



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/9-1/2020 (č. 1117)
Sérologie lymeské borreliózy

Praha, červen 2020

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	6-9
6.	Příloha – výsledkový protokol jednotlivých laboratoří	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/9-1/2020 byl zaměřen na sérologii lymeské borreliózy. Návrh a realizace PT#M/9-1/2020 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 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. ohodnocený výsledkový protokol, je rozesílána poštou.

Zprávu vypracovala:

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

Pracoviště ESPT 2

www.szu.cz/espt

Dne: 11. 6. 2020

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/9 - 1/2020

Identifikace série:	EHK 1117
Označení a název programu:	PT# M/9 - 1/2020 , Sérologie lymeské borreliózy
Poskytovatel:	SZÚ, ESPT Šrobárova 49/48, Praha 10, 100 00
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 4 vzorků požadovanými metodami, vyplnění elektronického výsledkového formuláře
Způsob přípravy:	Viz Protokol o přípravě vzorků
Množství připravovaného test. materiálu (očekávaný počet účastníků):	4 vzorky po 0,3ml pro 127 laboratoří (pro 15 laboratoří dvojité vzorky, 5 vzorků navíc)
Označení vzorkovnic:	EHK 1117, PT# M/9, č. 1 – 4, 3. 3. 2020
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 uchovávání vzorků:	Přeprava a krátkodobé uchovávání při 4 – 8°C, dlouhodobé uchovávání při -18 až -26°C chránit před světlem
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor
Počet účastníků:	127 laboratoří
Termín distribuce:	3. 3. 2020
Způsob distribuce:	Rozesílání vzorků s přiloženým průvodním dopisem zajišťuje dopravní služba
Předání výsledků:	Elektronicky do 24. 3. 2020 na webovém rozhraní
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz SOP M/9
Určení maximální směrodatné odchylky:	Z hodnot bodového ohodnocení jednotlivých účastníků
Určení přijaté vztahné hodnoty:	Vyhodnocují se kvalitativní výsledky – zařazení do kategorie negativní/hraniční/pozitivní a výběr adekvátní celkové interpretace vzorku
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 12 týdnů po předání výsledků k hodnocení

2. Příprava vzorku

Série EHK 1117 se zúčastnilo 127 laboratoří. Série obsahovala 4 vzorky 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 24. 3. 2020.

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 24 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 minulém 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.

3. 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	pozitivní	pozitivní		
		WB	pozitivní			
B	IgM	EIA	negativní	negativní	0	6
		WB	negativní			
	IgG	EIA	negativní	negativní		
		WB	negativní			
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			

Vzorky B, C, D 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 úspěšně léčeným mnohočetným erythema migrans (časné diseminované stádium lymeské borreliózy) asi jeden měsíc po infekci a vykazuje výrazné titry IgM a IgG protilátek proti *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Pozitivita protilátek ve třídě IgM byla potvrzena Immunoblotem v několika antigenech, nejčastěji OspC/p25, FlaB/p41 a VlsE. Pozitivita protilátek ve třídě IgG byla potvrzena Immunoblotem v několika antigenech, nejčastěji VlsE, p83/p100, BmpA/p39, OspA/p31. Výsledky testu Immunoblot odpovídají časně fázi imunitní odpovědi na borreliovou infekci. Tento pacient byl v NRL LB testován opakovaně, sérologické výsledky odběru jeden měsíc po infekci se neliší v žádných antigenech od odběrů v počátku infekce před léčbou.

Tyto vzorky byly v NRL LB testovány deseti sérologickými testy nejčastěji používanými v ČR s výsledkem odpovídající očekávaným výsledkům.

Hodnocení podle počtu bodů za jednotlivé vzorky

počet bodů	vzorek A	vzorek B	vzorek C	vzorek D
0	0%	0%	0%	0%
1	0%	0%	0%	0%
2	0%	0%	0%	0%
3	0%	0%	0,8% (1)	0%
4	19,7 % (25)	0%	0%	0%
5	0,8% (1)	0%	0,8% (1)	0%
6	79,5% (101)	100% (127)	98,4% (125)	100% (127)

5. Hodnocení podle správnosti výsledků**IgM EIA**

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

CELKEM testovalo: 126 126 126 126

IgM WB

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční				
Negativní		105 (100%)	106 (100%)	105 (100%)
Pozitivní	112 (100%)			

CELKEM testovalo: 112 105 106 105

IgG EIA

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční				
Negativní		126 (100%)	125 (100%)	125 (100%)
Pozitivní	126 (100%)			

CELKEM testovalo: 126 126 125 125

IgG WB

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční	2 (1,8%)	1 (0,9%)	2 (1,8%)	1 (0,9%)
Negativní		105 (99,1%)	103 (99%)	106 (1,8%)
Pozitivní	111 (98,2%)			

CELKEM testovalo: 113 106 105 107

Chybné hodnocení IgG vzorku A jako hraniční bylo způsobeno slabou reaktivitou některých antigenů v určitých WB testech. Stejně testy však byly použity i v jiných testujících laboratořích a v NRL LB se správným pozitivním výsledkem.

Chybné hodnocení IgG vzorku C jako hraniční bylo způsobeno reaktivitou antigenu DbpA/p17 v určitých WB testech. Stejně testy však byly použity i v jiných testujících laboratořích a v NRL LB se správným negativním výsledkem.

Celkové hodnocení IgM

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční				
Negativní		127 (100%)	127 (100%)	127 (100%)
Pozitivní	127 (100%)			

CELKEM testovalo: 127 127 127 127

Celkové hodnocení IgG

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční	1 (0,8%)		2 (1,6%)	
Negativní		127 (100%)	125 (99,2%)	127 (100%)
Pozitivní	126 (99,2%)			

CELKEM testovalo: 127 127 127 127

Chybné celkové hodnocení IgG vzorku A jako hraniční bylo způsobeno slabou reaktivitou WB testu. Chybné celkové hodnocení IgG vzorku C jako hraniční bylo způsobeno reaktivitou antigenu DbpA/p17 ve WB.

Celková interpretace

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
0		127 (100%)	126 (99,2%)	127 (100%)
1	102 (80,3%)			
2	25 (19,7%)		1 (0,8%)	

CELKEM testovalo: 127 127 127 127

Chybná celková interpretace vzorku A byla u 25 ze 127 laboratoří způsobena zřejmě přehlédnutím změny v celkových interpretacích vzorku v průvodním dopise. Neboť vzorek A pochází od pacienta s úspěšně léčeným mnohočetným erythema migrans (časné diseminované stádium lymeské borreliózy) asi jeden měsíc po infekci a vykazuje výrazné titry IgM a IgG protilátek proti Borrelii burgdorferi sensu lato.

Výsledky nejčastěji vyšetřených antigenů IgM v metodě WB

IgM	Vzorek A		Vzorek B		Vzorek C		Vzorek D	
	P	N	P	N	P	N	P	N
OspC/p25	111			5		5		5
FlaB/p41	88		3	5	2	5	1	5
BmpA/p39	10	5		5		5		5
DbpA/p17	2							
VlsE	30	2		5		5		5
p83/p100	7	2		2		2		2
OspB/p34								
OspA/p31	8			1		1	1	1
OppA/p58	1							
OspE/p19								
NapA								
p21								
p30	1							

P=pozitivní, N=negativní

Výsledky nejčastěji vyšetřených antigenů IgG v metodě WB

IgG	Vzorek A		Vzorek B		Vzorek C		Vzorek D	
	P	N	P	N	P	N	P	N
VlsE	110			5		5		5
p83/p100	102			5		5		5
FlaB/p41	28	2	21	2	21	2	19	2
BmpA/p39	91	1		5		5		5
OspA/p31	22			4		3		3
OspC/p25	48	2	1	4	2	4	1	4
DbpA/p17	17	2		3	9	3		3
OspB/p34	2	2		2		2		2
OppA/p58	17	4		5		5	1	5
NapA	1	2		2		2		2
OspE/p19	22			2		2		2
p21	7	3		3		3		3
p30	13			1		1		1

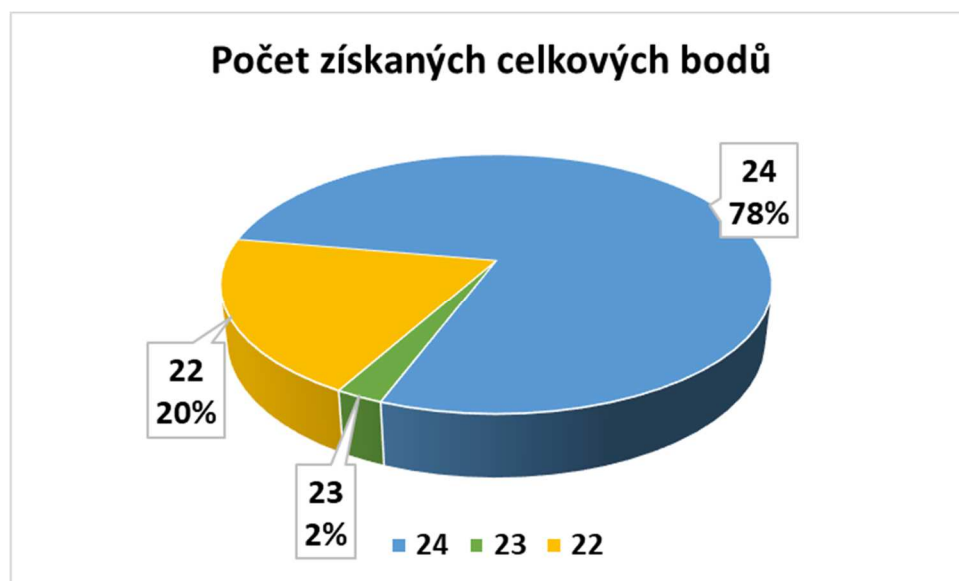
P=pozitivní, N=negativní

Nejčastěji používané diagnostické testy

Metoda Elisa/Clia IgM + IgG		Metoda WB/Immunoblot IgM + IgG	
Název	Počet uživatelů	Název	Počet uživatelů
Test - Line	57 (45,2 %)	Test - Line	54 (47,8%)
Liaison, Diasorin	43 (34,1 %)	Euroimmun	38 (33,6 %)
Euroimmun	12 (9,5 %)	Vidia	8 (7,1 %)
Vidia	5 (4%)	Virotech	4 (3,5%)
jiná (Aeskulisa, Biomerieux, Enzygnost, Vidas a další)	9 (7,9%)	Mikrogen	3 (2,7 %)
		Viramed	3 (2,7 %)
		jiná	3 (2,7 %)

EIA n= 126

WB n= 113



Celkové hodnocení 127 laboratoří v PT#M/9-1/2020 (EHK 1117)

	Počet bodů	Počet laboratoří	%
	24	99	78 %
	23	3	2,3 %
	22	25	19,7%
Uspělo		127	100 %
Neuspělo		0	0 %

Maximální počet dosažených bodů: 24**LIMIT 22 bodů**

Závěr: Hranice úspěšnosti byla stanovena na 22 bodů. Průměrný počet bodů byl 23,6. **Úspěšně** zpracovalo vzorky **100 %** laboratoří, z toho **78 %** identifikovalo vzorky **bezchybně**.

Všechny testované laboratoře v této sérii č. 1117 uspěly.

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.

Poznámky:

Podmínkou pro získání certifikátu o úspěšné účasti je účast v obou letošních sériích sérologie lymeské borreliózy.

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