



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/8/2022 (EHK 1256)

Sérologie leptospirózy

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	4
5. Vyhodnocení	5
6. Závěr	5

Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře

Program zkoušení způsobilosti PT#M/8/2022 byl zaměřen na sérologii leptospirózy. Návrh a realizace PT#M/8/2022 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/8 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. Eliška Zadrobílková, Ph.D., NRL pro leptospiry, SZÚ Praha

Zprávu autorizoval:

RNDr. Petr Kodym, CSc.

Tel: 267 082 105

Dne: 19. 5. 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/8/2022

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1256
Název:	Sérologie leptospirózy
Koordinátor:	RNDr. Petr Kodym, CSc.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3
Podstata a účel PT:	Identifikace původce a stanovení titerů specifických protilátek
Kritéria pro účast na PT:	Provádění vyšetření metodou MAT
Způsob přípravy:	viz kapitola 2
Množství připravovaného testovaného materiálu:	6 ml od každého vzorku pro cca 20 laboratoří
Označení vzorkovnic:	EHK 1256, PT#M/8, č. 1 – 5, 22. 2. 2022
Zabezpečení kvality vzorku:	Garance adekvátního obsahu specifických protilátek: Příprava podle standardních metod na akreditovaném pracovišti, vyšetření vzorků na testované markery akreditovanými metodami dle schválených SOP. Stabilita vzorku: průběžná kontrola, adekvátní skladování, stabilizace 0,001% azidu sodného.
Test homogenity a stability:	Výchozí materiál je testován na příslušné cílové markery. Finální vzorek je opakovaně testován na všechny příslušné cílové markery před i po rozplnění v čase, kdy laboratoře vzorky vyšetřují.
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Distribuce v předepsaném obalu. Krátkodobé uchování vzorků v chladničce při teplotě 2 - 8 °C, dlouhodobě při -18 až -24°C, zamezit opakovanému zamrazování a rozmrazování.
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor.
Počet účastníků:	13
Termín distribuce:	22. 2. 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:	Kvalitativní a semikvantitativní výsledky a jejich interpretace jsou ohodnoceny 0-2 body/vzorek, (maximum: 10 bodů). Limit úspěšnosti se stanoví takto: od průměrného bodového ohodnocení všech laboratoří se odečtou 2 směrodatné odchylky.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Z hodnot bodového ohodnocení jednotlivých účastníků
Určení přijaté vztahné hodnoty:	Výsledky NRL
Termín zveřejnění očekávaných výsledků:	23. 3. 2022 (skutečný termín uveřejnění, známe ho)
Termín zveřejnění závěrečné zprávy:	Do 7. 6. 2022

2. Způsob přípravy vzorků

Simulované klinické vzorky pro EHK byly připraveny ze zásobních směsí hyperimunních králíčích sér a patientských sér. Výchozí materiál byl dlouhodobě uskladněn při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ a před použitím skladován při teplotě 2 až 8 $^{\circ}\text{C}$. Séra imunizovaných králíků a séra pacientů, vyšetřených v NRL LEPT, byly skladovány v mrazícím boxu při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Poté, co uplynula lhůta povinného jednoletého skladování pro případ kontroly vyšetření pacientů, byly vzorky rozmrazeny a slity, a to tak, aby byly smíseny vždy vzorky, jež mají stejnou kategorii kvalitativního a semikvantitativního obsahu stanovovaných markerů. Každý vzorek byl stabilizován 0,001% azidu sodného, rozplněn do lahviček a předán k rozeslání.

3. Charakteristika materiálu

Simulace klinického materiálu: směsné vzorky lidských sér a hyperimunní králíčí séra, odpovídající svým kvalitativním i semikvantitativním obsahem antileptospirových protilátek skutečným vzorkům zasílaným k diagnostice leptospirózy. Výsledky vyšetření vzorků v NRL LEPT shrnuje tabulka 1.

Kategorie vzorku	MAT- Ag Pozit +	Anti-LEPTO titr Ig
A	<i>Leptospira canicola</i>	1:6400
B	<i>Leptospira sejroe</i>	1:1600
C	negativní	-
D	negativní	-
E	<i>Leptospira icterohaemorrhagiae</i>	1:800
	<i>Leptospira bratislava</i>	1:1600

Tab. 1: Výsledky vyšetření vzorků EHK 1256 v NRL LEPT

4. Způsob hodnocení

V zaslaných vzorcích séra měla každá diagnostická laboratoř zjistit sérologickou metodou MAT (mikroskopický aglutinační test) kvalitativně a semikvantitativně přítomnost (nebo nepřítomnost) antileptospirových protilátek. MAT je (nejen) u nás „zlatým standardem“ sérologické diagnostiky leptospirózy. Tento vysoce specifický a senzitivní test byl vyhlášen hlavním hygienikem MZ závazným standardním diagnostickým postupem. Jako antigen používá živé leptospiry, které si kultivuje v požadované standardní škále každá diagnostická laboratoř a které jsou v případě potřeby doplňovány z banky referenčních kmenů v NRL LEPT CEM SZÚ.

Ve zkušebních vzorcích byly přítomny protilátky proti leptospirám, které se mohou vyskytovat na území ČR. Jednalo se o sérotypy *L. canicola*, *L. sejroe*, *L. icterohaemorrhagiae* a *L. bratislava* (viz tabulka). Dva zkušební vzorky byly negativní.

Vyhodnocení bylo provedeno v NRL pro leptospiry CEM SZÚ vzorek po vzorku podle níže uvedených kritérií:

- **Správnost kvalitativních výsledků stanovení antileptospirových protilátek:** zjištění, zdali byly nebo nebyly ve vzorku přítomny protilátky proti leptospirám a v případě séropozitivního vzorku i určení kauzálního sérotypu leptospir.
- **Správnost (semi)kvantitativních výsledků – titru protilátek v subjektivní toleranci +/- 2 titry oproti NRL.**

Plný počet za jeden vzorek, **2 body**, byl udělován za zcela správný kvalitativní i (semi)kvantitativní výsledek. **1 bod** bylo možné získat za správný kvalitativní výsledek, ale s nesprávně udaným titrem mimo interval tolerance. **0 bodů** by pak NRL udělila za chybný jak kvalitativní tak kvantitativní výsledek vzorku. **Nejvyšší možné hodnocení** za celou sérii 5 vzorků bylo **10 bodů**. Hranice úspěšnosti byla vypočtena z aritmetického průměru mínus dvakrát směrodatná odchylka.

5. Vyhodnocení

U **vzorku E** se za správný výsledek považovalo uvedení alespoň jednoho sérotypu ze dvou možných (*L. icterohaemorrhagiae* nebo *L. bratislava*). Sérotypy **vzorků A** (*L. canicola*) a **E** (*L. bratislava* nebo *L. icterohaemorrhagiae*) určily správně všechny laboratoře, pouze jedna laboratoř chybovala v titru u vzorku A a jedna uvedla chybný titr u vzorku E. **Vzorek B** označily všechny laboratoře správně jako *L. sejroe*, včetně titrů v tolerovaném rozsahu. **Vzorky C** a **D** označily správně všechny laboratoře jako negativní.

Maximálního počtu 10 bodů dosáhlo v sérii EHK – 1256 10 ze 12 hodnocených laboratoří a pouze dvě laboratoře dosáhly výsledku 9 bodů (v obou případech se jednalo pouze o chybně uvedený titr).

Tab. 2: Bodové hodnocení laboratoří v EHK – 1256

Dosažené body	10	9	
Počet laboratoří	10	2	= 12

Závěrečné hodnocení této kontrolní a edukativní série EHK 1256 laboratoří diagnostikujících leptospirózu v ČR je následující: **Hranice úspěšnosti** vypočtena z aritmetického průměru 9,83 mínus dvakrát směrodatné odchylky 0,37 je **9,09**. V této sérii tak dosáhlo akceptovatelných výsledků 12 diagnostikujících laboratoří.

6. Závěr

Vzorky byly rozeslány celkem 13 laboratořím, výsledkové formuláře vyplnilo a zaslalo zpět 12 laboratoří. Uspělo všech 12 laboratoří, které odeslaly výsledky (z toho pouze 2 s minimální bodovou ztrátou). Účastníci EHK 1256 potvrdili, že vyšetřování leptospirózy metodou MAT jim nečiní potíže a získali vysoké bodové ohodnocení. Laboratoře se nedopustily žádných závažných chyb. Standardní metoda (MAT) diagnostiky leptospirózy může být v indikovaných případech vhodně doplňována molekulárními metodami, které potvrdí akutní fázi čerstvé infekce u suspektního pacienta. Metody ELISA dlouhodobě nevykazují uspokojivé výsledky v diagnostice leptospiróz.

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamáce 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>).

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY