



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/9-2/2021 (EHK 1215)
Sérologie lymeské borreliózy

Praha, listopad 2021

Obsah

1.	Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2.	Způsob přípravy vzorků	4
3.	Charakteristika materiálu	4
4.	Způsob hodnocení	5
5.	Vyhodnocení	6-8
6.	Závěr série EHK 1215	9
7.	Celkové roční hodnocení laboratoří za rok 2021	10
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/9-2/2021 byl zaměřen na sérologii lymeské borreliózy. Návrh a realizace PT#M/9-2/2021 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 a autorizoval:

RNDr. K. Kybicová, Ph.D., NRL pro lymeskou borreliózu, SZÚ Praha
Tel: 267 082 105

Dne: 25. 11. 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 - 2/2021

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1215
Název:	Sérologie lymeské borreliózy
Koordinátor:	RNDr. Kateřina Kybicová, Ph.D.
Charakteristika materiálu:	krevní sérum, plasma, viz kapitola 3
Podstata a účel PT:	Průkaz IgM a IgG protilátek proti <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l., interpretace výsledků sérologických testů Požadavky na laboratoře: zajištění správné laboratorní praxe
Kritéria pro účast na PT:	Vyšetření všech 4 vzorků požadovanými metodami, vyplnění elektronického výsledkového formuláře, zajištění správné laboratorní praxe
Způsob přípravy:	viz kapitola 2
Množství připravovaného testovaného materiálu:	127 laboratoří + 12 laboratoří (dvojitě vzorky) + 5 vzorků navíc pro vyšetření IgM a IgG protilátek proti <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l. v množství 0,3ml (celkem 144x).
Označení vzorkovnic:	EHK 1215, PT#M/9-1, č.1 – č.4, 23 .9. 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 ProClinTM ve výsledné koncentraci 0,0095%
Test homogenity a stability:	Homogenita a stabilita všech čtyř vzorků je testována ve třech testováních (před a po rozplnění a po uzavření kola), testování 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:	127
Termín distribuce:	29. 9. 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 celkového hodnocení IgM a IgG – zařazení do kategorie negativní/hraniční/pozitivní a výběr adekvátní celkové interpretace vzorku ze tří možností, detailní hodnocení, viz kap.4
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neprovádí se
Určení přijaté vztahné hodnoty:	Výsledky získané v NRL všemi nejvíce používanými metodami v ČR
Termín zveřejnění očekávaných výsledků:	22.10.2021
Termín zveřejnění závěrečné zprávy:	Do 12.1.2021

2. Způsob přípravy vzorků

Výběr vzorků byl uskutečněn 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.

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

Vzorek B pochází od pacienta s potvrzenou lymeskou boreliózou. Jednalo se pacienta s erythema migrans (časné lokalizované stádium). Pozitivita protilátek ve třídě IgM byla potvrzena Immunoblotem v několika antigenech, nejčastěji OspC/p25, p39, p17/DbpA 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 p17/DbpA, OspC/p25, VlsE. Výsledky testu Immunoblot odpovídají časné fázi imunitní odpovědi na borreliovou infekci.

Vzorek C pochází od pacienta s potvrzenou lymeskou boreliózou, lymeskou artritidou (pozdní stádium). Obsahuje IgG protilátky proti *Borrelia burgdorferi* sensu lato. U tohoto vzorku byla pozitivita protilátek ve třídě IgG byla potvrzena Immunoblotem v několika antigenech, nejčastěji VlsE, p39/BmpA, p83/p100, p31/OspA, p58, p17/DbpA a p19/OspE. IgM protilátky nebyly detekovány.

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	N	N	0	6
		WB	N			
	IgG	EIA	N	N		
		WB	N			
B	IgM	EIA	P	P	1	6
		WB	P			
	IgG	EIA	P, H, N	P, H, N		
		WB	P, H, N			
C	IgM	EIA	N	N	2	6
		WB	N			
	IgG	EIA	P	P		
		WB	P			
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

4. 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 127 protokolů, které se do NRL/LB navrátily ke dni 20.10. 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%	0%	0%
3	0%	0%	0%	0%
4	0%	0%	0%	0%
5	0%	0,8% (1)	2,7% (3)	0%
6	100% (127)	99,2% (127)	97,6% (127)	100% (127)

IgM EIA

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

CELKEM testovalo: 126 126 126 126

IgM WB

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční				
Negativní	108 (100%)		108 (100%)	107 (100%)
Pozitivní		116 (100%)		

CELKEM testovalo: 108 116 108 107

IgG EIA

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční		10 (8%)		
Negativní	126 (100%)	108 (86,4%)		125 (100%)
Pozitivní		7 (5,6%)	126 (100%)	

CELKEM testovalo: 126 125 126 125

IgG WB

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční		4 (3,7%)	2 (1,7%)	2 (1,9%)
Negativní	108 (100%)	76 (69,7%)		104 (98,1%)
Pozitivní		29 (26,6%)	115 (98,3%)	

CELKEM testovalo: 108 109 117 106

Celkové hodnocení IgM

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

CELKEM testovalo: 127 127 127 127

Celkové hodnocení IgG

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční		8 (6,3%)	1 (0,8%)	
Negativní	127 (100%)	92 (72,4%)		127 (100%)
Pozitivní		27 (21,3%)	126 (99,2%)	

CELKEM testovalo: 127 127 127 127

Celková interpretace

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

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		82	115			84		82
FlaB/p41	2	75	10	72		77		78
BmpA/p39		81	11	78		82		80
DbpA/p17		38	2	37		39		38
VlsE		71	2	74		72		71
p83/p100		58	1	60		59	1	57
OspB/p34		5		5		7		5
OspA/p31		20	2	18		21		20
OppA/p58		8	1	7		9		7
OspE/p19		17		16		18		16
NapA		5		4		5		5
p21		14		13	1	14		14
p30		14		13		14		14

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		79	18	69	115			81
p83/p100	3	78	3	79	108	6		82
FlaB/p41	20	51	19	50	53	25	23	49
BmpA/p39		82	4	76	107	7		81
OspA/p31	1	62	10	55	19	50		62
OspC/p25		74	48	39	88	10	2	73
DbpA/p17		61	17	50	35	37	13	51
OspB/p34		40		40	1	40		40
OppA/p58		62	3	60	39	32		63
NapA		41		41		41		41
OspE/p19		34	4	29	18	20		32
p21		37	9	28	31	16		37
p30		18	7	12	13	6	1	16

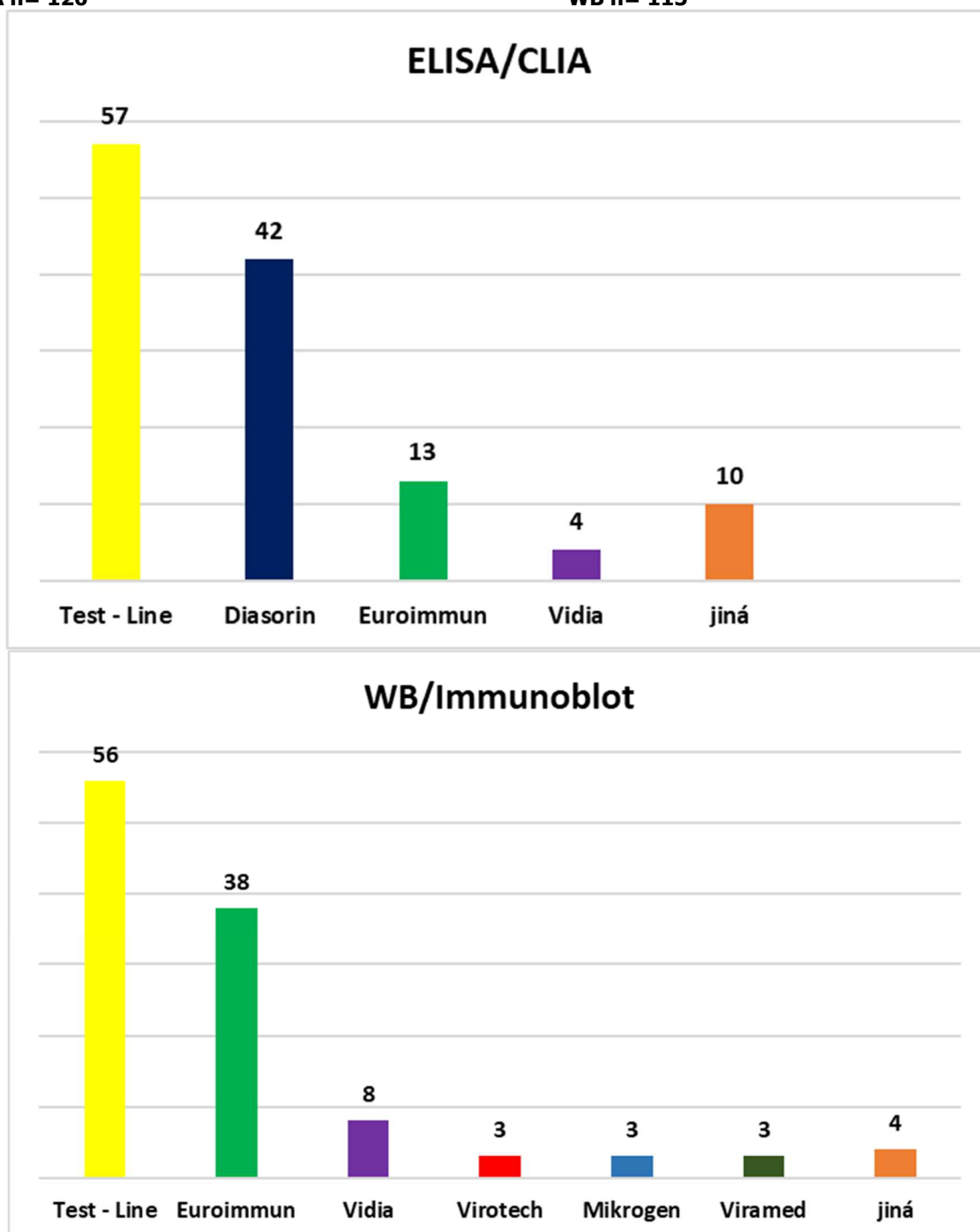
P=pozitivní, N=negativní

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	56 (48,7%)
Liaison, Diasorin	42 (33,3 %)	Euroimmun	38 (33,0 %)
Euroimmun	13 (10,3 %)	Vidia	8 (7,0 %)
Vidia	4 (3,2 %)	Virotech	3 (2,6 %)
jiná (Aeskulisa, Biomerieux, Enzygnost, Vidas, Siemens a další)	10 (7,9%)	Mikrogen	3 (2,6 %)
		Viramed	3 (2,6 %)
		jiná	4 (3,5 %)

EIA n = 126

WB n = 115



6. Závěr série EHK 1215

Série EHK 1215 se zúčastnilo 127 laboratoří. Hranice úspěšnosti byla stanovena na 22 bodů. **Úspěšně** zpracovalo vzorky **100 %** laboratoří, z toho **97,6 %** identifikovalo vzorky **bezchybně**. V této sérii **uspěly všechny laboratoře**.

	Počet bodů	Počet laboratoří	%
	24	124	97,6 %
	23	2	1,6 %
	22	1	0,8 %
Uspělo		127	100 %
Neuspělo		0	0

Celkové hodnocení 127 laboratoří v PT#M/9-2/2021 (EHK 1215)

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.



7. Celkové roční hodnocení laboratoří za rok 2021

	Počet bodů	Počet laboratoří	%
	48	117	92,1 %
	47	7	5,5 %
	46	2	1,6 %
	40	1	0,8 %
Uspělo		126	99,2 %
Neuspělo		1	0,8 %

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

Úspěšně absolvovalo obě série v roce 2021 celkem 126 laboratoří (99,2 %), 92,1 % identifikovalo vzorky bezchybně. Pouze jedna laboratoř, která neuspěla v první sérii 2021, nezískala dostatečný bodový limit pro získání certifikátu o úspěšné účasti.

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.

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY