



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/12/2019 (č. 1067)

Sérologie syfilis

Praha, červenec 2019

Obsah

1.	Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2.	Příprava vzorku	4
3.	Hodnocení	4-9
4.	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/12/2019 1067 byl zaměřen na sérologii syfilis. Návrh a realizace PT#M/12/2019 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/12 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:

MUDr. Hana Zákoucká
Tel: 267 082 795

Zprávu vypracoval:

MUDr. Hana Zákoucká (NRL pro dg. syfilis)

Zprávu schválil: **MUDr. Hana Zákoucká**

Dne: 16. 7. 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/12/1067

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/12/2019 EHK 1067
Název:	Sérologie syfilis
Organizátor:	SZÚ – Centrum laboratorních činností - ESPT AP CEM- Akreditační pracoviště pro zajišťování EHK v lékařské mikrobiologii Šrobárova 48, Praha 10, 100 42 tel.: + 420 267082427, fax.: + 420 267082427
Vedoucí ESPT	Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor:	MUDr. Hana Zákoucká
Subdodavatel:	není
Charakteristika materiálu:	5 vzorků á 1,0 ml obsahující lidské sérum a plasmu
Podstata a účel EHK:	stanovení netreponemových a treponemových protilátek
Kritéria pro účast na PT:	není omezena
Způsob přípravy:	viz Protokol o přípravě vzorků
Množství připravovaného test. materiálu:	cca pro 180 laboratoří
Označení vzorkovnic:	EHK 1067, PT#M/12, č. 1-5, 26. 3.2019
Zabezpečení kvality vzorku:	Test homogenity se provede pro 2 náhodně vybrané z připravených aliquotů vzorků A až E dle SOP M/12. Stabilita: testování anonymizovaných vzorků v rámci kola EHK.
Metrologická návaznost:	viz Protokol o přípravě vzorků
Termín testu homogenity a stability:	před distribucí vzorků a v termínu příslušného kola
Termín distribuce:	26. 3. 2019
Podmínky distribuce a uchovávání vzorků:	přeprava a krátkodobé uchovávání při 4 – 12 ° C chránit před světlem
Možné zdroje chyb:	nedodržení SLP
Počet účastníků:	175
Způsob distribuce:	Balení vzorků musí obsahovat tři vrstvy. Prvním obalem je zkumavka s bezpečnostním závitem zasunutá do své pásky, druhým obalem je bezpečnostní sáček a třetím obalem Pathopak. Výchozí materiál spadá dle klasifikace IATA týkajících se nebezpečného zboží do kategorie Infekční materiál 6.2 kategorie B . Infekční látky zařazené v kategorii B jsou pro přepravu označeny UN kódem - UN3373 Biologická látka, kategorie B. Přeprava vzorků je zajišťována přeprávcem se službou přeprava biologického materiálu. Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	elektronicky do 16. 4. 2019 přes webové rozhraní SZÚ
Způsob vyhodnocení výsledků:	kvalitativně
Určení maximální směrodatné odchylky:	-2 směrodatné odchylky
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Výsledky NRL pro diagnostiku syfilis
Termín zveřejnění závěrečné zprávy účastníkům:	do 12 týdnů po předání výsledků k hodnocení

2. Příprava vzorků

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 .

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 diagnostiku syfilis dle SOP-NRL/SYF-02, 03, 05, 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 byly použity 2 náhodně vybrané aliquoty (1,0 ml) po rozplnění. Testování se provádělo v době přípravy série a následně test anonymizovaných vzorků v rámci kola EHK.

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

3. Hodnocení

EHK 1067 „Sérologie syfilis“ se zúčastnilo celkem 175 pracovišť (1 z přihlášených laboratoří neodeslala výsledky), z toho 56 laboratoří transfuzní služby (garf 1).

Bylo, jako každoročně, rozesláno po 5 kódovaných vzorcích séra á 1,0 ml. Maximální počet bodů při správném hodnocení byl 10.

Způsob hodnocení vzorků:

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

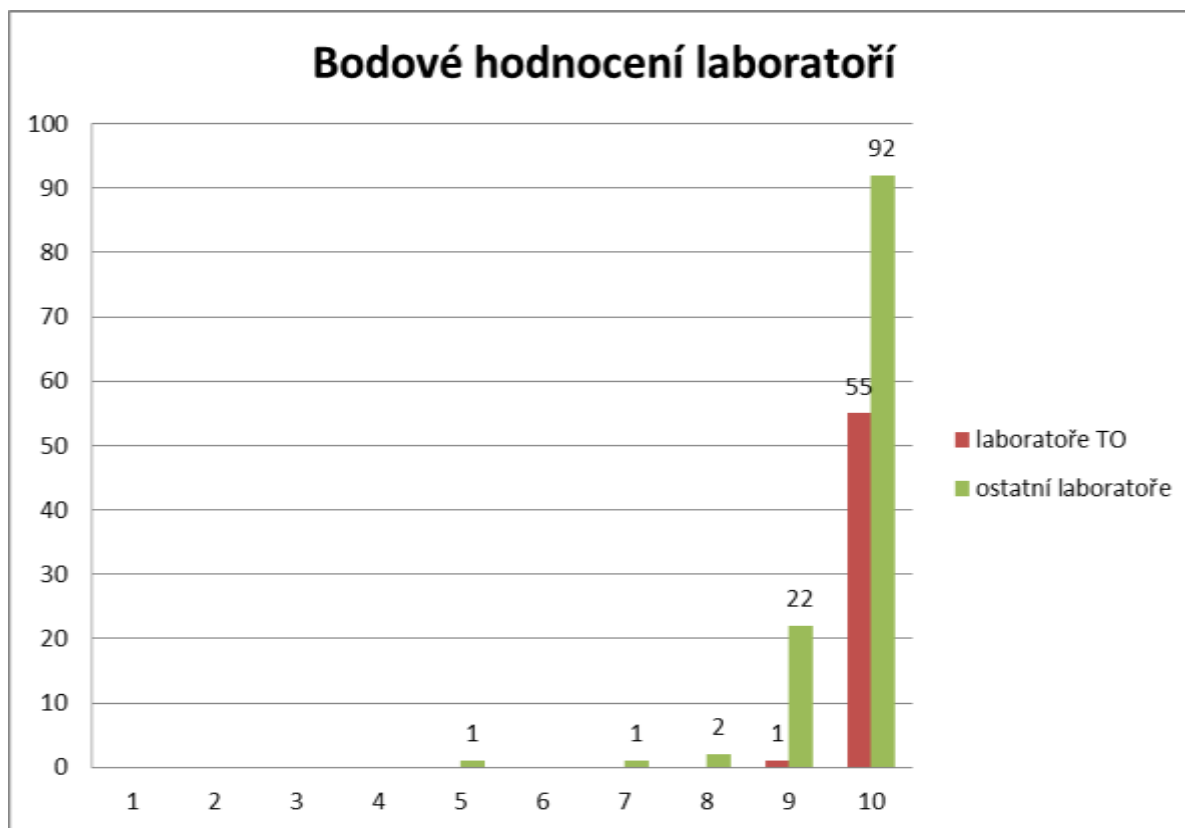
2 body – správný výsledek vč. interpretace, dosažené kombinací doporučených (netreponemových a treponemových) testů

1 bod – v ostatních případech, kdy výsledek byl správný, ale za jiných než předchozích podmínek

0 bodů – za špatné určení výsledku

Výsledky NRL pro dg. syfilis:

test vzorek	VDRL mikro Immutrep	RPR Immutrep	TPHA Immutrep	Serodia TP-PA	EIA TA Syphilis
A	POZITIVNÍ 1:4	POZITIVNÍ 1:2	POZITIVNÍ	POZITIVNÍ	POZITIVNÍ
B	POZITIVNÍ 1:4	POZITIVNÍ 1:2	POZITIVNÍ	POZITIVNÍ	POZITIVNÍ
C	NEGATIVNÍ	NEGATIVNÍ	NEGATIVNÍ	NEGATIVNÍ	NEGATIVNÍ
D	POZITIVNÍ 1:16	POZITIVNÍ 1:8	POZITIVNÍ	POZITIVNÍ	POZITIVNÍ
E	NEGATIVNÍ	NEGATIVNÍ	NEGATIVNÍ	POZITIVNÍ	POZITIVNÍ

Graf 1: Výsledky všech laboratoří

Screeningové vyšetření na syfilis je specifikováno vyhláškou č. 306/12 Sb. v aktuálním znění, která je závazná pro všechna zdravotnická zařízení (státní i nestátní). V § 7 odst. 2 je určen rozsah povinného screeningu – vždy použití 1 netreponemového a 1 treponemového testu! Mezi vybrané populační skupiny patří kromě klinických pacientů např. gravidní (ve 3. a 7. měsíci těhotenství), všichni novorozenci z pupečnickové krve atd.

Vzrůstající citlivost a specifita zvyšuje význam treponemových testů a jejich správné provedení je proto naprosto nezbytné, význam netreponemových testů spočívá v možném zkrácení imunologického okna a monitorování aktivity onemocnění.

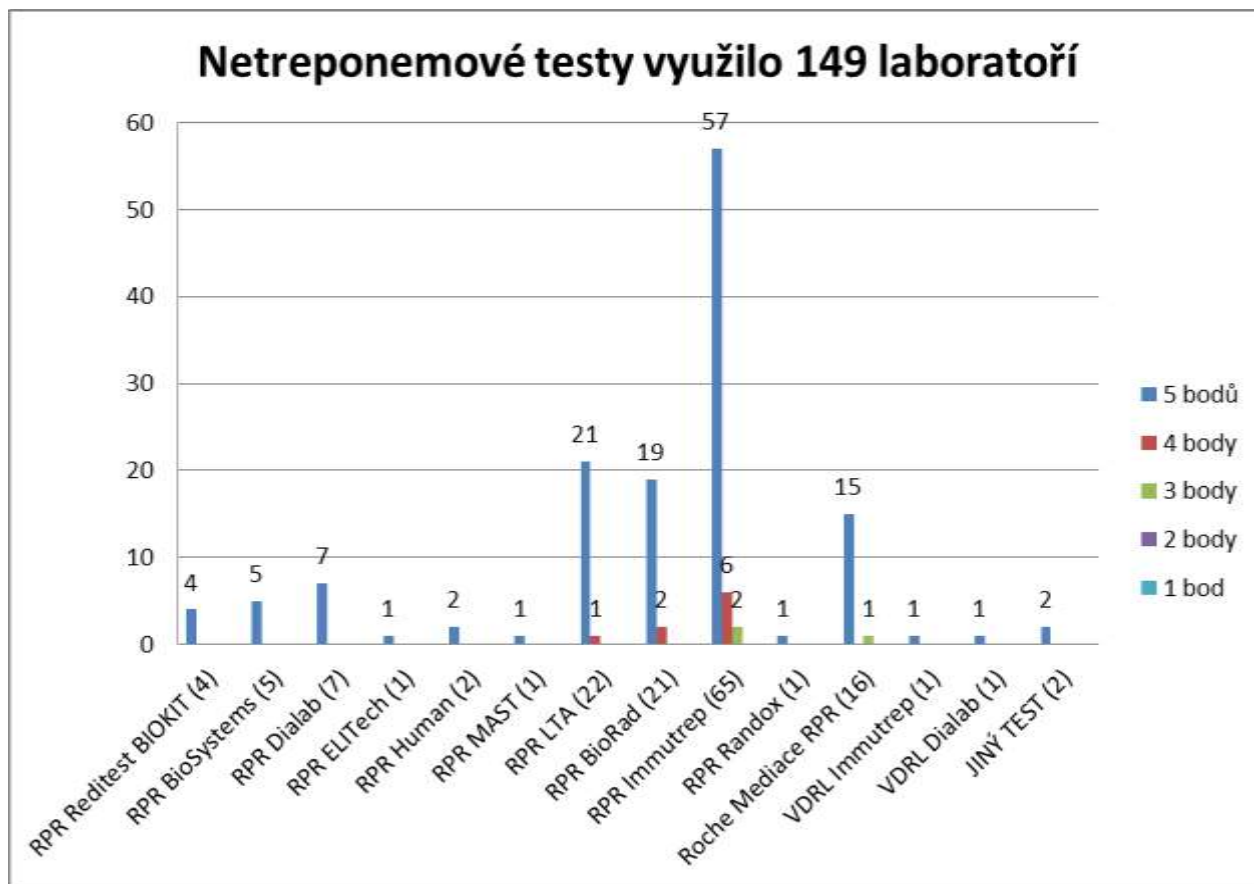
V zaslané sérii bylo zařazeno sérum zcela negativní, 4 séra s netreponemovými i treponemovými protilátkami (vzorek E, simuloval běžnou reálnou situaci staršího onemocnění s velmi nízkou sérologickou aktivitou). Vzorky A a B byly identické.

Vzhledem k tomu, že pool pozitivních i negativních vzorků byl připravován ze séra i plasmy, mohla se ve vzorcích vyskytnout jemná gelová sraženina. Bylo nutné ji odstranit (stejně jako v rutinní praxi v souladu s návodem výrobce testů) centrifugací a odpipetováním supernatantu do jiné zkumavky. Laboratoře se s touto situací opět vyrovnaly dobře.

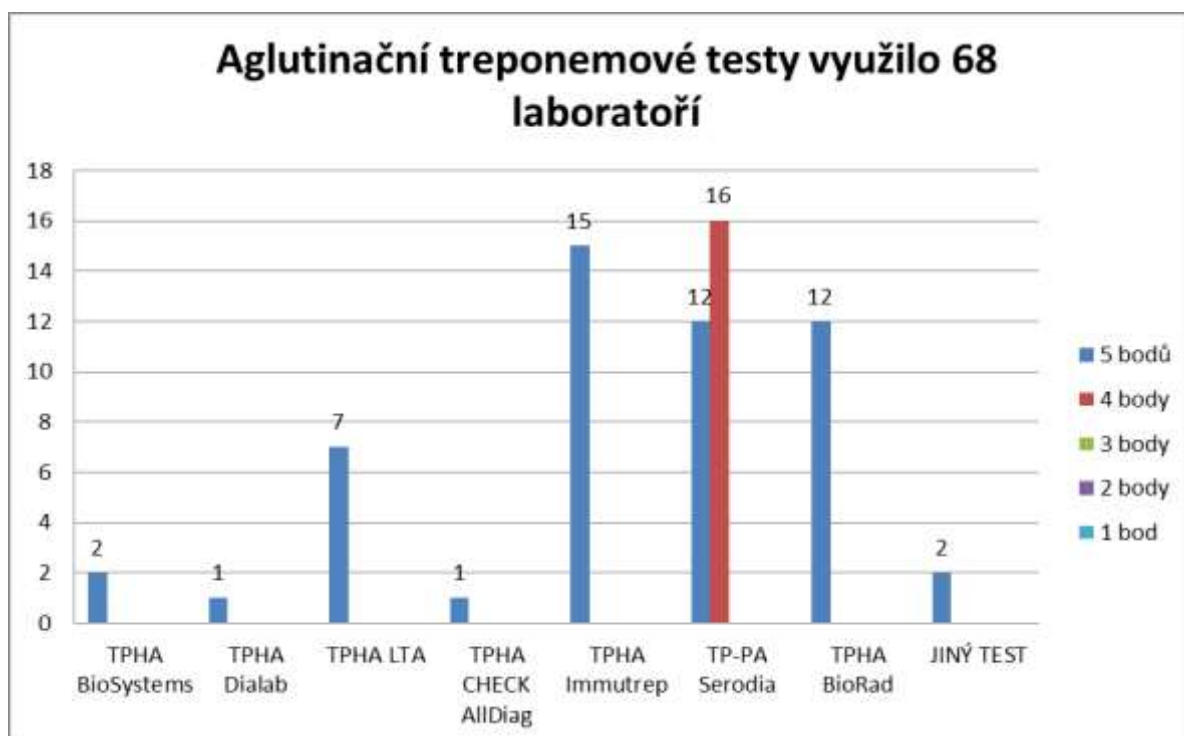
Zapsání výsledků do nesprávného řádku testu se objevilo pouze u 3 laboratoří. Některé laboratoře označily test jako „JINÝ“ i přesto, že byl v seznamu diagnostik uveden – např. zapsání výsledků specifického CMIA testu, imunoturbidimetrie apod.

Diagnostické problémy v určení titru protilátek v **netreponemovém testu** se projevily pouze u několika laboratoří. Jednalo se o příliš vysoký uvedený titr (hodnota vyšší o více než 2 ředění proti referenční) u 3 laboratoří. Dosažené výsledky u netreponemových testů jsou uvedeny v grafu 2.

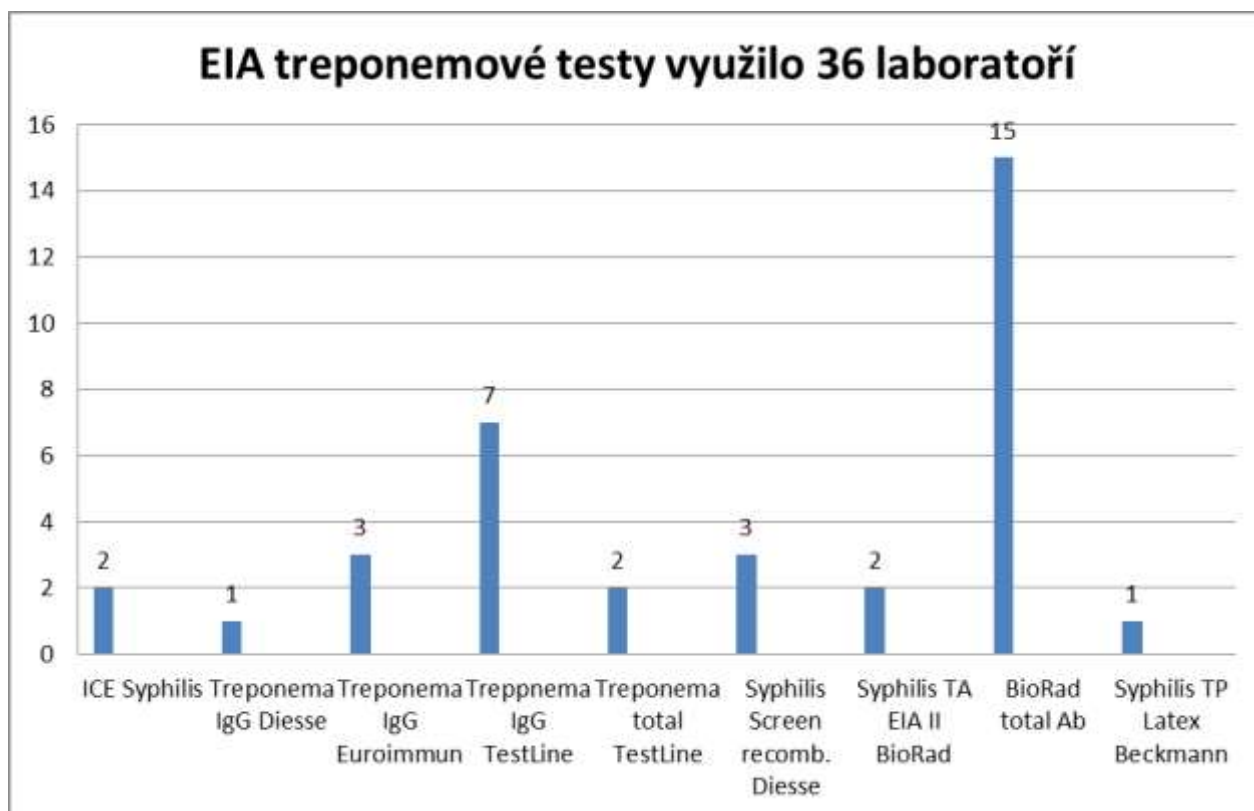
Graf 2:



Při vyšetření **treponemových protilátek** byla jasně patrná citlivost jednotlivých testů k hraniční hladině protilátek u vzorku E. Chemiluniscenční testy a také většina EIA testů neměla s určením slabé pozitivita problém. Ojedinele se vyskytl negativní výsledek v testu Abbott Architect u jedné laboratoře (IP 0,86). Ostatní laboratoře uváděly výsledek Abbott Architect POZITIVNÍ v rozmezí IP 1,0 až 2,58. Naproti tomu u testů založených na principu nepřímé pasivní aglutinace senzibilizovaného nosiče (TPHA, TP-PA) byla záchytnost nízké hladiny protilátek výrazně horší – ze 68 laboratoří určilo výsledek vzorku E správně jako POZITIVNÍ pouze 21 (16 testem TP-PA a ostatní v TPHA). Laboratoře nebyly za negativní výsledek v TPHA testu penalizovány. Vzorek měl demonstrovat reálnou situaci u pacientů s nízkou produkcí protilátek (počínající nebo vyhasínající onemocnění) a význam dobré přípravy a homogenizace vzorku před provedením testu. Podobně nekonzistentním výsledkem se projevila nízká hladina i u testů FTA-ABS IgG a western blot IgG. U ostatních vzorků (A-D) jsme u treponemových testů nezaznamenaly žádné obtíže. Data jsou uvedena v grafech 3 až 6.

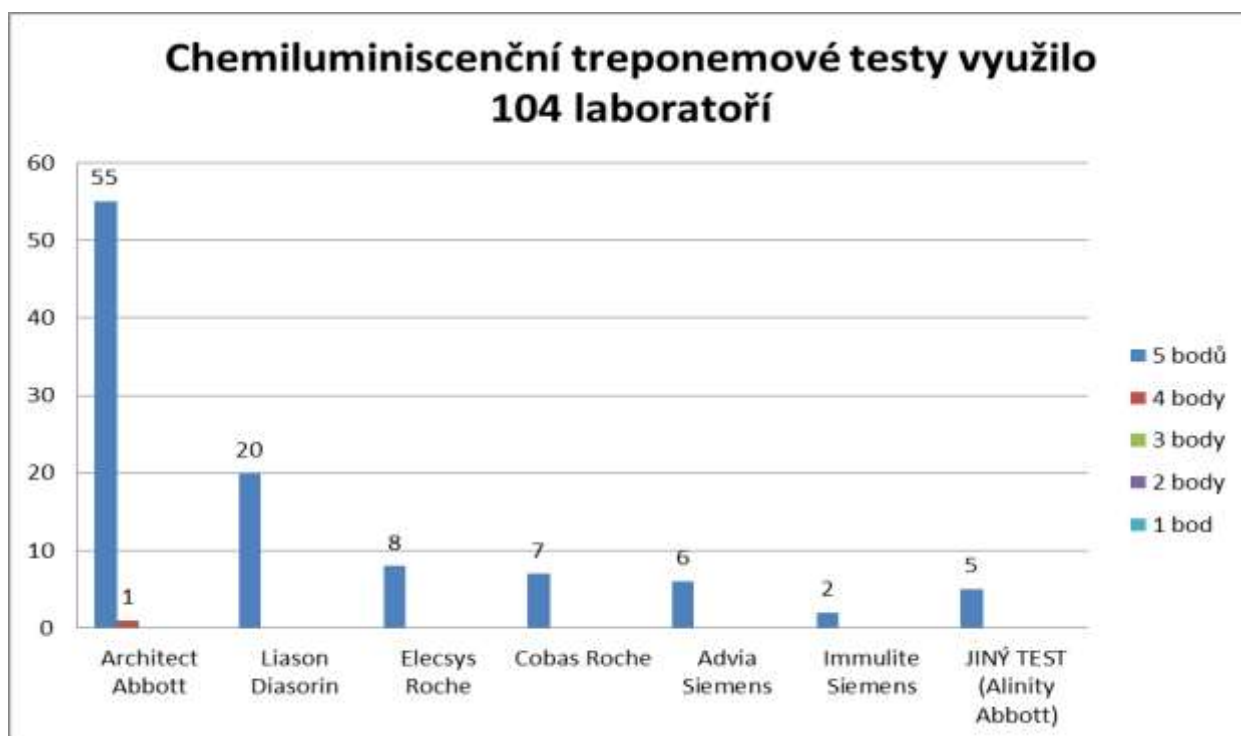
Graf 3:

Za negativní výsledek TPHA testu u vzorku E nebyly laboratoře penalizovány.

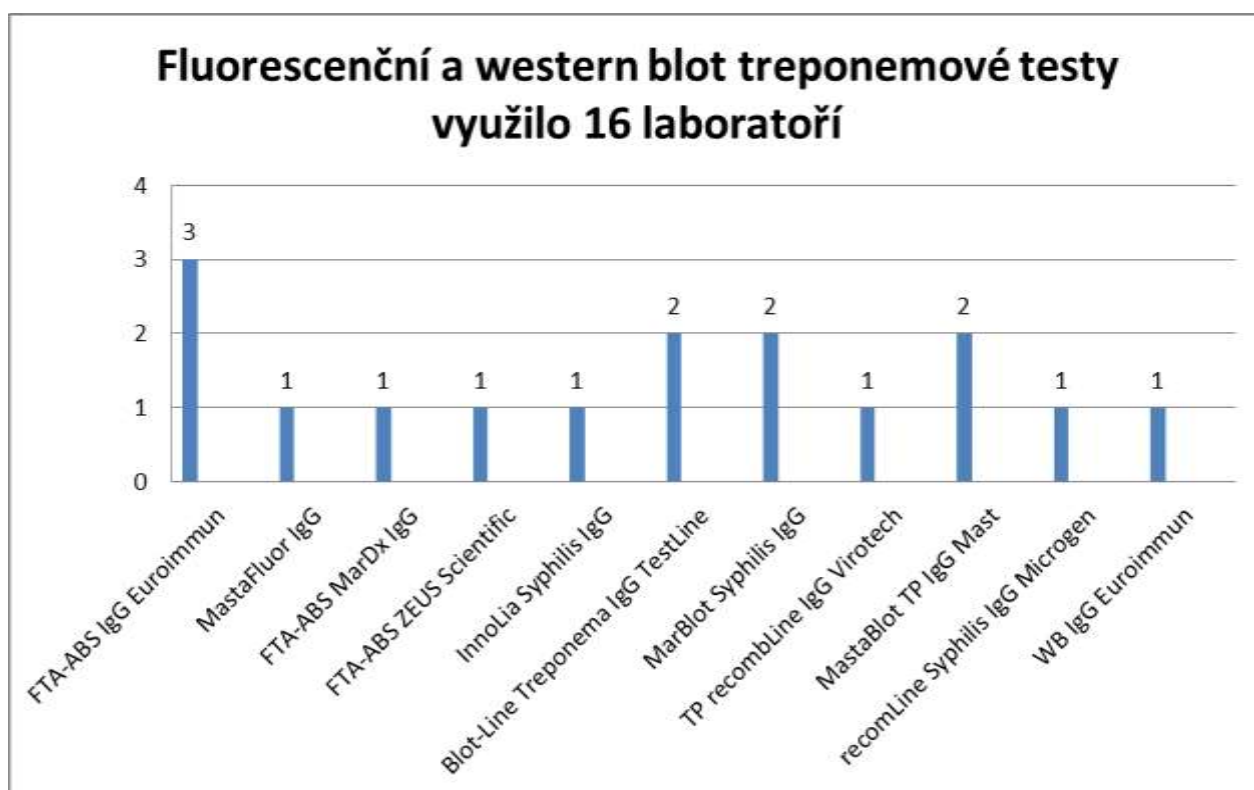
Graf 4:

Za negativní výsledek EIA testu u vzorku E nebyly laboratoře penalizovány.

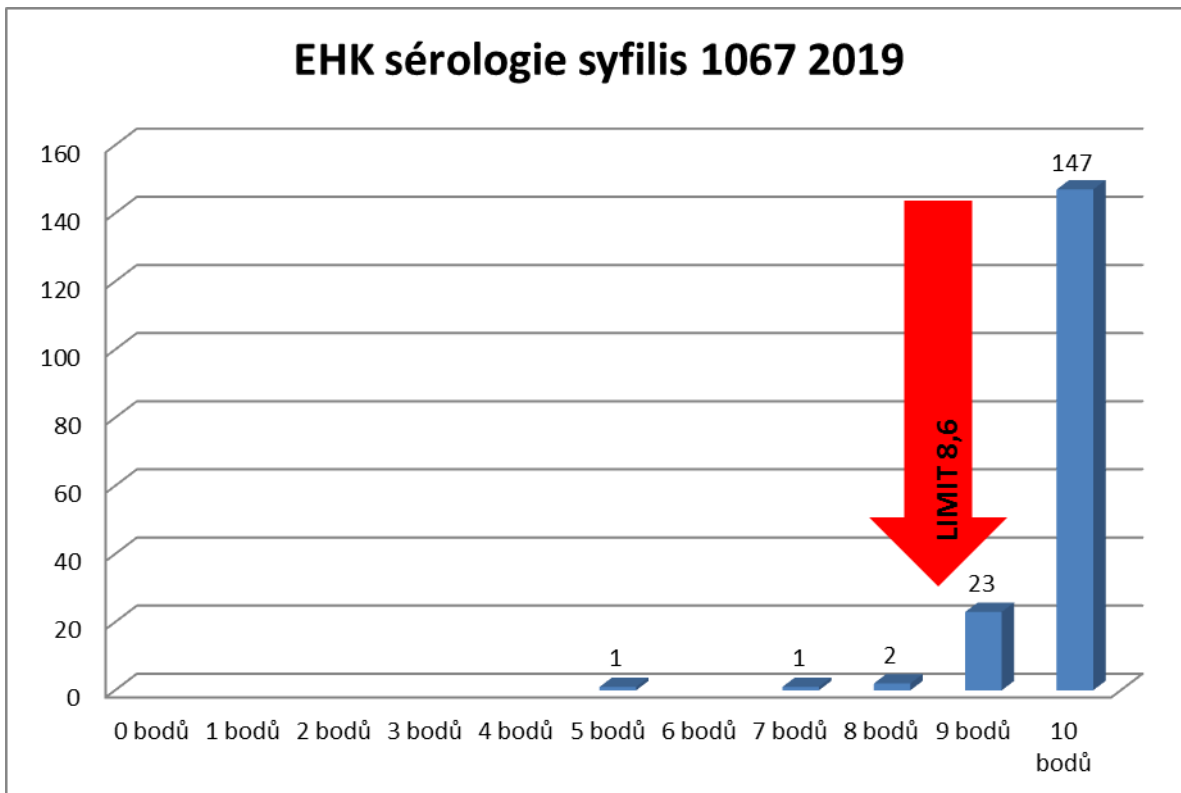
Graf 5:



Graf 6:



Za negativní výsledek v FTA-ABS a western blot IgG testu u vzorku E nebyly laboratoře penalizovány.

Závěr:**Hodnocení EHK 1067****Aritmetický průměr: 9,8****Směrodatná odchylka: 0,6****Limit: 8,6**

Ze 174 zúčastněných laboratoří v rámci EHK-1067 sérologie syfilis uspělo 170 laboratoří. Laboratoře, které nedosáhly limitu (tj. **8,6** bodů), si mohou do 14 dnů objednat opravnou sérii cestou AP CEM (e-mailem nebo telefonicky). Opravná série proběhne dne 8. 10. 2019.

V případě reklamace postupujte dle reklamačního řádu.