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

Externí hodnocení kvality

PT#M/8/2020 (č. 1116)

Sérologie leptospirózy

Praha, červen 2020

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/8/2020 byl zaměřen na sérologii leptospirózy. Návrh a realizace PT#M/8/2020 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 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: 15. 6. 2020

Pracoviště ESPT 2
www.szu.cz/espt

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/8/2020

Identifikace série:	EHK 1116
Název:	Sérologie leptospirózy; PT#M/8/2020
Poskytovatel	SZÚ, ESPT Šrobárova 49/48, Praha 10, 100 00 tel.: + 420 267082575, fax.: + 420 267082271
Vedoucí ESPT	Ing. Viera Vrbíková
Koordinátor:	RNDr. Petr Kodym, 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:	Provádění vyšetření metodou MAT
Způsob přípravy:	viz Protokol o přípravě vzorků
Množství připravovaného testovaného materiálu:	6 ml od každého vzorku
Označení vzorkovnic:	EHK 1116, PT # M/8, č. 1 - 5, 3. 3. 2020
Termín distribuce vzorků:	3. 3. 2020
Zabezpečení kvality vzorku:	Test homogenity Stabilita: Opakované testování v průběhu skladování vzorků
Metrologická návaznost:	viz Protokol o přípravě vzorků
Termín testu homogenity a stability:	2. 3., 9. 3., 16. 3. 2020
Podmínky distribuce a uchovávání vzorků:	Přeprava a krátkodobé uchování při 4-12°C Chránit před světlem
Počet účastníků:	12
Způsob distribuce:	Osobní převzetí účastnickou laboratoří / přepravní služba Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	Písemně do 24. 3. 2020 na předepsaných formulářích
Způsob vyhodnocení výsledků:	Kvalitativní a semikvantitativní výsledky a jejich interpretace jsou ohodnoceny 0-2 body/vzorek, (maximum: 10 bodů). Limit úspěšnosti se stanoví takto: od průměrného bodového ohodnocení všech laboratoří se odečtou 2 směrodatné odchylky.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Z hodnot bodového ohodnocení jednotlivých účastníků

2. Příprava vzorků

Simulované klinické vzorky pro EHK byly připraveny ze zásobních směsí hyperimunních králičích sér a pacientských sér.

Příprava zásobních směsí sér: Séra imunizovaných králíků a pacientská séra byla skladována v mrazicím boxu při teplotě -20 ^{0}C ± 5 ^{0}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. Vzorky byly stabilizovány 0,001% azidu sodného a **vyšetřeny s těmito výsledky:**

Kategorie vzorku	MAT- Ag Pozit +	Anti-LEPTO titr Ig
A	negativní	-
B	*L. canicola*	1:1 600
C	*L. sejroe*	1: 800
D	*L. icterohaemorrhagiae*	1: 3200
E	negativní	-

Objem každého vzorku EHK byl směsí sér příslušné kategorie upraven na 6 ml. Každý vzorek byl rozplněn do lahviček – objem 300 µl (12 od každého vzorku). Vzorky byly označeny a předány k zabalení a rozeslání. Skladovány byly v chladničce při 2^{0}C -8^{0}C.

3. 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 leprospiróz. 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 banky referenčních kmenů v NRL LEPT CEM SZÚ.

Ve zkušebních vzorcích byly přítomny protilátky proti u nás nejčastěji se vyskytujícím leptospirám, kauzálním agens našich nejběžnějších leptospiróz *L. canicola, L. sejroe* a *L. icterohaemorrhagiae* (viz tabulka). Dva zkušební vzorky byly negativní.

Určení kauzálního druhu leptospir/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 chybný výsledek jednoho vzorku. Nejvyšší hodnocení **celé správné série** je tedy **10 bodů**.

Vzorek A hlásí jako negativní všechny laboratoře s výjimkou jediné. U **vzorku B** zaznamenalo správný výsledek - reakci na *Leptospira canicola* (včetně titrů v tolerovaném rozsahu) 10 laboratoří, ojediněle byla pozorována i slabší reakce s antigenem *L. copenhageni* a *L. hardjo*. Dvě laboratoře uvádějí nesprávné druhy leptospir. Rovněž **vzorek C** vyšel 10 laboratořím správně (*L. sejroe*) a to 9x i s adekvátním titrem; dále bývá uváděna reaktivita s *L. istrica* Bratislava, *L. sorex* Jalna a s *L. polonica*. Jedna laboratoř uvedla nesprávný a jedna negativní výsledek. U **vzorku D** 9 laboratoří správně uvádí *L. icterohaemorrhagiae*, některé laboratoře navíc detekovaly i nízké titry protilátek reagujících s *L. copenhageni,* a *L. canicola*. V tomto vzorku se i nejvíce chybovalo (2x nesprávný a 1x negativní výsledek) a byl pro laboratoře nejtěžší. Naopak **vzorek E** správně označily všechny laboratoře za negativní.

Maximálního počtu 10 bodů dosáhlo v sérii EHK – 1116 sedm z 12 hodnocených laboratoří. Tři laboratoře dosáhly výsledku 8 bodů (jedna laboratoř uvedla nesprávně druh leptospiry u vzorku B, druhá laboratoř uvedla nesprávný druh u vzorku C a třetí laboratoř uvedla nesprávně druh u vzorku D). Jedna laboratoř získala celkem 6 bodů (jeden pozitivní vzorek označila za negativní a u vzorku D uvedla špatně druh). Jedna laboratoř získala pouze 4 body (u vzorku B uvedla nesprávně druh leptospiry, jeden negativní vzorek označila za pozitivní a jeden pozitivní vzorek označila za negativní). Tato laboratoř skončila pod hranicí úspěšnosti a bohužel nezíská v tomto kole certifikát.

Tabulka: Bodové hodnocení laboratoří v EHK – 1116

Dosažené body	10	8	6	4
Počet laboratoří	7	3	1	1 = 12

Závěrečné hodnocení této kontrolní a edukativní série EHK 1116 laboratoří diagnostikujících leptospirózu u nás je následující**. Hranice úspěšnost**i vypočtena z aritmetického průměru 8,67 mínus dvakrát směrodatné odchylky 3,72 je **4,95.** V této sérii dosáhlo akceptovatelných výsledků 11 diagnostikujících laboratoří, které by měly obdržet certifikát od ESPT. Jedna laboratoř neuspěla.

Opravné kolo série proběhne v podzimním termínu. O opravné vzorky je možné zažádat **do 14 dnů** od doručení výsledků. V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu.

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.