



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



Závěrečná zpráva

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii
(Externí hodnocení kvality)

PT#M/9-2/2019 (č. 1091)
Sérologie lymeské borreliózy

Praha, prosinec 2019

Obsah

1.	Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2.	Příprava vzorků	4
3.	Hodnocení	4
4.	Výsledky vyšetřovaných vzorků	5
5.	Hodnocení podle správnosti výsledků	6-8
6.	Celkové hodnocení PT#M/9-2/2019 (EHK 1091)	9
7.	Celkové hodnocení za rok 2019	10
8.	Příloha – výsledkový protokol jednotlivých laboratoří	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/9-2/2019 byl zaměřen na sérologii Lymeské borreliózy. Návrh a realizace PT#M/9-2/2019 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/9 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 programů 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. ohodnocený výsledkový protokol, je rozesílána poštou.

Koordinátor:

RNDr. Kateřina Kybicová, Ph.D.
Tel: 267 082 108

Zprávu vypracovala:

RNDr. Kateřina Kybicová, Ph.D.

Dne: 18. 12. 2019

Pracoviště 2 ESPT (AP CEM - Akreditační pracoviště Centra epidemiologie a mikrobiologie):

www.szu.cz/espt
email: apcem@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/9 -2/2019 EHK - 1091

Identifikace kola/cyklu:	PT#M /9 - 2/2019 EHK - 1091
Název:	Sérologie lymeské borreliózy
Poskytovatel:	SZÚ – Centrum epidemiologie a mikrobiologie - ESPT Šrobárova 48, Praha 10, 100 00 tel.: + 420 267082575, fax.: + 420 267082271
Vedoucí ESPT	Ing. Viera Vrbíková
Koordinátor:	RNDr. Kateřina Kybicová, Ph.D.
Subdodavatel:	-
Charakteristika materiálu:	Sérum/ plasma
Podstata a účel PT/EHK:	Průkaz IgM a IgG protilátek proti <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l., interpretace výsledků sérologických testů
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Vyšetření všech 5 vzorků požadovanými metodami, vyplnění elektronického výsledkového formuláře
Způsob přípravy:	Viz Protokol o přípravě vzorků
Množství připravovaného test. materiálu (očekávaný počet účastníků):	5 vzorků po 0,3ml pro 128 laboratoří (pro 15 laboratoří dvojité vzorky, 5 vzorků navíc)
Označení vzorkovnic:	EHK 1-5, viz SOP M/ 9
Zabezpečení kvality vzorku:	1. Testování kontrolních vzorků sérologickými testy ELISA 2. Kontrolní testování vzorků testem WB viz SOP M/9
Metrologická návaznost:	Viz Protokol o přípravě vzorků
Termín testu homogenity a stability:	Před distribucí vzorků po dodání vzorků do laboratoří
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Přeprava a krátkodobé uchování při 4 – 8°C, dlouhodobé uchování při -18 až -26°C chránit před světlem
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor
Počet účastníků:	128 laboratoří
Termín distribuce:	24. 9. 2019
Způsob distribuce:	Rozesílání vzorků s příloženým průvodním dopisem zajišťuje dopravní služba
Předání výsledků:	Elektronicky do 15. 10. 2019 na webovém rozhraní
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz SOP M/9
Určení maximální směrodatné odchylky:	Z hodnot bodového ohodnocení jednotlivých účastníků
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Vyhodnocují se kvalitativní výsledky – zařazení do kategorie negativní/hraniční/pozitivní a výběr adekvátní celkové interpretace vzorku
Termín semináře, rozeslání zprávy účastníkům:	Do 12 týdnů po obdržení výsledků k hodnocení

2. Příprava vzorku

Letošního kola EHK (2/2019 - 1091) se zúčastnilo 128 laboratoří. Série obsahovala 5 vzorků pro stanovení protilátek proti *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Výběr vzorků byl uskutečněn cíleně pro zjištění hladiny antiborreliových protilátek ve třídách IgM a IgG.

Všechny vzorky byly diagnostikovány dle SOP - NRL/LB-01, 02, z nichž pak byla vybrána reprezentativní skupina kontrolních vzorků, které se dále testovaly podle postupů SOP č M/9 pro EHK. Pro zajištění stability byl do výchozího materiálu přidán po rozmražení ProClin 950 s antibakteriálními účinky v koncentraci 0,05-0,1%.

3. Hodnocení

Konečné hodnocení bylo provedeno u 127 protokolů, které se do NRL/LB navrátily ke dni 16. 10. 2019. Jedna laboratoř výsledky nedodala.

Tabulky uvádějí výsledky laboratoří a jejich hodnocení.

3.1. Celkové hodnocení IgM a IgG

Za výsledky a slovní hodnocení každého vzorku EHK je možno získat maximálně 6 bodů. Pokud výsledek a interpretace udávaná účastníkem není v souladu s výsledky a interpretacemi získanými v NRL LB, je bodové hodnocení sníženo (hodnocení výsledků viz tabulka, hodnotící komentáře níže). Za jednu sérii EHK je celkový maximální počet 30 bodů. Sečtením bodů udělených účastníkovi za obě série vyšetřené v jednom kalendářním roce se stanoví celoroční součet.

Tabulka: Schéma hodnocení

Vzorek	Výsledky laboratoře - celkové hodnocení		
	Pozitivní	Hraniční	Negativní
IgM negativní	0 bodů	1 bod	2 body
IgM pozitivní	2 body	1 bod	- 2 body
IgG negativní	0 bodů	1 bod	2 body
IgG pozitivní	2 body	1 bod	- 2 body

3.2 Celková interpretace vzorku

Z nabídnutých možností laboratoř vybere vhodný hodnotící komentář:

0 *Sérologický výsledek neukazuje na probíhající ani pozdní fázi borreliové infekce. Časná fáze infekce nemůže být vyloučena. V případě klinických příznaků lymeské borreliózy zopakujte vyšetření po 3-4 týdnech.*

1 *Sérologický výsledek ukazuje na probíhající infekci *Borrelia burgdorferi* s.l. S přihlédnutím ke klinickému stavu výsledek svědčí pro časnou fázi borreliové infekce nebo se může jednat o přetrvávající protilátky.*

2 *Sérologický výsledek ukazuje na proběhlou či probíhající infekci *Borrelia burgdorferi* s.l. S přihlédnutím ke klinickému stavu výsledek svědčí pro pozdní fázi borreliové infekce nebo se může jednat o přetrvávající protilátky.*

Jestliže laboratoř uvede u vzorku správné číslo komentáře, obdrží 2 body.

Pokud je správný komentář 0, laboratoř, která uvedla některý z komentářů 1-2, obdrží 0 bodů.

Pokud je správným komentářem komentář 1 a laboratoř zvolí komentář 0, dostane -2 body, pokud uvede komentář 2, obdrží 0 bodů.

Pokud je správným komentářem komentář 2 a laboratoř zvolí komentář 0, dostane -2 body, pokud uvede komentář 1, obdrží 0 bodů.

V tomto roce došlo ke změně v celkových interpretacích vzorku, byly sloučeny dvě možnosti, viz graf:



K této změně došlo z důvodů sjednocení českých a evropských hodnocení kvality sérologie LB. Klasifikace onemocnění LB zná pouze časnou a pozdní fázi, nezná fázi probíhající. V časně fázi jsou vždy přítomné IgM. Protilátky IgG se mohou začít tvořit již během časně fáze nebo se jedná o přetrvávající IgG protilátky z minulosti.

4. Výsledky vyšetřovaných vzorků

č.vzorku	Protilátky třídy	Metoda	Hodnocení pozitivní hraniční negativní	Celkové hodnocení	Celk. interpretace	Max.počet bodů
A	IgM	EIA	pozitivní	pozitivní	1	6
		WB	pozitivní			
	IgG	EIA	negativní	negativní		
		WB	negativní			
B	IgM	EIA	negativní	negativní	2	6
		WB	negativní			
	IgG	EIA	pozitivní	pozitivní		
		WB	pozitivní			
C	IgM	EIA	negativní	negativní	0	6
		WB	negativní			
	IgG	EIA	negativní	negativní		
		WB	negativní			
D	IgM	EIA	negativní	negativní	0	6
		WB	negativní			
	IgG	EIA	negativní	negativní		
		WB	negativní			
E	IgM	EIA	negativní	negativní	0	6
		WB	negativní			
	IgG	EIA	negativní	negativní		
		WB	negativní			

Vzorky C, D, E jsou séra od zdravých krevních dárců bez známek proběhlé či probíhající lymeské borreliózy. Tato séra neobsahují protilátky proti *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Vzorek A pochází od pacienta s příznaky časně lymeské borreliózy a obsahuje IgM protilátky proti *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Vzorek B pochází od pacienta s přetrvávajícími protilátkami po léčbě lymeské borreliózy a obsahuje IgG protilátky proti *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Tyto vzorky byly v NRL LB testovány deseti sérologickými testy nejčastěji používanými v ČR s výsledkem odpovídající očekávaným výsledkům.

5. Hodnocení podle správnosti výsledků**Hodnocení podle počtu bodů za jednotlivé vzorky**

počet bodů	vzorek A	vzorek B	vzorek C	vzorek D	vzorek E
-2	0%	0,8%	0%	0%	0%
0	0%	0%	0%	0%	0%
1	0%	0%	0%	0%	0%
2	0%	0,8%	0%	0%	0%
3	0%	0%	0,8%	0%	0%
4	2,4%	0,8%	0%	0%	0%
5	3,1%	0%	0%	0%	0%
6	94,5%	97,6%	99,2%	100%	100%

IgM EIA

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D	Vzorek E
Hraniční	3 (2,4%)	1 (0,8%)			
Negativní		125 (99,2%)	126 (100%)	126 (100%)	126 (100%)
Pozitivní	123 (97,6%)				

CELKEM testovalo: 126 126 126 126 126

IgM WB

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D	Vzorek E
Hraniční					
Negativní		107 (100%)	105 (100%)	105 (100%)	105 (100%)
Pozitivní	113 (100%)				

CELKEM testovalo: 113 107 105 105 105

IgG EIA

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D	Vzorek E
Hraniční	2 (1,6%)				
Negativní	124 (98,4%)	1 (0,8%)	126 (100%)	126 (100%)	126 (100%)
Pozitivní		125 (99,2%)			

CELKEM testovalo: 126 126 126 126 126

IgG WB

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D	Vzorek E
Hraniční	4 (3,8%)	2 (1,8%)	1 (1%)		
Negativní	98 (92,4%)		102 (99%)	105 (100%)	104 (100%)
Pozitivní	4 (3,8%)	111 (98,2%)			

CELKEM testovalo: 106 113 103 105 104

Celkové hodnocení IgM

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D	Vzorek E
Hraniční					
Negativní		126 (99,2%)	127 (100%)	127 (100%)	127 (100%)
Pozitivní	127 (100%)	1 (0,8%)			

CELKEM testovalo: 127 127 127 127 127

Celkové hodnocení IgG

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D	Vzorek E
Hraniční	4 (3,1%)		1 (0,8%)		
Negativní	120 (94,5%)	1 (0,8%)	126 (99,2%)	127 (100%)	127 (100%)
Pozitivní	3 (2,4%)	126 (99,2%)			

CELKEM testovalo: **127** **127** **127** **127** **127**

Chybné celkové hodnocení IgG vzorku A jako pozitivní či hraniční u sedmi laboratoří bylo ve většině případů způsobeno reaktivitou v jednom či více antigenech WB testu, ačkoli výsledek primárního ELISA testu byl negativní. Většině laboratoří užívající stejné WB metody a rovněž NRL LB testující stejné WB soupravy vyšel výsledek WB IgG vzorku A jako negativní.

Celková interpretace

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D	Vzorek E
0		2 (1,6%)	126 (99,2%)	127 (100%)	127 (100%)
1	127 (100%)				
2		125 (98,4%)	1 (0,8%)		

CELKEM testovalo: **127** **127** **127** **127** **127**

Chybná celková interpretace vzorku B jako negativní byla v jednom případě způsobená zřejmě přehlédnutím (neboť výsledky měření měla laboratoř správně) a v druhém případě použitím pouze metody ELISA, která vyšla falešně negativní, bez confirmace testem WB.

Výsledky nejčastěji vyšetřených antigenů IgM v metodě WB

IgM	Vzorek A		Vzorek B		Vzorek C		Vzorek D		Vzorek E	
	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N
OspC/p25	112			4	1	4		4		4
FlaB/p41	12	3	2	3	1	4		4		4
BmpA/p39	8	4		4		4		4		4
DbpA/p17	2									
VlsE	1	4		4		4		4		5
p83/p100		1		1		1		1		1
OspB/p34	1									
OspA/p31	1	1		1		1		1		1
OppA/p58										
OspE/p19										
NapA										
p21										
p30										

P=pozitivní, N=negativní

Výsledky nejčastěji vyšetřených antigenů IgG v metodě WB

IgG	Vzorek A		Vzorek B		Vzorek C		Vzorek D		Vzorek E	
	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N
VlsE	2	4	109			4		4		4
p83/p100		4	92			4		4		4
FlaB/p41	22	1	82		10	2	19	1	14	2
BmpA/p39	1	4	57	1		4		4		4
OspA/p31		2	2	1		2		2		2
OspC/p25	27	1	35	1	2	3		3		3
DbpA/p17	8	2	28	2		2		2		2
OspB/p34		1	6	1		1		1		1
OppA/p58		4	31	3		4		4		4
NapA		1		1		1		1		1
OspE/p19	1	2	18	2		2		2		2
p21		3	12	3		3		3		3
p30	1	1	12			1		1		1

P=pozitivní, N=negativní

U některých souprav WB ve třídě IgG vzorku A reagovaly některé antigeny pozitivně či hraničně. Jednalo se především o antigen OspC/p25 a FlaB/p41. Ke stejným výsledkům došla i NRL LB při testování těchto souprav. Pozitivní či hraniční výsledek těchto antigenů však nemá vliv na celkový negativní výsledek IgG vzorku A.

Poznámka: U některých testů je uveden antigen p18, jedná se o antigen DbpA

Nejčastěji používané diagnostické testy

Metoda Elisa/imunoanalýzátor IgM + IgG		Metoda WB IgM + IgG	
Název	Počet uživatelů	Název	Počet uživatelů
Test – Line celobuněčná rekombinantní	61 (48,4 %) 12 49	Test – Line jednoduchý rekombinantní MBA Blue blot-line	56 (49,6%) 8 38 4 4
Diasorin Liason (CLIA) rekombinantní	40 (31,7 %)	Euroimmun celobuněčný rekombinantní	36 (31,9 %) 17 19
Euroimmun celobuněčná	11 (8,7 %)	Vidia rekombinantní	8 (7 %)
Vidia rekombinantní	5 (4%)	Virotech	4 (3,5%)
Diesse Chorus	4 (3,2%)	Mikrogen	3 (2,7 %)
		Viramed	3 (2,7 %)
jiná*	5 (4%)	jiná*	3 (2,7 %)

EIA n= 126

WB n= 113

*jiná souprava – použita pouze u jedné laboratoře

6. Celkové hodnocení 127 laboratoří v PT#M/9-2/2019 (EHK 1091)

	Počet bodů	Počet laboratoří	%
	30	116	91,3 %
	29	4	3,2 %
	28	4	3,2 %
	27	1	0,8 %
	26	1	0,8 %
Uspělo		126	99,2 %
	22	1	0,8 %
Neuspělo		1	0,8 %

Maximální počet dosažených bodů: 30**LIMIT 26 bodů****Závěr:**

Hranice úspěšnosti byla stanovena na 26 bodech. Průměrný počet bodů byl 29,8. **Úspěšně** zpracovalo vzorky **99,2 %** laboratoří, **91,3 %** laboratoří identifikovalo vzorky **bezchybně. Limit nesplňuje 1 laboratoř (0,8%)**, která ohodnotila pozitivní vzorek jako negativní, což je hrubá chyba.

Poznámky:

Hranici úspěšnosti pro jednotlivé kolo dané série nelze stanovit předem, neboť záleží na míře shody hodnocené laboratoře s NRL LB a zároveň na míře shody mezi zúčastněnými laboratořemi dohromady. Obvykle se hranice úspěšnosti nalézá v rozmezí 80 až 90 % z možného celkového počtu bodů. Účastník úspěšně absolvuje kolo EHK, pokud dosáhne bodového limitu. Pokud obsahují výsledky účastníka jednu nebo více odchylek od výsledků získaných v SZÚ, tento nárok zaniká, přičemž organizátor si vyhrazuje právo ponechat konečné rozhodnutí výhradně na odborném posouzení VŠ pracovníka, odpovědného za příslušný typ EHK. Tento pracovník posuzuje jednak závažnost samotné odchylky, jednak všechny související faktory s touto odchylkou spojené.

7. Celkové hodnocení 126 laboratoří za rok 2019

	Počet bodů	Počet laboratoří	%
	60	19	15,1
	59	2	1,6
	58	80	63,5
	57	9	7,1
	56	7	5,6
	55	1	0,8
	54	5	4,0
	52	1	0,8
Uspělo		124	98,4 %
	50	1	0,8
	30	1	0,8
Neuspělo		2	1,6 %

Maximální počet dosažených bodů: 60**LIMIT 52 bodů****Závěr:**

Úspěšně zpracovalo vzorky **98,4 %** laboratoří, **15,1 %** identifikovalo vzorky **bezchybně. Limit opravňující k získání certifikátu o úspěšné účasti nesplňují 2 laboratoře.** Obě laboratoře se dopustily hrubých chyb jako je přehození vyšetřovaných vzorků či ohodnocení pozitivního vzorku jako negativní.

Poznámky:

Podmínkou pro získání certifikátu o úspěšné účasti je účast v obou letošních kolech EHK sérologie lymeské borreliózy. V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu.