



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/21/2021 (EHK 1196)

Sérologie chlamydií

Praha, srpen 2021

Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2. Způsob přípravy vzorku	4
3. Charakteristika materiálu	4
4. Způsob hodnocení	4
5. Vyhodnocení	4-8
6. Závěr	9
Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/21/2021 (EHK 1196) byl zaměřen na sérologii chlamydií. Návrh a realizace PT#M/21/2021 (EHK 1196) byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/21 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 na webových stránkách SZÚ (<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>) po přihlášení kódem a heslem v záložce „Hodnocení sérií“.

Zprávu vypracoval:

MUDr. Hana Zákoucká, NRL pro chlamydie, SZÚ Praha

Zprávu autorizoval:

MUDr. Hana Zákoucká

tel.: 267 082 795

Dne: 2. 8. 2021

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/21/2021

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1196
Název:	Sérologie chlamydií
Koordinátor:	MUDr. Hana Zákoucká
Charakteristika materiálu:	viz. kapitola 3
Podstata a účel EHK:	Stanovení rodových a druhových protilátek proti chlamydiím.
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Není omezena.
Způsob přípravy:	Popis připraveného materiálu viz. kapitola 2
Množství připravovaného testovaného materiálu:	110 sad (1 sada á 5 vzorků po 0,5 ml)
Označení vzorkovnic:	EHK 1196, PT#M/21, č. 1 – 5, 20. 4. 2021
Zabezpečení kvality vzorku:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Obsahuje-li výchozí materiál po rozmrazení viditelné částice organického materiálu (bílkoviny, tuky), je zcentrifugován. 2. Pro zajištění stability je do výchozího materiálu přidán ProClin 950 v 0,05-0,1 % koncentraci.
Test homogenity a stability vzorku:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Test homogenity je prováděn pro 2 náhodně vybrané vzorky z připravených aliquotů vzorků A až E dle SOP M/21. 2. Stabilita - testováním anonymizovaných vzorků v rámci kola EHK.
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Přeprava a krátkodobé uchování při 4 – 12 ° C, chránit před světlem, zabránit opakovanému rozmrazování.
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe
Počet účastníků:	101 laboratoří
Termín distribuce:	20. 4. 2021
Způsob distribuce:	Přepravní služnou, zajišťuje Koordinační pracoviště.
Předání výsledků:	V elektronické podobě za použití aplikace EHK10.
Způsob vyhodnocení výsledků:	<p>Viz. kapitola 4.</p> <p>Za referenční výsledek pro daný vzorek se považuje výsledek opakovaného testování v NRL pro chlamydie. Dále je posuzována shoda hodnoceného výsledku s 80% laboratoří, které se zúčastnily daného okruhu EHK.</p> <p>Každý správně diagnostikovaný marker je hodnocen 1 bodem, nesprávný výsledek testu konkrétního markeru pak 0 body. Laboratoře mohou získat maximálně za všechna možná stanovení 115 bodů.</p>
Určení maximální odchylky:	80 - 100% z maximálně možného počtu bodů.
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Výsledky NRL pro chlamydie.
Termín uveřejnění očekávaných výsledků:	21. 5. 2021
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 3. 8. 2021.

2. Způsob přípravy vzorků

K dosažení potřebného objemu (daného přihlášeným počtem účastníků EHK) byl materiál doředen stejným typem materiálu od jiného lidského dárce.

Výchozí materiál byl testován na přítomnost cílových markerů v Národní referenční laboratoři pro chlamydie dle SOP-NRL/CHLA-02, 04, 06.

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

Pro posouzení a zajištění kvality a homogenity vzorku byl materiál testován na přítomnost cílových markerů. K testování byl použit 1. vzorek odebraný před a 2. po rozplnění na požadované aliquoty (0,5 ml). Testování se provádělo v době přípravy EHK a následně byl proveden test anonymizovaných vzorků v rámci cyklu EHK.

Výchozí materiál byl rozplněn do jednotlivých vzorků o objemu 0,5 ml do připravených sterilních zkumavek. Vzorky byly označeny pořadovým číslem 1 – 5, číslem EHK a datem rozeslání.

3. Charakteristika materiálu

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byla lidská plazma/sérum. Výchozí materiál byl dlouhodobě uskladněn při teplotě -18°C nebo nižší a před použitím rozmražen a skladován při teplotě 2 až 8 °C.

4. Způsob hodnocení

Za referenční výsledek pro daný vzorek byl považován výsledek opakovaného testování v NRL pro chlamydie. Dále byla posuzována shoda hodnoceného výsledku s 80% laboratoří, které se zúčastnily tohoto cyklu EHK.

Každý správně diagnostikovaný marker byl hodnocen 1 bodem, nesprávný výsledek testu konkrétního markeru pak 0 body. Maximální počet bodů, které mohly laboratoře získat, se výrazně lišil u jednotlivých účastníků podle počtu stanovení a použitých diagnostických metod.

Laboratoř úspěšně absolvovala EHK, pokud dosáhla bodového limitu, který byl stanoven na 80% z možného celkového počtu bodů pro vyšetření provedená konkrétní laboratoří.

5. Vyhodnocení

Dne 20. 4. 2021 byly rozeslány vzorky 101 laboratořím. Ke dni 12. 5. 2021 obdrželo Koordinační pracoviště ESPT 2 výsledky 101 laboratoří.

Soubor okružních vzorků již tradičně obsahoval 5 vzorků (jednalo se o pool patientských vzorků) pro určení IgG, IgA a IgM protilátek proti chlamydiím pomocí rodově a/nebo druhově specifických testů. Vzorky B a D obsahovaly identická séra.

Jako každý rok se objevily v několika (10) laboratořích chyby v zápisu do jiného markeru, než jaký laboratoř označila. Tato nepozornost musela být, bohužel, v souladu s podmínkami penalizována. U 3 laboratoří chyběl zápis výsledků u některých markerů.

Tabulka č. 1: Výsledky vyšetření v NRL

Vzorek	MIF CPN			MIF CTR			MIF CPS		
	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM
A	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
B	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.
C	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.
D	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.
E	POZ.	neg.	neg.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.

Vzorek	IB recomLine CPN			IB recomLine CTR			IB recomLine CPS		
	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM
A	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
B	POZ.	neg.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.
C	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.
D	POZ.	neg.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.
E	POZ.	neg.	neg.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.

Vzorek	ELISA CPN			ELISA CTR			ELISA LPS Medac		
	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM
A	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
B	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	neg.	neg.
C	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.
D	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	neg.	neg.
E	POZ.	neg.	neg.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.

Použité zkratky:

CPN *Chlamydia pneumoniae*

CTR *Chlamydia trachomatis*

CPS *Chlamydia psittaci*

neg.=negativní, POZ.=pozitivní, HRAN.=hraniční

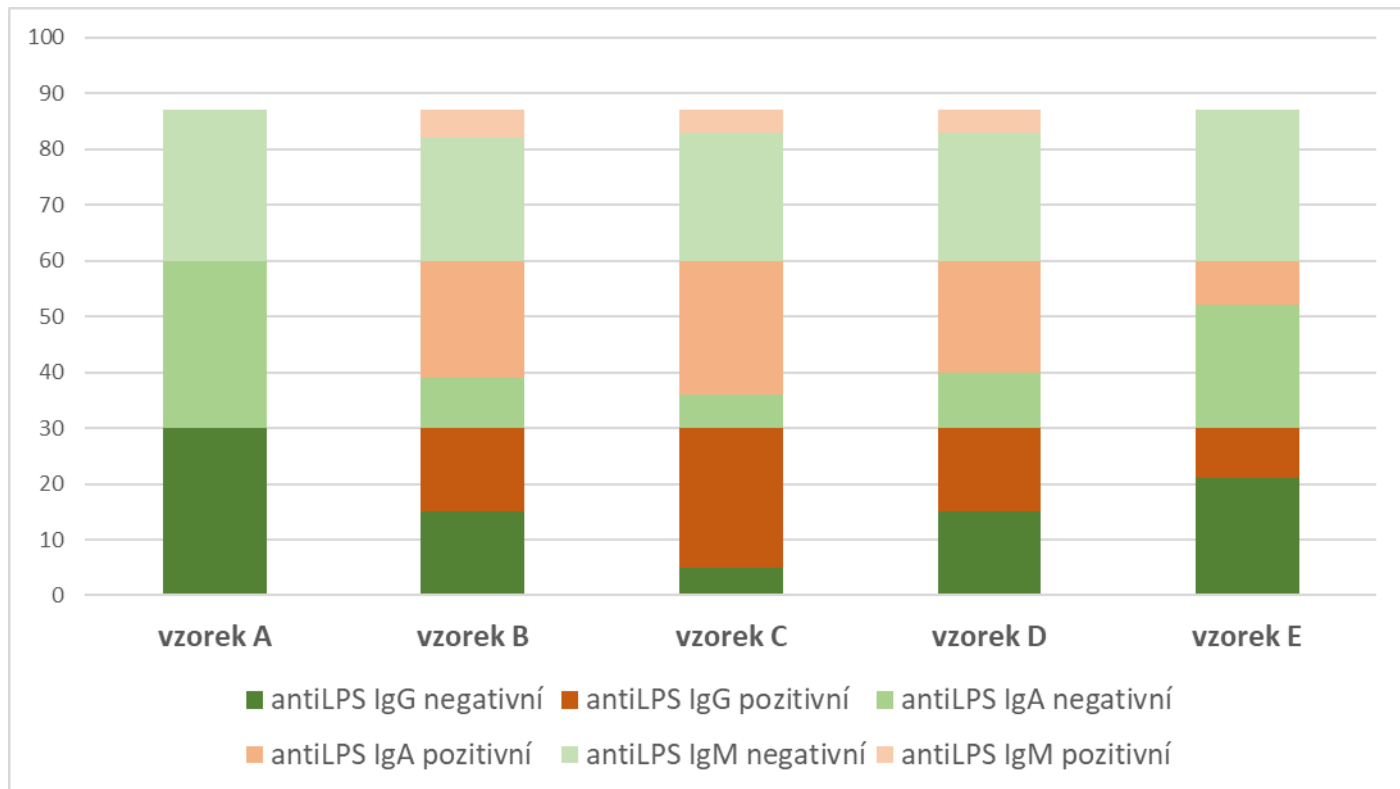
Výsledky zúčastněných laboratoří:

Při hodnocení výsledků rodově specifických testů (detekce anti-LPS protilátek) bylo možno získat maximálně 15 bodů (za každý vzorek maximálně 3 body, za každou jednu chybu - mínus 1 bod). Při hodnocení druhově specifických protilátek bylo hodnoceno všech 9 parametrů (IgG, IgA, IgM u tří druhů: *Chl. pneumoniae*, *Chl. trachomatis* a *Chl. psittaci*). Celkový počet dosažených bodů se odvíjel od počtu použitých metodik pro každé stanovení. Za každou chybu se 1 bod odpočítával. Celkově tedy za správné určení všech parametrů v rodově i druhově specifických testech mohly některé laboratoře získat až 115 bodů (provedly jednotlivá vyšetření několika metodicky různými testy).

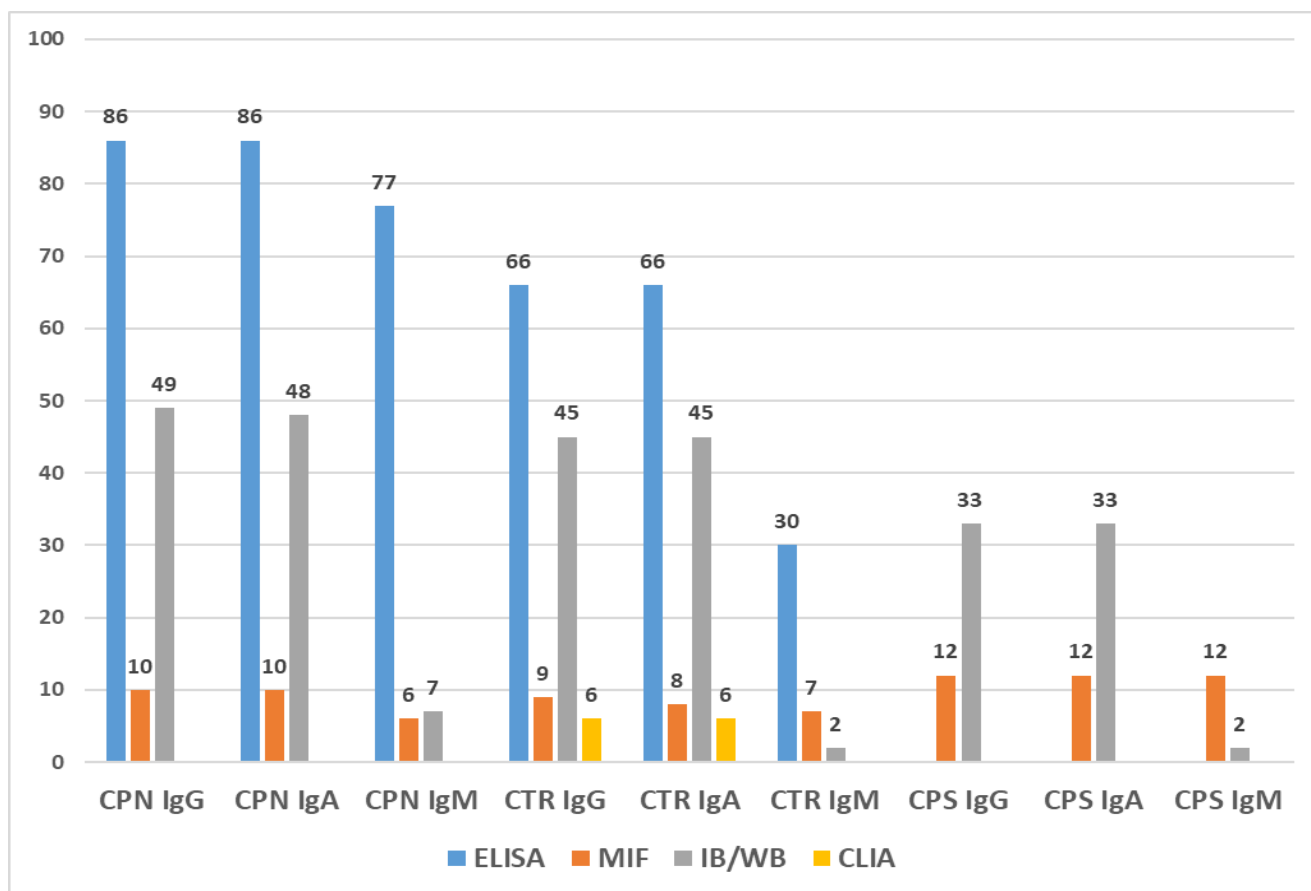
V potaz byly brány jak referenční výsledky a shoda hodnoceného výsledku u 80% laboratoří, tak i odchylky způsobené užitím různých diagnostik. Tento postup, stejně jako při předcházejících ročnících EHK, respektuje poměrně značnou nevyrovnanost výsledků vyšetření dosažených různými diagnostikami a různými metodickými přístupy.

Zastoupení jednotlivých výsledků uvádíme v následujících grafech:

Graf 1: rodové protilátky (anti-LPS) vyšetřilo celkem 30 laboratoří



Letošní série obsahovala materiál s IgG anti-LPS protilátkami ve vzorku B, C a D. Testy anti-LPS provedlo 30 laboratoří, z toho 29 v kombinaci s některými testy druhových protilátek. Laboratoře použily diagnostika 4 různých výrobců Euroimmun, Medac, Savyon, Test-Line. U testů Euroimmun a Savyon zkresluje výsledek přidání druhových antigenů, tento fakt byl, jako vždy, zohledněn.

Graf 2: druhové protilátky vyšetřilo celkem 95 laboratoří v různých kombinacích agens a Ig

Použité zkratky:

CPN *Chlamydia pneumoniae*

CTR *Chlamydia trachomatis*

CPS *Chlamydia psittaci*

ELISA enzymová imunoasay, MIF mikroimunofluorescence, IB/WB imunoblot/western blot, CLIA chemiluminiscence

Při testování druhových protilátek (graf 2) byla patrná variabilita (graf 3 a 4) nejen mezi jednotlivými výrobci testů, ale také mezi jednotlivými typy testů od stejného výrobce. Rozdílnost testů různých producentů je závislá z části na složení antigenů, proti kterým byly protilátky obsaženy ve vzorcích. U různých testů stejného výrobce se projevuje význam koncentrace obsažených protilátek. Vliv hladiny protilátek na úspěšnost testů jednotlivých výrobců je patrný i na dosažených indexech pozitivity.

U testu CLIA na protilátky anti-*Chlamydia trachomatis* došlo k výraznému zlepšení shody terénních laboratoří s referenčními výsledky. Byla použita diagnostika 2 výrobců.

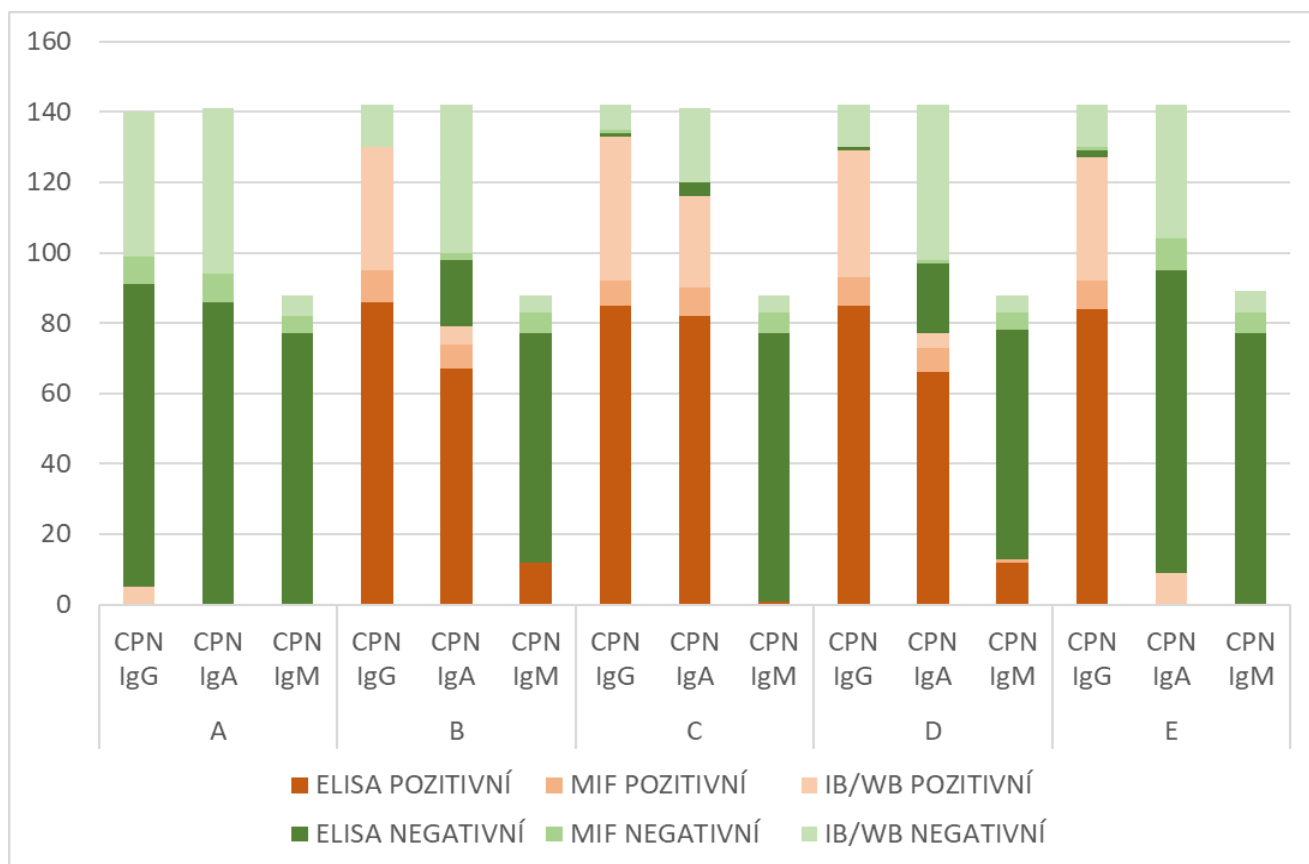
U stanovení protilátek anti-*Chlamydia trachomatis* se projevil v celkovém zastoupení negativního a pozitivního nálezu výrazný podíl diagnostika od jednoho výrobce na poměru výsledků vzorku C ve třídě IgG a *Chlamydia pneumoniae* u vzorků B a D (identické sérum) ve třídě IgA.

Protilátky proti *Chlamydia psittaci* nebyly ve vzorcích obsaženy. Ojedinele se vyskytla zkřížená reaktivita v testech anti-*Chlamydia psittaci* IgG a IgA IB/WB u vzorků B a D (3 laboratoře) a anti-*Chlamydia psittaci* IgG MIF u vzorku D (1 laboratoř).

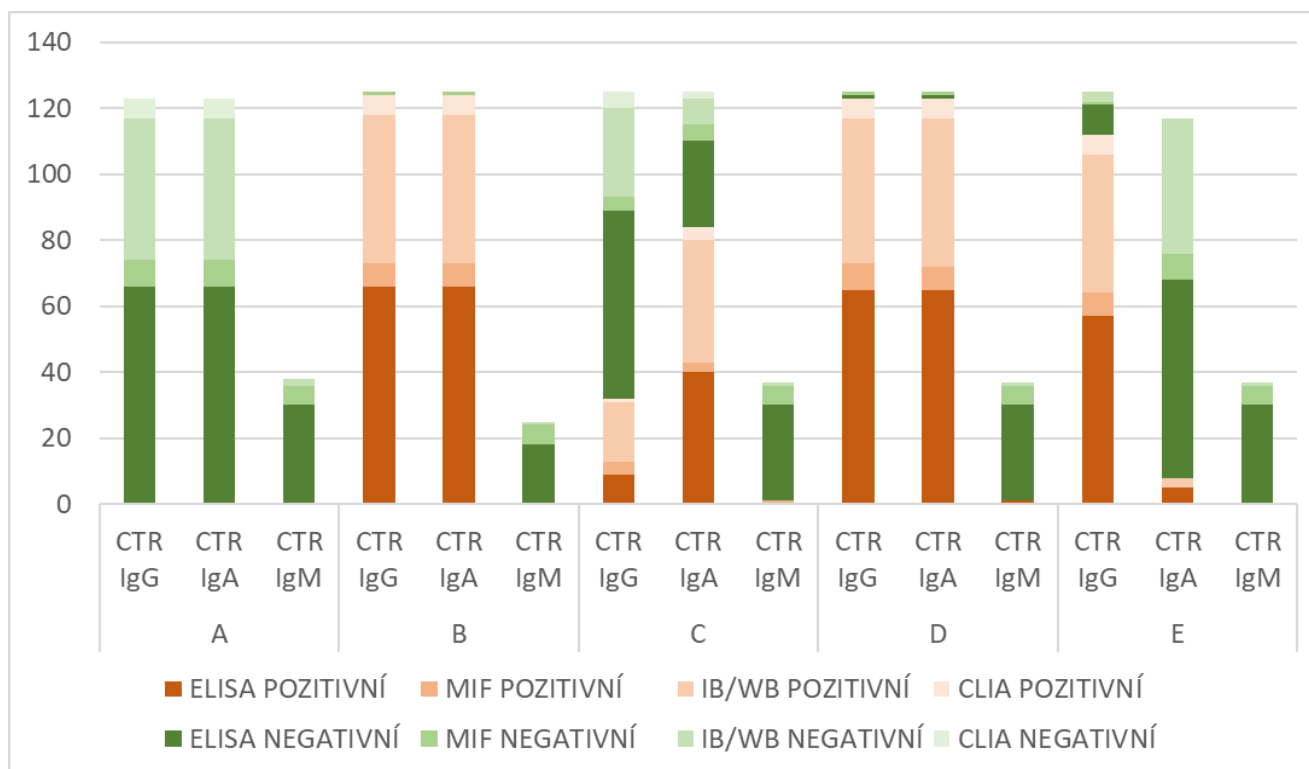
IgM protilátky byly zachyceny jen ojedinele (28 za 705 provedených testů) v testu ELISA 3 různých výrobců a v testu MIF jednoho výrobce.

Chybný zápis výsledků do on-line formuláře jsme zaznamenali u 10 laboratoří a mohl mít výrazný vliv na počet získaných bodů.

Graf 3: druhové protilátky anti – *Chlamydia pneumoniae*



Graf 4: druhové protilátky anti – *Chlamydia trachomatis*



6. Závěr

V testování série EHK 1196 sérologie chlamydií neuspěly 4 laboratoře (3 z nich provedly chybně zápis výsledků k jinému markeru), ostatní splnily požadovaný limit.

Standardně se projevila významná variabilita dosažených výsledků ve vazbě jak na diagnostikum, tak i na metodický přístup. Tento fakt je třeba brát v úvahu i při vyšetření konkrétního pacienta a hodnotit laboratorní nález pouze v souvislosti s klinickým stavem a jeho vývojem.

Opravná série proběhne 12. 10. 2021. Přihlášky podávejte do 14 dnů po obdržení výsledku cestou Koordinačního pracoviště ESPT 2 (e-mailem, telefonicky).

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím postupujte dle reklamačního řádu.

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY