



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel programů zkoušení způsobilosti akreditovaný ČIA podle ČSN EN
ISO/IEC 17043, reg. č. 7001
Šrobárova 48, 100 42 Praha 10 – Vinohrady



Závěrečná zpráva

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii
(Externí hodnocení kvality)

PT#M/8/2019 (č. 1062)

Sérologie leptospirózy

Praha, duben 2019

Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing) 3
2. Příprava vzorku 4
3. Hodnocení 4-5
4. Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře

Program zkoušení způsobilosti PT#M/8/2019 byl zaměřen na sérologii leptospirózy. Návrh a realizace PT#M/8/2019 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 programů 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 rozesílána poštou.

Koordinátor:

RNDr. Petr Kodym, CSc.
Tel: 267 082 105

Zprávu vypracoval: Mgr. Tereza Kreysová

Zprávu schválil: RNDr. Petr Kodym, CSc.

Dne: 30. 4. 2019

Pracoviště 2 ESPT (AP CEM - Akreditační pracoviště Centra epidemiologie a mikrobiologie):

www.szu.cz/espt
email: apcem@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/8/1062

| | |
|---|--|
| Identifikace kola/cyklu: | EHK 1062 |
| Název: | Sérologie leptospirózy; PT#M/8/2019 |
| Poskytovatel | SZÚ – Centrum epidemiologie a mikrobiologie - ESPT Šrobárova 48, Praha 10, 100 42 tel.: + 420 267082575, fax.: + 420 267082271 |
| Vedoucí ESPT | Ing. Věra Vrbíková |
| Koordinátor: | RNDr. Petr Kodým, CSc. |
| Subdodavatel: | - |
| Charakteristika materiálu: | Simulace klinického materiálu: směsné vzorky lidských sér, séra imunizovaných králíků |
| Podstata a účel PT: | Identifikace původce a stanovení titrů specifických protilátek |
| Kritéria pro účast na PT: | Znalost metody MAT |
| Způsob přípravy: | viz Protokol o přípravě vzorků |
| Množství připravovaného testovaného materiálu: | 6ml od každého vzorku |
| Označení vzorkovnic: Termín distribuce vzorků: | EHK – 1062, PT#M/8, č. 1 – 5, 5. 3. 2019 |
| Zabezpečení kvality vzorku: | Test homogenity Stabilita: Opakované testování v průběhu skladování vzorků |
| Metrologická návaznost: | viz Protokol o přípravě vzorků |
| Termín testu homogenity a stability: | 21. 2., 5. 3., 18. 3. 2019 |
| Podmínky distribuce a uchování vzorků: | Přeprava a krátkodobé uchování při 4-12°C Chránit před světlem |
| Možné zdroje chyb: | |
| Počet účastníků: | 13 |
| Způsob distribuce: | Osobní převzetí účastnickou laboratoří / přepravní služba Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům |
| Předání výsledků: | Písemně do 26. 3 2019 na předepsaných formulářích |
| Způsob vyhodnocení výsledků: | za vyhovující jsou považovány hodnoty +/- 2 titry oproti NRL |
| Určení maximální směrodatné odchylky: | z hodnot účastníků |

2. Příprava vzorků

Simulované klinické vzorky pro EHK byly připraveny z lidských sér dříve vyšetřovaných v NRL a ze zásobních směsí hyperimunních králičích sér.

Příprava zásobních směsí králičích sér: Séra imunizovaných králíků a patientská séra, byla skladována v mrazicím boxu při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Poté byly vzorky rozmrazeny a slity, a to tak, aby byly smíšeny vždy vzorky, jež mají stejnou kategorii kvalitativního a semikvantitativního obsahu stanovovaných markerů – viz tabulka:

| Kategorie vzorku | MAT- Ag Pozit + | Anti-LEPTO titr Ig |
|------------------|-------------------------------|--------------------|
| A | negativní | - |
| B | L. pomona L. grippotyphosa | 1:1600 1:400 |
| C | negativní | - |
| D | L. sorex | 1:1600 |
| E | negativní | - |

Objem každého vzorku EHK byl směsí sér příslušné kategorie upraven na 6 ml. Vzorky byly stabilizovány přidáním 0,1% roztoku azidu sodného na vzorek (finální koncentrace: 0,001%). Každý vzorek byl rozplněn do lahviček – objem 300 μl (17 od každého vzorku). Vzorky byly označeny a předány k zabalení a rozeslání. Skladovány byly v chladničce při 2°C - 8°C .

3. Hodnocení

V zaslaných vzorcích séra měla opět jako každoročně, každá diagnostická laboratoř zjistit sérologickou metodou MAT (mikroskopický aglutinační test) kvalitativně a kvantitativně přítomnost (nebo nepřítomnost) antileptospirových protilátek. Uvedená metoda je (nejen) u nás standardní a vyhlášena hlavním hygienikem MZ k diagnostice jako závazný „zlatý standard“. Živé (vysoce specifické a senzitivní) antigeny si kultivuje v požadované standardní škále každá diagnostická laboratoř a které jsou v případě potřeby doplňovány z banky referenčních kmenů v NRL CEM SZÚ (genofond ČR).

Ve zkušebních vzorcích byly jako vždy před tím, přítomny protilátky proti u nás nejčastěji se vyskytujícím leptospirám, kauzálním agens nejběžnějších leptospiróz *L. pomona* *L. grippotyphosa* a *L. sorex*. Tři zkušební vzorky byly negativní.

Určení kauzálního sérovaru a výše titru protilátek bylo potom v NRL hodnoceno podle bodové stupnice: **2 body** za zcela správný výsledek či udanou titraci +/- 1 titr, **1 bod** za správné určení sérovaru, ale odlišně udanou titraci (v subjektivní toleranci +/- 2 titry oproti NRL), hodnocení **0 bodů** pak udělila NRL za celkově uvedený chybný výsledek jednoho vzorku. Nejvyšší hodnocení **celé správné série** je tedy **10 bodů**.

Maximálního počtu 10 bodů dosáhlo v poslední sérii EHK – 1062 dvanáct ze 13 hodnocených laboratoř, tj. 92,3%. Jedna hodnocená laboratoř dosáhla výsledku 4 bodů (uvedla tři negativní vzorky jako pozitivní).

Tabulka: Bodové hodnocení laboratoří v EHK – 1062

| | | | |
|------------------|----|---|------|
| Dosažené body | 10 | 4 | |
| Počet laboratoří | 12 | 1 | = 13 |

Závěrečné hodnocení této kontrolní a edukativní série EHK laboratoří diagnostikujících leptospirózu u nás je následující. Hranice úspěšnosti vypočtena z aritmetického průměru a dvakrát směrodatné odchylky je **6,34**. V této sérii dosáhlo akceptovatelných výsledků 12 diagnostikujících laboratoří, které by měly obdržet certifikát od AP CEM. Jedna laboratoř hranice úspěšnosti nedosáhla.

Opravné kolo série proběhne v podzimním termínu. O opravné vzorky můžete zažádat **do 14 dnů** od doručení závěrečné zprávy. V případě reklamaci vyhodnocení série, prosím postupujte dle reklamačního řádu.

Obecně můžeme konstatovat, že rutinní diagnostika leptospirózy v ČR je i nadále hodnocena na trvale vysoké úrovni úspěšnosti. Přesto, že kontrola prostřednictvím EHK není represivním, ale edukativním opatřením, nesníma z diagnostikujících laboratoří vlastní odpovědnost za klinikům vykazované výsledky a jejich interpretaci. Tato skutečnost je závažná a riziková zejména u smrtelné Weilovy choroby.

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.

Doporučená literatura:

1. Human leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control, ILS, WHO 2003
2. Standardní metoda laboratorní diagnostiky leptospirózy, AHEM, příloha 2, Praha 1979
3. O. Jírovec a kol.: Parasitologie pro lékaře (kapitoly Leptospiry a leptospirózy a Kultivácia leptospír), Avicenum, Praha 1977
4. Zitek, K., Beneš, Č. Dlouhodobá epidemiologie leptospirózy (1963-2003) v České republice. Epidemiol. Mikrobiol. Imunol. 54, 2005, č. 1, s. 27-33