



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/9-1/2023 (EHK 1333)
Sérologie lymeské borreliózy

Praha, červen 2023

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 cyklu EHK 1333	9
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/9-1/2023 byl zaměřen na sérologii lymeské borreliózy. Návrh a realizace PT#M/9-1/2023 byly prováděny podle standardního operačního postupu koordinátora programu 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: 6. 6. 2023

Pracoviště 2 ESPT

<https://szu.cz/sluzby/zkouseni-zpusobilosti/zkouseni-zpusobilosti-pro-lekarskou-mikrobiologii/>

e-mail: ehk@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/9 - 1/2023

Identifikace cyklu:	EHK 1333
Název:	Sérologie lymeské borreliózy
Koordinátor:	RNDr. Kateřina Kybicová, Ph.D.
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
Charakteristika materiálu:	krevní sérum, plasma, viz kapitola 3 závěrečné zprávy
Hodnocené ukazatele:	celkové hodnocení IgM a IgG, celková interpretace vzorku
Způsob přípravy:	viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Počet účastníků:	130
Termín distribuce:	28. 2. 2023
Informace účastníkům	Viz informace zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky:	21. 3. 2023
Označení vzorkovnic:	EHK 1333, PT#M/9-1, č. 1 – č. 4, 28. 2. 2023
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 všech čtyř vzorků je testována ve třech testováních (před a po rozplnění a po uzavření cyklu), testováním musí být dosaženo stejných výsledků v čase
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor
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 závěrečné zprávy
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Výsledky získané v NRL všemi nejvíce používanými metodami v ČR
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neprovádí se
Termín zveřejnění očekávaných výsledků:	28. 3. 2023
Termín zveřejnění závěrečné zprávy:	Do 13. 6. 2023

2. Způsob přípravy vzorků

2.1 Postup přípravy výchozího materiálu

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.

2.2 Zabezpečení kvality výchozího materiálu, homogenita a stabilita

Pro zajištění stability byl do výchozího materiálu přidán po rozmražení ProClin 950 s antibakteriálními účinky v koncentraci 0,05-0,1%.

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

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.

2.3 Rozplnění výchozího materiálu

Vzorky byly rozplněny v objemu 300μl do označených zkumavek. Distribuovány byly v předepsaném obalu a při teplotě 2-8°C.

3. Charakteristika materiálu

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

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

Vzorek D 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.

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	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	P	1	6
		WB	P, H, N			
	IgG	EIA	P	P, H, N		
		WB	P, H, N			

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 jeden cyklus EHK je celkový maximální počet 24 bodů. Sečtením bodů udělených účastníkovi za oba cykly 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
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 130 protokolů, které se do NRL/LB navrátily ke dni 21. 3. 2023. 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%	0,8% (1)	0%
5	0%	0,8% (1)	0%	0%
6	100% (130)	99,2% (129)	99,2% (129)	100% (130)

IgM EIA

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční			1 (0,8%)	
Negativní	129 (100%)	129 (100%)	128 (99,2%)	
Pozitivní				129 (100%)

CELKEM testovalo: 129 129 129 129

IgM WB

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční				
Negativní	108 (100%)	108 (100%)	108 (99,1%)	
Pozitivní			1 (0,9%)	116 (100%)

CELKEM testovalo: 108 108 109 116

IgG EIA

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční				5 (3,9%)
Negativní	129 (100%)	129 (100%)	129 (100%)	113 (87,6%)
Pozitivní				11 (8,5%)

CELKEM testovalo: 129 129 129 129

IgG WB

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční				5 (4,5%)
Negativní	107 (100%)	106 (99,1%)	109 (100%)	81 (73%)
Pozitivní		1 (0,9%)		25 (22,5%)

CELKEM testovalo: 107 107 109 111

Celkové hodnocení IgM

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční				
Negativní	130 (100%)	130 (100%)	129 (99,2%)	
Pozitivní			1 (0,8%)	130 (100%)

CELKEM testovalo: 130 130 130 130

Celkové hodnocení IgG

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční				5 (3,9%)
Negativní	130 (100%)	129 (99,2%)	130 (100%)	99 (76,2%)
Pozitivní		1 (0,8%)		26 (20%)

CELKEM testovalo: 130 130 130 130

Celková interpretace

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
0	130 (100%)	129 (99,2%)	129 (99,2%)	
1			1 (0,8%)	130 (100%)
2		1 (0,8%)		

CELKEM testovalo: 130 130 130 130

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	1	81	1	82	2	81	116	
FlaB/p41	1	73	1	75	2	74	11	72
BmpA/p39	1	80	1	81	1	81	5	82
DbpA/p17	1	38	1	38	1	39	2	40
VlsE	1	77	1	77	1	78	2	81
p83/p100	1	59	1	60	1	60	2	63
OspB/p34	1	13	1	13	1	12	2	13
OspA/p31	1	21	1	23	1	23	2	23
OppA/p58	1	17	1	16	1	16	1	17
OspE/p19	1	23	1	23	1	23	1	23
NapA	1	14	1	14	1	13	1	15
p21		10		10		10		10
p30		10		10		10		10

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	1	82	1	82	1	82	18	72
p83/p100	1	81	1	82	3	80	2	82
FlaB/p41	21	52	20	54	20	54	20	55
BmpA/p39	1	80	1	81	1	80	10	76
OspA/p31	8	54	11	53	1	62	12	55
OspC/p25	1	76	1	77	3	75	46	43
DbpA/p17	2	61	2	62	2	62	11	56
OspB/p34	1	44	1	43	1	44	1	44
OppA/p58	1	65	1	64	1	65	6	66
NapA	1	44	1	44	1	44	1	44
OspE/p19	1	39	1	39	1	39	7	34
p21	1	30	2	29		31	11	24
p30		12	1	11		12	8	3

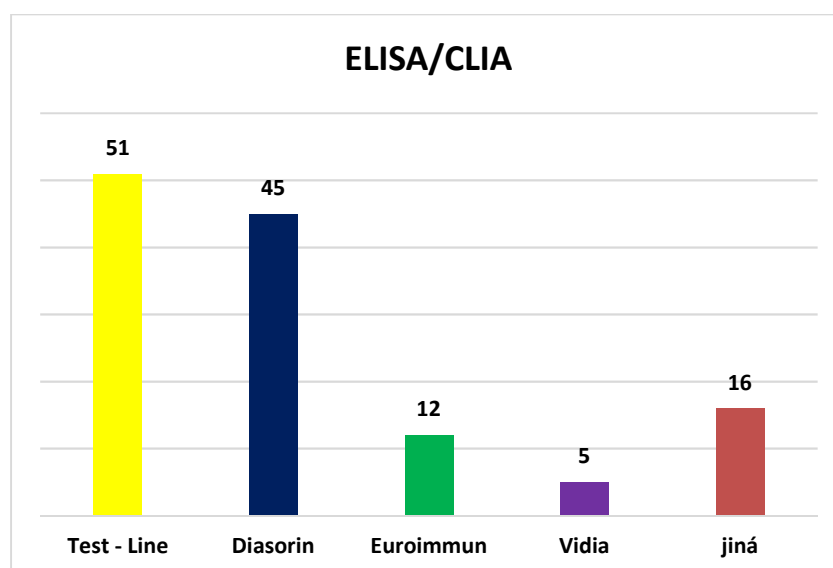
P=pozitivní, N=negativní

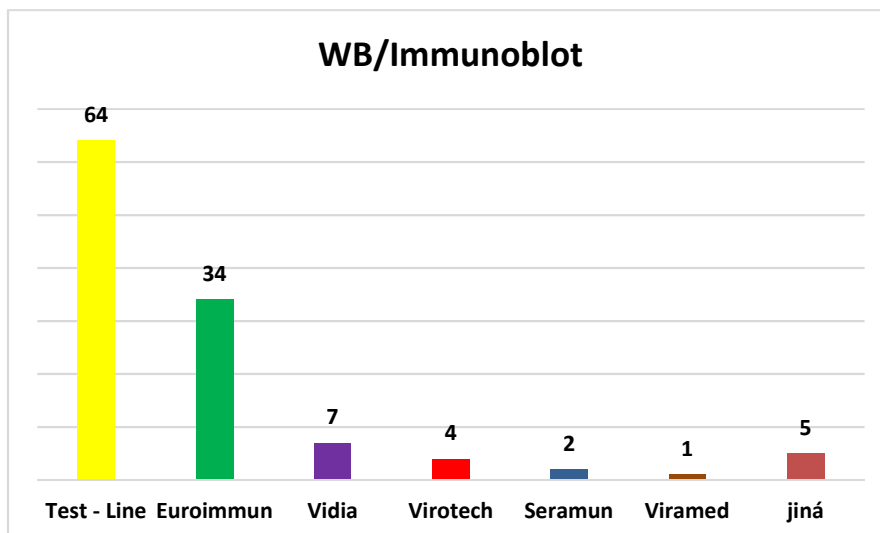
Nejčastěji používané diagnostické testy

Metoda Elisa/Clia IgM + IgG		Metoda WB/Immunoblot IgM + IgG	
Název	Počet uživatelů	Název	Počet uživatelů
Test - Line	51 (40%)	Test - Line	64 (54,7%)
Liaison, Diasorin	45 (34,9%)	Euroimmun	34 (29,1%)
Euroimmun	12 (9,3%)	Vidia	7 (6%)
Vidia	5 (3,9%)	Virotech	4 (3,4%)
jiná (Aeskulisa, Biomerieux, Virotech a další)	16 (12%)	Seramun	2 (1,7%)
		Viramed	1 (0,9%)
		jiná	5 (4,3%)

EIA n= 129

WB n= 117





6. Závěr EHK 1333

EHK 1333 se zúčastnilo 130 laboratoří. Výsledky zpět k vyhodnocení předaly všechny laboratoře. Hranice úspěšnosti byla stanovena na 22 bodů. **Úspěšně** zpracovaly vzorky **všechny** laboratoře, z toho **98,5 % (tj. 128)** identifikovalo vzorky **bezchybně**. V tomto cyklu **uspěly všechny laboratoře**.

	Počet bodů	Počet laboratoří	%
	24	128	98,5 %
	23	1	0,8 %
	22	1	0,8 %
Uspělo		130	100 %
Neuspělo		0	0

Celkové hodnocení 130 laboratoří v PT#M/9-1/2023 (EHK 1333)

Maximální počet dosažených bodů: 24

LIMIT 22 bodů

Hranici úspěšnosti pro jednotlivý cyklus EHK lymeské borreliózy je stanovena na 80% z možného celkového počtu bodů. Účastník úspěšně absolvuje cyklus EHK, pokud dosáhne bodového limitu.

V případě reklamací vyhodnocení cyklu, prosím, postupujte dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamace použijte také webovou aplikaci SZÚ.

Konec závěrečné zprávy