



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/32/2020 (č. 1149)

Identifikace herpetických virů

Praha, listopad 2020

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/32/2020 byl zaměřen na průkaz všech lidských herpetických virů kultivovatelných na přisedlých tkáňových kulturách. Návrh a realizace PT#M/32/2020 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 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

Dne: 16. 11. 2020

Pracoviště 2 ESPT

ehk@szu.cz

<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/32/2020

Identifikace kola:	EHK 1149
Název PT:	PT#M/32/2020
Poskytovatel:	ESPT, Šrobárova 49/48, Praha 10 100 00
Koordinátor:	MUDr. Klára Labská
Subdodavatel a činnosti, které zajišťuje:	Lyofilizace na pracovišti Oddělení bakteriální rezistence na antibiotika a Sběrka kultur, CEM, SZÚ
Podstata a účel PT:	Kultivace a identifikace herpetických virů na tkáňových kulturách
Kritéria pro účast na PT:	Přihláška a odeslání výsledků v daném termínu
Charakteristika materiálu:	Lyofilizát infikované tkáňové kultury
Hodnocené ukazatele:	Přítomnost cytopatického efektu a správná identifikace druhu herpetických virů
Způsob přípravy:	Viz SOP M/32/NRL/HV
Množství připravovaného test. materiálu (počet očekávaných účastníků):	14 ks (5)
Označení vzorkovnic:	EHK 1149, PT#M/32., č. 1 – č. 5, 6. 10. 2020
Zabezpečení jakosti vzorku (včetně termínů testů homogenity a stability):	Lyofilizace <ul style="list-style-type: none"> • Test po zabalení do prvního obalu finálního balení (lyofilizační lahvička zapertlovaná) • Test před distribucí účastníkům • test po uzavěrci série
Možné zdroje analytických chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor
Způsob vyhodnocení výsledků:	Za identifikaci virů nebo správné určení negativity celkově v 5 vzorcích mohou laboratoře získat maximálně 10 bodů
Určení přijaté vztahné hodnoty:	Výsledky NRL
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neprovádí se
Termín distribuce vzorků:	6. 10. 2020
Způsob distribuce vzorků:	Distribuce je zajišťována přepravcem TNT, který poskytuje přepravování biologického materiálu dle podmínek ADR
Informace účastníkům (např. pokyny, výsl. formuláře):	Průvodní dopis zveřejněný na webu SZÚ a pokyny v elektronickém formuláři
Termín odeslání výsledků účastníky:	5. 11. 2020
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	Do 10 dnů po předání výsledků k hodnocení
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 DR_1_19

HSV2 – kmen DR_2_19

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-06 a 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-06 a SOP-NRL/HV-07.

3. Charakteristika vzorků

Vzorek 1. obsahoval virus VZV, laboratorní kmen OKA; neřaděný

Vzorek 2 obsahoval virus HSV1, – kmen DR_1_19; neřaděný

Vzorek 3 obsahoval virus HSV 2, kmen DR_2_19; neřaděný

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

Vzorek 5 obsahoval sterilní tkáňovou kulturu LEP

Kmeny DR_1_19 a DR_2_19 byly rezistentní k acykloviru.

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	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 5 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 PCR (5/5).

Cytopatický efekt byl u jednotlivých vzorů pozorován v časovém rozmezí viz *Tabulka 3*.

Tabulka 2: Použité buněčné linie

Buněčná linie	Počet použití v sérii	Vykultivovaný virus (počet pozitivních záchytů/ použití v sérii)
LEP	2	HSV1 (2/2), HSV2 (2/2), VZV (2/2), CMV (2/2)
CV-1	1	HSV1 (1/1), HSV2 (1/1), VZV (0/1), CMV (0/1)
MRC 5	2	HSV1 (2/2), HSV2 (2/2), VZV (1+1 x hraniční/2), CMV (1/1)
VERO	2	HSV1 (2/2), HSV2 (2/2), VZV (0+1 x hraniční /2), CMV (0/1)

Tabulka 3: Čas nástupu cytopatického efektu dle použitých virových kmenů

	median (dny)	minimální doba kultivace (dny)	maximální doba kultivace (dny)
VZV	9	7	14
CMV	7,5	5	8
HSV1	2	2	3
HSV2	2	1	3

6. Závěr

Sérii EHK 1149 si objednalo 6 laboratoří, výsledky dodalo 5 laboratoří. V této sérii byl poprvé použit on-line formulář, bude se upravovat dle připomínek. Všechny zúčastněné laboratoře, které dodaly výsledky, uspěly bez ztráty bodu. Metodou identifikace v této sérii byla již pouze polymerázová řetězová reakce (PCR).

V případě reklamace vyhodnocení série postupujte prosím dle reklamačního řádu.