



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/9-1/2024 (EHK 1389)**  
**Sérologie lymeské borreliózy**

**Praha, květen 2024**

## 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 1389	10

Program zkoušení způsobilosti PT#M/9-1/2024 byl zaměřen na sérologii lymeské borreliózy. Návrh a realizace PT#M/9-1/2024 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:**

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:** 29. 5. 2024

### **Pracoviště 2 ESPT**

<https://szu.cz/sluzby/zkouseni-zpusobilosti/zkouseni-zpusobilosti-pro-lekarskou-mikrobiologii/>  
e-mail: [ehk@szu.cz](mailto:ehk@szu.cz)

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/9 - 1/2024**

Identifikace cyklu:	EHK 1389
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:	129
Termín distribuce:	27. 2. 2024
Informace účastníkům	Viz informace zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky:	19. 3. 2024
Označení vzorkovnic:	EHK 1389, PT#M/9-1, č. 1 – č. 3, 27. 2. 2024
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 <sup>TM</sup> 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 vztažené hodnoty:	Výsledky získané v NRL všemi nejvíce používanými metodami v ČR
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neprovádí se
Termín zveřejnění očekávaných výsledků:	26. 3. 2024
Termín zveřejnění závěrečné zprávy:	Do 11. 6. 2024

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

## 3. Charakteristika materiálu

Vzorek A je sérum od zdravého krevního dárce bez známek proběhlé či probíhající lymeské borreliózy. Vzorek A neobsahuje protilátky proti *Borrelia burgdorferi* sensu lato.

Vzorky B a C pocházejí od pacientů s potvrzenou lymeskou boreliózou.

V případě vzorku B se jednalo o léčený Erythema migrans, pacient byl odebrán krátce po léčbě. Vzorek B obsahuje IgM protilátky proti *Borrelia burgdorferi* sensu lato 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 (Ba, Bg, Bs, Bsp) a p41/FlaB a pozitivita protilátek ve třídě IgG byla některými Immunoblots potvrzena v těchto antigenech: VlsE (Ba, Bg, Bs), p41/FlaB, OspC/p25 a p17/DbpA.

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
<b>A</b>	IgM	EIA	N	<b>N</b>	<b>0</b>	6
		WB	N			
	IgG	EIA	N	<b>N</b>		
		WB	N			
<b>B</b>	IgM	EIA	P	<b>P</b>	<b>1</b>	6
		WB	P			
	IgG	EIA	P, H, N	<b>P, H, N</b>		
		WB	P, H, N			
<b>C</b>	IgM	EIA	N	<b>N</b>	<b>2</b>	6
		WB	N			
	IgG	EIA	P	<b>P, H</b>		
		WB	P, H			

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 18 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
IgM pozitivní	<b>2 body</b>	1 bod	0 bodů
IgG negativní	0 bodů	1 bod	<b>2 body</b>
IgG pozitivní	<b>2 body</b>	1 bod	0 bodů

**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 nebo 2, obdrží 0 bodů.

Pokud je správným komentářem komentář 1 a laboratoř zvolí komentář 2, nebo pokud je správným komentářem komentář 2 a laboratoř zvolí komentář 1, obdrží 0 bodů.

Pokud je správným komentářem komentář 1 nebo 2 a laboratoř zvolí komentář 0, jedná se o hrubou chybu – falešně negativní výsledek u vzorku pacienta s prokázanou borreliózou a tato laboratoř v dané sérii neuspěje.

## 5. Vyhodnocení

Konečné hodnocení bylo provedeno u 129 protokolů, které se do NRL/LB navrátily ke dni 19. 3. 2024. Tabulky uvádějí výsledky laboratoří a jejich hodnocení.

### Hodnocení podle počtu bodů za jednotlivé vzorky

počet bodů	vzorek A	vzorek B	vzorek C
0	0 %	0 %	0 %
1	0 %	0 %	0 %
2	0 %	0 %	0 %
3	0 %	0 %	0 %
4	0 %	0 %	0 %
5	0,8 % (1)	0 %	1,6 % (2)
6	<b>99,2 % (128)</b>	<b>100 % (129)</b>	<b>98,4 % (127)</b>

### IgM EIA

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

CELKEM testovalo: 129

129

129

### IgM WB

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C
Hraniční	1 (1 %)		
Negativní	104 (99 %)		107 (100 %)
Pozitivní		115 (100 %)	

CELKEM testovalo: 105

115

107

**IgG EIA**

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C
Hraniční		67 (51,9 %)	
Negativní	128 (100 %)	27 (20,9 %)	
Pozitivní		35 (27,1 %)	129 (100 %)

CELKEM testovalo: 128 129 129

**IgG WB**

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C
Hraniční		7 (6,2 %)	8 (7 %)
Negativní	105 (100 %)	28 (24,8 %)	
Pozitivní		78 (69 %)	106 (93 %)

CELKEM testovalo: 105 113 114

**Celkové hodnocení IgM**

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

CELKEM testovalo: 129 129 129

**Celkové hodnocení IgG**

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C
Hraniční		15 (11,6 %)	4 (3,1 %)
Negativní	129 (100 %)	35 (27,1 %)	
Pozitivní		79 (61,2 %)	125 (96,9 %)

CELKEM testovalo: 129 129 129

**Celková interpretace**

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C
0	129 (100 %)		
1		129 (100 %)	2 (1,6 %)
2			127 (98,4 %)

CELKEM testovalo: 129 129 129

**Výsledky nejčastěji vyšetřených antigenů IgM v metodě WB**

IgM	Vzorek A		Vzorek B		Vzorek C	
	P	N	P	N	P	N
OspC/p25	1	74	114	1		78
FlaB/p41		68	21	60		71
BmpA/p39		74	1	79		78
DbpA/p17		42		43		42
VlsE	1	69	3	73		73
p83/p100		54		57		55
OspB/p34		16	1	16		19
OspA/p31		27	2	28		29
OppA/p58		18		21		20
OspE/p19		24		25		26
NapA		16		18		17
p21		10		11		11
p30		10		11		11

P=pozitivní, N=negativní

**Výsledky nejčastěji vyšetřených antigenů IgG v metodě WB**

IgG	Vzorek A		Vzorek B		Vzorek C	
	P	N	P	N	P	N
VlsE		75	61	38	114	1
p83/p100		73	1	77	92	13
FlaB/p41	17	48	42	36	46	32
BmpA/p39	1	75	3	78	93	15
OspA/p31	3	59		62	21	46
OspC/p25		69	95	6	78	19
DbpA/p17		59	5	56	21	47
OspB/p34		41		42	1	42
OppA/p58	1	59	3	61	25	41
NapA	2	40	1	42	2	42
OspE/p19	1	37	1	40	10	29
p21	1	27	1	27	20	14
p30		12	5	8	8	5

P=pozitivní, N=negativní

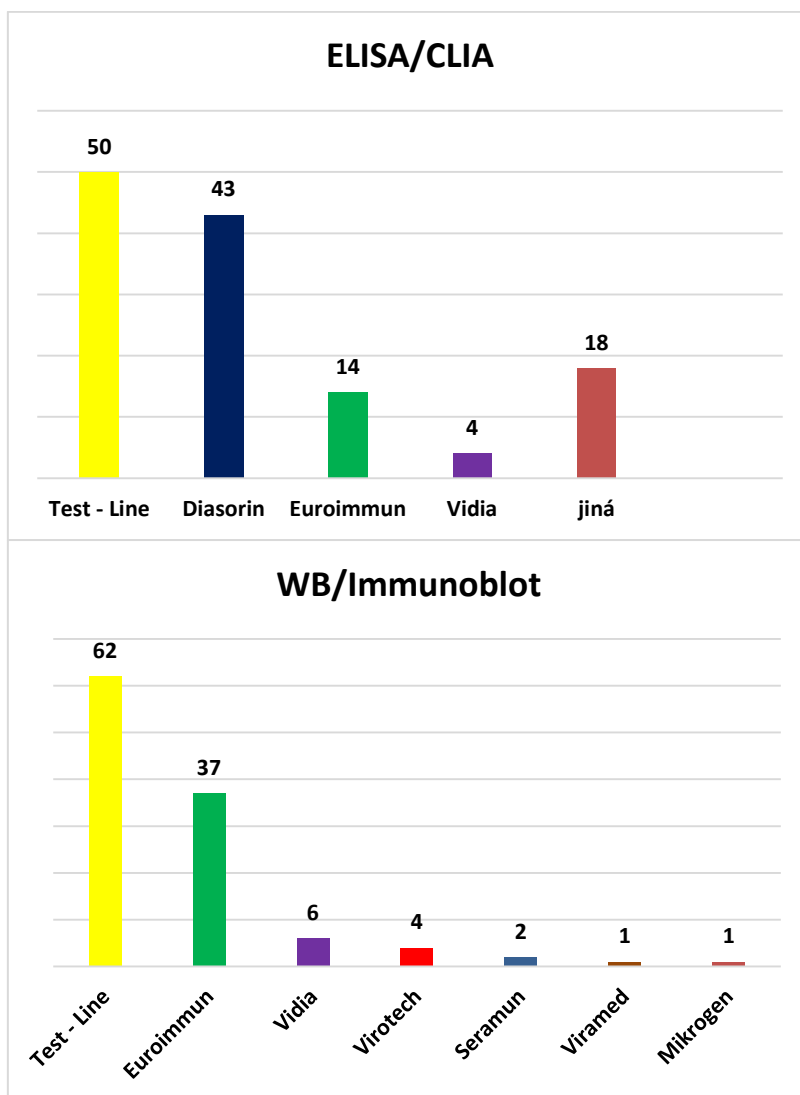


## Nejčastěji používané diagnostické testy

Metoda Elisa/Clia IgM + IgG		Metoda WB/Immunoblot IgM + IgG	
Název	Počet uživatelů	Název	Počet uživatelů
Test - Line	50 (38,8 %)	Test - Line	62 (53,9 %)
Liaison, Diasorin	43 (33,3 %)	Euroimmun	37 (32,2 %)
Euroimmun	14 (10,9 %)	Vidia	6 (5,2 %)
Vidia	4 (3,1 %)	Virotech	4 (3,5 %)
jiná (Aeskulisa, Biomerieux, Virotech a další)	18 (14 %)	Seramun	2 (1,7 %)
		Viramed, Mikrogen	1 (0,9 %)
		jiná	2 (1,7 %)

EIA n= 129

WB n= 115



## 6. Závěr série EHK 1389

Série EHK 1389 se zúčastnilo 129 laboratoří. Hranice úspěšnosti byla stanovena na 17 bodů. **Úspěšně** zpracovaly vzorky **všechny** laboratoře, z toho **97,7 % (tj. 126)** identifikovalo vzorky **bezchybně**. V této sérii **uspěly všechny laboratoře**.

	Počet bodů	Počet laboratoří	%
	18	126	97,7 %
	17	3	2,3 %
Uspělo		<b>129</b>	<b>100 %</b>
Neuspělo		<b>0</b>	<b>0</b>

### Celkové hodnocení 129 laboratoří v PT#M/9-1/2024 (EHK 1389)

**Maximální počet dosažených bodů: 18**

**LIMIT 17 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 SZU.

Body	Kód laboratoře
<b>18</b>	002, 005, 011, 013, 016, 018, 020, 023, 026, 028, 029, 031, 032, 033, 034, 035, 037, 039, 047, 051, 053, 055, 056, 058, 064, 065, 066, 068, 080, 088, 089, 115, 138, 156, 158, 181, 184, 192, 207, 211, 214, 215, 227, 228, 230, 241, 271, 283, 287, 290, 293, 294, 299, 312, 316, 324, 332, 333, 347, 350, 354, 357, 361, 362, 363, 365, 370, 373, 379, 388, 392, 396, 398, 406, 407, 439, 441, 448, 449, 456, 460, 465, 529, 545, 546, 550, 551, 552, 554, 560, 563, 566, 569, 595, 601, 612, 614, 625, 627, 630, 633, 637, 641, 645, 647, 672, 675, 702, 703, 714, 732, 737, 738, 743, 746, 755, 757, 760, 761, 763, 764, 766, 773, 786, 787, 792
<b>17</b>	339, 355, 399

Konec závěrečné zprávy