



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/21/2019 (č. 1076)

Sérologie chlamydií

Praha, srpen 2019

Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing) 3
2. Příprava vzorku 4
3. Hodnocení 4-8
4. Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře

Program zkoušení způsobilosti PT#M/21/2019 byl zaměřen na sérologii chlamydií. Návrh a realizace PT#M/21/2019 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 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: 267 082 782

Zprávu vypracoval:

MUDr. Hana Zákoucká, NRL pro chlamydie, SZÚ Praha

Zprávu schválil: MUDr. Hana Zákoucká

Dne: 13. 8. 2019

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

www.szu.cz/espt

email: apcem@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/21/1076

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/21/2019 EHK 1076
Název:	Sérologie chlamydií
Poskytovatel:	SZÚ - ESPT AP CEM- Akreditační prac. pro zajišťování EHK v lék. mikrobiologii Šrobárova 48, Praha 10, 100 42 tel.: + 420 267082427, fax.: + 420 267082427
Vedoucí ESPT	Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor:	MUDr. Hana Zákoucká
Charakteristika materiálu:	5 vzorků á 0,5/ 1 ml obsahující lidské sérum a plasmu
Podstata a účel EHK:	Stanovení rodových a druhových protilátek proti chlamydiím
Kritéria pro účast na PT:	Není omezena
Způsob přípravy:	Vzorky byly připraveny z poolovaného lidského séra a plasmu a vyšetřeny na přítomnost cílových markerů. K dosažení potřebného objemu (daného přihlášeným počtem účastníků EHK) byl výchozí materiál doředen negativní lidskou plasmou.
Množství připravovaného test. materiálu:	Pro 110 laboratoří
Označení vzorkovnic:	EHK – 1076, PT#M/21, č. 1 – 5, 24. 4. 2019
Zabezpečení kvality vzorku:	Test homogenity byl proveden pro 2 náhodně vybrané vzorky z připravených aliquotů vzorků A až E dle SOP M/21. Stabilita: testování anonymizovaných vzorků v rámci kola EHK.
Návaznost metody:	Klinický materiál
Termín testu homogenity a stability:	Před distribucí vzorků a v termínu příslušného kola
Termín distribuce:	24. 4. 2019
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Přeprava a krátkodobé uchování při 4 – 12 ° C chránit před světlem
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe
Počet účastníků:	104 laboratoří
Způsob distribuce:	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 přepravcem se službou přeprava biologického materiálu. Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	elektronicky do 15. 5. 2019
Způsob vyhodnocení výsledků:	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. Každý správně diagnostikovaný marker je hodnocen 1 bodem, nesprávný výsledek testu konkrétního markeru pak 0 body. Laboratoře mohou získat maximálně za všechna možná stanovení 90 bodů.
Určení maximální odchylky:	80 - 100% z maximálně možného počtu bodů
Určení přijaté vztahné hodnoty:	Výsledky NRL pro chlamydie
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 12 týdnů po ukončení kola

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 doředěn 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/ 1 ml). Testování se provádělo v době přípravy série a následně byl proveden test anonymizovaných vzorků v rámci kola EHK.

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

3. Hodnocení

Dne 24. 4. 2019 byly rozeslány vzorky 104 laboratořím. Ke dni 15. 5. 2019 obdrželo pracoviště AP CEM výsledky 102 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 C obsahovaly identická séra.

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

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.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
E	POZ.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.

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

ELISA CTR Medac		
IgG	IgA	IgM
neg.	neg.	/
POZ.	POZ.	/
POZ.	POZ.	/
neg.	neg.	/
neg.	neg.	/

ELISA LPS Medac		
IgG	IgA	IgM
neg.	neg.	neg.
POZ.	neg.	neg.
POZ.	neg.	neg.
neg.	neg.	neg.
neg.	neg.	neg.

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

IB recomLine CTR		
IgG	IgA	IgM
neg.	neg.	neg.
POZ.	POZ.	neg.
POZ.	POZ.	neg.
neg.	neg.	neg.
neg.	neg.	neg.

IB recomLine CPS		
IgG	IgA	IgM
neg.	neg.	neg.
POZ.	neg.	neg.
POZ.	neg.	neg.
neg.	neg.	neg.
neg.	neg.	neg.

Použité zkratky:

CPN *Chlamydia pneumoniae*

CTR *Chlamydia trachomatis*

CPS *Chlamydia psittaci*

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

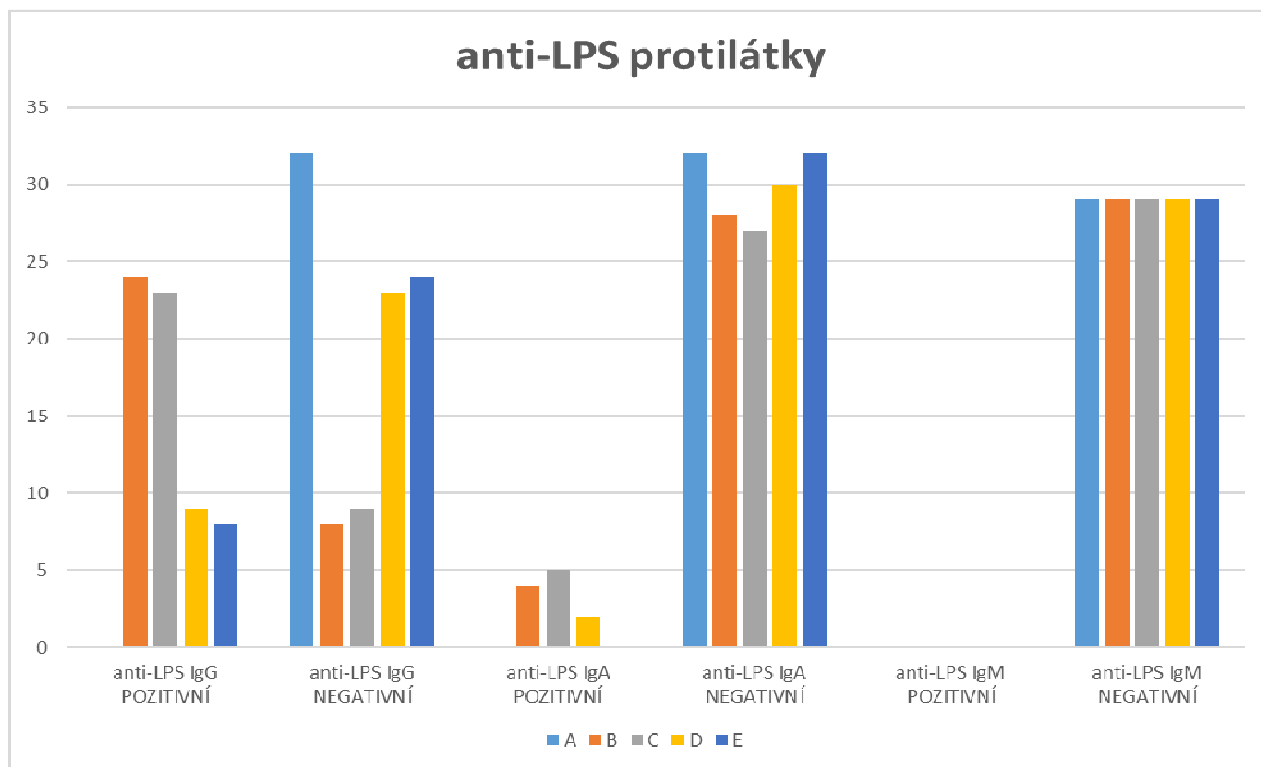
Výsledky zúčastněných laboratoří:

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, tak i odchylky způsobené užitím různých diagnostik. Tento postup, stejně jako při předcházejících ročních EHK, respektuje poměrně značnou nevyrovnanost výsledků vyšetření dosažených různými diagnostikami a různými metodickými přístupy.

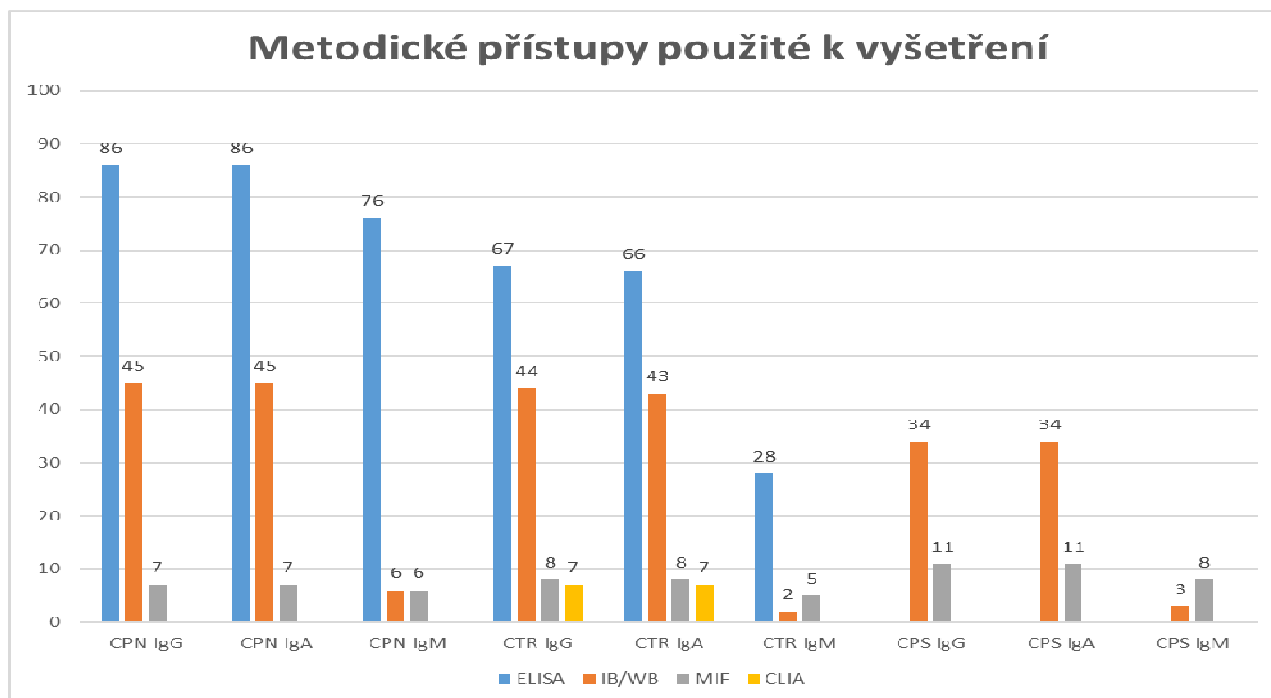
Zastoupení jednotlivých výsledků uvádíme v následujících grafech:

Graf 1: rodové protilátky (anti-LPS) vyšetřilo celkem 32 laboratoří



Letošní série obsahovala materiál s IgG anti-LPS protilátkami ve vzorku B a C (šlo identické sérum). Testy anti-LPS provedlo 32 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 zkrsluje výsledek přidání druhových antigenů.

Graf 2: druhové protilátky vyšetřilo celkem 99 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,

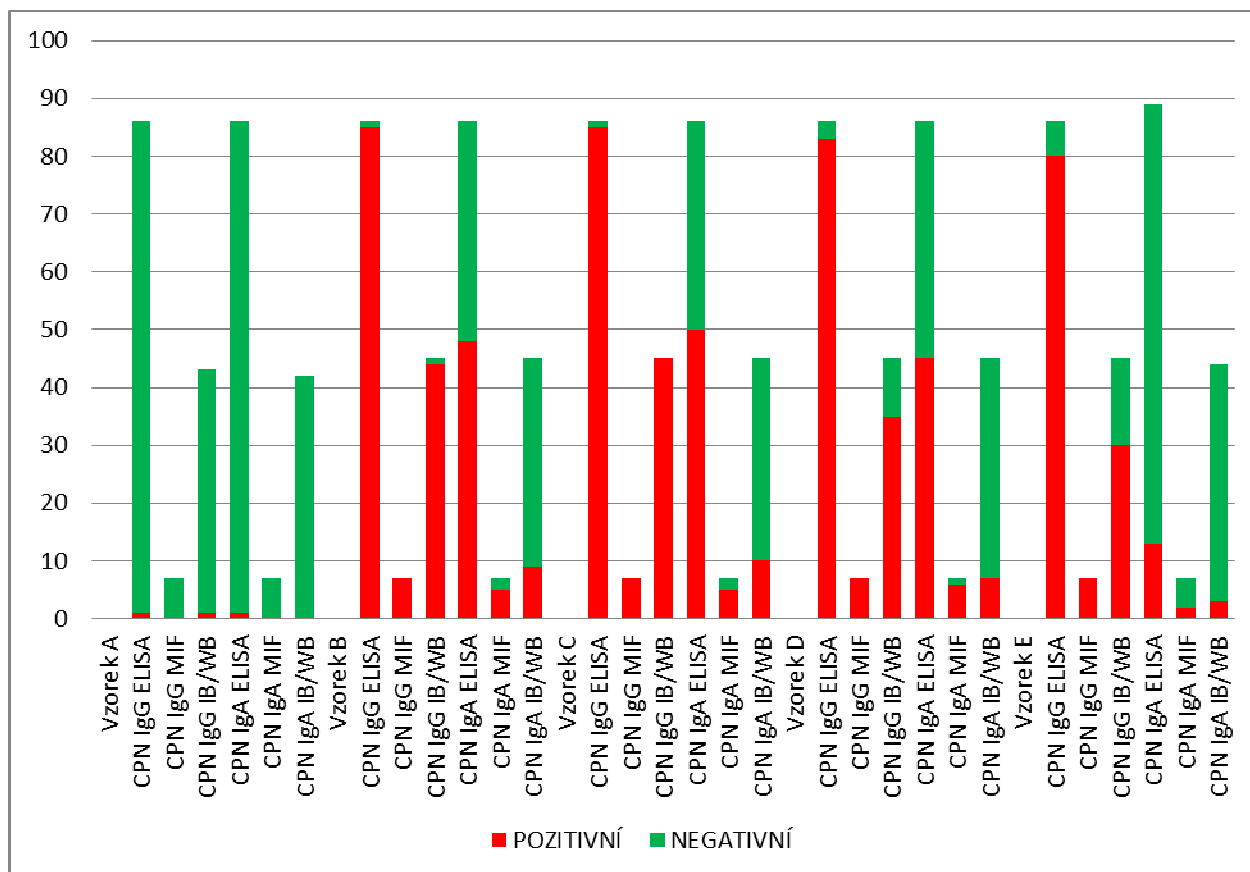
CLIA chemiluminiscence

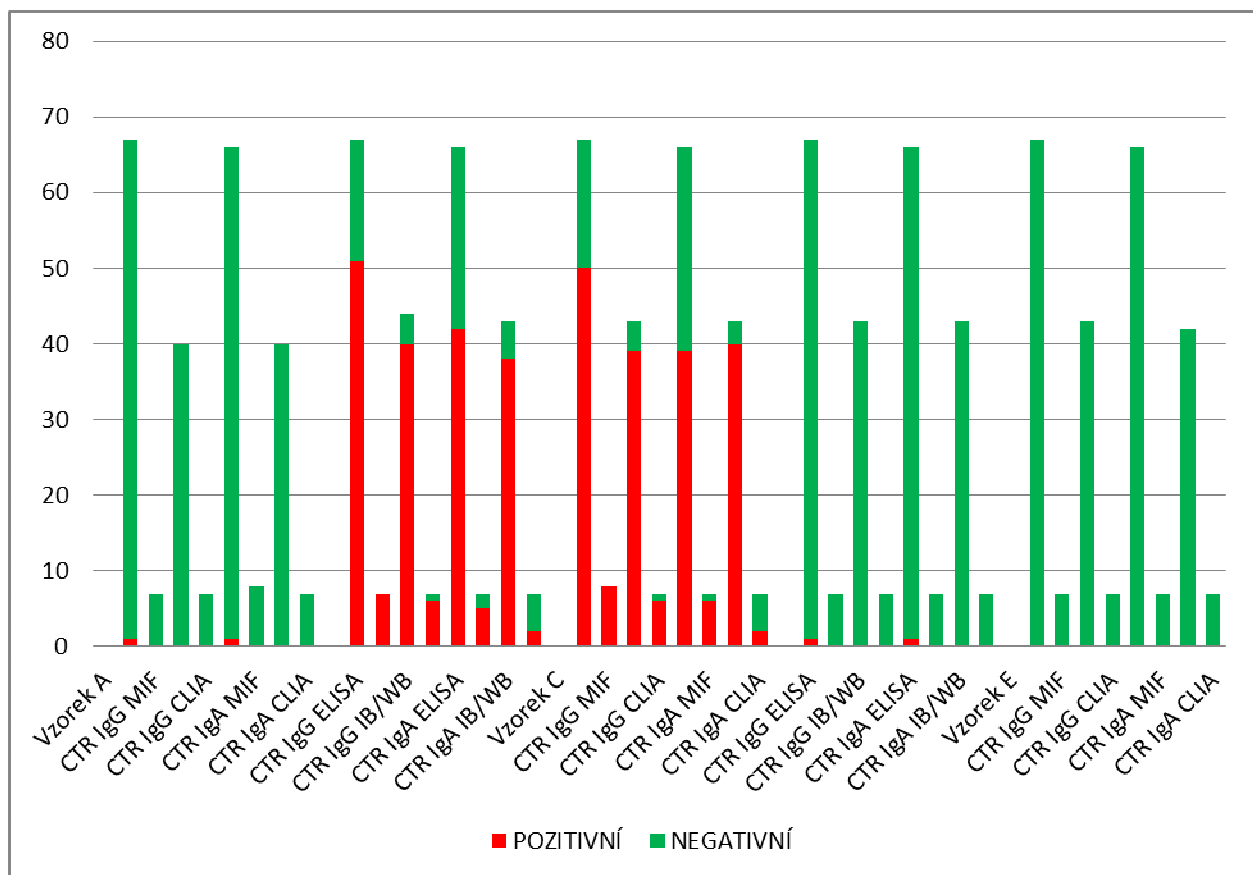
Při testování druhových protilátek (graf 2) byla patrná variabilita (graf 3 a 4) nejen mezi jednotlivými výrobci testů, ale také mezi jednotlivými typy testů od stejného výrobce a dokonce i rozdílnost výsledků vyšetření párového séra (vzorek B a C) stejným testem. Rozdílnost testů různých producentů je závislá z části na složení antigenů, proti kterým byly protilátky obsažené 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 ve srovnání s opravdu negativním vzorkem A (ELISA CPN IgA). V případě neshody párového séra jde pravděpodobně o laboratorní chybu.

U testu CLIA na protilátky anti-*Chlamydia trachomatis* IgG se výrazně zlepšila záchytnost v porovnání s předchozími 2 roky, u testu IgA se opět objevilo selhání soupravy použitého diagnostika. U laboratoří, které jej použily, nebyl tento test zahrnut do hodnocení EHK.

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

Graf 3: druhové protilátky anti – *Chlamydia pneumoniae*



Graf 4: druhové protilátky anti – *Chlamydia trachomatis***Závěr**

V testování série EHK-1076 sérologie chlamydií neuspěly 3 laboratoře, 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.

Laboratoře, které neuspěly, si mohou do 14 dnů po obdržení výsledků požádat cestou AP CEM o opravnou sérii, která proběhne 8. 10. 2019.

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