

EXTERNÍ HODNOCENÍ KVALITY

EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT

EHK – 960 Sérologie viru Epstein - Barrové

Klára Labská

CHARAKTERISTIKA SÉRIE A VZORKŮ

Série EHK-960 obsahovala 2 vzorky (á 0,3 ml, na požádání 0,5 ml) k vyšetření sérologických markerů EBV infekce. Výběr konkrétních markerů nebyl stanoven. Požadováno bylo minimálně 1x IgM a 1x IgG, ale jsou doporučeny alespoň 3 markery, protože tři výsledky představují minimum nutné pro interpretaci stádií EBV infekce a stavů organismu s nimi spojených.

Vzorek A

Sérum 16letého pacienta se syndromem infekční mononukleózy, odběr byl proveden cca 14 dní od počátku příznaků.

Vzorek B

Sérum 38letého zdravého dárce s anamnestickými protilátkami proti EBV a náhodným záchytem IgM protilátek proti *Borrelia burgdorferi*, viz **Tabulka 1**.

ZPŮSOB HODNOCENÍ

Metody na bázi immunoassay (EIA, CLIA, NIF a další)

Výsledky zúčastněných laboratoří se porovnávaly s výsledky získanými v NRL pro herpetické viry a přihlíží se i k výsledkům ostatních účastníků jako celku. Každý otestovaný marker měl hodnotu POZITIVNÍ nebo NEGATIVNÍ, přípustná je také hodnota HRANIČNÍ.

Hodnocení je založeno na ohodnocení každého shodného výsledku sledovaných markerů anti-markery EBNA IgG, anti-VCA IgG a anti-VCA IgM dva body/vzorek. V případě částečné neshody v těchto markerech (obvykle hraniční výsledek) je přidělen jeden bod.

Ostatní markery (např. anti-EA IgG, anti-EA IgM, anti-VCA IgA, anti-EBNA-1 IgM, anti-ZEBRA IgM a IgG, anti-BZLF-1 IgM a IgG a další) jsou hodnoceny v případě shody ziskem 1 bodu za 1 vzorek.

Tabulka 1: SPRÁVNÉ VÝSLEDKY

	A	B
EBNA IgG	negativní	pozitivní
EBNA IgM	negativní	negativní
VCA IgG	pozitivní	pozitivní
VCA avidita	nízkoavidní	vysokoavidní
VCA IgM	pozitivní	negativní
VCA IgA	pozitivní	negativní
EA IgG	pozitivní / hraniční	negativní
EA IgM	hraniční – vyřazeno z hodnocení	negativní

Celková interpretace vzorku je hodnocena 4 body za vzorek. Interpretace musí odpovídat dosaženým výsledkům, pokud jsou výsledky některých testů v rozporu s interpretací, laboratoř musí hodnocení zdůvodnit komentářem. Pro usnadnění komunikace jsou navrženy tyto předdefinované interpretace:

1. séronegativní,
2. stav po primoinfekci proběhlé v minulosti – anamnestické protilátky,
3. stav po primoinfekci proběhlé v minulosti – sérologické známky reaktivace,
4. stav po primoinfekci proběhlé v minulosti (pokud laboratoř nekomentuje reaktivaci)
5. primoinfekce.

Zúčastněné laboratoře měly prostor interpretaci rozšířit v rámci formuláře v poli „Komentář“.

Metody na bázi immunoblot

Zúčastněný do výsledkového formuláře vyplňuje, zda byly přítomny protilátky proti jednotlivým antigenům, ale test se hodnotí jako celek interpretací (viz předdefinované interpretace).

Hranice úspěšnosti se stanovuje v procentech dosažených bodů/maximální bodový zisk při zvolené kombinaci testů. Hranici úspěšnosti pro jednotlivé kolo dané série nelze stanovit předem, neboť záleží na míře shody hodnocené laboratoře s NRL a zároveň na míře shody mezi zúčastněnými laboratořemi dohromady. Pokud se však výsledky liší od výsledků většiny laboratoří i výsledků stanovených koordinátorem, vyhrazuje si koordinátor právo při hodnocení úspěšnosti laboratoře rozhodnout direktivně. Koordinátor si vyhrazuje právo v případě rozporuplných výsledků určitého testu tento test vyřadit z hodnocení. Koordinátor určí direktivně limit (%), který musí laboratoř dosáhnout. Limit pro sérii 960 byl stanoven na **80 % bodů** dosažitelných zvolenou kombinací metod.

VYHODNOCENÍ

Vzorek A: EBV primoinfekce

Marker EBNA 1 IgG – negativní

Marker vyšetřilo 121 laboratoří bez neshodných výsledků.

Marker VCA IgG – pozitivní, nízkavidní

Metody na bázi EIA: 107x pozitivní, 2x hraniční a 5x negativní.

Neshodné výsledky byly získány soupravami Diesse Chorus (6 použití v sérii, 1x pozitivní, 1x hraniční, 4x negativní – 4 různé šarže), Biorad Bioplex (1 použití v sérii – 1x negativní) a Vidia Viditest EBV VCA IgG (4 použití v sérii, 3x pozitivní, 1x hraniční).

Metody na bázi NIF: 6x pozitivní.

Anti-VCA IgG avidita – všech 11 testujících laboratoří shodně hodnotilo vzorek jako nízkoaividní.

Použité soupravy: Euroimmun – EBV CA avidity determination; Test Line – EIA VCA IgG; Vidia – ELISA VIDitest anti-VCA EBV IgG a avidita IgG.

Marker VCA IgM – pozitivní

Metody na bázi EIA: 110x pozitivní, 1x hraniční, 4x negativní.

Neshodné výsledky byly získány soupravami Euroimmun Anti-EBV VCA (IgM; 4 použití v sérii, 4x negativní – 3 různé šarže), TestLine – EIA EBV VCA IgM (33 použití v sérii, 1x hraniční, 32x pozitivní).

Metody na bázi NIF: 5x pozitivní, 1x negativní.

Neshodný výsledek byl získán soupravou Vidia IF Viditest anti-VCA IgM (5 použití v sérii, 1x negativní, 4x pozitivní).

Marker VCA IgA – pozitivní

Marker vyšetřily 4 laboratoře, 3x s pozitivním a 1x s hraničním výsledkem.

Použité soupravy: Test Line – EIA VCA IgA (2x pozitivní); Vidia – ELISA VIDitest anti-VCA EBV IgA (1x pozitivní, 1x hraniční).

Marker EA IgG – pozitivní/ hraniční

Metody na bázi EIA: 11x pozitivní, 31x hraniční, 37x negativní.

Soupravy vykázaly odlišnou citlivost na protilátky k tomuto antigenu, viz **Tabulka 2**.

Marker EA IgM – hraniční, nehodnocen

Metody na bázi EIA: 3x pozitivní, 1x hraniční, 14x negativní (+ 1x chybí výsledek).

Pro výrazné rozdíly dle použité soupravy jsou výsledky uvedeny formou tabulky (viz **Tabulka 3**).

Marker EBNA 1 IgM – negativní

Marker vyšetřilo 24 laboratoří, neshodný výsledek měla 1 laboratoř soupravou, kterou neuvedla, a 1 laboratoř nevyplnila výsledek.

Tabulka 3: VZOREK A – anti-EA IgM metody

Výrobce	Souprava	Pozitivní	Hraniční	Negativní
Euroimmun	Anti-EBV EA ELISA Ig	2/2*	0/2*	0/2*
Test Line	EIA EBV EA IgM	0/6	0/6	6/6
Diesse	Chorus	0/8	0/8	8/8
Vidia	ELISA Viditest EBV EA IgM	1/2	1/2	0/2

*číslo za lomítkem uvádí počet použití dané soupravy v sérii

Vzorek B: EBV anamnestické protilátky

Vzorek nečinil obtíže a výsledky testů na protilátky třídy IgG (antigeny EBNA, VCA, EA) byly všechny shodné. Vzorek obsahoval IgM protilátky proti *Borrelia burgdorferi* (pouze IgM, pozitivní metodami EIA i imunoblot), některé laboratoře zachytili IgM protilátky.

Marker VCA IgM – negativní, 1 záchyt, souprava Euroimmun Anti-EBV VCA ELISA (IgM; 4 použití v sérii, 1x pozitivní, 3x negativní – pozitivní výsledek měla jiná šarže než ostatní použité).

Marker EBNA IgM – negativní, 2x pozitivní a 2x hraniční, 22x negativní.

Odlišné výsledky byly získány soupravami Vidia ELISA Viditest EBV EBNA 1 IgM (4 použití v sérii, 1x pozitivní, 1x hraniční, 2x negativní) a Test Line EIA EBV EBNA 1-IgM (19 použití v sérii, 1x hraniční, 18x negativní).

Marker EA IgM – negativní, 1x pozitivní, 19x negativní. Odlišný výsledek byl získán soupravou Euroimmun Anti-EBV EA ELISA (IgM; 3 použití v sérii, 1x pozitivní, 2x negativní).

Výsledky metodou imunoblot (western blot)

Metodu použilo 14 laboratoří, celkové hodnocení vzorků se shodovalo. Neuspěla pouze 1 laboratoř, která přes opakované výzvy dodala výsledky jen pro 1 vzorek. Žádná z laboratoří nevyplnila část formuláře týkající se jednotlivých antigenů, a proto nebylo možné porovnat výsledky jednotlivých souprav.

ZÁVĚR

Letošní série „Sérologie EBV“ se zúčastnilo 121 laboratoří, z toho 76 laboratoří úspěšlo bez srážky bodu, 31 laboratoří se srážkou 1 bodu, 9 s vícebodovými srážkami a 5 laboratoří neuspělo. Novinkou bylo zadávání výsledků přes on-line formulář, které se s menšími komplikacemi podařilo zrealizovat. Zřejmě nebyla funkční část formuláře pro vyplňování výsledku imunoblotů dle jednotlivých antigenů, nedorazil ani jeden výsledek.

Nově byla povinnou a vysoce bodově hodnocenou součástí formuláře interpretace výsledků. V předdefinovaných interpretacích jsme se snažili zohlednit přístup jednotlivých laboratoří k hodnocení reaktivity, proto bylo možných pět interpretací. Kódo-

Tabulka 2: VZOREK A – anti-EA IgG metodou EIA i NIF

Výrobce	Souprava	Pozitivní	Hraniční	Negativní
Euroimmun	Anti-EBV EA ELISA IgG	0/3*	0/3*	3/3*
BioRad	Bio-plex 220 EBV IgG	0/1	0/1	1/1
Virion – Serion	EIA EA IgG	1/1	0/1	0/1
Test Line	EIA EBV EA IgG	3/23	3/23	17/23
Diesse	Chorus	1/10	0/10	9/10
Diasorin	Liaison	3/33	27/33	3/33
Vidia	Viditest EBV EA IgG	3/4	1/4	0/4
Vidia	IF- Viditest EA IgG	1/4	1/4	2/4
Vidia	IF- Viditest EA-D IgG	1/1	0/1	0/1

*číslo za lomítkem uvádí počet použití dané soupravy v sérii

vání interpretací bylo součástí průvodního dopisu i nápovědy k programu v rámci elektronického formuláře. Připomínáme, že průvodní dopis k jednotlivým EHK je vždy vyvěšen na webu SZÚ v rubrice „Vyhlášení EHK“.

Letošní vzorky nebyly poolované, pouze vzorek A byl doředen séronegativní plazmou. Ze závažnějších laboratorních chyb se opět objevily negativy anti-VCA IgG u vzorku primoinfekce, patrně problém souprav s nízkoavidními protilátkami. Pokud takovou soupravu vaše laboratoř používá, je důležité o tom vědět při interpretaci výsledků.

Největší neshoda panovala ohledně přítomnosti anti-EA IgG ve vzorku primoinfekce. Marker byl i přes rozporuplné výsledky ponechán v hodnocení, aby si laboratoře ověřily citlivost své metody (bodová ztráta byla minimální a ne-

ohrožuje úspěšnost laboratoří v rámci EHK). Zároveň některé laboratoře na základě absence anti-EA IgG nález špatně interpretovaly jako stav po primoinfekci proběhlé v minulosti.

Vzorek B prověřil soupravy na detekci IgM protilátek, obsahoval sérum od pacienta s IgM protilátkami proti *Borrelia burgdorferi*. Objevily se ojedinělé záchyty IgM protilátek proti VCA, EBNA 1 a EA.

Děkujeme všem za účast v EHK „Sérologie EBV“ v roce 2017 a těšíme se na další spolupráci.

*MUDr. Klára Labská
NRL pro herpetické viry
koordinátor série EHK-960*