
EHK – 1036 Sérologie lymeské borreliózy

Kateřina Kybicová

PŘÍPRAVA VZORKU

Letošního kola EHK (2/2018 – 1036) se zúčastnilo 125 laboratoř. Série obsahovala 5 vzorků 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 %.

HODNOCENÍ

Konečné hodnocení bylo provedeno u 125 protokolů, které se do NRL/LB navrátily ke dni 16. 10. 2018.

Tabulky uvádějí výsledky laboratoř a jejich hodnocení.

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 30 bodů. Sečtením bodů udělených účastníkovi za obě série vyšetřené v jednom kalendářním roce se stanoví celoroční součet.

Tabulka 1: 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 Výsledek nesvědčí pro borreliovou infekci.
- 1 Výsledek svědčí pro borreliovou infekci v časně fázi.

- 2 Výsledek svědčí pro probíhající borreliovou infekci.
- 3 Výsledek svědčí pro borreliovou infekci v pozdní fázi nebo se jedná o přetrvávající protilátky IgG.

Jestliže laboratoř uvede u vzorku správné číslo komentáře, obdrží 2 body.

Pokud je správným komentářem komentář 0, laboratoř, která uvedla některý z komentářů 1–3, obdrží 0 bodů.

Pokud je správným komentářem komentář 1 a laboratoř zvolí komentář 0, dostane -2 body, pokud uvede komentář 2, obdrží 1 bod a pokud uvede komentář 3, obdrží 0 bodů.

Pokud je správným komentářem komentář 2 a laboratoř zvolí komentář 0, dostane -2 body, pokud uvede komentář 1 nebo 3, obdrží 1 bod.

Pokud je správným komentářem komentář 3 a laboratoř zvolí komentář 0, dostane -2 body, pokud uvede komentář 2, obdrží 1 bod a pokud uvede komentář 1, obdrží 0 bodů.

(Tabulka 2–8)

Tabulka 2: Výsledky vyšetřovaných vzorků

Č. vzorku	Protilátky třídy	Metoda	Hodnocení pozitivní / hraniční / negativní	Celkové hodnocení	Celková interpretace	Max.počet bodů
A	IgM	EIA	negativní	negativní	0	6
		WB	negativní			
	IgG	EIA	negativní	negativní		
		WB	negativní			
B	IgM	EIA	negativní	negativní	3	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	0	6
		WB	negativní			
	IgG	EIA	negativní	negativní		
		WB	negativní			
E	IgM	EIA	negativní	negativní	0	6
		WB	negativní			
	IgG	EIA	negativní	negativní		
		WB	negativní			

Tabulka 3: Hodnocení podle počtu bodů za jednotlivé vzorky

Počet bodů	vzorek A	vzorek B	vzorek C	vzorek D	vzorek E
-2	0%	0%	0%	0%	0%
0	0%	0%	0%	0%	0%
1	0,8%	0%	0%	0%	0%
2	0,8%	0%	0,8%	0,8%	2,4%
3	0,8%	0,8%	0%	0%	0%
4	0%	0%	0%	0%	0%
5	0%	1,6%	0%	0,8%	0,8%
6	97,6%	97,6%	99,2%	98,4%	96,8%

Tabulka 4: Hodnocení podle správnosti výsledků

IgM EIA					
Hodnocení	vzorek A	vzorek B	vzorek C	vzorek D	vzorek E
hraniční	1 (0,8%)	1 (0,8%)			
negativní	123 (99,2%)	122 (98,4%)	124 (100%)	124 (100%)	124 (100%)
pozitivní		1 (0,8%)			
CELKEM testovalo	124	124	124	124	124

IgM WB					
Hodnocení	vzorek A	vzorek B	vzorek C	vzorek D	vzorek E
hraniční	2 (1,9%)				
negativní	102 (97,2%)	107 (99,1%)	106 (100%)	106 (100%)	106 (100%)
pozitivní	1 (0,9%)	1 (0,9%)			
CELKEM testovalo	105	108	106	106	106

IgG EIA					
Hodnocení	vzorek A	vzorek B	vzorek C	vzorek D	vzorek E
hraniční					
negativní	124 (100%)		124 (100%)	124 (100%)	124 (100%)
pozitivní		124 (100%)			
CELKEM testovalo	124	124	124	124	124

IgG WB					
Hodnocení	vzorek A	vzorek B	vzorek C	vzorek D	vzorek E
hraniční		1 (0,9%)		1 (0,9%)	1 (0,9%)
negativní	104 (99,1%)	1 (0,9%)	104 (99,1%)	102 (97,3%)	101 (96,4%)
pozitivní	1 (0,9%)	110 (98,2%)	1 (0,9%)	2 (1,8%)	3 (2,7%)
CELKEM testovalo	105	112	105	105	105

Celkové hodnocení IgM					
Hodnocení	vzorek A	vzorek B	vzorek C	vzorek D	vzorek E
hraniční	2 (1,6%)				
negativní	122 (97,6%)	124 (99,2%)	125 (100%)	125 (100%)	125 (100%)
pozitivní	1 (0,8%)	1 (0,8%)			
CELKEM testovalo	125	125	125	125	125

Celkové hodnocení IgG					
Hodnocení	vzorek A	vzorek B	vzorek C	vzorek D	vzorek E
hraniční				1 (0,8%)	1 (0,8%)
negativní	124 (99,2%)		124 (99,2%)	123 (98,4%)	121 (96,8%)
pozitivní	1 (0,8%)	125 (100%)	1 (0,8%)	1 (0,8%)	3 (2,4%)
CELKEM testovalo	125	125	125	125	125

Tabulka 5: Celková interpretace

Hodnocení	vzorek A	vzorek B	vzorek C	vzorek D	vzorek E
0	122 (97,6%)		124 (99,2%)	124 (99,2%)	122 (97,6%)
1	2 (1,6%)				
2	1 (0,8%)				
3		122 (97,6%)	1 (0,8%)	1 (0,8%)	3 (2,4%)
CELKEM testovalo	125	125	125	125	125

Tabulka 6: Výsledky nejčastěji vyšetřených antigenů IgM v metodě WB

IgM	vzorek A		vzorek B		vzorek C		vzorek D		vzorek E	
	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N
OspC/p25	2	3		4		4		4		4
FlaB/p41		3	1	4		4		4		4
BmpA/p39		3	1	4		4		4		4
DbpA/p17		1	1	1		1		1		1
VisE		3		4		4		4		4
p83/p100		1		2		2		2		2
OspA/p31		1		1		1		1		1
OspB/p34		1		1		1		1		1
OppA/p58		1		1		1		1		1
OspE/p19		1		1		1		1		1
NapA		1		1		1		1		1
p21		1		1		1		1		1
p30		1		1		1		1		1

P = pozitivní, N = negativní

Tabulka 7: Výsledky nejčastěji vyšetřených antigenů IgG v metodě WB

IgG	vzorek A		vzorek B		vzorek C		vzorek D		vzorek E	
	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N
VisE	1	4	111			4	1	4	1	4
p83/p100		4	92		1	4		4	1	4
FlaB/p41	19	2	82		20	2	21	2	21	2
BmpA/p39	1	4	69		1	4	1	4	1	4
OspA/p31	4	1	9	1	2	2	2	2	2	2
OspC/p25		3	43	1	2	4	3	4	3	3
DbpA/p17	1	2	26	1	1	2		2		2
OspB/p34		2	12			2		2		2
OppA/p58		1	25	3		4		4		4
NapA		1	1	1		2		2		2
OspE/p19		3	19	2		3		3		3
p21		3	13	3		3		3		3
p30		1	16			1		1		1

P = pozitivní, N = negativní

Tabulka 8: Nejčastěji používané diagnostické testy

Metoda Elisa / imunoanalýzátor IgM + IgG		Metoda WB IgM + IgG	
Název	Počet uživatelů	Název	Počet uživatelů
Test – Line	57 (46 %)	Test – Line	52 (45,6%)
Liaison, Diasorin	37 (29,8 %)	Euroimmun	38 (33,3 %)
Euroimmun	15 (12,1 %)	Vidia	8 (7 %)
Vidia	5 (4%)	Virotech	5 (4,4%)
		Mikrogen	3 (2,6 %)
Enzygnost	2 (1,6%)	Viramed	3 (2,6 %)
jiná	8 (6,5%)	jiná	5 (4,4 %)

EIA n = 124

WB n = 114

Závěr

Hranice úspěšnosti byla stanovena na 26 bodech. Průměrný počet bodů byl 29,7. **Úspěšně** zpracovalo vzorky **97,6 %** laboratoří, **93,6 %** laboratoří identifikovalo vzorky **bezchybně**. **Limit nesplňují 3 laboratoře (2,4 %)**.

Poznámky

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

Celkové hodnocení 125 laboratoří v PT#M/9-2/2018 (EHK 1036)			
	Počet bodů	Počet laboratoří	%
	30	117	93,6 %
	29	2	1,6 %
	27	1	0,8 %
	26	2	1,6 %
Úspělo		122	97,6 %
	24	1	0,8 %
	23	1	0,8 %
	17	1	0,8 %
Neúspělo		3	2,4 %

Maximální počet dosažených bodů: 30; LIMIT 26 bodů

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.

Tabulka 9: Celkové hodnocení 125 laboratoří za rok 2018

	Počet bodů	Počet laboratoří	%
	60	96	76,8
	59	8	6,4
	58	7	5,6
	57	7	5,6
	56	3	2,4
Uspělo		121	96,8 %
	54	1	0,8
	53	1	0,8
	52	1	0,8
	46	1	0,8
Neuspělo		4	3,2 %

Maximální počet dosažených bodů: 60; LIMIT 55 bodů.

Závěr:

Úspěšně zpracovalo vzorky **96,8 %** laboratoří, **76,8 %** identifikovalo vzorky **bezchybně**. **Limit opravňující k získání certifikátu o úspěšné účasti nesplňují 4 laboratoře.**

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.

Poznámky:

V letošním EHK Sérologie LB 2018 došlo díky vyplňování formulářů přes webové rozhraní (povinně vyplnitelná pole) k eliminaci administrativních chyb, tedy chybějícímu celkovému hodnocení IgM a IgG a celkové interpretaci vzorku. Také díky změně bodování při hodnocení výsledků došlo k odlišení drobných chyb od chyb hrubých, kdy je pozitivní vzorek určen jako negativní.

V druhém kole 2018 došlo u několika laboratoří k akumulaci drobných chyb, kdy byl určen negativní vzorek krevního dárce jako pozitivní. Většinou k těmto chybám docházelo díky pozitivním výsledkům z Western blotů, u většiny laboratoří vyšel vyhledávací test (enzymová imunoanalýza či chemiluminiscence) negativní. Tyto laboratoře by měli zkontrolovat způsob provedení a vyhodnocování testu WB. Rovněž v několika případech došlo ke zvolení nesprávné celkové interpretace vzorku, ačkoli měli všechna hodnocení protilátek správná. V příštím roce plánujeme upravení možností celkové interpretace, aby již nedocházelo k nedorozuměním v celkové interpretaci vzorků.

*MUDr. Kateřina Kybicová, Ph.D.
NRL pro lymeskou borreliózu*