



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001 akreditovaný ČIA
podle ČSN EN ISO/IEC 17043: 2010
Šrobárova 49/48, 100 00, Praha 10



Závěrečná zpráva

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii
(Externí hodnocení kvality)

PT#M/6/2021 (EHK 1178)

Sérologie EBV

Praha, duben 2021

Obsah

1.	Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2.	Způsob přípravy vzorků	4
3.	Charakteristika materiálu	4
4.	Způsob hodnocení	4
5.	Vyhodnocení	5
6.	Závěr	8
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/6/2021 (EHK 1178) je zaměřen na sérologická vyšetření viru EBV, jejich citlivost, specifitu a vyhodnocení. Porovnává způsobilost a dovednosti jednotlivých laboratoří ve vyšetřování a interpretacích sérologických výsledků, ukazuje celkovou úroveň diagnostiky EBV v ČR.

Návrh a realizace PT#M/6/2021 (EHK 1178) byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/6 na pracovišti Expertní skupiny pro zkoušení způsobilosti (ESPT) Státního zdravotního ústavu (SZÚ). Toto pracoviště je akreditováno Českým institutem pro akreditaci, o.p.s. jako poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001.

S veškerými informacemi dodanými účastníky je zacházeno jako s důvěrnými a nejsou bez souhlasu účastníka poskytovány třetím stranám.

Příloha závěrečné zprávy, tj. výsledkový protokol, je pro každou zúčastněnou laboratoř k dispozici na webových stránkách SZÚ (<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>) po přihlášení kódem a heslem v záložce „Vyhodnocené výsledky“.

Zprávu vypracoval:

Mgr. Markéta Pumannová, NRL pro herpetické viry, SZÚ Praha

Zprávu autorizoval:

Ing. Růžková, Ph.D.
Tel. 267 082 247 (2476)

Dne: 14. 4. 2021

Pracoviště 2 ESPT

<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>

e-mail: ehk@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/6/2021

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1178
Název:	Sérologie EBV
Koordinátor:	Ing. Růžková, Ph.D.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3
Podstata a účel PT/EHK:	Průkaz protilátek třídy IgG a IgM proti různým antigenům viru Epsteinova – Barrové a souhrnná interpretace provedených testů
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Vyšetření obou vzorků imunoanalytickými metodami, minimálně 1x IgM a 1xIgG u každého vzorku, ale doporučeny jsou alespoň 3 markery a odeslání výsledků ve stanoveném termínu. Požadavky na laboratoře: zajištění laboratorních procesů podle ČSN EN ISO 15189:2013
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2
Množství připravovaného testovaného materiálu:	130 sad (1 sada á 2 vzorky po 0,3 ml)
Označení vzorkovnic:	EHK 1178, PT # M/6, č. 1-2, 16. 2. 2021
Zabezpečení kvality vzorku:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Obsahuje-li výchozí materiál po rozmrazení viditelné částice organického materiálu (bílkoviny, tuky), je zcentrifugován 2. Pro zajištění stability je do výchozího materiálu přidáván po rozmražení ProClin 950 ve výsledné koncentraci 0.01% ve vzorku
Test homogenity a stability:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Výchozí materiál je testován na vhodné cílové markery 2. Finální vzorek je testován na všechny cílové markery před a po rozplnění 3. Finální vzorek je testován na všechny cílové markery po uzavěrci série
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Distribuce v předepsaném obalu. Přeprava a krátkodobé uchování vzorků v chladničce při teplotě 2-8°C, dlouhodobé uchování při -18 až -24°C, chránit před světlem, zamezit opakovanému rozmrazování
Možné zdroje chyb:	nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor
Počet účastníků:	119
Termín distribuce:	16. 2. 2021
Způsob distribuce:	Přepravní službou (zajišťuje Koordinační pracoviště)
Předání výsledků:	V elektronické podobě za použití aplikace EHK10
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neprovádí se
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Výsledky získané v NRL
Termín uveřejnění očekávaných výsledků	Do 19. 3. 2021
Termín uveřejnění závěrečné zprávy	Do 9. 6. 2021

2. Způsob přípravy vzorků

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byly lidské defibrinované plazmy, které byly vyšetřeny na přítomnost cílových markerů. Každý z obou vzorků byl připraven z plazmy jediného dárce.

Pro zajištění stability byl do výchozího materiálu přidán po rozmražení ProClin 950 v 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.

3. 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 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. 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 immunoblot.

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

4. 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 rozporupných výsledků u některého z testů, vyřadit tento test z hodnocení.

5. 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, 3x negativní, 1x hraniční, 1x 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, 3x negativní, 1x hraniční, 1x pozitivní

3 laboratoře použily test ELISA-VIDITEST anti-VCA EBV IgA / VIDIA (3x negativní); 2 laboratoře použily test EIA EBV VCA IgA / Test Line (1x hraniční, 1x 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, 12x negativní, 1x hraniční, 2x pozitivní

Všechny 3 neshodné výsledky (1x hraniční, 2x pozitivní) byly získány testem EIA EBV EA IgM / Test Line. Jednalo se o hodnoty blízké 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 %)
neuvezená 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 %)
neuveđená 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 %)
neuveđená souprava		5 (4,4 %)

Celkem: 115

6. 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“).

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

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY