



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/9-2/2022 (EHK 1291)
Sérologie lymeské borreliózy

Praha, listopad 2022

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
6.	Závěr série EHK 1257	9
7.	Celkové roční hodnocení laboratoří za rok 2022	10
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/9-2/2022 byl zaměřen na sérologii lymeské borreliózy. Návrh a realizace PT#M/9-2/2022 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 ve webové aplikaci SZÚ v odkazu: <https://ehk.szu.cz/EHK10/> po přihlášení kódem laboratoře a heslem.

Zprávu vypracoval:

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

Zprávu autorizoval:

RNDr. K. Kybicová, Ph.D., NRL pro lymeskou borreliózu, SZÚ Praha

Dne: 21. 11. 2022

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 - 2/2022

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1291
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:	128 laboratoří + 13 laboratoří (dvojitě vzorky) + 5 vzorků navíc pro vyšetření IgM a IgG protilátek proti <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l. v množství 0,3ml (celkem 146x).
Označení vzorkovnic:	EHK 1291, PT#M/9-2, č.1 – č.4, 27. 9. 2022
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 rozmrazení ProClin TM 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), 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:	128
Termín distribuce:	27. 9. 2022
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 vztažné hodnoty:	Výsledky získané v NRL všemi nejvíce používanými metodami v ČR
Termín zveřejnění očekávaných výsledků:	20. 10. 2022
Termín zveřejnění závěrečné zprávy:	Do 10. 1. 2023

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 B a C jsou séra od zdravých krevních dárců bez známek proběhlé či probíhající lymeské borreliózy a neobsahují protilátky proti *B. burgdorferi* s.l. Vzorky A a D pocházejí od pacientů s potvrzenou lymeskou boreliózou. V případě vzorku A se jednalo o léčený Erythema migrans, pacient byl odebrán krátce po léčbě. Vzorek A obsahuje IgM protilátky proti *B. burgdorferi* s.l. a již se začínají tvořit i IgG protilátky, které jsou však prokazatelné pouze některými sérologickými testy. U toho vzorku byla pozitivita protilátek ve třídě IgM potvrzena Immunoblotem v několika antigenech, nejčastěji OspC/p25 a p41/FlaB a pozitivita protilátek ve třídě IgG byla některými Immunobloty potvrzena v těchto antigenech: VlsE, p41/FlaB, OspC/p25 a p17/DbpA. V případě vzorku D se jednalo o léčenou LB s nespecifickými symptomy, pacient byl odebrán po léčbě. Vzorek D obsahuje především IgG protilátky proti *B. burgdorferi* s.l., ale stále přetrvává i pozitivita IgM protilátek, které jsou některými sérologickými testy detekované jako hraniční. U toho vzorku byla pozitivita protilátek ve třídě IgG potvrzena Immunoblotem v několika antigenech, nejčastěji VlsE, p39/BmpA, p41/FlaB p83/p100, p31/OspA, OspC/p25 a p17/DbpA a pozitivita protilátek ve třídě IgM byla potvrzena Immunoblotem v těchto antigenech: OspC/p25, VlsE a p41/FlaB.

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

Vysvětlivky: Kvalitativní výsledky sérologických testů: N = negativní, H = hraniční, P = pozitivní
Vzorky byly individuálně kódované, takže vzorek A nemusí odpovídat vzorku č. 1 na štítku zkumavky.

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.

Homogenita a stabilita

Homogenita vzorků byla testována v prvním měření před rozesláním vzorků laboratořím a to ve třech paralelních měřeních. Výsledky všech měření si odpovídali.

Stabilita v čase byla testována současně s distribucí vzorků a poté v průběhu a ke konci doby, po kterou mohou účastníci programu testovat rozeslané vzorky. Výsledky všech tří testování se shodovaly.

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 18. 10. 2022. 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%	0,8% (1)	0%	0,8% (1)
5	0%	0%	0%	15,6% (20)
6	100% (128)	99,2% (127)	100% (128)	83,6% (107)

IgM EIA

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční				20 (15,8%)
Negativní		127 (100%)	127 (100%)	34 (26,8%)
Pozitivní	127 (100%)			73 (57,5%)

CELKEM testovalo: 127 127 127 127

IgM WB

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční				8 (7%)
Negativní		105 (100%)	105 (100%)	9 (7,9%)
Pozitivní	114 (100%)			97 (85,1%)

CELKEM testovalo: 114 105 105 114

IgG EIA

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční	61 (48,4%)			1 (0,8%)
Negativní	42 (33,3%)	127 (100%)	127 (100%)	
Pozitivní	23 (18,3%)			126 (99,2%)

CELKEM testovalo: 126 127 127 127

IgG WB

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční	13 (11,7%)			14 (12,2%)
Negativní	40 (36%)	104 (99,1%)	105 (100%)	
Pozitivní	58 (52,3%)	1 (1%)		101 (87,8%)

CELKEM testovalo: 111 105 105 115

Celkové hodnocení IgM

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční				15 (11,7%)
Negativní		128 (100%)	128 (100%)	14 (11%)
Pozitivní	128 (100%)			99 (77,3%)

CELKEM testovalo: 128 128 128 128

Celkové hodnocení IgG

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční	23 (18%)			8 (6,3%)
Negativní	51 (39,8%)	127 (99,2%)	128 (100%)	
Pozitivní	54 (42,2%)	1 (0,8%)		120 (93,8%)

CELKEM testovalo: 128 128 128 128

Celková interpretace

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
0		127 (99,2%)	128 (100%)	
1	128 (100%)			107 (83,6%)
2		1 (0,8%)		21 (16,4%)

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	113			76		76	103	7
FlaB/p41	25	57	1	70	1	70	27	54
BmpA/p39	4	77		75		74	3	78
DbpA/p17		37		36		37	2	36
VlsE	1	74		72		71	5	73
p83/p100		59		56		56		58
OspB/p34		10		11		11		10
OspA/p31		26		24		24		24
OppA/p58		11		12		12		11
OspE/p19		22		21		21		21
NapA		9		10		10		9
p21		13		12		12		12
p30		12		12		12		12

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	53	38		75		76		1
p83/p100	3	75		75		75	54	39
FlaB/p41	29	43	20	46	21	45	32	41
BmpA/p39		78		75		76	54	43
OspA/p31	4	60	8	52	9	51	4	60
OspC/p25	84	9		71		71	65	26
DbpA/p17	3	59		59		59	27	44
OspB/p34	1	41		41		40	1	37
OppA/p58	3	57	1	57		58	22	42
NapA		39		39		39		38
OspE/p19	1	36		34		35	10	27
p21	4	30	1	30		30	15	21
p30	8	8	2	13	1	14	13	3

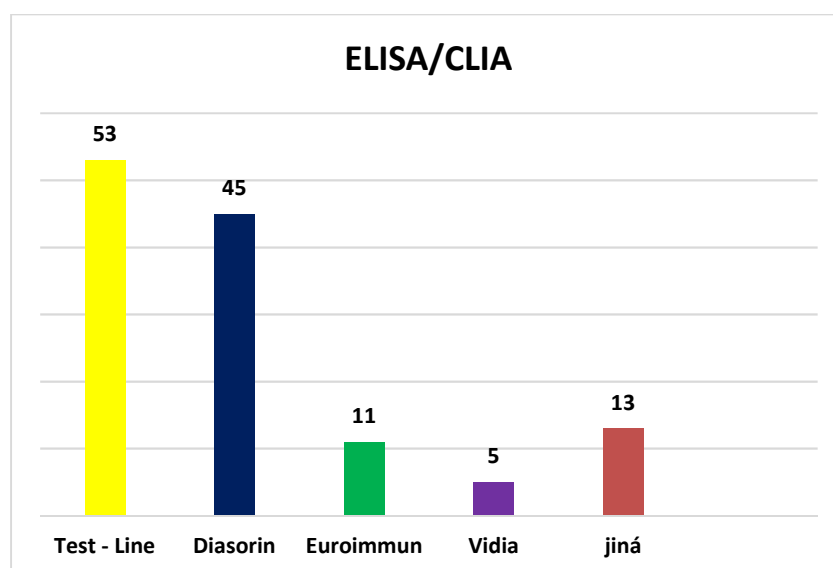
P=pozitivní, N=negativní

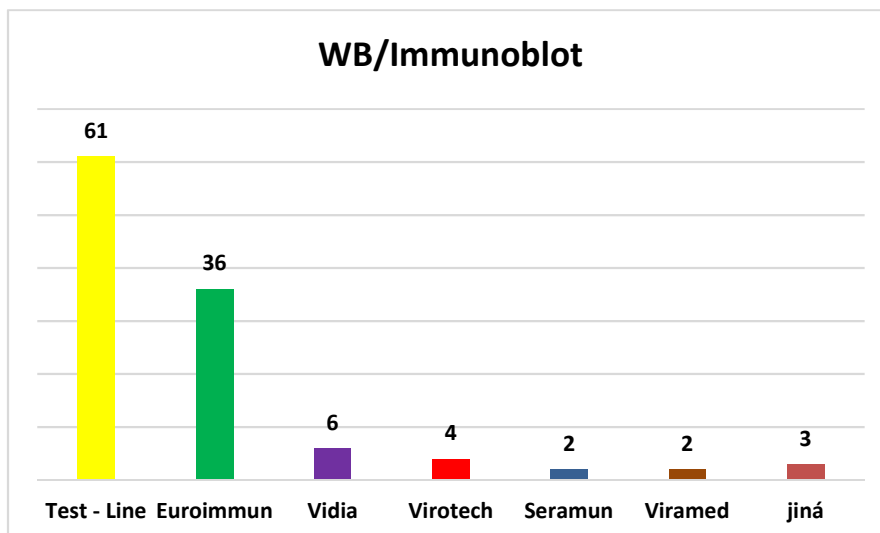
Nejčastěji používané diagnostické testy

Metoda Elisa/Clia IgM + IgG		Metoda WB/Immunoblot IgM + IgG	
Název	Počet uživatelů	Název	Počet uživatelů
Test - Line	53 (41,7%)	Test - Line	61 (53,5%)
Liaison, Diasorin	45 (35,4%)	Euroimmun	36 (31,6%)
Euroimmun	11 (8,7%)	Vidia	6 (5,3%)
Vidia	5 (3,9%)	Virotech	4 (1,8%)
jiná (Aeskulisa, Biomerieux, Biomedica, Virotech a další)	13 (8%)	Seramun	2 (1,8%)
		Viramed	2 (1,8%)
		jiná	3 (2,6%)

EIA n= 127

WB n= 114





6. Závěr série EHK 1291

Série EHK 1291 se zúčastnilo 128 laboratoří. Hranice úspěšnosti byla stanovena na 22 bodů. **Úspěšně** zpracovaly vzorky **všechny** laboratoře, z toho **82,8 % (tj. 106)** identifikovalo vzorky **bezchybně**. V této sérii **uspěly všechny laboratoře**.

	Počet bodů	Počet laboratoří	%
	24	106	82,8 %
	23	20	15,6 %
	22	2	1,6 %
Uspělo		128	100 %
Neuspělo		0	0

Celkové hodnocení 128 laboratoří v PT#M/9-2/2022 (EHK 1291)

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 reklamaci vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamacie použijte webovou aplikaci SZÚ (viz informace o změnách v objednávání opravných sérií a zadávání reklamaci na webových stránkách SZÚ: <http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>).

Poznámka:

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

7. Celkové roční hodnocení laboratoří za rok 2022

	Počet bodů	Počet laboratoří	%
	48	104	82,5 %
	47	19	15,1 %
	46	3	2,4 %
Uspělo		126	100 %

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

Úspěšně absolvovalo obě série v roce 2022 celkem 126 laboratoří (100 %), 82,5 % identifikovalo vzorky bezchybně.

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY