



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001 akreditovaný ČIA
podle ČSN EN ISO/IEC 17043: 2023
Šrobárova 49/48, 100 00, Praha 10



Závěrečná zpráva

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii
(Externí hodnocení kvality)

PT#M/8/2026 (EHK 1565)

Sérologie leptospirózy

Praha, červenec 2026

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	5
6. Závěr	6
Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/8/2026 byl zaměřen na sérologii leptospirózy.

Návrh a realizace PT#M/8/2026 byly prováděny podle standardního operačního postupu koordinátora programu EHK 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. výsledkový protokol, je pro každou zúčastněnou laboratoř k dispozici na webových stránkách SZÚ: <https://ehk.szu.cz/EHK10/> po přihlášení kódem a heslem v záložce „Hodnocení sérií“.

Zprávu vypracoval a autorizoval:

Mgr. Eliška Zadrobílková, Ph.D., NRL pro leptospirozu, SZÚ Praha

Tel: 720 797 302

Dne: 21.7.2026

Pracoviště 2 ESPT

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

e-mail: ehk@szu.gov.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/8/2026

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1565
Název PT:	Sérologie leptospirózy
Koordinátor:	Mgr. Eliška Zadrobílková, Ph.D., Šrobárova 49/48, 100 00 Praha 10
Podstata a účel PT:	Identifikace původce a stanovení titrů specifických protilátek
Kritéria pro účast na PT:	Znalost a technické vybavení pro vyšetření protilátek proti leptospirám metodou MAT
Charakteristika materiálu:	Simulace klinického materiálu: směsné vzorky lidských sér, séra imunizovaných králíků
Hodnocené ukazatele:	Pozitivita, negativita vzorku
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2. závěrečné zprávy
Počet účastníků:	12
Termín distribuce:	12. 05. 2026
Informace účastníkům:	Viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín odeslání výsledků účastníkům:	02. 06. 2026
Označení vzorkovnic:	EHK 1565, PT # M/8, č. 1-5, 12.5.2026
Zabezpečení kvality vzorku (včetně termínů testů homogenity a stability):	Garance adekvátního obsahu specifických protilátek: Příprava podle standardních metod na akreditovaném pracovišti, vyšetření vzorků na testované markery akreditovanými metodami dle schválených SOP. Zabezpečení homogenity: Homogenita je zajištěna pečlivým promícháním vzorků před zahájením alikvotování do vzorkovnic. Následně je náhodně vybráno 3 – 5 již rozalikovotovaných vzorků, které jsou následně zkontrolovány. Stabilita vzorku: kontrola vzorků v den odeslání a v den stop termínu, adekvátní skladování, stabilizace 0,001% azidu sodného (viz Protokol o přípravě vzorků). Termíny testů homogenity: 12.5.2026 a stability: 12.5. a 2.6.2026
Možné zdroje analytických chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor.
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4 závěrečné zprávy
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Vztažnou hodnotou jsou výsledky NRL, které byly získané dvojitým opakovaným testováním vzorků (na začátku a na konci kola cyklu).
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	25. 08. 2026

2. Způsob přípravy vzorků

2.1 Postup přípravy výchozího materiálu

Ze zamražených patientských sér nebo imunizovaných králičích sér vybereme libovolných pět vzorků. Po rozmražení vzorky podle potřeby slijeme nebo doplníme fyziologickým roztokem tak, aby objem materiálu odpovídal očekávanému množství účastníků. Takto připravený výchozí materiál je testován na přítomnost protilátek uvedených cílových markerů v Národní referenční laboratoři pro leptospirozy SZÚ pomocí Mikroskopického aglutinačního testu (MAT) pro průkaz antileptospirových protilátek. Pokud charakter materiálu opakovaně kvantitativně i kvalitativně souhlasí se stavem před zamražením, vybrané vzorky jsou následně použity pro EHK.

2.2 Zabezpečení kvality výchozího materiálu, homogenita a stabilita

Kvalita výchozího materiálu je zabezpečena standardní metodikou výroby hyperimunních sér (Šebek Z. Standardní metoda laboratorní diagnostiky leptospirózy. Praha: AHEM. IHE, 1979.) a mikroskopickou kontrolou kvantitativního výsledku pomocí Mikroskopického aglutinačního testu (MAT) pro průkaz antileptospirových protilátek.

Homogenita je zajištěna pečlivým promícháním vzorků před zahájením alikvotování do vzorkovnic. Následně je náhodně vybráno 3 – 5 již rozaliquotovaných vzorků, které jsou následně zkontrolovány.

Pro zajištění stability je do výchozího materiálu přidáván roztok ProClinu 950 (koncentrace 0,1% v objemu séra). Do dne distribuce jsou takto připravené vzorky skladované v lednici při teplotě 2 – 8 °C.

Testy homogenity se provádí v den odeslání vzorků a test stability se provádí v den odeslání vzorků v době stop termínu.

Několikastupňovou kontrolou je zajištěno, že jsou vzorky vhodné pro použití v sérii EHK.

2.3 Rozplnění výchozího materiálu

Výchozí materiál je rozplněn do jednotlivých zkumavek o objemu minimálně 0,3 ml. Jednotlivé vzorky se uloží do umělohmotných krabiček označených podle počtu zasílaných vzorků 1 – 5, do předání koordinačnímu pracovišti ESPT2 se vzorky skladují při teplotě 2 – 8° C.

3. Charakteristika materiálu

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

Tab. 1: Výsledky vyšetření vzorků EHK 1565 v NRL LEP

Kategorie vzorku	MAT- Ag Pozit +	Anti-LEPTO titr Ig
A	<i>Leptospira</i> Sejroe	1:800
B	negativní	-
C	negativní	-
D	<i>Leptospira</i> Bratislava	1:3200
E	<i>Leptospira</i> Canicola	1:3200

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 leptospiroz. 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 České národní sbírky typových kultur CEM SZÚ.

Ve zkušebních vzorcích byly přítomny protilátky proti leptospirám, které se mohou vyskytovat na území ČR. Jednalo se o sérotypy Sejroe, Bratislava a Canicola (viz tab. 1). 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, zda 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**, byly udělovány 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, nebo za správný kvantitativní výsledek. **0 bodů** 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 nastavena na 80 % z maximálního bodového zisku. Výpočet provedla po zadání správných výsledků aplikace EHK2.

5. Vyhodnocení

Největší problém představoval pro laboratoře **vzorek D**, který dvě laboratoře nesprávně určily jako negativní. Chybně jako negativní také jedna laboratoř označila **vzorek E**. Naopak jedna laboratoř určila chybně **vzorek C** jako pozitivní. Dále u **vzorku A** dvě laboratoře chybovaly ve správném určení sérotypu a jedna laboratoř se nevešla do tolerance stanovení titru. Všechny laboratoře pak správně označily **vzorek B** jako negativní. Celkové bodové hodnocení shrnuje tabulka 2.

Maximálního počtu 10 bodů dosáhlo v sérii EHK 1656 sedm ze 12 hodnocených laboratoří. Dvě laboratoře dosáhly výsledku 9 bodů, kdy obě chybovaly ve vzorku A, a to ve správném určení sérotypu, respektive ve stanovení titru. Dvě laboratoře dosáhly výsledku 8 bodů, kdy jedna vzorek D označila chybně jako negativní a druhá chybně určila vzorek C jako pozitivní. Jedna laboratoř dosáhla pouze pěti bodů a v EHK neuspěla. Vzorky D a E chybně označila jako negativní a u vzorku A neuvedla správný sérotyp. Je však potřeba uvést, že zmíněná laboratoř netestovala zaslané vzorky metodou MAT ale komerčním kitem Virclia/Vircell, který je založen na nepřímé chemiluminiscenci a je určen k testování protilátek pouze v lidském séru/plazmě. Navíc pomocí této metody nelze stanovit leptospirový sérotyp. Naproti tomu metoda MAT je univerzálně použitelná k testování jak lidských, tak zvířecích vzorkům, a to včetně určení sérotypu.

Tab. 2: Bodové hodnocení laboratoří v EHK 1565

Laboratoř	A	B	C	D	E	celkem
013	1	2	2	0	0	5
020	2	2	2	0	2	8
028	2	2	2	2	2	10
032	2	2	2	2	2	10
037	2	2	0	2	2	8
214	1	2	2	2	2	9
215	2	2	2	2	2	10
283	2	2	2	2	2	10
293	2	2	2	2	2	10
603	2	2	2	2	2	10
678	1	2	2	2	2	9
787	2	2	2	2	2	10

Závěrečné hodnocení EHK 1565 laboratoří diagnostikujících leptospirózu v ČR je následující. **Hranice úspěšnosti** 80 % z maximálního bodového zisku je **8 bodů**. V této sérii tak dosáhlo akceptovatelných výsledků 11 diagnostikujících laboratoří.

6. Závěr

Vzorky pro EHK 1565 – Sérologie leptospirózy byly rozeslány do 12 laboratoří. Všechny 12 pracovišť vrátilo výsledkové protokoly zpět k vyhodnocení. Uspělo 11 laboratoří, jedna laboratoř neuspěla.

Obecně můžeme konstatovat, že rutinní diagnostika leptospirózy standardní metodou MAT se v ČR dlouhodobě udržuje na poměrně vysoké úrovni úspěšnosti. MAT může být v indikovaných případech vhodně doplňován molekulárními metodami, které potvrdí akutní fázi infekce u suspektního pacienta. V případě použití alternativních metod stanovení protilátek (např. ELISA nebo CLIA) doporučujeme výsledky konfirmovat právě pomocí metody MAT, která je celosvětově doporučovanou metodou WHO pro diagnostiku leptospirózy.

Laboratoře, které neuspěly, si mohou objednat edukativní vzorky prostřednictvím webové aplikace SZÚ, a to do 30 dnů po obdržení svých výsledků. Výsledky edukativních vzorků nebudou mít vliv na opravu předchozího neúspěšného výsledku v rámci EHK a slouží pouze jako podklad pro vyřešení případné neshodné práce v laboratoři.

Edukativní vzorky laboratoř obdrží obvyklou cestou v co nejkratším termínu po objednání.

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

Konec závěrečné zprávy