

EHK – 1037 Identifikace herpetických virů

Klára Labská

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

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**.

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 %.

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).

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.

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

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)

Praha, prosinec 2018

Klára Labská
NRL pro herpetické viry