

*Michaela Růžková, Markéta Pumannová*

## ZPŮSOB PŘÍPRAVY VZORKŮ

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byly lidské plazmy, vyšetřené na přítomnost cílových markerů. Pro zajištění stability byl do výchozího materiálu přidán po rozmražení ProClin 950 ve výsledné koncentraci 0,01 %.

Finální (rozplněné) vzorky byly testovány na přítomnost cílových markerů metodami EIA a NIF dle SOP-NRL/HV-01 a SOP-NRL/HV-03. Při testování protilátek metodou NIF bylo pro IgM použito ředění 1:10 a 1:20, pro IgG ředící řada od 1:10.

## CHARAKTERISTIKA MATERIÁLU

Série EHK – 1202 obsahovala 2 vzorky k vyšetření protilátek IgM a IgG, a navíc možné doplňkové detekce typově specifických anti-HSV IgG protilátek.

**Vzorek 1** byl tvořen plazmou zdravého dárce s anamnestickými protilátkami proti HSV1 a HSV2.

**Vzorek 2** byl tvořen plazmou zdravého HSV séronegativního dárce (**Tabulka 1**).

## ZPŮSOB HODNOCENÍ

Za vztažnou hodnotu pro vyhodnocení jsou brány výsledky NRL, ale přihlíží se k výsledkům všech zúčastněných laboratoří jako celku. Výsledky jsou hodnoceny jako kvalitativní (pozitivní, hraniční, negativní).

Metody na principu immunoassay (EIA, CLIA, NIF atd.):

- U každého markeru za správný výsledek 2 body; při částečné neshodě (např. hraniční) 1 bod.
- Za správnou celkovou interpretaci u vzorku 2 body

EIA anti-HSV IgA

- výsledek má hodnotu mezilaboratorního porovnání (ve výsledku uvedeno, zda mezi účastníky došlo ke shodě)

Metody na principu imunoblot:

- Hodnotí se pouze celková interpretace výsledku (2 body/vzorek).

Metody na principu KFR

- výsledek má hodnotu mezilaboratorního porovnání (ve výsledku uvedeno, zda mezi účastníky došlo ke shodě)

Kvantitativní výsledky, které účastníci zaslali, slouží k ověření, zda byl přiřazen odpovídající závěr, dále k vzájemnému porovnání výsledků a analýze dat v souvislosti s konkrétní soupravou nebo šarží.

Pro usnadnění komunikace jsou navrženy tyto předdefinované interpretace:

1. séronegativní
2. anamnestické protilátky proti HSV (typově nerozlišeno)
3. anamnestické protilátky proti HSV 1 (pokud laboratoř testuje typově specifické protilátky)
4. anamnestické protilátky proti HSV 2 (pokud laboratoř testuje typově specifické protilátky)
5. anamnestické protilátky proti HSV 1 a HSV 2 (pokud laboratoř testuje typově specifické protilátky)
6. sérologické známky akutní infekce
7. sérologické známky akutní infekce, přítomny typově specifické protilátky proti HSV 1
8. sérologické známky akutní infekce, přítomny typově specifické protilátky proti HSV 2
9. sérologické známky akutní infekce, přítomny typově specifické protilátky proti HSV 1+ HSV 2

Tabulka 1: Správné výsledky

	EIA HSV IgG	EIA HSV IgM	EIA HSV 2 IgG	NIF HSV IgG	NIF HSV IgM
Vzorek 1	Pozitivní	Negativní	Pozitivní	Pozitivní	Negativní
Vzorek 2	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní

Interpretace musí odpovídat dosaženým výsledkům, pokud jsou výsledky některých testů v rozporu s interpretací, laboratoř musí hodnocení zdůvodnit komentářem.

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). Následně jsou tyto hodnoty porovnány a je stanovena hranice úspěšnosti v procentuálním vyjádření. Hranice úspěšnosti pro sérii EHK – 1202 byla stanovena 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 1

Vzorek 1 byla plazma zdravého dárce s **anamnestickými protilátkami** proti HSV1 a HSV2.

#### *EIA anti-HSV IgG (bez stanovení typu)*

Všech 56 laboratoří shodně hodnotilo jako pozitivní.

#### *EIA typově specifické protilátky proti HSV1 (anti-HSV1 IgG)*

Marker hodnotilo 17 laboratoří, všechny shodně jako pozitivní.

#### *EIA typově specifické protilátky proti HSV2 (anti-HSV2 IgG)*

Marker hodnotilo 22 laboratoří, všechny shodně jako pozitivní.

#### *EIA anti-HSV IgM (bez stanovení typu)*

Marker hodnotilo 65 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

#### *EIA anti-HSV1 IgM*

Marker hodnotilo 8 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

#### *EIA anti-HSV2 IgM*

Marker hodnotilo 8 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

#### *NIF anti-HSV IgG*

Marker hodnotily 2 laboratoře, obě shodně jako pozitivní.

#### *NIF anti-HSV IgM*

Marker hodnotily 2 laboratoře, obě soupravou IF VIDITEST anti-HSV IgM (Vidia), výsledky byly rozporné (1x pozitivní, 1x negativní).

#### *Immunoblot HSV IgG*

Test použilo 8 laboratoří, všechny se shodným výsledkem anti-HSV 1 IgG pozitivní a anti-HSV 2 IgG pozitivní.

#### *Immunoblot HSV IgM*

Test použilo 7 laboratoří, všechny se shodným výsledkem anti-HSV IgM negativní.

### *Komplement-fixační reakce*

Všech 5 laboratoří, které test použily, shodně hodnotily vzorek jako pozitivní.

### *EIA anti-HSV IgA*

Všech 6 laboratoří, které test použilo, shodně hodnotilo vzorek jako pozitivní.

### Vzorek 2

Vzorek 2 byla plazma zdravého **HSV séronegativního dárce**.

#### *EIA anti-HSV IgG (bez stanovení typu)*

Všech 56 laboratoří shodně hodnotilo jako negativní.

#### *EIA typově specifické protilátky proti HSV1 (anti-HSV1 IgG)*

Marker hodnotilo 17 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

#### *EIA typově specifické protilátky proti HSV2 (anti-HSV2 IgG)*

Marker hodnotilo 22 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

#### *EIA anti-HSV IgM (bez stanovení typu)*

Marker hodnotilo 65 laboratoří, z toho 59 správně jako negativní, jedna jako hraniční a 5 jako pozitivní. Všech 6 neshodných výsledků bylo zaznamenáno soupravou Chorus Herpes Simplex 1+2 IgM (Diesse). Tuto soupravu použilo celkem 12 účastníků, přičemž většina hodnot (pozitivních i negativních) byla blízká cut-off.

#### *EIA anti-HSV1 IgM*

Marker hodnotilo 8 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

#### *EIA anti-HSV2 IgM*

Marker hodnotilo 8 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

#### *NIF anti-HSV IgG*

Markery hodnotily 2 laboratoře, obě shodně s negativním výsledkem.

#### *NIF anti-HSV IgM*

Marker hodnotily 2 laboratoře, obě s negativním výsledkem.

#### *Immunoblot HSV IgG*

Test použilo 8 laboratoří, všechny shodně jako negativní.

#### *Immunoblot HSV IgM*

Test použilo 7 laboratoří, všechny se shodným výsledkem anti-HSV IgM negativní.

### *Komplement-fixační reakce*

Všech 5 laboratoří, které test použilo, shodně hodnotilo vzorek jako negativní.

### *EIA anti-HSV IgA*

Všech 6 laboratoří, které test použilo, shodně hodnotilo vzorek jako negativní.

## ZÁVĚR

EHK – 1202 Sérologie HSV se zúčastnilo 72 laboratoří. Uspěly všechny laboratoře, z toho 7 s bodovou ztrátou.

EHK – 1202 byla zaměřena na detekci anamnestických protilátek včetně anti-HSV2 IgG. Jako problematická se ukázala pouze detekce anti-HSV IgM protilátek. U vzorku 1 vykazala jedna laboratoř falešnou pozitivitu testem IF VIDITEST anti-HSV IgM/Vidia (test použily celkem 2 laboratoře). U vzorku 2 vznikly problémy při použití soupravy Chorus Herpes Simplex 1+2 IgM; Diesse (6 výsledků

negativních, 5 pozitivních, 1 hraniční). Detekce anti-HSV2 IgG v této sérii nečinila obtíže.

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu.

*Zprávu vypracovaly:  
Ing. Michaela Růžková, Ph.D.  
a Mgr. Markéta Pumánová,  
NRL pro herpetické viry, CEM SZÚ*