



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/9-1/2022 (EHK 1257)**  
**Sérologie lymeské borreliózy**

**Praha, květen 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
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/9-1/2022 byl zaměřen na sérologii lymeské borreliózy. Návrh a realizace PT#M/9-1/2022 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:** 31. 5. 2022

### **Pracoviště 2 ESPT**

<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>)

e-mail: [ehk@szu.cz](mailto:ehk@szu.cz)

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/9 - 1/2022**

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1257
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:	126 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 144x).
Označení vzorkovnic:	EHK 1257, PT#M/9-1, č.1 – č.4, 1. 3. 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 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 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:	126
Termín distribuce:	1. 3. 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 vztahné hodnoty:	Výsledky získané v NRL všemi nejvíce používanými metodami v ČR
Termín zveřejnění očekávaných výsledků:	24. 3. 2022
Termín zveřejnění závěrečné zprávy:	Do 14. 6. 2022

## 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 B jsou séra od zdravých krevních dárců bez známek proběhlé či probíhající lymeské borreliózy. Vzorky A a B neobsahují protilátky proti *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Vzorky B a C pocházejí od pacientů s potvrzenou lymeskou boreliózou. Oba obsahují IgG protilátky proti *Borrelia burgdorferi* sensu lato. U těchto dvou vzorků byla pozitivita protilátek ve třídě IgG byla potvrzena Immunoblotem v několika antigenech, nejčastěji VlsE, p39/BmpA, p41/FlaB 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	N	N	0	6
		WB	N			
	IgG	EIA	N	N		
		WB	N			
C	IgM	EIA	N	N	2	6
		WB	N			
	IgG	EIA	P	P, H		
		WB	P, H			
D	IgM	EIA	N	N	2	6
		WB	N			
	IgG	EIA	P	P, H		
		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 24 bodů. Sečtením bodů udělených účastníkovi za obě série vyšetřené v jednom kalendářním roce se stanoví celoroční součet.

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	<b>2 body</b>
IgM pozitivní	<b>2 body</b>	1 bod	- 2 body
IgG negativní	0 bodů	1 bod	<b>2 body</b>
IgG pozitivní	<b>2 body</b>	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 126 protokolů, které se do NRL/LB navrátily ke dni 23. 3. 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%	0%	0%
5	0%	0,8% (1)	0%	0%
6	100% (126)	99,2% (125)	100% (126)	100% (126)

### IgM EIA

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční				
Negativní	125 (100%)	125 (100%)	124 (99,2%)	125 (100%)
Pozitivní			1 (0,8%)	

CELKEM testovalo: 125 125 125 125

### IgM WB

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční				
Negativní	103 (100%)	103 (100%)	104 (100%)	106 (100%)
Pozitivní				

CELKEM testovalo: 103 103 104 106

### IgG EIA

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční				
Negativní	124 (99,2%)	125 (100%)		
Pozitivní	1 (0,8%)		125 (100%)	125 (100%)

CELKEM testovalo: 125 125 125 125

### IgG WB

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční		2 (1,9%)	2 (1,8%)	1 (0,9%)
Negativní	103 (100%)	102 (97,1%)		
Pozitivní		1 (1%)	108 (98,2%)	112 (99,1%)

CELKEM testovalo: 103 105 110 113

### Celkové hodnocení IgM

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční				
Negativní	126 (100%)	126 (100%)	126 (100%)	126 (100%)
Pozitivní				

CELKEM testovalo: 126 126 126 126

**Celkové hodnocení IgG**

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Hraniční		1 (0,8%)	1 (0,8%)	1 (0,8%)
Negativní	126 (100%)	125 (99,2%)		
Pozitivní			125 (99,2%)	125 (99,2%)

CELKEM testovalo: 126 126 126 126

**Celková interpretace**

Hodnocení	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
0	126 (100%)	125 (99,2%)		
1				
2		1 (0,8%)	126 (100%)	126 (100%)

CELKEM testovalo: 126 126 126 126

**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		80		80		79		79
FlaB/p41		75		75		74		74
BmpA/p39		80		80		78	1	78
DbpA/p17	1	34		35		35		35
VlsE		70		70		69		69
p83/p100		56		56		56		55
OspB/p34		6		6		6		6
OspA/p31		18		18		18		18
OppA/p58		8		8		8		8
OspE/p19		15		15		15		14
NapA		6		6		6		6
p21		10		10		10		10
p30	1	9		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		81		80	114		115	
p83/p100		81	1	80	105	7	104	8
FlaB/p41	20	49	19	50	23	46	40	35
BmpA/p39		81		81	47	45	104	8
OspA/p31		58	2	60	5	60	17	50
OspC/p25	2	73	3	71	14	64	79	19
DbpA/p17	4	58		61	11	55	23	47
OspB/p34		40		39		41		41
OppA/p58		65	1	60	33	37	35	38
NapA		40		39		41	1	39
OspE/p19	1	31	1	32	12	23	16	18
p21		34	1	33	27	15	25	17
p30		12		14	12	5	12	4

P=pozitivní, N=negativní

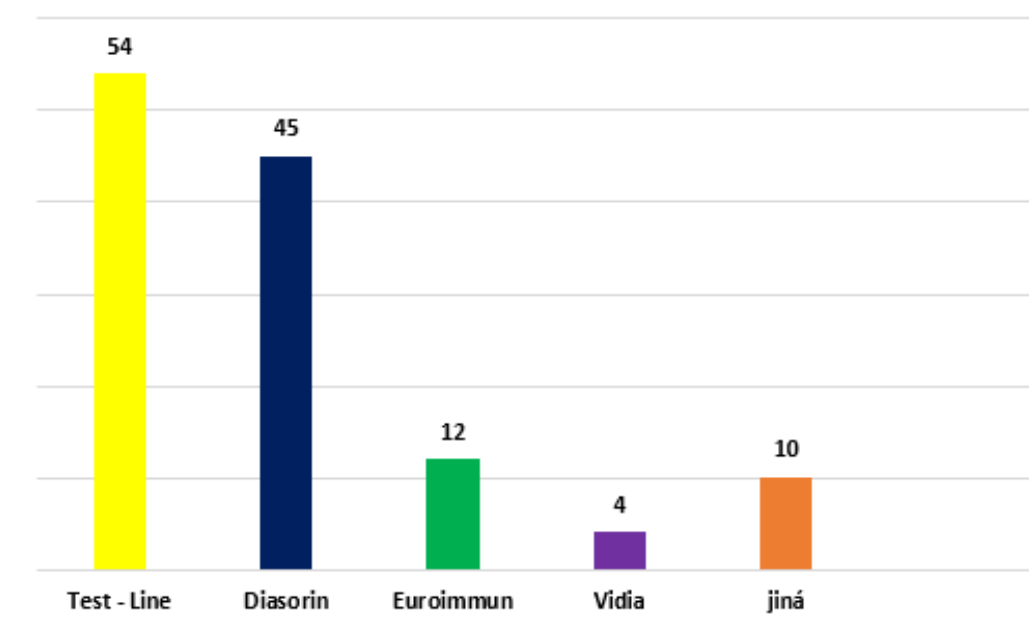
## Nejčastěji používané diagnostické testy

Metoda Elisa/Clia IgM + IgG		Metoda WB/Immunoblot IgM + IgG	
Název	Počet uživatelů	Název	Počet uživatelů
Test - Line	54 (43,2%)	Test - Line	59 (51,9%)
Liaison, Diasorin	45 (36%)	Euroimmun	35 (30,8%)
Euroimmun	12 (9,6%)	Vidia	8 (7,0%)
Vidia	4 (3,2%)	Viramed	3 (2,6%)
jiná (Aeskulisa, Biomerieux, Biomedica, Virotech a další)	10 (8%)	Seramun	2 (1,8%)
		Virotech	2 (1,8%)
		jiná	5 (4,4%)

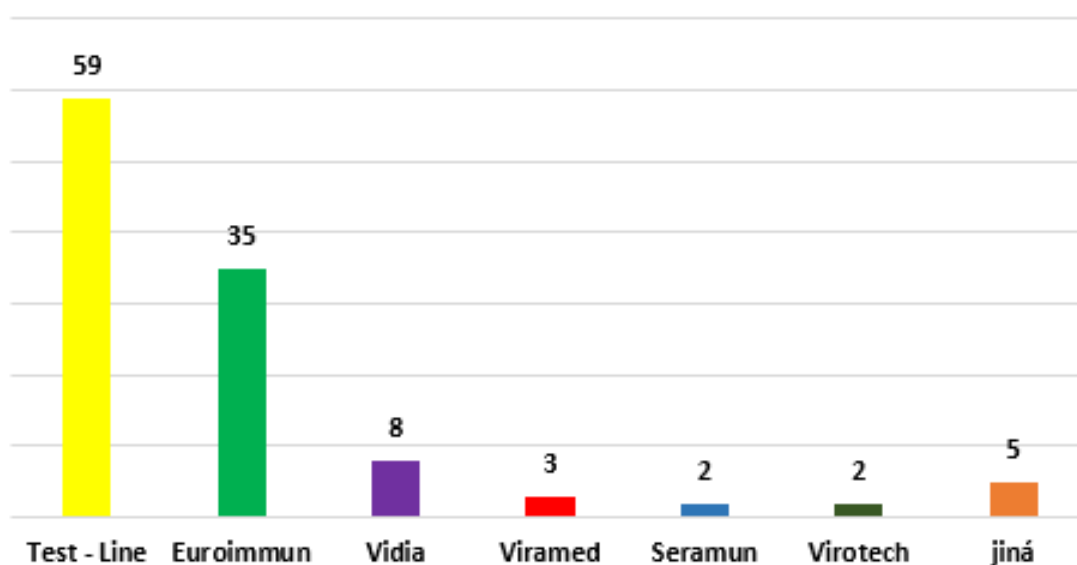
EIA n = 125

WB n = 114

## ELISA/CLIA



## WB/Immunoblot





## 6. Závěr série EHK 1257

Série EHK 1257 se zúčastnilo 126 laboratoří. Hranice úspěšnosti byla stanovena na 23 bodů. **Úspěšně** zpracovalo vzorky **100 %** laboratoří, z toho **99,2 %** identifikovalo vzorky **bezchybně**. V této sérii **uspěly všechny laboratoře**.

	Počet bodů	Počet laboratoří	%
	24	125	99,2 %
	23	1	0,8 %
Uspělo		<b>126</b>	<b>100 %</b>
Neuspělo		<b>0</b>	<b>0</b>

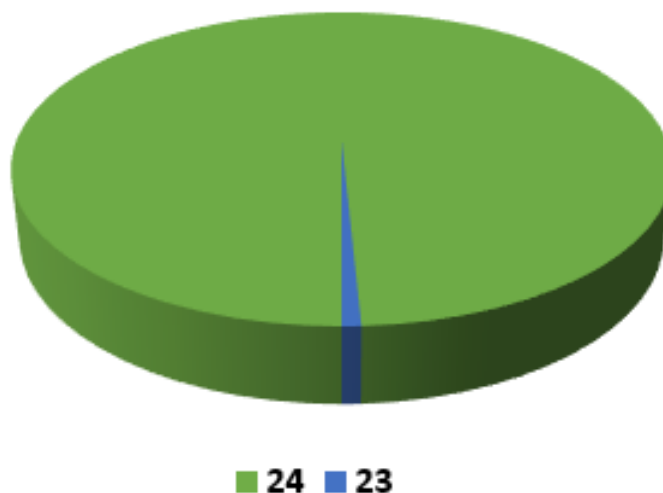
### Celkové hodnocení 126 laboratoří v PT#M/9-1/2022 (EHK 1257)

**Maximální počet dosažených bodů: 24**

**LIMIT 23 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.

### Počet získaných celkových bodů



V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamace použijte webovou aplikaci SZÚ (viz informace o změnách v objednávání opravných sérií a zadávání reklamací 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.

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY