



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel programů zkoušení způsobilosti akreditovaný ČIA
Podle ČSN EN ISO/IEC 17043, reg. č. 7001
Šrobárova 48, 100 42 Praha 10 – Vinohrady



Závěrečná zpráva

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii
(Externí hodnocení kvality)

PT#M/32/2018 (č. 1037)

Identifikace herpetických virů

Praha, prosinec 2018

Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2. Příprava vzorků	4
3. Charakteristika vzorků	4
4. Způsob hodnocení	4
5. Hodnocení	5
6. Závěr	5
7. Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/32/2018 byl zaměřen na průkaz všech lidských herpetických virů kultivovatelných na přisedlých tkáňových kulturách. Návrh a realizace PT#M/32/2018 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/32 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 programů 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 rozesílána poštou.

Koordinátor:

MUDr. Klára Labská
Tel: 267 082 247(2476)

Zprávu vypracoval:

MUDr. Klára Labská, NRL pro herpetické viry, SZÚ Praha

Zprávu schválil: Mgr. Markéta Pumannová

Dne: 19. 12. 2018

Pracoviště 2 ESPT (AP CEM - Akreditační pracoviště Centra epidemiologie a mikrobiologie):

www.szu.cz/espt

email: apcem@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/32/2018

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/32/2018 EHK-1037
Název:	Identifikace herpetických virů
Poskytovatel:	SZÚ – Centrum laboratorních činností - ESPT Šrobárova 48, Praha 10, 100 42 tel.: + 420 267082575, fax.: + 420 267082271
Vedoucí ESPT	Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor:	Dr. Klára Labská
Subdodavatel:	Není
Charakteristika materiálu:	Lyofilizát tkáňové kultury infikované lidskými herpetickými viry HSV1, HSV2, VZV a CMV
Podstata a účel PT/EHK:	Průkaz virů kultivací na tkáňové kultuře a jejich následná identifikace
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Kultivace všech vzorků na tkáňové kultuře s následnou identifikací viru a odeslání výsledků ve stanoveném termínu
Způsob přípravy:	Výchozím materiálem je tkáňová kultura lidských embryonálních fibroblastů infikovaná laboratorními kmeny lidských herpetických virů HSV1, HSV2, CMV AD169, VZV OKA
Množství připravovaného test. Materiálu:	Nejméně 12ml suspenze pro každý vzorek 10 sad/ 8 účastníků
Označení vzorkovnic:	EHK-1037 PT # M/32, č. 1- 5, 2. 10. 2018
Zabezpečení kvality vzorku:	Lyofilizace
Termín testu homogenity a stability:	1. Lyofilizát je opakovaně testován kultivací na viabilitu viru 2. Přítomnost viru je ověřena metodou PCR
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Distribuce v předepsaném obalu. Přeprava a uchování vzorků v chladničce při teplotě 2-8°C, chránit před světlem.
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor
Počet účastníků:	8
Termín distribuce:	2.10.2018
Způsob distribuce:	Přepravní službou v termínu určeném AP CEM (zajišťuje AP CEM)
Předání výsledků:	Písemně na zaslaném formuláři na adresu AP CEM
Způsob vyhodnocení výsledků:	Shodný výsledek každého markeru je hodnocen +2 body, částečná neshoda (malá chyba) +1 bod. Hranice úspěšnosti dle celkových výsledků v této sérii.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neprovádí se
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Výsledky získané v NRL
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 12 týdnů po předání výsledků k hodnocení

2. Příprava vzorků

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byla tkáňová kultura LEP zainfikovaná následujícími virovými kmeny

HSV1 – kmen X504 (izolát z pacienta, 3.pasáž na TK)

HSV2 – kmen 335/12 (izolát z pacienta, pasáž na TK nižší než 10.)

VZV – kmen OKA

CMV – kmen AD 169

Po dosažení CPE na TK (za 2 až 8 dní) byla kultura resuspendována, naředěna kultivačním médiem (RPMI + 10% FBS) a rozplněna po 1 ml do lyofilizačních lahvíček.

Stabilita vzorku byla zajištěna lyofilizací. Sestava vzorků byla lyofilizována postupně, každý virus samostatně na pracovišti Národní referenční laboratoř - Česká národní sbírka typových kultur (CNCTC). Jeden vzorek obsahoval vždy pouze jeden virus. Přítomnost viru ve vzorku a absence ostatních kultivovatelných herpetických virů byla ověřena metodou PCR dle SOP-NRL/HV-07.

Po kontrole lyofilizátů byly lahvičky opatřeny pertlí pomocí pertlovacích kleští a označeny nálepkou pro identifikaci lyofilizátu (pořadové číslo 1-5, číslo EHK a datum rozeslání). Takto označené a zapertlované lahvičky byly vloženy do plastového obalu a skladovány při teplotě 4 – 8 °C.

Výchozí materiál spadá dle klasifikace IATA týkající se nebezpečného zboží do kategorie Infekční materiál 6.2 kategorie B. Infekční látky zařazené v kategorii B jsou pro přepravu označeny UN kódem - UN3373 Biologická látka, kategorie B.

Přeprava vzorků je zajišťována přepravcem se službou „Přeprava biologického materiálu“.

Lyofilizát byl opakovaně testován na přítomnost životaschopných virů v Národní referenční laboratoři pro herpetické viry dle SOP-NRL/HV-04 s následnou identifikací dle SOP-NRL/HV-07

3. Charakteristika vzorků

Vzorek 1. obsahoval virus HSV1, kmen X504; neředěný.

Vzorek 2 obsahoval virus HSV 2, kmen 335/12; neředěný

Vzorek 3 obsahoval virus VZV, laboratorní kmen OKA; neředěný

Vzorek 4. obsahoval virus CMV, laboratorní kmen AD 169; neředěný

Vzorek 5 obsahoval sterilní tkáňovou kulturu LEP

Správné výsledky jsou uvedeny v *Tabulce 1: Správné výsledky*

Tabulka 1: Správné výsledky

Označení	HSV1	HSV2	CMV	VZV
EHK 1	+	neg	neg	neg
EHK 2	neg	+	neg	neg
EHK 3	+	neg	neg	+
EHK 4	neg	neg	+	Neg
EHK 5	neg	neg	neg	neg

4. Způsob hodnocení

Výsledky zúčastněných laboratoří se porovnávají s výsledky získanými v NRL pro herpetické viry. Zároveň se přihlíží k výsledkům účastníků jako celku. Shodný výsledek každého vzorku je hodnocen +2 body, částečná shoda +1 bodem. Následně jsou porovnány hodnoty získaných součtů bodů a stanovena hranice úspěšnosti v procentuálním vyjádření. Hranice úspěšnosti pro tuto sérii byla stanovena na 80 %.

5. Hodnocení

Všech 6 laboratoří správně kultivačně prokázalo přítomnost herpetických virů ve všech vzorcích a následně je správně identifikovalo.

Použité kultivační systémy jsou uvedeny v *Tabulce 2*.

K identifikaci kultivovaného viru použily laboratoře metodu imunofluorescence s monoklonální protilátkou (2/6), PCR (4/6) a elektronovou mikroskopií (1/6).

Tabulka 2: Použité buněčné linie

Buněčná linie	Počet použití v sérii	Vykultivovaný virus
LEP	3	HSV1 (3/3), HSV2 (3/3), VZV (3/3), CMV (3/3)
CV-1	3	HSV1 (1/1), HSV2 (1/1), VZV (0/1), CMV (0/1)
MRC 5	3	HSV1 (3/3), HSV2 (3/3), VZV (3/3), CMV (3/3)
VERO	2	HSV1 (2/2), HSV2 (2/2), VZV (0/2), CMV (0/2)

6. Závěr

Sérii EHK 1037 si objednalo 8 laboratoří, výsledky dodalo 6 laboratoří. Všechny zúčastněné laboratoře, co dodaly výsledky, uspěly bez ztráty bodu. Problematictější byla vitalita VZV, u některých laboratoří si vyžádala další pasáž. Dále jako metoda identifikace v této sérii převládla PCR nad přímou imunofluorescencí. Všem zúčastněným děkujeme za spolupráci a včasné dodání výsledků.

V případě reklamací vyhodnocení série prosím postupujte dle reklamačního řádu.

Klára Labská
NRL pro herpetické viry
koordinátor série EHK 1037