



**Státní zdravotní ústav**  
**Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti**  
Organizátor programů zkoušení způsobilosti akreditovaný ČIA, reg. č. 7001  
Šrobárova 48, 100 42 Praha 10 – Vinohrady



# **Závěrečná zpráva**

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii  
(Externí hodnocení kvality)

**PT#M/32/2010 (č. 677)**  
**Identifikace herpetických virů**

**Praha, leden 2011**

**Zařazeno do Národního programu zkoušení způsobilosti**

## Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing) 3
2. Příprava vzorku 4
3. Hodnocení 4
4. Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře

Program zkoušení způsobilosti PT#M/32/2010 byl zaměřen na průkaz herpetických virů. Návrh a realizace PT#M/32/2010 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 organizátor programů způsobilosti č. 7001.

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

Nedílnou součástí závěrečné zprávy je výsledkový protokol jednotlivé laboratoře.

**Koordinátor:**

Ing. Hana Hrbáčková  
Tel: 267 082 247(2476)

**Zprávu vypracoval:**

Ing. Hana Hrbáčková, NRL pro herpetické viry, SZÚ Praha

**Zprávu schválil:** Ing. Hana Hrbáčková

**Dne:** 14.1.2011

**Pracoviště 2 ESPT (AP OML - Akreditační pracoviště Odboru mikrobiologických laboratoří):**

[www.szu.cz/espt](http://www.szu.cz/espt)

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

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/32/2010**

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/32/2010
Název:	Identifikace herpetických virů
Organizátor:	SZÚ – Centrum laboratorních činností - ESPT Šrobárova 48, Praha 10, 100 42 tel.: + 420 267082575, fax.: + 420 267082271
Vedoucí ESPT	Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor:	Ing. Hana Hrbáčková
Subdodavatel:	není
Charakteristika materiálu:	5 vzorků lyofilizované suspenze tkáňové kultury obsahující některý z testovaných virů (HSV1 nebo 2, VZV, CMV) nebo jen médium.
Podstata a účel PT/EHK:	Zachycení, pomnožení a správná identifikace výběru herpetických virů prověřující schopnost laboratoří reálně diagnostikovat, identifikovat a uchovat kmeny herpetických virů izolované z patientských vzorků.
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Vyšetření všech zaslaných vzorků a odeslání výsledků ve stanoveném termínu.
Způsob přípravy:	Výchozím materiálem pro přípravu vzorků je tkáňová kultura buněk LEP zainfikovaná některým z virů nebo čistá. Po dostatečném pomnožení viru charakterizovaným CPE +++ a více se suspenze á 1 ml lyofilizuje, kontrolně identifikuje (IF a/nebo PCR) a znovu kultivačně otestuje, zda je vzorek po lyofilizačním kroku stále životaschopný.
Množství připravovaného test. materiálu:	Nejméně 20 ml od každého vzorku
Označení vzorků:	ESPT SZÚ PT # M/32/2010 – EHK 677
Zabezpečení kvality vzorku:	Pro zajištění stability jsou výchozí vzorky lyofilizovány.
Testy homogenity a stability:	Výchozí materiál a finální (rozplněný a lyofilizovaný) vzorek je testován na přítomnost životaschopného viru dle SOP-NRL/HV-04 a identifikace dle SOP-NRL/HV-05,-06.
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Distribuce v předepsaném obalu. Přeprava a uchování vzorků před rekonstitucí v chladničce při teplotě 2 - 8 °C, uchování po rekonstituci á 1 ml TK vody při -70°C nebo nižší.
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor, nedostatečná citlivost izolačního nebo identifikačního systému.
Počet účastníků:	10 laboratoří
Termín distribuce:	27.9.2010
Způsob distribuce:	Rozvoz přepravní službou Přílohy: pokyny účastníkům
Předání výsledků:	Písemně vyplněním formuláře distribuovaného spolu se vzorky a doručením doporučeným dopisem do 27.10.2010.
Určení přijaté vztažené hodnoty:	Nepoužívá se
Způsob vyhodnocení výsledků:	Za každý správně určený vzorek +2 body, při částečné shodě +1 bod. Hranice úspěšnosti se obvykle nachází mezi 60 až 80%.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Nepoužívá se
Termín rozeslání zprávy účastníkům:	Leden 2011

## 2. Příprava vzorků

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků je tkáňová kultura LEP zainfikovaná vybraným virem. Výchozí materiál je dlouhodobě uskladněn při teplotě  $-74^{\circ}\text{C}$  nebo nižší, případně v lyofilizované formě při  $+4^{\circ}\text{C}$ . Výchozí materiál byl před použitím rozmrazen, resp. resuspendován v tkáňové vodě a je jím zainfikována narostlá TK LEP (viz. SOP-NRL/HV-04). Po dosažení CPE na TK (za 2 až 8 dní) byla kultura homogenizována a rozplněna po 1 ml do lyofilizačních lahvíček. K dosažení potřebného objemu byl výchozí materiál před rozplněním doředěn tkáňovým médiem.

Pro zajištění stability byl výchozí materiál zasílán v lyofilizované formě. Sestava vzorků byla lyofilizována postupně, každý virus samostatně na pracovišti NRL České národní sbírky typových kultur.

Takto připravený materiál byl testován na přítomnost virů v Národní referenční laboratoři pro herpetické viry dle SOP-NRL/HV-04. Přítomnost konkrétního viru v lyofilizovaném vzorku a nepřítomnost ostatních sledovaných virů v něm byla ověřena zpracováním rozpuštěného lyofilizátu dle SOP-NRL/HV-05 a jeho vyšetřením na přítomnost testovaných virů metodou PCR dle SOP-NRL/HV-06.

Po kontrole lyofilizátů jsou 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 jsou vloženy do plastového obalu a skladovány při teplotě  $4 - 8^{\circ}\text{C}$ . Balení vzorků musí obsahovat tři vrstvy. 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.

## 3. Hodnocení

Série EHK 677 obsahovala 5 testovacích lyofilizovaných vzorků (všechny k rekonstituci á 1 ml TK vodou). Vzorky byly odeslány k testování 27.9.2010, termín pro ukončení testování byl 27.10.2010. K sérii 677 se přihlásilo 10 laboratoří, výsledky vrátili všechny laboratoře.

Pro vyhodnocení jsou podstatné výsledky NRL, ale přihlíží se také k výsledkům všech zúčastněných laboratoří jako celku. Shodný výsledek každého vzorku hodnocen +2 body, částečná shoda + jedním bodem (např. bez úplného dourčení apod.). Následně jsou porovnány hodnoty získaných součtů bodů a stanovena hranice úspěšnosti v procentuálním vyjádření. V této sérii byla stanovena hranice úspěšnosti na spodní hodnotě obvyklého intervalu: 60%.

## Správné výsledky

Tabulka: EHK kultivace 15.9.2010

Virus	CMV / 2	HSV 2	VZV	NK	CMV / 1
Ověření akt. viru na LEP 6-8/2010	CPE: +++++	CPE:++++	CPE:++++	Neg	CPE: +++/++++
Číslo vzorku	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>

## Souhrnné vyhodnocení

Série 677 pro kultivaci herpetických virů v roce 2010 ukázala různou míru kvality zpracování kultivačních vzorků. Kromě tří laboratoří s plným počtem bodů také další čtyři prokázaly dobrou úroveň TK diagnostiky se ziskem 6 až 8 bodů v EHK a uspěly.

Nejnáročnější se ukázala být kultivace VZV, která není běžná v klinických materiálech a nebývá zastoupena v každé sérii TK EHK. Úspěšně kultivovaly a identifikovaly VZV čtyři laboratoře, ostatním doporučuji prověřit své kultivační a detekční systémy pro záchyt VZV.

Vzorek č. 5 obsahoval nižší koncentraci CMV, ovšem zcela reálnou při srovnání s klinickými vzorky. Zcela správně ho vykultivovalo a určilo 5 laboratoří.

Negativní vzorek byl určen správně všemi, CMV ve vzorku1 devíti a HSV2 ve vzorku2 osmi laboratořemi.

Tři laboratoře bohužel určily v této sérii pouze 2 vzorky a se 40%ním ziskem bodů neuspěly.