

EHK – 841 Sérologie respiračních virů

Radomíra Limberková

HODNOCENÍ

Účelem EHK je ověřit schopnost účastníků určit titr komplement fixačních protilátek proti respiračním virům (chřipce typu A, chřipce typu B, adenovirům a respiračnímu syncytiálnímu viru) nebo stanovit přítomnost IgG a IgM protilátek za použití jiných sérologických metod.

Vzorky byly rozeslány do 35 laboratoří, jedna laboratoř nezaslala svůj protokol zpět k vyhodnocení (51), jedno pracoviště vyšetření neprovedlo z technických důvodů (209) a jedno tato vyšetření neprovádí (214). Celkem bylo hodnoceno 32 laboratoří.

Zásilka obsahovala 4 vzorky směsných lidských sér k určení titru protilátek (KFR) či ke stanovení přítomnosti IgG a IgM protilátek (ELISA, IF) proti respiračním virům dle rutinní praxe jednotlivých pracovišť. Vzorky připravila sérologická laboratoř NRL pro chřipku a NRL pro nechřipkové respirační viry.

ZPŮSOB HODNOCENÍ

Každý vzorek byl hodnocen v rozmezí 0–2 body; očekávaný výsledek byl hodnocen 2 body, posun o 1 ředění +/- jedním bodem, za nesprávný výsledek nebyl žádný bod.

Maximální bodový zisk se lišil v závislosti na počtu vyšetřovaných antigenů a druhu použitých metod. Nejednotnost vyšetřovacích schémat jednotlivých pracovišť byla důvodem pro rozdělení pracovišť do několika hodnocených skupin. Limit požadovaných bodů byl stanoven výpočtem (limit = aritmetický průměr hodnot získaných bodů účastníků dané skupiny – dvě směrodatné odchylky). V případě, že byla v hodnocené skupině pouze jedna laboratoř, hodnotila se procentem úspěšnosti a limit byl stanoven na 75 % maximálního bodového zisku.

Vyšetřovaná séra jsou směsí lidských sér, která nebyla inaktivována – pro vyšetření v KFR je 30 minutová inaktivace při 56 °C nezbytným předpokladem k odstranění antikomplementární aktivity séra. Neinaktivovaný vzorek 1 a 2 vykazoval antikomplementaritu až do titru 512, po inaktivaci byla antikomplementarita velmi slabá (+/++) pouze v ředění 1:8, výsledky KFR nebyly touto antikomplementaritou ovlivněny.

Metody ELISA nejsou určeny k vyšetřování směsi sér, neboť tím může být ovlivněn výsledek reakce. Z tohoto důvodu nebyl hodnocen vzorek číslo 1 u stanovení IgG anti-influenza B, kde byly výsledky jednotlivých pracovišť nejednotné a neumožňovaly jednoznačnou interpretaci.

Hodnocení metod ELISA probíhalo na základě porovnání výsledků mezi jednotlivými laboratořemi, protože NRL z technických důvodů tato vyšetření neprovádí.

OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

1. TITRY KOMPLEMENT FIXAČNÍCH PROTILÁTEK

Vzorek	Influenza A H1N1 H3N2	Influenza B	AV	RSV
1	64 64	16	16	8–16
2	32 16–32	32–64	16–32	8–16
3	8–16 8–16	0–8	32–128	0–8
4	0 0	0	0	0

Rozmezí titrů stanoveno v závislosti na použitém CF Ag (SZÚ, Vidia, Virion).

2. PŘÍTOMNOST IGG PROTILÁTEK

Vzorek	Influenza A	Influenza B	AV	RSV
1	pozitivní	nehodnoceno*	pozitivní	pozitivní
2	pozitivní	pozitivní	pozitivní	pozitivní
3	pozitivní	negativní	pozitivní	pozitivní
4	negativní	negativní	pozitivní	pozitivní

* Vzorek číslo 1 nebyl hodnocen u stanovení IgG anti-influenza B, kde byly výsledky jednotlivých pracovišť nejednotné a neumožňovaly jednoznačnou interpretaci očekávaného výsledku.

3. PŘÍTOMNOST IGM PROTILÁTEK

Vzorek	Influenza A	Influenza B	AV	RSV
1	negativní	negativní	negativní	negativní
2	negativní	negativní	negativní	negativní
3	negativní	negativní	negativní	negativní
4	negativní	negativní	negativní	negativní

HODNOCENÉ SKUPINY

Některé laboratoře vyšetřily vzorky více metodami, tato pracoviště byla hodnocena vícekrát podle jednotlivých použitých metod. Vzhledem k tomu, že laboratoře vyšetřovaly vzorky v různých kombinacích bylo nutné zvolit hodnocení po skupinách podle typu metody a druhu vyšetřovaných antigenů.

1. skupina – metoda KFR, 5 vyšetřovaných antigenů
2. skupina – metoda KFR, 4 vyšetřované antigeny (bez subtypů Infl.A)
3. skupina – KFR, 3 vyšetřované antigeny (netestován RSV a subtypy Infl.A)

PŘEHLED ÚSPĚŠNOSTI LABORATOŘÍ V JEDNOTLIVÝCH HODNOCENÝCH SKUPINÁCH

Hodnocená skupina	1.KFR 5 Ag	2.KFR 4 Ag	3.KFR 3 Ag	4.IgM 4 Ag	5.IgM 3 Ag	6.IgM 2 Ag	7.IgG 4 Ag	8.IgG 3 Ag	9.IgG 2 Ag
Max. bodů	40	32	24	32	24	16	30	30	22
Limit bodů	30,92	12,76	18	29,7	18	13,98	21,37	16,5	14,39
hodnoceno	12	5	1	13	1	6	15	1	3
uspělo	12	5	0	13	0	6	14	1	3
neuspělo	0	0	1 (179)	0	1 (179)	0	1 (230)	0	0

4. skupina – IgM, 4 vyšetřované antigeny
5. skupina – IgM, 3 vyšetřované antigeny (netestován RSV)
6. skupina – IgM, 2 vyšetřované antigeny (AV, RSV)
7. skupina – IgG, 4 vyšetřované antigeny (vzorek 1 nebyl hodnocen s Infl. B)
8. skupina – IgG, 3 vyšetřované antigeny (netestován RSV)
9. skupina – IgG, 2 vyšetřované antigeny (AV, RSV)

ZÁVĚREČNÉ HODNOCENÍ

Jedno pracoviště (656) nebylo hodnoceno, protože na výsledkovém protokolu byly zapsány pouze hodnoty OD nebo

IP (?) bez udání referenčních mezí a interpretace, která by hodnocení vzorků umožnila.

Všechna hodnocená pracoviště, kromě dvou, dosáhla bodového limitu potřebného pro úspěšné absolvování EHK PT#M/22/2014 (č.841) s omezením vyšetření závislejícím na druhu vyšetřovaných antigenů a typu použité metody.

Laboratoř 179 nedosáhla bodového limitu pro úspěšné absolvování EHK PT#M/22/2014 (č.841) v KFR a ve stanovení IgM protilátek (vyšetřením IgG tato laboratoř uspěla).

Laboratoř 230 nedosáhla bodového limitu pro úspěšné absolvování EHK PT#M/22/2014 (č.841) ve stanovení IgG protilátek (vyšetřením IgM a KFR tato laboratoř uspěla).

*MUDr. Radomíra Limberková
CEM – SZÚ, Praha*