



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**

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii  
(Externí hodnocení kvality)

**PT#M/8/2021 (EHK 1180)**

**Sérologie leptospirózy**

**Praha, červen 2021**

## Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2. Způsob přípravy vzorků	4
3. Charakteristika materiálu	4
4. Způsob hodnocení	4
5. Vyhodnocení	5
6. Závěr	5

Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře

Program zkoušení způsobilosti PT#M/8/2021 byl zaměřen na sérologii leptospirózy. Návrh a realizace PT#M/8/2021 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 pro každou zúčastněnou laboratoř k dispozici na webových stránkách SZÚ (<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>) po přihlášení kódem a heslem v záložce „Hodnocení sérií“.

### **Zprávu vypracoval:**

Mgr. Tereza Kreysová, NRL pro leptospirózu, SZÚ Praha

### **Zprávu autorizoval:**

RNDr. Petr Kodym, CSc.

Tel: 267 082 105

**Dne:** 2. 6. 2021

### **Pracoviště 2 ESPT**

<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>)

e-mail: ehk@szu.cz

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/8/2021**

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1180
Název:	Sérologie leptospirózy
Koordinátor:	RNDr. Petr Kodym, CSc.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3
Podstata a účel PT:	Identifikace původce a stanovení titrů specifických protilátek
Kritéria pro účast na PT:	Provádění vyšetření metodou MAT
Způsob přípravy:	viz kapitola 2
Množství připravovaného testovaného materiálu:	6 ml od každého vzorku
Označení vzorkovnic:	EHK 1180, PT # M/8, č. 1 – 5, 23. 2. 2021
Zabezpečení kvality vzorku:	Garance adekvátního obsahu specifických protilátek: Příprava podle standardních metod na akreditovaném pracovišti, vyšetření vzorků na testované markery akreditovanými metodami dle schválených SOP. Stabilita vzorku: průběžná kontrola, adekvátní skladování, stabilizace 0,001% azidu sodného.
Test homogenity a stability:	Výchozí materiál je testován na příslušné cílové markery. Finální vzorek je opakovaně testován na všechny příslušné cílové markery před i po rozplnění v čase, kdy laboratoře vzorky vyšetřují.
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Distribuce v předepsaném obalu. Krátkodobé uchování vzorků v chladničce při teplotě 2 - 8 °C, dlouhodobě při -18 až -24°C, zamezit opakovanému zamrazování a rozmrazování.
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor.
Počet účastníků:	12
Termín distribuce:	23. 2. 2021
Způsob distribuce:	Přepravní službou (zajišťuje Koordinační pracoviště ESPT 2)
Předání výsledků:	V elektronické podobě přes webové rozhraní SZÚ za použití aplikace EHK 10
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
Určení přijaté vztažené hodnoty:	Výsledky NRL
Termín zveřejnění očekávaných výsledků:	26. 3. 2021
Termín zveřejnění závěrečné zprávy:	8. 6. 2021

## 2. Způsob přípravy vzorků

Simulované klinické vzorky pro EHK byly připraveny z hyperimunních králičích sér a ze zásobních směsí patientských sér. Výchozí materiál byl dlouhodobě uskladněn při teplotě  $-20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$  a před použitím skladován při teplotě 2 až 8  $^{\circ}\text{C}$ . Séra imunizovaných králíků a patientská séra, vyšetřená v NRL LEPT, byla skladována v mrazícím boxu při teplotě  $-20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Poté, co uplynula lhůta povinného jednoletého skladování patientských vzorků pro případ kontroly vyšetření, byly vzorky rozmrazeny a slity, a to tak, aby byly smíseny vždy vzorky, jež mají stejnou kategorii kvalitativního a semikvantitativního obsahu stanovovaných markerů. Každý vzorek byl stabilizován 0,001% azidu sodného, rozplněn do lahvíček a předán k rozeslání.

## 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.

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

Výsledky vyšetření vzorků v NRL LEPT shrnuje tabulka 1.

Kategorie vzorku	MAT- Ag Pozit +	Anti-LEPTO titr Ig
A	<i>Leptospira pomona</i>	1:3200
B	<i>Leptospira icterohaemorrhagiae</i>	1:3200
C	<i>Leptospira sorex-jalna</i>	1: 3200
D	negativní	-
E	negativní	-

**Tab. 1:** Výsledky vyšetření vzorků EHK 1180 v NRL LEPT

Vzorky jsou určeny pro vyšetření mikroskopickým aglutinačním testem (MAT), který je (nejen) u nás „zlatým standardem“ sérologické diagnostiky leptospiróz. 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.

## 4. Způsob hodnocení

V zaslaných vzorcích séra měla každá diagnostická laboratoř zjistit sérologickou metodou MAT kvalitativně a semikvantitativně přítomnost (nebo nepřítomnost) antileptospirových protilátek.

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 +/- 2 titry, **1 bod** za správné určení sérovaru, ale odlišně udanou titraci, hodnocení **0 bodů** pak udělila NRL za celkově chybný výsledek jednoho vzorku. Nejvyšší hodnocení **celé správné série** je tedy **10 bodů**. Hranice úspěšnosti je vypočtena z aritmetického průměru mínus dvakrát směrodatná odchylka.

## 5. Vyhodnocení

**U vzorku A** 9 laboratoří správně uvádí *L. pomona*, u tohoto vzorku byl uveden dvěma laboratořemi nesprávný výsledek (*L. grippotyphosa* a *L. bratislava*) a jednou laboratoří negativní výsledek. U **vzorku B** zaznamenalo správný výsledek - reakci na *L. icterohaemorrhagiae* (včetně titrů v tolerovaném rozsahu) 9 laboratoří, dvě laboratoře uvedly nesprávný výsledek (*L. canicola* a *L. sorex*) a jedna laboratoř uvedla negativní výsledek. **Vzorek C** správně označilo 8 laboratoří, 3 laboratoře uvedly nesprávný výsledek (*L. icterohaemorrhagiae*) a jedna laboratoř vzorek C hodnotila jako negativní. U vzorku C se nejčastěji chybovalo a byl pro laboratoře nejtěžší. Naopak **vzorek D a vzorek E** správně označily všechny laboratoře jako negativní.

Maximálního počtu 10 bodů dosáhlo v sérii EHK – 1180 šest ze 12 hodnocených laboratoří. Čtyři laboratoře dosáhly výsledku 8 bodů (dvě laboratoře uvedly nesprávně druh leptospiry u vzorku C, jedna laboratoř uvedla nesprávný druh u vzorku B a jedna laboratoř uvedla negativní výsledek u vzorku B). Dvě laboratoře získaly celkem 6 bodů (obě laboratoře uvedly špatný druh leptospiry u pozitivního vzorku a negativní výsledek u pozitivního vzorku).

**Tab. 2: Bodové hodnocení laboratoří v EHK – 1180**

Dosažené body	10	8	6	
Počet laboratoří	6	4	2	= 12

**Závěrečné hodnocení** této kontrolní a edukativní série EHK 1180 laboratoří diagnostikujících leptospirózu v ČR je následující. **Hranice úspěšnosti** vypočtena z aritmetického průměru 8,7 mínus dvakrát směrodatné odchytky 1,6 je **5,5**. V této sérii dosáhlo výsledků nad hranicí úspěšnosti všech 12 diagnostikujících laboratoří. Ty obdrží od ESPT certifikát o úspěšné účasti.

## 6. Závěr

Vzorky byly rozeslány celkem 12 laboratořím, výsledkové formuláře vyplnilo a zaslalo 12 laboratoří. Uspělo všech 12 zúčastněných laboratoří (z toho 6 s bodovou ztrátou). Účastníci EHK 1180 v převážné většině potvrdili, že vyšetřování leptospirózy metodou MAT jim nečiní potíže a získali vysoké bodové ohodnocení. Skutečně závažných chyb bylo opravdu málo, kvalitativní nebo semikvantitativní výsledky testu zpravidla nejsou problémem. 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.

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

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY