

**Klára Labská, Hana Příbylová, Markéta Pumannová**

Datum odeslání vzorků: 1. 3. 2016

Termín pro ukončení testování: 22. 3. 2016

Počet účastníků: 122

Počet vzorků: 2

### **CHARAKTERISTIKA VZORKŮ**

Série 915 obsahovala 2 vzorky (á 0,3 ml) k vyšetření sérologických markerů EBV infekce. Výběr konkrétních markerů nebyl stanoven. Požadováno bylo minimálně 1x IgM a 1x IgG, ale doporučeny byly alespoň 3 markery, protože tři výsledky představují minimum nutné pro interpretaci stádií EBV infekce a stavů organismu s nimi spojených. Obvykle jsou používány metody na principu immunoassaye nebo NIF, informaci navíc může poskytnout také western blot (imunoblot).

První vzorek (1-A) byl připraven poolováním sér od pacientů s EBV primoinfekcí, séra byla primárně selektována dle klíče EBNA IgG negativní, VCA IgM pozitivní, ostatní markery byly testovány až po slití vzorku. Následným testováním v NRL pro herpetické viry byly stanoveny tyto hodnoty: EBNA IgG negativní, VCA IgG pozitivní, VCA IgG avidita – 19,8% nízkoavidní, VCA IgM pozitivní, VCA IgA pozitivní, EA IgG pozitivní, typ imunofluorescence D, EA IgM pozitivní, EBNA IgM pozitivní.

Jako druhý vzorek (2-B) byla použita plazma zdravého dárce s anamnestickými protilátkami viz Tabulka 1 – správné výsledky.

Vzorky nebyly kódovány.

### **ZPŮSOB HODNOCENÍ**

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

**Tabulka 1: SPRÁVNÉ VÝSLEDKY**

	1-A	1-B
EBNA IgG	negativní	pozitivní
EBNA IgM	pozitivní	negativní
VCA IgG	pozitivní	pozitivní
VCA avidita	nízkoavidní	vysokoavidní
VCA IgM	pozitivní	negativní
VCA IgA	pozitivní	negativní
EA IgG	pozitivní	negativní
EA IgM	pozitivní	negativní

Hodnocení je založeno na bodování každého shodného výsledku sledovaného markeru v jednom vzorku přidělením dvou bodů. V případě částečné neshody (obvykle hraniční výsledek) je přidělen jeden bod. Interpretace výsledků byla hodnocena 1 bodem za vzorek, maximálně 2 body za sérii. Závěrečná interpretace výsledků je v případě EHK sérologie EBV nezbytná, protože dokládá způsobilost laboratoře vyhodnotit výsledky laboratorních metod jako celek.

Hranice úspěšnosti v tomto kole byla stanovena na **80%**.

Výsledky metodou western blot (imunoblot) byly odesílány v této sérii na samostatném formuláři, při správné interpretaci výsledku účastník obdržel hodnocení „úspěš“, výsledky nebyly hodnoceny bodově.

### **VYHODNOCENÍ**

#### **Vzorek č. 1-A: EBV primoinfekce.**

##### **Marker EBNA 1 IgG – negativní**

Marker vyšetřilo 121 laboratoří. Neshodné výsledky (EBNA 1 IgG pozitivní) mělo pouze 8 laboratoří - 6,6%, z toho 2 soupravou Siemens - Immulite 2000 EBV-EBNA IgG (2/2 používajících soupravu), 4 soupravou Liaison – DiaSorin (4/33 používajících soupravu) a 2 soupravou EIA-EBV EBNA1 ELISA (IgG)- Testline (2/32 používajících soupravu). Žádná z imunoblotových souprav protilátky proti antigenu EBNA1 nezachytila, viz *Tabulka 3*.

##### **Marker VCA IgG – pozitivní, nízkoavidní**

Marker vyšetřilo 121 laboratoří bez neshodných výsledků.

##### **Marker VCA IgM – pozitivní**

Marker vyšetřilo 121 laboratoří bez neshodných výsledků.

##### **Marker VCA IgA – pozitivní**

Marker vyšetřilo 5 laboratoří, všechny shodně s pozitivním výsledkem.

##### **Marker EA IgG**

Marker vyšetřilo 82 laboratoří metodou EIA a 5 metodou NIF. Neshodné výsledky měla 1 laboratoř soupravou IF – Viditest EA IgG Vidia (1/4).

**Tabulka 2: POUŽITÉ SOUPRAVY IMUNOBLOT**

Souprava	Výrobce	Celkem
EUROLINE Anti-EBV Profile 2	Euroimmun	4
Anti-EBV Westernblot	Euroimmun	2
ViraStripe	Viramed	1
recomLine EBV	Mikrogen	5
EBVCHECK Optima	Biosynex	1

Tabulka 3: IMUNOBLOT, VZOREK 1-A IgG

Antigen	Mikrogen (5)	EI-EUROLINE (4)	EI-WB (2)	Biosyntex (1)	Viramed (1)
EBNA1*	5xN	4xN	2xN	1xN	1xN
P22		3xN, 1xH			
VCA*	5xP	4xP	2xP	1xP	1xP
EA*	4xP, 1xN	4xP	2xP	1xP	1xP
ZEBRA					
BZLF1	4xP			1xP	

Tabulka 4: IMUNOBLOT, VZOREK 1-A IgM

Antigen	Mikrogen (5)	EI-EUROLINE (4)	EI-WB (2)	Biosyntex (1)	Viramed (1)
EBNA1*		1xH, 3xN	1xP		1xH
P22		3xN			
VCA*	1xP, 4xN	4xP	1xP, 1xH	1xH	1xP
EA*	4xP	4xN	1xN	1xP	1xN
ZEBRA	4xP			1xP	
BZLF1	3xN				

\* Pro zjednodušení sloučeny výsledky více antigenů

P - pozitivní, N - negativní, H - hraniční. V tabulkách obsaženy jen dodané výsledky.

#### Marker EA IgM – pozitivní

Marker vyšetřilo 20 laboratoří a všechny měly shodně pozitivní výsledek.

#### Marker EBNA 1 IgM – pozitivní

Marker vyšetřilo 28 laboratoří, neshodný výsledek měly 2 laboratoře.

#### **Vzorek č. 2-B: EBV anamnestické protilátky.**

Vzorek nečinil obtíže a všechny laboratoře shodně vyhodnotily markery, viz. *Tabulka 1 – Správné výsledky.*

#### **Výsledky metodou imunoblot (western blot)**

Metodu použilo 13 laboratoří, celkové hodnocení vzorků se shodovalo. Použité soupravy jsou uvedeny v *Tabulce 2.* Výsledky dle jednotlivých antigenů a souprav vzorku 1-A jsou uvedeny v *Tabulkách 3 a 4.*

#### **ZÁVĚR**

Letošní série Sérologie EBV se zúčastnilo 122 laboratoří, 1 laboratoř neodevzdala výsledky. Všechny zúčastněné laboratoře uspěly, z toho 100 laboratoří uspělo bez srážky bodu, 21 laboratoří s bodovými srážkami. Vyhodnocení vzorků bylo vesměs bez problémů, 7 laboratoří nenapsalo hodnocení výsledků.

Opět se objevily falešné záchyty anti-EBNA 1 IgG u vzorku primoinfekce, patrně interferencí souprav s heterofilními protilátkami. Při záchytu anti-EBNA1 IgG při sérologickém profilu jinak odpovídajícím primoinfekci proto doporučuji vyšetření rozšířit o aviditu VCA IgG nebo záchyt konfirmovat imunoblotem.

Některé laboratoře cíleně nevyšetřují anti-EA IgG při pozitivitě anti-EBNA IgG, anti-VCA IgG a anti-VCA IgM negativitě. Postup je to poměrně rozumný, v sérologických přehledech ČR z roku 1996 byl marker anti-EA IgG pozitivní ve věkové skupině nad 25 let u 15-20 % populace. V interpretaci výsledku potom ale musí být zohledněno, že laboratoř by sérologické známky reaktivace nediodagnostikovala. Navrhuji například formulaci „stav po EBV primoinfekci proběhlé v minulosti“.

Příští série by již měla proběhnout na on-line formuláři, kde by se měl objevit upravený formulář pro imunobloty a snad i možnost vyšetření vzorku více soupravami.

Děkuji všem za účast v EHK „Sérologie EBV 2016“ a těším se na další spolupráci.

*S pozdravem*

*MUDr. Klára Labská  
NRL pro herpetické viry*