



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/9-2/2020 (č. 1148)
Sérologie lymeské borreliózy

Praha, prosinec 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	6-8
6.	Celkové hodnocení PT#M/9-2/2020 (EHK 1148)	9
7.	Celkové hodnocení za rok 2020	10
8.	Příloha – výsledkový protokol jednotlivých laboratoří	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/9-2/2020 byl zaměřen na sérologii lymeské borreliózy. Návrh a realizace PT#M/9-2/2020 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 2 ESPT

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

e-mail: ehk@szu.cz

Dne: 17. 12. 2020

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/9 - 2/2020

Identifikace cyklu:	EHK 1148
Název PT:	Sérologie lymeské borreliózy
Poskytovatel:	ESPT, Šrobárova 49/48, Praha 10 100 00
Koordinátor:	RNDr. Kateřina Kybicová, Ph.D.
Subdodavatel a činnosti, které zajišťuje:	není
Podstata a účel PT:	Průkaz IgM a IgG protilátek proti <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l., interpretace výsledků sérologických testů
Kritéria pro účast na PT:	Vyšetření všech 4 vzorků požadovanými metodami, vyplnění elektronického výsledkového formuláře
Charakteristika materiálu:	Krevní sérum, plasma
Hodnocené ukazatele:	Celkové hodnocení IgM a IgG, celková interpretace vzorku
Způsob přípravy:	Viz SOP M/9
Množství připravovaného test. materiálu (počet očekávaných účastníků):	4 vzorky po 0,3ml pro 128 laboratoří (pro 15 laboratoří dvojité vzorky, 5 vzorků navíc)
Označení vzorkovnic:	EHK 1148, PT#M/9-2, č.1 – č.4, 29 .9. 2020
Zabezpečení jakosti vzorku (včetně termínů testů homogenity a stability):	1. Testování kontrolních vzorků sérologickými testy ELISA 2. Kontrolní testování vzorků testem WB viz SOP M/9
Možné zdroje analytických chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz SOP M/9
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Vyhodnocují se kvalitativní výsledky – zařazení do kategorie negativní/hraniční/pozitivní a výběr adekvátní celkové interpretace vzorku
Určení maximální směrodatné odchylky:	Z hodnot bodového ohodnocení jednotlivých účastníků
Termín distribuce vzorků:	29. 9. 2020
Způsob distribuce vzorků:	Rozesílání vzorků s příloženým průvodním dopisem zajišťuje dopravní služba
Informace účastníkům (např. pokyny, výsl. formuláře):	Průvodní dopis Webové stránky SZU
Termín odeslání výsledků účastníky:	Přes webové rozhraní SZÚ do 20. 10. 2020
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	Do 10 dnů po předání výsledků k hodnocení
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 12 týdnů po předání výsledků k hodnocení

2. Příprava vzorku

Série EHK 1148 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 21. 10. 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 24bodů. 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.

4. Výsledky vyšetřovaných vzorků

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

Vzorky A, B, C, D jsou séra od zdravých krevních dárců bez známek proběhlé či probíhající lymeské borreliózy. Vzorky A a C neobsahují protilátky proti *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Vzorky B a D obsahují IgG protilátky proti *Borrelia burgdorferi* sensu lato, jedná se s největší pravděpodobností o přetrvávající protilátky. U vzorku B byla pozitivita protilátek ve třídě IgG byla potvrzena Immunoblotem v několika antigenech, nejčastěji VlsE, p58, p83/p100, p41 a p17/p18. U vzorku D byla pozitivita protilátek ve třídě IgG potvrzena Immunoblotem v několika antigenech, nejčastěji VlsE, p83/p100, p58, BmpA/p39, p17/p18.

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
0	0%	0%	0%	0%
1	0%	0%	0%	0%
2	0%	0%	0%	0%
3	0%	0%	0%	0%
4	0%	0%	0%	0%
5	0%	2,4% (3)	0%	0,8% (1)
6	100% (127)	97,6% (124)	100% (127)	99,2% (126)

IgM EIA

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

CELKEM testovalo: 126 126 126 126

IgM WB

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční		4 (3,8%)		1 (1%)
Negativní	103 (100%)	99 (95,2%)	102 (100%)	103 (99%)
Pozitivní		1 (1%)		

CELKEM testovalo: 103 104 102 104

IgG EIA

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

CELKEM testovalo: 126 126 126 126

IgG WB

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční				
Negativní	103 (100%)		102 (100%)	
Pozitivní		111 (100%)		103 (100%)

CELKEM testovalo: 103 111 102 110

Celkové hodnocení IgM

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční		3 (2,4%)		1 (0,8%)
Negativní	127 (100%)	124 (97,6%)	127 (100%)	126 (99,2%)
Pozitivní				

CELKEM testovalo: 127 127 127 127

Celkové hodnocení IgG

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

CELKEM testovalo: 127 127 127 127

Celková interpretace

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
0	127 (100%)		127 (100%)	
1				
2		127 (100%)		127 (100%)

CELKEM testovalo: 127 127 127 127

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		4	5	4		6		6
FlaB/p41		4		3		4	3	4
BmpA/p39		5		5		5		5
DbpA/p17		3	2	2		3		3
VlsE		5		5		5	1	5
p83/p100		3		3		3		3
OspB/p34								
OspA/p31		1		1		1		1
OppA/p58								
OspE/p19		1		1		1		1
NapA								
p21		1		1		1		1
p30		1		1		1		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		3	112			5	111	
p83/p100		5	102			5	104	
FlaB/p41	20	2	68		23	2	30	3
BmpA/p39		5	43	2		5	104	
OspA/p31		4	17	3		4	10	3
OspC/p25	1	4	37	3	3	4	14	4
DbpA/p17	1	3	30	3	3	2	36	2
OspB/p34		2		2		2	7	3
OppA/p58		3	50			3	70	
NapA		2		2		2	1	2
OspE/p19		2	16	1		2	29	1
p21		2	8	2		2	19	1
p30			14			1	13	

P=pozitivní, N=negativní

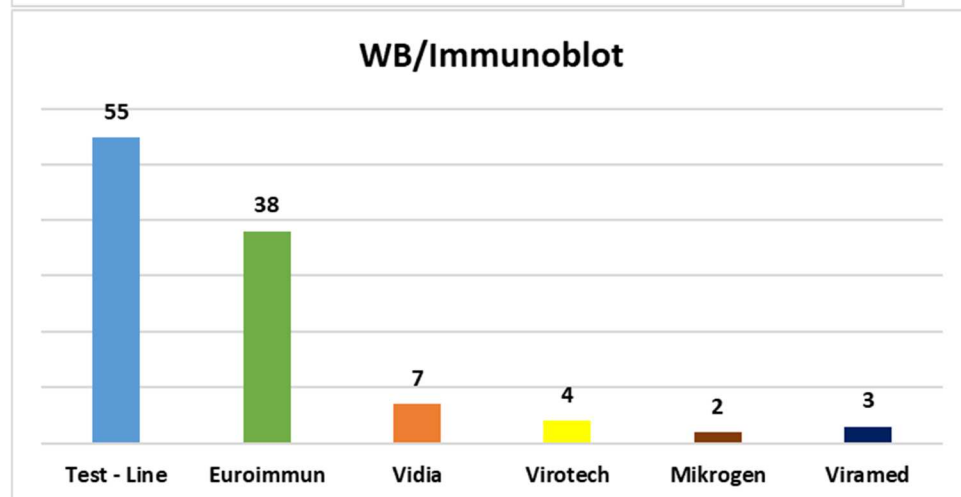
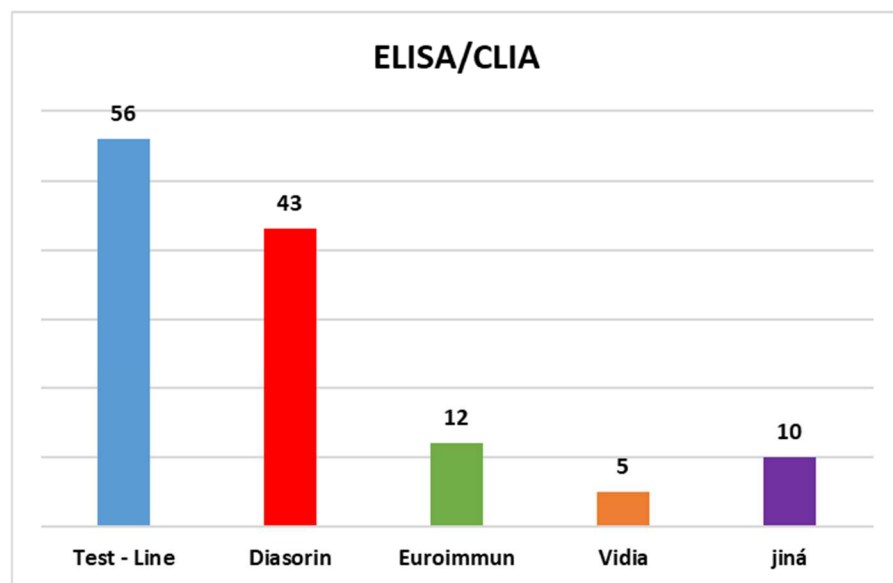
Chybné celkové hodnocení IgM vzorku B jako hraniční bylo způsobeno slabou reaktivitou WB testů různých výrobců. Ve čtyřech případech byl výsledek WB IgM hodnocen jako hraniční a v jednom případě jako pozitivní. V pěti případech byl detekován OspC antigen, ve dvou DbpA. Pouze tři z těchto laboratoří pak udali celkový výsledek IgM vzorku B jako hraniční. Chybné celkové hodnocení IgM vzorku D jako hraniční jedné laboratoře bylo způsobeno slabou reaktivitou WB testu. Byl detekován VlsE antigen.

Nejčastěji používané diagnostické testy

Metoda Elisa/Clia IgM + IgG		Metoda WB/Immunoblot IgM + IgG	
Název	Počet uživatelů	Název	Počet uživatelů
Test - Line	56 (44,4 %)	Test - Line	55 (48,2%)
Liaison, Diasorin	43 (34,1 %)	Euroimmun	38 (33,3 %)
Euroimmun	12 (9,5 %)	Vidia	7 (6,1 %)
Vidia	5 (4%)	Virotech	4 (3,5%)
jiná (Aeskulisa, Biomerieux, Enzygnost, Vidas, Siemens a další)	10 (7,9%)	Mikrogen	2 (1,8 %)
		Viramed	3 (2,6 %)
		jiná	5 (4,4 %)

EIA n= 126

WB n= 114



6. Celkové hodnocení 127 laboratoří v PT#M/9-2/2020 (EHK 1148)

	Počet bodů	Počet laboratoří	%
	24	123	96,9 %
	23	4	3,1 %
Uspělo		127	100 %
Neuspělo		0	0 %

Maximální počet dosažených bodů: 24

LIMIT 23 bodů

Závěr: Hranice úspěšnosti byla stanovena na 23 bodů. Průměrný počet bodů byl 24. **Úspěšně** zpracovalo vzorky **100 %** laboratoří, z toho **96,9 %** identifikovalo vzorky **bezchybně**.

Všechny testované laboratoře v této sérii č. 1148 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.



7. Celkové hodnocení 127 laboratoří za rok 2020

	Počet bodů	Počet laboratoří	%
	48	120	94,5
	47	7	5,5
Uspělo		127	100 %
Neuspělo		0	0 %

Maximální počet dosažených bodů: 48**LIMIT 46 bodů****Závěr:**

Úspěšně zpracovalo vzorky **100 %** laboratoří, **94,5 %** identifikovalo vzorky **bezchybně**.
Limit opravňující k získání certifikátu o úspěšné účasti splňují všechny laboratoře.

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.