

Markéta Pumannová

CHARAKTERISTIKA MATERIÁLU

Série EHK – 1178 obsahovala 2 vzorky (á 0,3 ml) k vyšetření sérologických markerů EBV infekce. Výběr konkrétních markerů nebyl stanoven. Požadováno je minimálně testování 1× IgM a 1× IgG, ale jsou doporučeny alespoň 3 markery, protože tři výsledky představují minimum nutné pro interpretaci stádií EBV infekce a stavů organismu s nimi spojených. Suboptimální výběr sledovaných markerů může také vést k nesouhlasné interpretaci charakteru vyšetřovaného vzorku, což se může v EHK projevit sníženým hodnocením. Obvykle jsou používány metody immunoassay a/nebo NIF, informaci navíc může poskytnout také imunoblot.

Jako první vzorek (A) byla použita defibrinovaná plazma zdravého dárce s anamnestickými protilátkami.

Jako druhý vzorek (B) byla použita defibrinovaná plazma séronegativního zdravého dárce.

Tabulka 1: Správné výsledky

	A	B
EBNA IgG	pozitivní	negativní
EBNA IgM	negativní	negativní
VCA IgG	pozitivní	negativní
VCA IgG avidita	vysokoavidní	<i>nestanovuje se</i>
VCA IgM	negativní	negativní
VCA IgA	<i>nehodnoceno*</i>	negativní
EA IgG	negativní	negativní
EA IgM	negativní	negativní

*viz kapitola 5

ZPŮSOB HODNOCENÍ

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

Výsledky jednotlivých zúčastněných laboratoří se porovnávají s výsledky získanými v NRL pro herpetické viry a přihlíží se i k výsledkům ostatních účastníků jako celku. Vedle závěrů POZITIVNÍ či NEGATIVNÍ může být přípustný rovněž závěr HRANIČNÍ. Jednotlivé markery jsou hodnoceny samostatně, přičemž u markerů *anti-EBNA-1 IgG*, *anti-VCA IgG* a *anti-VCA IgM* je správný výsledek hodnocen dvěma body, zatímco u ostatních markerů (např. *anti-EA IgG*, *anti-EA IgM*, *anti-VCA IgA*, *anti-EBNA-1 IgM*)

je správný výsledek hodnocen jedním bodem. Uvede-li laboratoř závěr HRANIČNÍ, může obdržet (podle charakteru vzorku a výsledků ostatních účastníků) plný počet bodů, poloviční počet bodů či žádné body. Celková interpretace vzorku je hodnocena 4 body za vzorek. Interpretace musí odpovídat získaným výsledkům, jsou-li výsledky v rozporu s interpretací, musí laboratoř 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 mají prostor interpretaci rozšířit v poli „Komentář“.

Metody na bázi imunoblot

Účastník ve výsledkovém formuláři vyplňuje, zda byly přítomny protilátky proti jednotlivým antigenům, test jako celek se hodnotí předdefinovanou interpretací. Správná interpretace je hodnocena 4 body za vzorek.

U každé laboratoře je vypočtena procentuální úspěšnost, definovaná jako podíl maximálního dosažitelného počtu bodů a skutečně dosaženého počtu bodů (maximální dosažitelný počet bodů je dán počtem vyšetřovaných markerů). K průměru těchto individuálních hodnot je pak přihlíženo při stanovení celkové hranice úspěšnosti pro celou sérii. Limit pro sérii EHK – 1178 byl stanoven na 80 %. V případě mimořádně závažné chyby si koordinátor při posuzování úspěšnosti laboratoře vyhrazuje právo rozhodnout direktivně bez ohledu na dosaženou procentuální úspěšnost. Koordinátor si dále vyhrazuje právo v případě rozporuplných výsledků u některého z testů, vyřadit tento test z hodnocení.

VYHODNOCENÍ

VZOREK A:

Celková interpretace: stav po primoinfekci proběhlé v minulosti – anamnestické protilátky (uznávány interpretace 2 a 4)

Marker EBNA 1 IgG – pozitivní

Marker vyšetřilo 118 laboratoří, všechny shodně pozitivní výsledek

Marker VCA IgG – pozitivní / vysokoavidní

Metody na bázi EIA: vyšetřilo 114 laboratoří, všechny shodně pozitivní výsledek

Metody na bázi NIF: vyšetřilo 6 laboratoří, všechny shodně pozitivní výsledek

Anti-VCA IgG avidita – vyšetřilo 7 laboratoří, všechny shodně vysokoavidní

Marker VCA IgM – negativní

Metody na bázi EIA: vyšetřilo 115 laboratoří, všechny shodně negativní výsledek

Metody na bázi NIF: vyšetřilo 5 laboratoří, 3× negativní, 1× hraniční, 1× pozitivní

Všech 5 laboratoří vyšetřujících marker VCA IgM metodou NIF použilo test: IF-Viditest VCA IgM / VIDIA.

Ve dvou případech poskytla tato souprava výsledek hraniční resp. pozitivní.

Marker VCA IgA – nehodnocen

Marker vyšetřilo 5 laboratoří, 3× negativní, 1× hraniční, 1× pozitivní

3 laboratoře použily test ELISA-VIDITEST anti-VCA EBV IgA / VIDIA (3× negativní); 2 laboratoře použily test EIA EBV VCA IgA / Test Line (1× hraniční, 1× pozitivní). Výsledky získané oběma testy se pohybovaly blízko hraniční zóny. S přihlédnutím ke statisticky malému souboru byl marker vyřazen z hodnocení.

Marker EA IgG – negativní

Metody na bázi EIA: vyšetřilo 72 laboratoří, všechny shodně negativní výsledek

Metody na bázi NIF: vyšetřilo 5 laboratoří, všechny shodně negativní výsledek

Marker EA IgM – negativní

Metody na bázi EIA: vyšetřilo 15 laboratoří, všechny shodně negativní výsledek

Marker EBNA 1 IgM – negativní

Marker vyšetřilo 26 laboratoří, všechny shodně negativní výsledek

VZOREK B

Celková interpretace: séronegativní

Marker EBNA 1 IgG – negativní

Marker vyšetřilo 118 laboratoří, všechny shodně negativní výsledek

Marker VCA IgG – negativní

Metody na bázi EIA: vyšetřilo 114 laboratoří, všechny shodně negativní výsledek

Metody na bázi NIF: vyšetřilo 6 laboratoří, všechny shodně negativní výsledek

Anti-VCA IgG avidita – nestanovuje se

Marker VCA IgM – negativní

Metody na bázi EIA: vyšetřilo 115 laboratoří, všechny shodně negativní výsledek

Metody na bázi NIF: vyšetřilo 5 laboratoří, všechny shodně negativní výsledek

Marker VCA IgA – negativní

Marker vyšetřilo 5 laboratoří, všechny shodně negativní výsledek

Marker EA IgG – negativní

Metody na bázi EIA: vyšetřilo 72 laboratoří, všechny shodně negativní výsledek

Metody na bázi NIF: vyšetřilo 5 laboratoří, všechny shodně negativní výsledek

Marker EA IgM – negativní

Metody na bázi EIA: vyšetřilo 15 laboratoří, 12× negativní, 1× hraniční, 2× pozitivní

Všechny 3 neshodné výsledky (1× hraniční, 2× pozitivní) byly získány testem EIA EBV EA IgM / Test Line. Jednalo se o hodnoty blízko hraniční zóně. Tento test použily 3 laboratoře.

Marker EBNA 1 IgM – negativní

Marker vyšetřilo 26 laboratoří, všechny shodně negativní výsledek

Výsledky metodou immunoblot (western blot)

Metodu použilo 16 laboratoří, přičemž všechny testovaly protilátky třídy IgG u vzorku A, 12 testovalo protilátky třídy IgG u vzorku B, 13 testovalo protilátky třídy IgM u vzorku A a 12 testovalo protilátky třídy IgM u vzorku B.

Všechny laboratoře správně interpretovaly oba vzorky.

Přehled používaných EIA testů u vybraných diagnostických markerů:

Marker: EBNA-1 IgG

Souprava	Výrobce	Počet uživatelů
LIAISON EBNA IgG	DiaSorin	42 (35,6 %)
EIA EBV EBNA-1 IgG	TestLine	27 (22,9 %)
ARCHITECT EBV EBNA IgG	Abbott	21 (17,8 %)
Chorus EPSTEIN-BARR EBNA IgG	Diesse	5 (4,2 %)
ELISA-VIDITEST anti-EBNA-1 EBV IgG	VIDIA	5 (4,2 %)
Anti-EBNA-1 ELISA (IgG)	Euroimmun	4 (3,4 %)
IMMULITE 2000 EBV-EBNA IgG	Siemens	2 (1,7 %)
VIDAS EBV EBNA IgG	bioMérieux	2 (1,7 %)
EBV-EBNA-1 IgG	DRG	1 (0,9 %)
Anti-EBV (EBNA-1) IgG	Orgentec	1 (0,9 %)
EBV EBNA1 ELISA IgG	Sekisui Virotech	1 (0,9 %)
Epstein-Barr Virus EBNA1 IgG	SERION	1 (0,9 %)
BioPlex 2200 EBV IgG	Bio-Rad	1 (0,9 %)
neuveденá souprava		5 (4,2 %)

Celkem: 118

Marker: EA IgG

Souprava	Výrobce	Počet uživatelů
LIAISON EA IgG	DiaSorin	37 (50,7 %)
EIA EBV EA IgG	TestLine	19 (26,0 %)
Chorus EPSTEIN-BARR EARLY ANTIGEN IgG	Diesse	6 (8,2 %)
Anti-EBV-EA-D ELISA (IgG)	Euroimmun	3 (4,1 %)
ELISA-VIDITEST anti-EA(D) EBV IgG	VIDIA	3 (4,1 %)
BioPlex 2200 EBV IgG	Bio-Rad	1 (1,4 %)
ETI-EA-D-IgG	DiaSorin	1 (1,4 %)
EBV (EA) IgG	DRG	1 (1,4 %)
EBV VCA/EA IgG	bioMérieux	1 (1,4 %)
Epstein-Barr Virus EA IgG	SERION	1 (1,4 %)

Celkem: 73

Marker: VCA IgG

Souprava	Výrobce	Počet uživatelů
LIAISON VCA IgG	DiaSorin	42 (37,2 %)
EIA EBV VCA IgG	TestLine	26 (23,0 %)
ARCHITECT EBV VCA IgG	Abbott	20 (17,7 %)
ELISA-VIDITEST anti-VCA EBV IgG	VIDIA	5 (4,4 %)
Chorus EPSTEIN-BARR VCA IgG	Diesse	4 (3,5 %)
Anti-EBV-CA-ELISA (IgG)	Euroimmun	3 (2,7 %)
VIDAS EBV VCA/EA IgG	bioMérieux	2 (1,8 %)
IMMULITE 2000 EBV-VCA IgG	Siemens	2 (1,8 %)
BioPlex 2200 EBV IgG	Bio-Rad	1 (0,9 %)
EBV-VCA IgG ELISA	DRG	1 (0,9 %)
Anti-EBV (VCA) IgG	Orgentec	1 (0,9 %)
EBV VCA IgG ELISA Test	Sekisui Virotech	1 (0,9 %)
Epstein-Barr Virus VCA IgG	SERION	1 (0,9 %)
neuveденá souprava		4 (3,5 %)

Celkem: 113

Marker: VCA IgM

Souprava	Výrobce	Počet uživatelů
LIAISON VCA IgM	DiaSorin	42 (36,5 %)
EIA EBV VCA IgM	TestLine	26 (22,6 %)
ARCHITECT EBV VCA IgM	Abbott	21 (18,3 %)
ELISA-VIDITEST anti-VCA EBV IgM	VIDIA	5 (4,4 %)
Chorus EPSTEIN-BARR VCA IgM	Diesse	4 (3,5 %)
Anti-EBV-CA-ELISA (IgM)	Euroimmun	3 (2,6 %)
VIDAS EBV VCA IgM	bioMérieux	3 (2,6 %)
IMMULITE 2000 EBV-VCA IgM	Siemens	2 (1,7 %)
BioPlex 2200 EBV IgM	Bio-Rad	1 (0,9 %)
Anti-EBV (VCA) IgM	Orgentec	1 (0,9 %)
EBV VCA IgM ELISA Test	Sekisui Virotech	1 (0,9 %)
Epstein-Barr Virus VCA IgM	SERION	1 (0,9 %)
neuveденá souprava		5 (4,4 %)

Celkem: 115

ZÁVĚR

K testování série EHK – 1178 Sérologie EBV se přihlásilo celkem 119 laboratoří, z toho 1 laboratoř nedodala výsledky. Všechny zúčastněné laboratoře v celkovém hodnocení uspěly. Neshodné výsledky zaznamenalo 5 laboratoří (2x u markeru VCA IgM, 3x u markeru EA IgM).

Vyskytly se chyby způsobené nepozorností uživatelů při vyplňování webového formuláře, kdy byly výsledky zapsány do kolonek pro jiný marker. Prosíme o důslednou kontrolu

vyplněných údajů. Rovněž připomínáme, že celkovou interpretaci je třeba vybírat z předvolené nabídky („roletkou“).

*Zprávu vypracovala
Mgr. Markéta Pumánová, NRL pro herpetické viry,
SZÚ Praha*

*Zprávu autorizovala
Ing. Michaela Růžková, Ph.D.*