

EHK – 1029 Sérologie klíšťové encefalitidy

Barbora Macková, Hana Zelená

PŘÍPRAVA VZORKŮ

Vzorky byly připraveny na pracovišti subdodavatele – v Národní referenční laboratoři pro arboviry, ve Zdravotním ústavu se sídlem v Ostravě, vedoucí: MUDr. Hana Zelená, v termínu od 15. 5. 2018 do 16. 5. 2018 dle SOP M/28.

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byla lidská plazma/sérum.

Simulované klinické vzorky pro EHK byly připraveny z vyšetřených sér pacientů. Séra jsou dlouhodobě zamrazena při -20°C . Před přípravou okružních vzorků byla vhodná séra vybrána a rozmrazena při teplotě $+4^{\circ}\text{C}$.

Po kontrole vnějšího vzhledu byla vybraná séra vyšetřena na přítomnost anti-v. klíšť. encefalitidy (TBEV) IgG nebo total, anti-v. klíšť. encefalitidy (TBEV) IgM.

Vyhovující vzorky sér byly poté poolovány podle obsahu total Ig, IgG a IgM protilátek anti-TBEV na potřebný objem podle počtu účastníků EHK.

Vyhovující vzorky poolovaných sér byly opracovány BPL, konzervovány směsí antibiotik a filtrovány (200nm). Připravené poolované vzorky označené 1 a 2 byly opět vyšetřeny na přítomnost anti-TBEV total Ig, IgG a anti-TBEV IgM protilátek.

Připravené označené vzorky sér byly v přepravních nádobách uloženy do polystyrenové krabice s chladicími vložkami, která je označena samolepkou s názvem EHK Sérologie klíšťové encefalitidy, a dopraveny z NRL pro arboviry do SZÚ Praha.

V SZÚ Praha (NRL pro herpetické viry) byl otestovaný výchozí materiál rozplněn do jednotlivých vzorků o objemu min. 0,3 ml.

Jednotlivé alikvoty (série 2 zkumavek) byly označeny číslem 1–2, číslem EHK a datem rozeslání a uskladněny při teplotě 2 až 8°C až do distribuce účastníkům EHK. Přeprava vzorků je zajišťována přepravcem.

HODNOCENÍ

Dva kontrolní vzorky sér v rámci EHK–1029 (Sérologie klíšťové encefalitidy) byly rozeslány 29. 5. 2018 celkem 72 laboratořím. Vzorek 1 byl silně pozitivní na protilátky třídy IgG proti viru klíšťové encefalitidy, protilátky IgM byly negativní. Vzorek 2 byl středně až slabě pozitivní na protilátky třídy IgG, protilátky IgM byly negativní. Protilátky IgG byly v obou vzorcích vysokoavidní. Celkové protilátky (total Ig)

proti v. klíšť. encefalitidy byly v obou vzorcích pozitivní.

Vyplněné protokoly k vyšetření EHK–1029 ke dni uzávěrky 19. 6. 2018 vrátilo 72 laboratoří.

ELISA soupravy k vyšetření **Ig/IgG** použilo 72 laboratoří, 3 laboratoře vyšetřily Ig/IgG paralelně 2 různými soupravami.

ELISA soupravy k vyšetření **avidity IgG** použilo 14 laboratoří.

ELISA soupravy k vyšetření **IgM** použilo 70 laboratoří.

Princip hodnocení:

Hodnocení výsledků EHK–1029 je prováděno kvalitativně.

Za správný je považován výsledek získaný v NRL pro arboviry, u avidity IgG i s ohledem na výsledky dosažené v zúčastněných laboratořích.

Oba vzorky byly v NRL pro arboviry vyšetřeny na přítomnost protilátek proti viru klíšťové encefalitidy metodami: ELISA IgG indirect, ELISA total Ig competitive, ELISA IgM indirect, ELISA IgM capture, KFR (komplementfixační reakce).

Vzorek 1 byl poolem lidských sér obsahujících vysokoavidní protilátky proti klíšťové encefalitidě třídy IgG ve vysokém titru. Přítomnost specifických protilátek proti klíšťové encefalitidě byla u všech jednotlivých vzorků potvrzena virusneutralizačním testem (VNT), zařazeny byly vzorky s hodnotou VNT >32 . Poolovaný vzorek byl v NRL testován s výsledky: KFR 32, ELISA IgG indirect pozit., avidita IgG vysoká, ELISA Ig competitive pozit., ELISA IgM indirect negat., ELISA IgM capture negat.

Vzorek 2 byl poolem lidských sér obsahujících vysokoavidní protilátky proti klíšťové encefalitidě třídy IgG ve středním a nízkém titru. Přítomnost specifických protilátek proti klíšťové encefalitidě byla u všech jednotlivých vzorků potvrzena virusneutralizačním testem (VNT), zařazeny byly vzorky s hodnotou VNT 8 až 32. Poolovaný vzorek byl v NRL testován s výsledky: KFR 8, ELISA IgG indirect pozit., avidita IgG vysoká, ELISA Ig competitive pozit., ELISA IgM indirect negat., ELISA IgM capture negat.

Bodové ohodnocení: za 1 vzorek maximálně 4 body

Závažná chyba měnící interpretaci výsledku – minus 2 body, méně závažná chyba neměnící interpretaci výsledku, chybná interpretace nebo chybná interpretace při správném výsledku – minus 1 bod.

Maximálním možným počtem získaných bodů je 8.

Laboratoř se dle svých technických možností může účastnit pouze stanovení IgG protilátek. V tomto případě není vyžadována interpretace. Pro takovou laboratoř jsou potřebným maximem získaných bodů 4 body.

Vyhodnocení:

Laboratoř uspěla při získání alespoň 7 bodů (z maximálního počtu 8), resp. při získání alespoň 3 bodů z maximálního počtu 4.

V případě nižšího dosaženého počtu bodů laboratoř neuspěla.

VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ:

VZOREK 1

Správné výsledky: Ig/IgG pozitivní, IgM negativní, avidita IgG vysoká, interpretace kód 2 (anamnestické protilátky po očkování nebo po prodělané infekci).

Vyšetření ELISA Ig/IgG:

Všech 72 laboratoří zaslalo správný výsledek: pozitivní.

Vyšetření avidity IgG:

Všech 14 laboratoří vyšetřujících aviditu IgG zaslalo správný výsledek: vysoká avidita.

Vyšetření ELISA IgM:

68 laboratoří zaslalo správný výsledek: negativní
1 laboratoř zaslala nesprávný výsledek: hraniční
1 laboratoř zaslala nesprávný výsledek: pozitivní
2 laboratoře IgM protilátky nevyšetřují

Interpretace výsledků:

66 laboratoří uvedlo správnou interpretaci – kód 2 (anamnestické protilátky), 3 laboratoře navíc připouštějí i možnost interpretace č. 4 (infekce u očkování – selhání očkování). 4 laboratoře uvedly nesprávnou interpretaci, z toho 2 v důsledku chybného výsledku IgM. 1 laboratoř vyšetřující IgG i IgM protilátky neuvedla žádnou interpretaci svých výsledků.

VZOREK 2

Správné výsledky: Ig/IgG pozitivní, IgM negativní, avidita IgG vysoká, interpretace kód 2 (anamnestické protilátky po očkování nebo po prodělané infekci).

Vyšetření ELISA Ig/IgG:

71 laboratoří zaslalo správný výsledek: pozitivní.
1 laboratoř zaslala nesprávný výsledek: negativní.

Vyšetření avidity IgG:

9 laboratoří vyšetřujících aviditu IgG zaslalo správný výsledek: vysoká avidita.

4 laboratoře zaslaly výsledek: střední avidita.
1 laboratoř zaslala nesprávný výsledek: nízká avidita.

Vyšetření ELISA IgM:

Všech 70 laboratoří vyšetřujících IgM zaslalo správný výsledek: negativní.

Interpretace výsledků:

69 laboratoří zaslalo správnou interpretaci – kód 2 (anamnestické protilátky), 1 laboratoř uvedla kód 6 (jiná interpretace správně zdůvodněná). 8 laboratoří uvedlo navíc ke kódu 2 i další možnosti interpretace svých výsledků, 7× kód 5 (nespecifická/zkřížená reakce), – 1× kód 4 (infekce u očkování – selhání očkování) a 1× kód 6 (jiná interpretace).

Jedna laboratoř s falešně negativním výsledkem IgG zaslala chybnou interpretaci 1 (séronegativní).

1 laboratoř vyšetřující IgG i IgM protilátky neuvedla žádnou interpretaci svých výsledků.

ZÁVĚR

V rámci EHK-1029 sérologie klíšťové encefalitidy uspělo 68 ze 72 zúčastněných laboratoří. 66 laboratoří uspělo s plným počtem bodů. 2 laboratoře uspěly se ztrátou 1 bodu z důvodu chybné interpretace svých jinak správných výsledků u vzorku č. 1.

4 laboratoře neuspěly z důvodu ztráty 2 bodů v celkovém hodnocení.

Laboratoř 18 zaslala nesprávný negativní výsledek IgG ve vzorku č. 2, což vedlo k nesprávné interpretaci.

Laboratoř 312 zaslala nesprávný hraniční výsledek IgM ve vzorku č. 1 vedoucí k chybné interpretaci.

Laboratoř 595 zaslala nesprávný pozitivní výsledek IgM ve vzorku č. 2 vedoucí k chybné interpretaci.

Laboratoř 598 neuvedla u svých výsledků žádnou interpretaci.

Výsledky jednotlivých laboratoří jsou uvedeny v kapitole Souhrny výsledků.

SHRNUTÍ

Vzorek 1, který byl silně pozitivní ve třídě IgG a negativní ve třídě IgM, zhodnotilo ve třídě IgG správně všech 72 zúčastněných laboratoří, ve třídě IgM dosáhly 2 laboratoře falešně pozitivního, resp. hraničního výsledku, v obou případech chybný výsledek vedl k nesprávné interpretaci a ztrátě bodového hodnocení. Vysokou aviditu uvedlo shodně všech 14 laboratoří testujících tento parametr. Většinu laboratoří, které dosáhly správných výsledků IgG i IgM, nečinila interpretace potíže. Avšak 2 laboratoře měly interpretaci chybnou i při správných výsledcích a jedna laboratoř neuvedla žádnou interpretaci.

Vzorek 2, který byl středně až slabě pozitivní ve třídě IgG a negativní ve třídě IgM, testovalo se správnými výsledky 71 ze 72 laboratoří. Pouze jediná laboratoř měla falešně

negativní výsledek IgG, který vedl k nesprávné interpretaci a bodové ztrátě. Výsledek IgM měly všechny zúčastněné laboratoře správně.

U tohoto vzorku byly rozdíly ve výsledcích avidity: 9 laboratoří uvedlo správně vysokou aviditu, 4 laboratoře naměřily střední hodnotu avidity a 1 laboratoř nízkou aviditu.

Interpretace byla ve většině laboratoří správná, jen jedna laboratoř s chybným výsledkem IgG uvedla nesprávnou interpretaci a jedna laboratoř neuvedla žádnou interpretaci.

Letošní kolo EHK opět prokázalo vysokou kvalitu práce zúčastněných laboratoří, diagnostických souprav i schopnost interpretace. Interpretace je nedílnou součástí laboratorního výsledku, proto chybějící nebo nesprávná interpretace se odrazila v bodové ztrátě. Při celkovém hodnocení výsledků je nutno přihlížet k anamnestickým údajům, které jsou proto součástí protokolů pro EHK klíšťové encefalitidy. Je dobře, že některé laboratoře se nad problematikou zamyslely hlouběji a vyjádřily i další možnosti interpretace svých nálezů.

Ojedinelé chybné výsledky IgG nebo IgM se objevují u laboratoří používajících soupravy různých výrobců, přičemž jiné laboratoře dosahují se stejnými soupravami i šaržemi výsledků správných. Nejedná se tedy patrně o problém konkrétního výrobce diagnostických souprav.

Některé laboratoře v letošním kole EHK opět opomněly uvést výrobce diagnostických souprav, se kterými pracovaly.

Je požadováno do výsledkového formuláře pro EHK vyplnit také hodnotu cut-off a naměřenou optickou denzitu (OD), 9 laboratoří tyto hodnoty neuvedlo. **Žádáme zúčastněné laboratoře, aby hodnoty cut-off a OD do formuláře uváděly, popřípadě zdůvodnění, proč uvedeny nejsou.** V příštím kole EHK bude k úplnému uvedení těchto údajů přihlíženo i při bodovém hodnocení.

Opravné kolo série proběhne 9. 10. 2018. O opravné vzorky můžete zažádat **do 14 dnů** od doručení výsledků cestou AP CEM. V případě reklamaci vyhodnocení série, prosím postupujte dle reklamačního řádu.

Všem laboratořím děkujeme za účast v tomto kole EHK.

MUDr. Barbora Macková

AP CEM, SZÚ Praha

MUDr. Hana Zelená

NRL pro arboviry, ZÚ se sídlem v Ostravě

SOUHRNÝ VÝSLEDKŮ

Tabulka 3: Výsledky laboratoří a jejich bodové hodnocení

Kód lab.	Vzorek 1 IgG/Ig pozitivní, vysoká avidita IgM negativní				Vzorek 2 IgG/Ig pozitivní, vysoká avidita, IgM negativní				Bodové hodnocení (z max. možných)		Získané body z možných	Výrobce soupravy		Poznámka
	IgG, Ig	Avidita IgG (%)	IgM	Interpret.	IgG, Ig	Avidita IgG (%)	IgM	Interpret.				IgG, Ig	IgM	
	Pozit.	Vysoká	Negat.	2	Pozit.	Vysoká	Negat.	2	Vzorek 1	Vzorek 2		IgG, Ig	IgM	
2	P		N	2	P		N	2, 5	4/4	4/4	8/8	neuveden	neuveden	
11	P		N	2	P		N	2, 5	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
13	P	V	N	2	P	V	N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
16	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	VC	VC	
18	P		N	2	N		N	1	4/4	2/4	6/8	neuveden	neuveden	
20	P		N	2, 4	P		N	2, 5	4/4	4/4	8/8	EI	EI	
26	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
28	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	EI	TL	chybí cut-off
31	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
32	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
34	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
35	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	chybí cut-off a OD
38	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
39	P	V	N	2	P	S	N	2, 5	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
44	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
51	P		N	6	P		N	2	3/4	4/4	7/8	TL	TL	
56	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
58	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	

Kód lab.	Vzorek 1 IgG/Ig pozitivní, vysoká avidita IgM negativní				Vzorek 2 IgG/Ig pozitivní, vysoká avidita, IgM negativní				Bodové hodnocení (z max. možných)		Získané body z možných	Výrobce soupravy		Poznámka
	IgG, Ig	Avidita IgG (%)	IgM	Interpret.	IgG, Ig	Avidita IgG (%)	IgM	Interpret.				IgG, Ig	IgM	
	Pozit.	Vysoká	Negat.	2	Pozit.	Vysoká	Negat.	2	Vzorek 1	Vzorek 2		IgG, Ig	IgM	
64	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	EI	EI	
65	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	MA	MA	
68	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
70	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	EI	EI	
115	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
138	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	VID	PRO	
156	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
179	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
192	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	chybí cut-off a OD
209	P		–	2	P		–	2	2/2	2/2	4/4	NOV	–	
211	P		N	2	P		N	2, 6	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
214	P	V	N	2	P	N	N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
230	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	EI	TL	
241	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	neuveden	neuveden	
287	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
290	P	V	N	2	P	V	N	2	4/4	4/4	8/8	DI, TL	DI	
299	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
312	P		H	5	P		N	2	2/4	4/4	6/8	EI	EI	
316	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	DI	DI	
333	P	V	N	2	P	S	N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
344	P	V	N	2	P	V	N	2	4/4	4/4	8/8	VID	VID	
	P		–		P		–					TL	–	
350	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
354	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
365	P	V	N	2	P	V	N	2	4/4	4/4	8/8	EI	EI	
373	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	chybí cut-off a OD
388	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	VI	VI	
390	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
398	P		N	1	P		N	2	3/4	4/4	7/8	DI	DI	
407	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
448	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
456	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
460	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
	P		–		P		–					TL	–	
497	P		N	2	P		N	2, 5	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
529	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	neuveden	neuveden	chybí cut-off a OD
532	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	EI	EI	
550	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	EI	EI	
554	P	V	N	2	P	V	N	2	4/4	4/4	8/8	neuveden	neuveden	
566	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	NOV	NOV	chybí cut-off a OD
569	P		N	2, 4	P		N	2	4/4	4/4	8/8	DI	DI	
595	P		P	4	P		N	2	2/4	4/4	6/8	VS	VS	
598	P		N	–	P		N	–	3/4	3/4	6/8	NOV	NOV	chybí cut-off, OD, interpretace

Kód lab.	Vzorek 1 IgG/Ig pozitivní, vysoká avidita IgM negativní				Vzorek 2 IgG/Ig pozitivní, vysoká avidita, IgM negativní				Bodové hodnocení (z max. možných)		Získané body z možných	Výrobce soupravy		Poznámka
	IgG, Ig	Avidita IgG (%)	IgM	Interpret.	IgG, Ig	Avidita IgG (%)	IgM	Interpret.				IgG, Ig	IgM	
	Pozit.	Vysoká	Negat.	2	Pozit.	Vysoká	Negat.	2	Vzorek 1	Vzorek 2		IgG, Ig	IgM	
601	P	V	N	2	P	V	N	2	4/4	4/4	8/8	neuveden	neuveden	
633	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	neuveden	neuveden	
637	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	DI	DI	chybí cut-off a OD
641	P	V	N	2	P	S	N	2, 4, 5	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
647	P	V	N	2	P	S	N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
	P	–	–		P	–	–					TL	–	
675	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
702	P		–	–	P		–	–	2/2	2/2	4/4	RS	–	
743	P	V	N	2, 4	P	V	N	2, 5	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
746	P	V	N	2	P	V	N	2	4/4	4/4	8/8	VID	VID	
755	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	chybí cut-off
759	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
760	P		N	2	P		N	2	4/4	4/4	8/8	TL	TL	
792	P	V	N	2	P	V	N	6	4/4	4/4	8/8	EI	EI	

LEGENDA:

Výsledek: P – pozitivní, H – hraniční, N – negativní

Avidita IgG: V – vysoká, S – střední, N – nízká

Interpretace: 1 – séronegativní, 2 – anamnestické protilátky (po očkování nebo po prodělané infekci), 3 – akutní infekce VKE (u neočkovaného), 4 – infekce u očkováného (selhání očkování), 5 – nespecifická/zkřížená reakce, 6 – jiná interpretace (uvést)

Použité zkratky:

IP – index positivity, **P** – pozitivní, **H** – hraniční, **N** – negativní

Výrobci souprav: **DI** – Diesse, **DRG** – DRG, **EI** – Euroimmun, **MA** – Mastazyme, **NOV** – Novatec, **PRO** – Progen, **RS** – Ridascreen, **TL** – Test-Line, **VID** – Vidia, **VC** – Vircell, **VS** – Virion Serion, **VI** – Viroimmun, **VT** – Virotech

MUDr. Hana Zelená
Národní referenční laboratoři pro arboviry,
ve Zdravotním ústavu se sídlem v Ostravě,
MUDr. Barbora Macková
CEM, SZÚ