hangzhou Bioer Technology co., Ltd	Line Gene	1 laboratoř	Line Gene (1×)
Idaho	Light Scanner	1 laboratoř	Light Scanner 32 (1×)
Life Technologies	ABI PRISM	1 laboratoř	ABI PRISM 7300 (1×)
QIAGEN	Rotor-Gene	6 laboratoří	6000 (3×)
			Q (3×)
Roche	LightCycler	6 laboratoří	typ 1.5 (1×)
			typ 2.0 (4×)
			480 a 480 II (1×)
	COBAS TaqMan	1 laboratoř	COBAS TaqMan (1×)
Sacace Biotechnologies	Sacycler	1 laboratoř	Sacycler (1×)

**Inhibiční kontrola**

- Kontrola inhibice je součástí vyšetření CMV DNA u všech 23 laboratoří (včetně 2 laboratoří, které používají in-house real-time PCR metodu). 1 laboratoř (58) v dotazníku zaškrtila, že IC není součástí vyšetření, přestože používaný kit dle údajů zveřejněných výrobcem deklaruje přítomnost IC jako součást analýzy.
- Inhibice nebyla u žádného vzorku, přesto 1 laboratoř v dotazníku zaškrtila „inhibice ANO“ (laboratoř ale inhibici ve výsledkovém a dotazníkovém protokolu neuvedla).

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