



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/9-1/2021 (EHK 1181)
Sérologie lymeské borreliózy

Praha, červen 2021

Obsah

1.	Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2.	Způsob přípravy vzorků	3
3.	Charakteristika materiálu	4
4.	Způsob hodnocení	5
5.	Vyhodnocení	6-8
6.	Závěr	9
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/9-1/2021 byl zaměřen na sérologii lymeské borreliózy. Návrh a realizace PT#M/9-1/2021 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 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 „Hodnocení sérií“.

Zprávu vypracoval:

Mgr. Jiří Navrátil, NRL pro lymeskou borreliózu, SZÚ Praha

Zprávu autorizoval:

RNDr. RNDr. Kybicová, Ph.D.

Tel: 267 082 105

Dne: 1. 6. 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/9 - 1/2021

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1181
Název:	Sérologie lymeské borreliózy
Koordinátor:	RNDr. Kateřina Kybicová, Ph.D..
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3
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
Způsob přípravy:	viz kapitola 2
Množství připravovaného testovaného materiálu:	Cca pro 140 laboratoří
Označení vzorkovnic:	EHK 1181, PT#M/9-1, č.1 – č.4, 23 .2. 2021
Zabezpečení kvality vzorku:	1. Testování kontrolních vzorků sérologickými testy ELISA 2. Kontrolní testování vzorků testy WB Pro zajištění stability je do výchozího materiálu přidáván po rozmražení ProClin TM ve výsledné koncentraci 0,0095%
Test homogenity a stability:	Homogenita a stabilita vzorků je testována ve třech testováních (před a po rozplnění a po uzavření kola) , testováním musí být dosaženo stejných výsledků v čase
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:	129
Termín distribuce:	23. 2. 2021
Způsob distribuce:	Přepravní službou (zajišťuje Koordinační pracoviště ESPT 2)
Předání výsledků:	V elektronické podobě přes webové rozhraní SZÚ za použití aplikace EHK 10
Způsob vyhodnocení výsledků:	Vyhodnocují se kvalitativní výsledky – zařazení do kategorie negativní/hraniční/pozitivní a výběr adekvátní celkové interpretace vzorku, viz kap.4
Určení směrodatné odchylky:	Neprovádí se
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Výsledky získané v NRL
Termín zveřejnění očekávaných výsledků:	26. 3. 2021
Termín zveřejnění závěrečné zprávy:	Do 8. 6. 2021

2. Způsob přípravy vzorků

Výběr vzorků byl skutečně cíleně pro zjištění hladiny antiborreliových protilátek ve třídách IgM a IgG. Všechny vzorky byly diagnostikovány dle standardních operačních postupů pro detekci specifických protilátek metodami ELISA a Western Blot, z nichž pak byla vybrána reprezentativní skupina kontrolních vzorků, které se dále testovaly podle standardního operačního postupu SOP M/9 dalšími CE IVD sérologickými metodami nejčastěji používanými v ČR. Pro zajištění stability byl do výchozího materiálu přidán po rozmražení ProClin 950 s antibakteriálními účinky v koncentraci 0,05-0,1%.

3. Charakteristika materiálu

Série obsahuje 4 vzorky pro stanovení protilátek proti *Borrelia burgdorferi* sensu lato.

Vzorek A pochází od pacienta s potvrzenou lymeskou boreliózou. Jednalo se pacienta s erythema migrans (časné lokalizované stádium lymeské borreliózy) asi jeden měsíc po přisátí klíštěte. Pozitivita protilátek ve třídě IgM byla potvrzena Immunoblotem v několika antigenech, nejčastěji OspC/p25, FlaB/p41, p39, p17 a VlsE. IgG protilátky byly detekovány pouze některými ELISA soupravami, rovněž potvrzení Immunoblotem bylo jen některými soupravami, které jsou certifikovány pro detekci protilátek v ČR a to nejčastěji v antigenech FlaB/p41, OspC/p25. Výsledky testu Immunoblot odpovídají časné fázi imunitní odpovědi na borreliovou infekci.

Vzorky B, C, D jsou séra od zdravých krevních dárců bez známek proběhlé či probíhající lymeské borreliózy. Vzorky C a D neobsahují protilátky proti *Borrelia burgdorferi* sensu lato.

Vzorek B obsahuje IgG protilátky proti *Borrelia burgdorferi* sensu lato, jedná se s největší pravděpodobností o přetrvávající protilátky. U tohoto vzorku byla pozitivita protilátek ve třídě IgG byla potvrzena Immunoblotem v několika antigenech, nejčastěji VlsE, p58, p83/p100, p41 a p17/p18. IgM protilátky byly detekovány pouze jedním typem ELISA testu. Pozitivita však nebyla potvrzena žádnou z nejčastěji používaných souprav Immunoblot.

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

Výsledky vyšetřovaných vzorků

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

Vysvětlivky: Kvalitativní výsledky sérologických testů
 N = negativní H = hraniční P = pozitivní

3. Způsob hodnocení

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 (celkové hodnocení IgM a IgG viz tabulka, celková interpretace vzorku 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.

Celkové hodnocení IgM a IgG

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

Celková interpretace vzorku

Z nabídnutých možností laboratoř vybere vhodný hodnotící komentář:

0 *Nebyly detekovány protilátky proti Borrelia burgdorferi s.l. 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 *Byly detekovány IgM nebo IgM a IgG protilátky proti Borrelia burgdorferi s.l. 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 *Byly detekovány pouze IgG protilátky proti Borrelia burgdorferi s.l. 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.

5. Vyhodnocení

Konečné hodnocení bylo provedeno u 128 protokolů, které se do NRL/LB navrátily ke dni 16. 3. 2021. Tabulky uvádějí výsledky laboratoří a jejich hodnocení.

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%	0,8% (1)	0%	0%
3	0%	0%	0%	0%
4	0%	0,8% (1)	0,8% (1)	0,8% (1)
5	0,8% (1)	3,1% (4)	0%	0%
6	99,2% (127)	95,3% (122)	99,2% (127)	99,2% (127)

IgM EIA

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční	5 (3,9%)	3 (2,4%)		
Negativní	4 (3,2%)	123 (96,9%)	127 (100%)	127 (100%)
Pozitivní	118 (92,9%)	1 (0,8%)		

CELKEM testovalo: 127 127 127 127

IgM WB

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční		5 (4,6%)	1 (0,9%)	1 (0,9%)
Negativní		101 (93,5%)	105 (98,1%)	105 (98,1%)
Pozitivní	118 (100%)	2 (1,9%)	1 (0,9%)	1 (0,9%)

CELKEM testovalo: 118 108 107 107

IgG EIA

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční	16 (12,6 %)			
Negativní	106 (83,5%)		127 (100%)	127 (100%)
Pozitivní	5 (3,9%)	127 (100%)		

CELKEM testovalo: 127 127 127 127

IgG WB

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční	6 (5,3%)			
Negativní	89 (78,8%)		107 (100%)	106 (100%)
Pozitivní	18 (15,9%)	115 (100%)		

CELKEM testovalo: 113 115 107 106

Celkové hodnocení IgM

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční	1 (0,8%)	4 (3,1%)		
Negativní		122 (95,3%)	127 (99,2%)	127 (99,2%)
Pozitivní	127 (99,2%)	2 (1,6%)	1 (0,8%)	1 (0,8%)

CELKEM testovalo: 128 128 128 128

Celkové hodnocení IgG

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční	10 (7,8%)			
Negativní	103 (80,5%)		128 (100%)	128 (100%)
Pozitivní	15 (11,7%)	128 (100%)		

CELKEM testovalo: 128 128 128 128

Celková interpretace

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
0			128 (100%)	128 (100%)
1	128 (100%)	2 (1,6%)		
2		126 (98,4%)		

CELKEM testovalo: 128 128 128 128

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	115		7	6		6		7
FlaB/p41	28	3		5		5		6
BmpA/p39	2	7		6		6		7
DbpA/p17	2	3		2		2		2
VlsE	2	5		6		6		7
p83/p100		4		4		4		5
OspB/p34								1
OspA/p31	1	3		2	4	2	5	3
OppA/p58								1
OspE/p19	1	1		1		1		1
NapA								
p21				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	6	114			6		6
p83/p100		6	101			6	1	6
FlaB/p41	24	2	63		19	3	16	3
BmpA/p39	1	6	50	4	5	6		6
OspA/p31	12	5	11	5	2	5	3	5
OspC/p25	44	3	40	4		4	2	4
DbpA/p17	13	4	62	1		5	1	5
OspB/p34		3		3		3		3
OppA/p58	2	5	56	2		5		5
NapA		3		3		3		3
OspE/p19	1	2	14	1	2	2		2
p21	8	3	8	3		3		3
p30	3	2	16			2		2

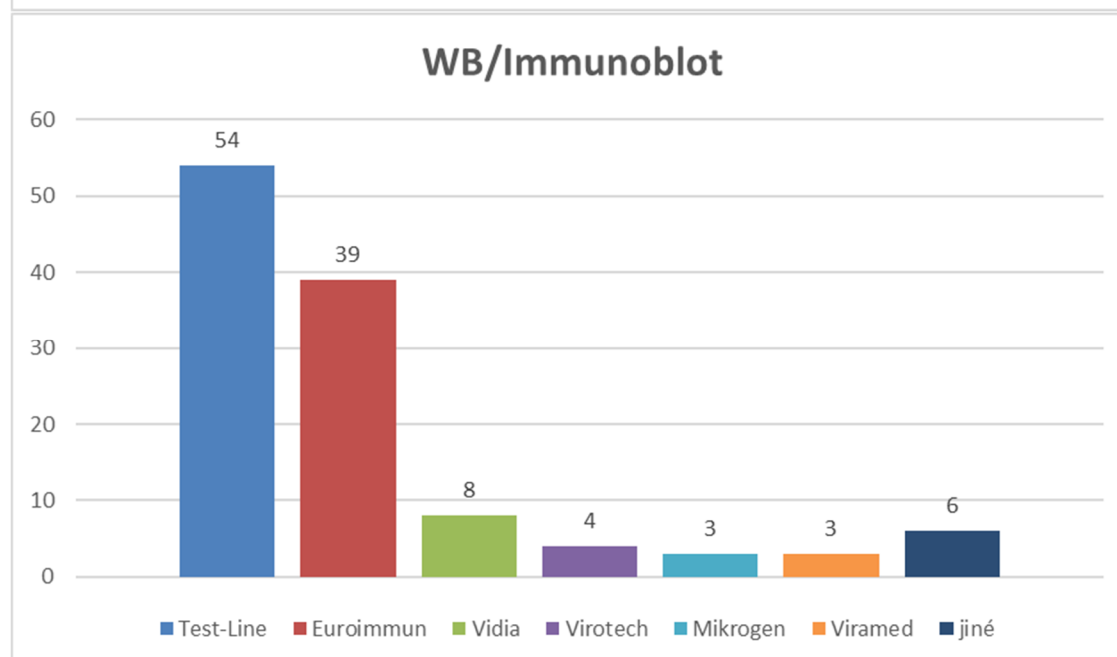
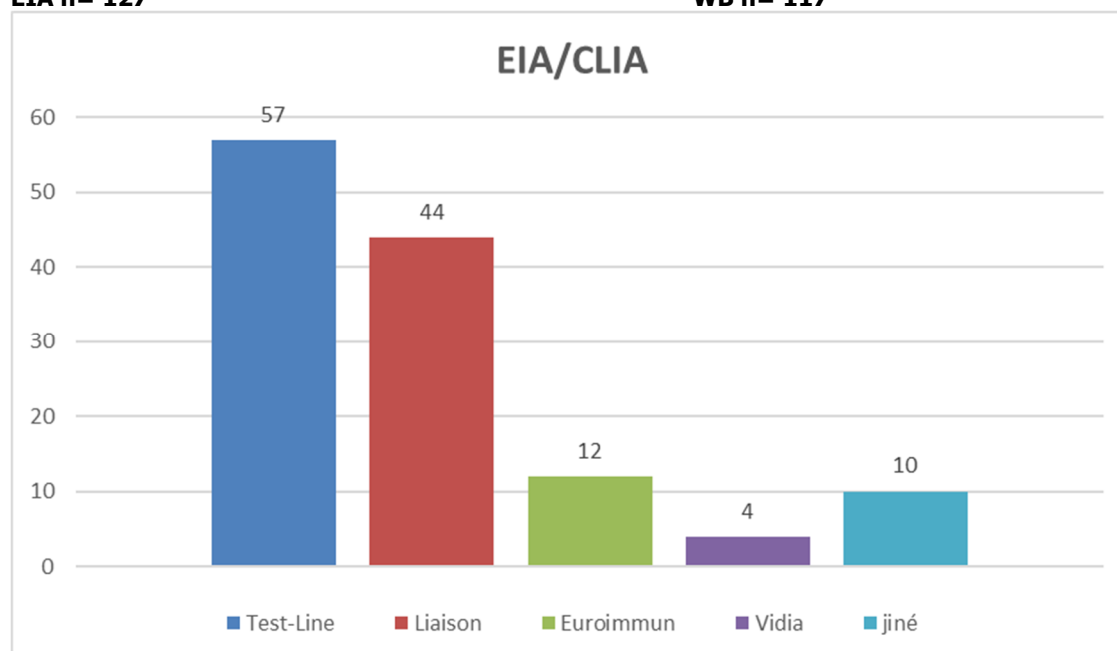
P=pozitivní, N=negativní

Nejčastěji používané diagnostické testy

Metoda Elisa/Clia IgM + IgG		Metoda WB/Immunoblot IgM + IgG	
Název	Počet uživatelů	Název	Počet uživatelů
Test - Line	57 (44,9 %)	Test - Line	54 (46,2%)
Liaison, Diasorin	44 (34,7 %)	Euroimmun	39 (33,3 %)
Euroimmun	12 (9,5 %)	Vidia	8 (6,8 %)
Vidia	4 (3,2 %)	Virotech	4 (3,4 %)
jiná (Aeskulisa, Biomerieux, Enzygnost, Vidas, Siemens a další)	10 (7,9%)	Mikrogen	3 (2,6 %)
		Viramed	3 (2,6 %)
		jiná	6 (5,1 %)

EIA n= 127

WB n= 117



6. Závěr

Série EHK 1181 se zúčastnilo 128 laboratoří. Hranice úspěšnosti byla stanovena na 22 bodů. Průměrný počet bodů byl 23,9. **Úspěšně** zpracovalo vzorky **99,2 %** laboratoří, z toho **94,5 %** identifikovalo vzorky **bezchybně**. V této sérii **neuspěla** 1 laboratoř, tedy **0,8 %** z celkového počtu zúčastněných.

	Počet bodů	Počet laboratoří	%
	24	121	94,5 %
	23	5	3,9 %
	22	1	0,8 %
	16	1	0,8 %
Uspělo		127	99,2 %
Neuspělo		1	0,8 %

Celkové hodnocení 128 laboratoří v PT#M/9-1/2021 (EHK 1181)

Maximální počet dosažených bodů: 24

LIMIT 22 bodů

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.

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



KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY