



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/21/2022 (EHK 1272)

Sérologie chlamydií

Praha, září 2022

Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2. Způsob přípravy vzorku	4
3. Charakteristika materiálu	4
4. Způsob hodnocení	4
5. Vyhodnocení	4-14
6. Závěr	15
Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/21/2022 (EHK 1272) byl zaměřen na sérologii chlamydií. Návrh a realizace PT#M/21/2022 (EHK 1272) 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 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 ve webové aplikaci SZÚ v odkazu: <https://ehk.szu.cz/EHK10/> po přihlášení kódem laboratoře a heslem.

Zprávu vypracoval:

MUDr. Hana Zákoucká, NRL pro chlamydie, SZÚ Praha

Zprávu autorizoval:

MUDr. Hana Zákoucká, NRL pro chlamydie, SZÚ Praha
tel.: 267082795

Dne: 12. 9. 2022

Pracoviště 2 ESPT:

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

email: ehk@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/21/2022

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1272
Název:	Sérologie chlamydií
Koordinátor:	MUDr. Hana Zákoucká
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3
Podstata a účel EHK:	Stanovení rodových a druhových protilátek proti chlamydiím.
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Není omezena.
Způsob přípravy:	Popis připraveného materiálu viz. kapitola 2.
Množství připravovaného testovaného materiálu:	110 sad (1 sada á 5 vzorků po 0,5 ml)
Označení vzorkovnic:	EHK – 1272, PT#M/21, č. 1 – 5, 31. 5. 2022
Zabezpečení kvality vzorku:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Obsahuje-li výchozí materiál po rozmrazení viditelné částice organického materiálu (bílkoviny, tuky), je zcentrifugován. 2. Pro zajištění stability je do výchozího materiálu přidán ProClin 950 v 0,05-0,1 % koncentraci.
Test homogenity a stability vzorku:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Test homogenity je prováděn pro 2 náhodně vybrané vzorky z připravených aliquotů vzorků A až E dle SOP M/21. 2. Stabilita - testováním anonymizovaných vzorků v rámci kola EHK.
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Přeprava a krátkodobé uchování při 4 – 12 ° C, chránit před světlem, zabránit opakovanému rozmrazování.
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe
Počet účastníků:	102 laboratoří
Termín distribuce:	31. 5. 2022
Způsob distribuce:	Přepavní služnou, zajišťuje Koordinační pracoviště.
Předání výsledků:	V elektronické podobě za použití aplikace EHK10.
Způsob vyhodnocení výsledků:	<p>Viz kapitola 4.</p> <p>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.</p> <p>Každý správně diagnostikovaný marker je hodnocen 1 bodem, nesprávný výsledek testu konkrétního markeru pak 0 body. Laboratoře mohou získat maximálně za všechna možná stanovení 115 bodů.</p>
Určení maximální odchylky:	80 - 100% z maximálně možného počtu bodů.
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Výsledky NRL pro chlamydie.
Termín uveřejnění očekávaných výsledků:	1. 7. 2022
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 13. 9. 2022.

2. Způsob přípravy vzorků

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). 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 0,5 ml do připravených sterilních zkumavek. Vzorky byly označeny pořadovým číslem 1 – 5, číslem EHK a datem rozeslání.

3. Charakteristika materiálu

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.

4. Způsob hodnocení

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.

5. Vyhodnocení

Dne 31. 5. 2022 byly rozeslány vzorky 102 laboratořím. Ke dni 21. 6. 2022 obdrželo pracoviště ESPT2 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 A, B a C, D obsahovaly identická séra.

Jako každý rok se objevily v několika (3) laboratořích chyby v zápisu do jiného markeru, než jaký laboratoř označila. Tato nepozornost musela být, bohužel, v souladu s podmínkami penalizována. U 3 laboratoří chyběl zápis výsledků u některých markerů.

Tabulka č. 1: Výsledky vyšetření v NRL

Vzorek	MIF CPN			MIF CTR			MIF CPS		
	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM
A	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
B	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
C	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.
D	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.
E	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.

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

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

ELISA enzymová imunoasay, MIF mikroimunofluorescence, IB/WB imunoblot/western blot,

CLIA chemiluminiscence

Výsledky zúčastněných laboratoří:

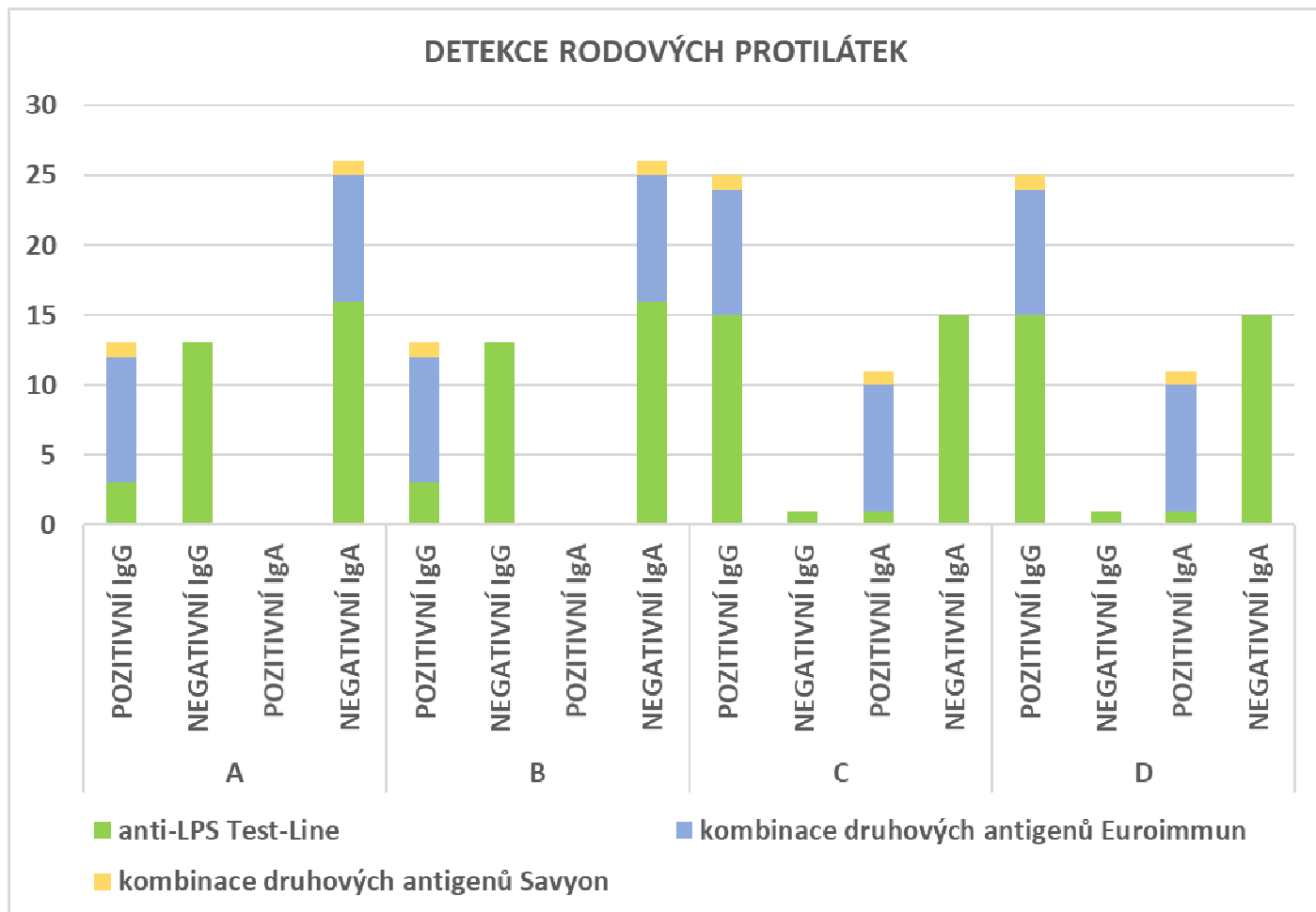
Při hodnocení výsledků rodově specifických testů (detekce anti-LPS protilátek) bylo možno získat maximálně 15 bodů (za každý vzorek maximálně 3 body, za každou jednu chybu - mínus 1 bod). Při hodnocení druhově specifických protilátek bylo hodnoceno všech 9 parametrů (IgG, IgA, IgM u tří druhů: *Chl. 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 a shoda hodnoceného výsledku u 80% laboratoří, tak i odchylky způsobené užitím různých diagnostik. Tento postup, stejně jako při předcházejících ročnících 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 16 laboratoří, celkové protilátky proti kombinaci antigenů všech tří druhů vyšetřilo celkem 10 laboratoří



Letošní série obsahovala materiál s IgG anti-LPS protilátkami ve vzorku C a D. Testy na rodové protilátky provedlo 26 laboratoří, z toho 25 v kombinaci s některými testy druhových protilátek. Laboratoře použily diagnostika 3 různých výrobců Euroimmun, Savyon, Test-Line. U testů Euroimmun a Savyon zkresluje výsledek přidání druhových antigenů, tento fakt byl, jako vždy, zohledněn.

Při testování druhových protilátek, které provedlo 101 laboratoří, byla patrná variabilita (viz grafy 2 až 17) nejen mezi jednotlivými výrobci testů, ale také mezi jednotlivými typy testů od stejného výrobce. Rozdílnost testů různých producentů je závislá z části na složení antigenů, proti kterým byly protilátky obsaženy 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 positivity.

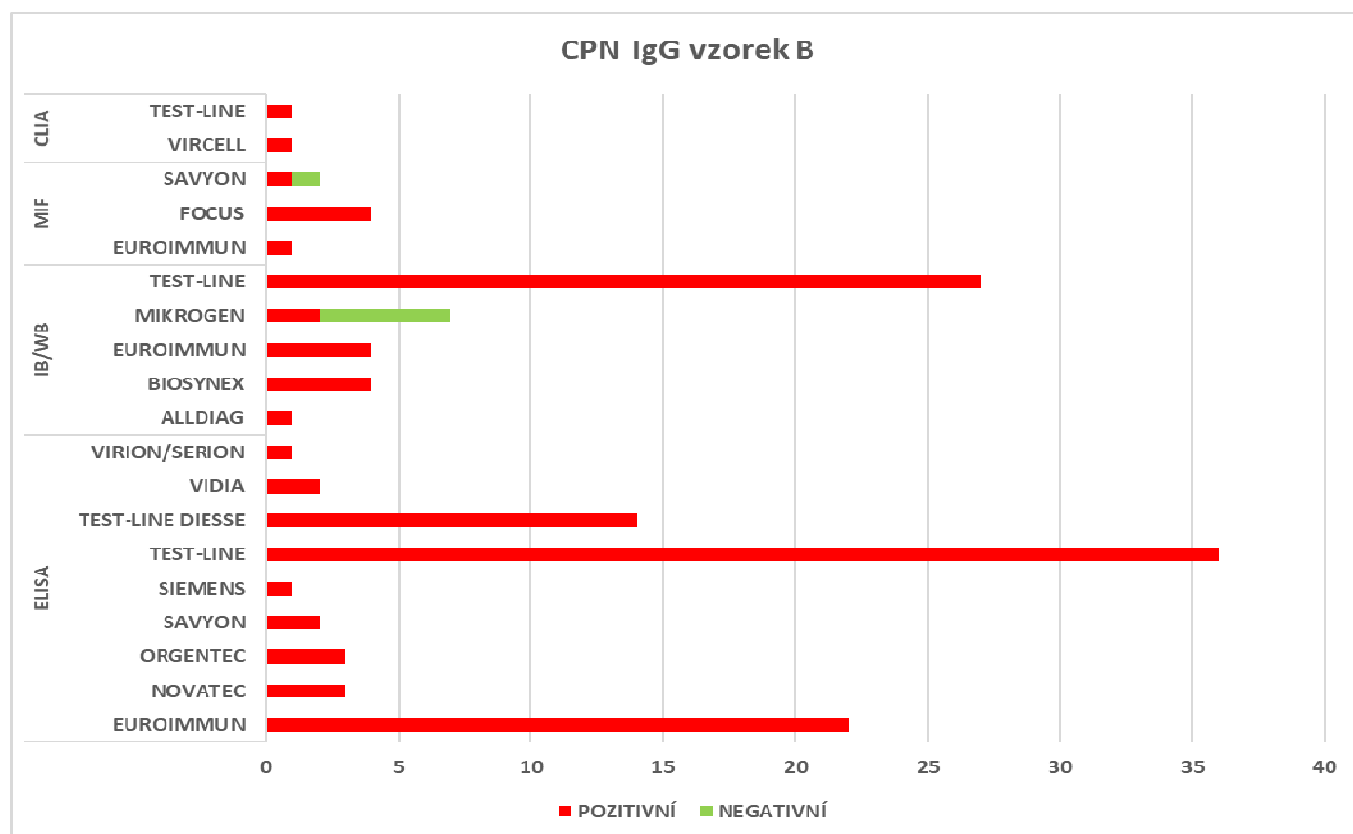
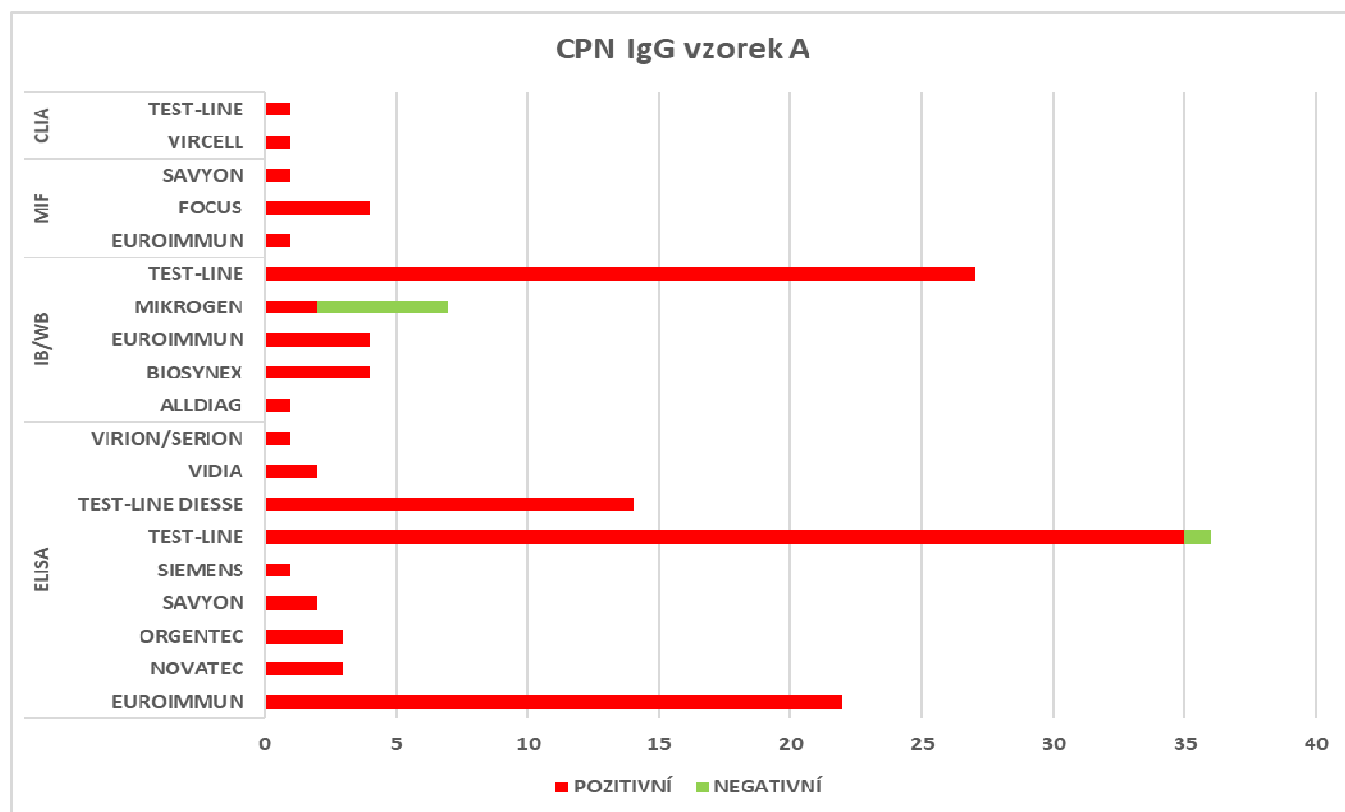
U stanovení protilátek anti-*Chlamydia trachomatis* se projevil v celkovém zastoupení negativního a pozitivního nálezu výrazný podíl diagnostika od jednoho výrobce na poměru výsledků vzorků A a B (identické vzorky) ve třídě IgG a IgA. U *Chlamydia pneumoniae* je patrný stejný fenomén u testů ELISA ve třídě IgA.

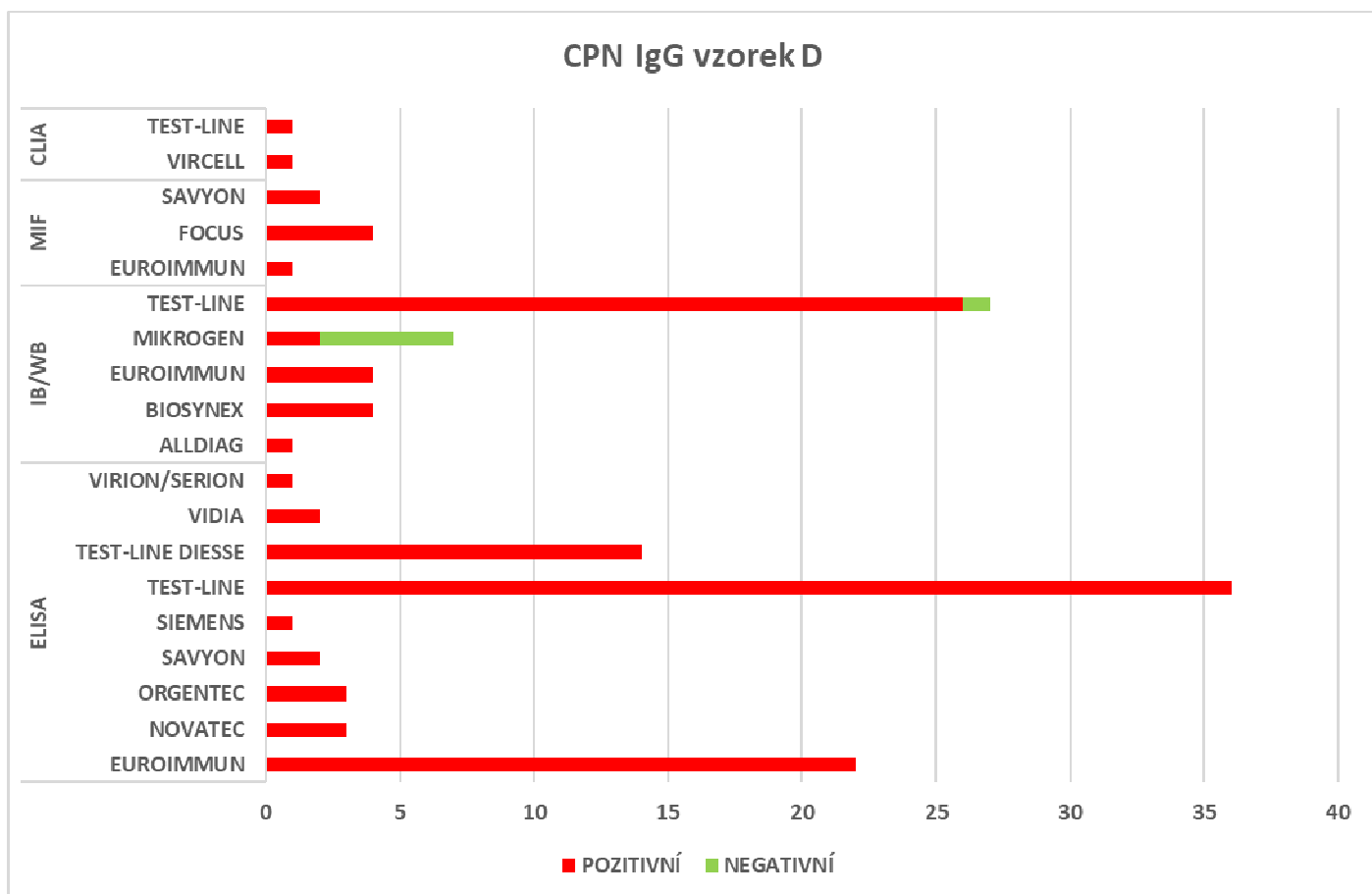
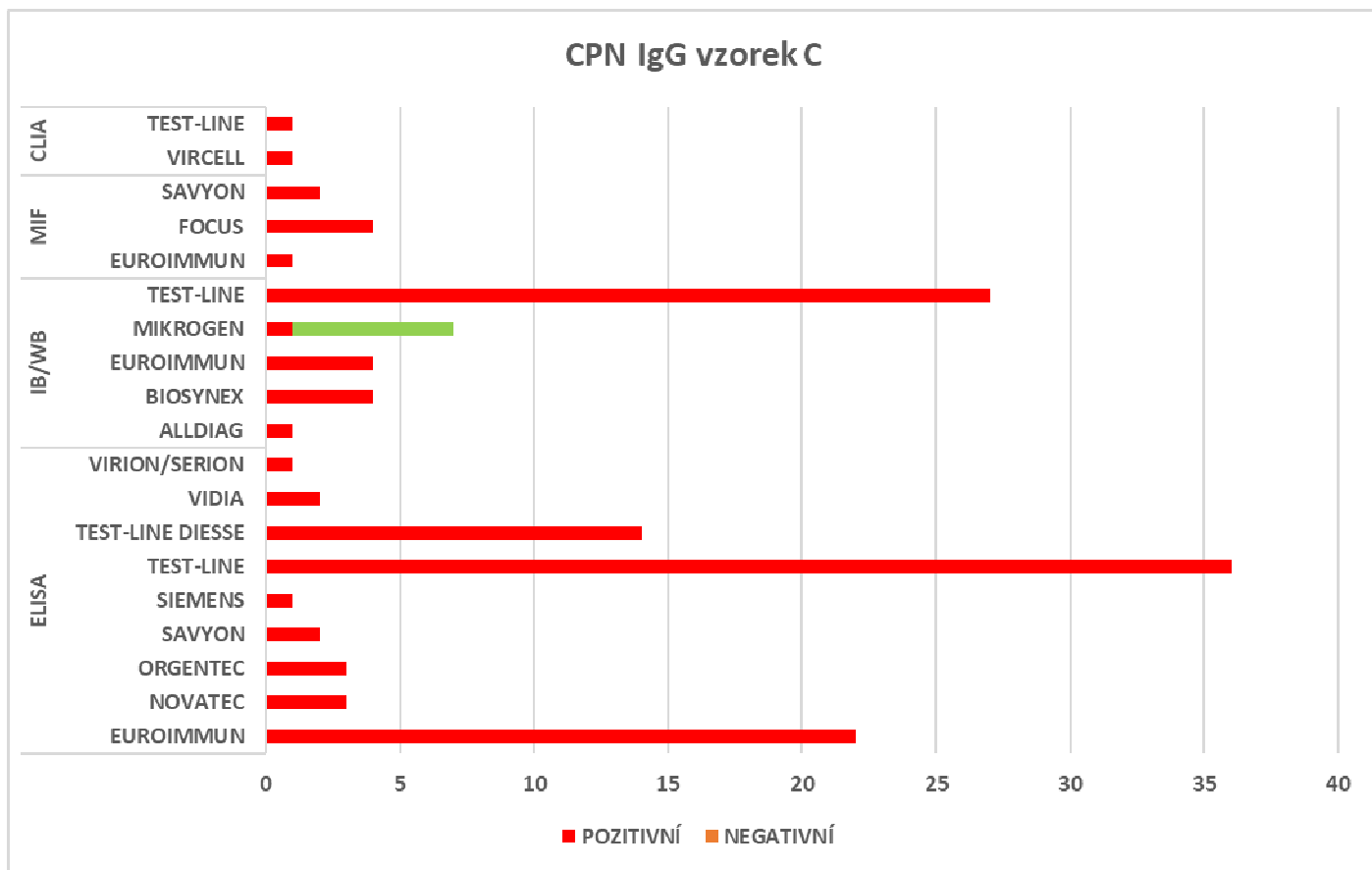
Protilátky proti *Chlamydia psittaci* nebyly ve vzorcích obsaženy. Ojedinele se vyskytla zkřížená reaktivita v testech anti-*Chlamydia psittaci* IgG IB/WB u vzorku A (1 laboratoř).

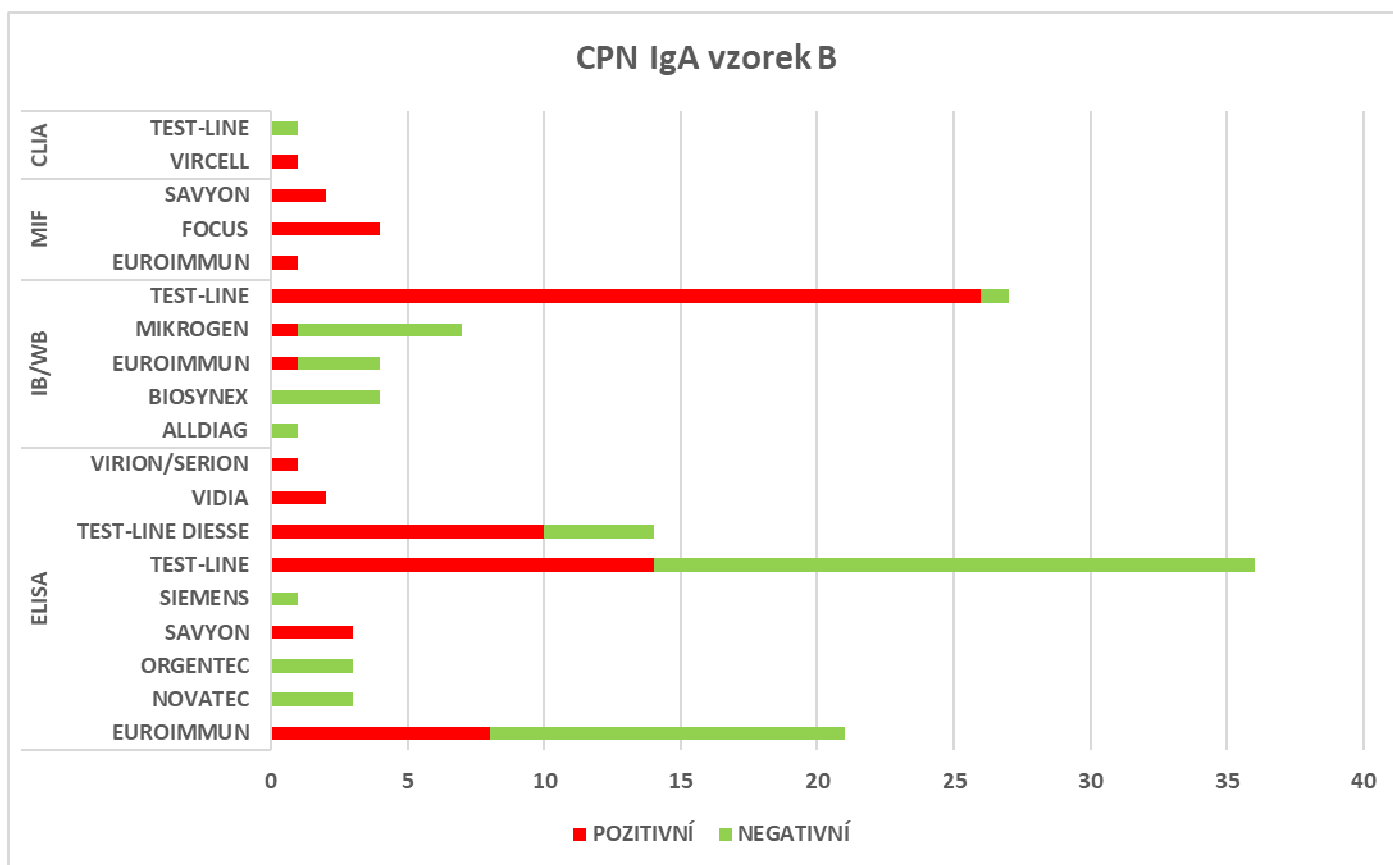
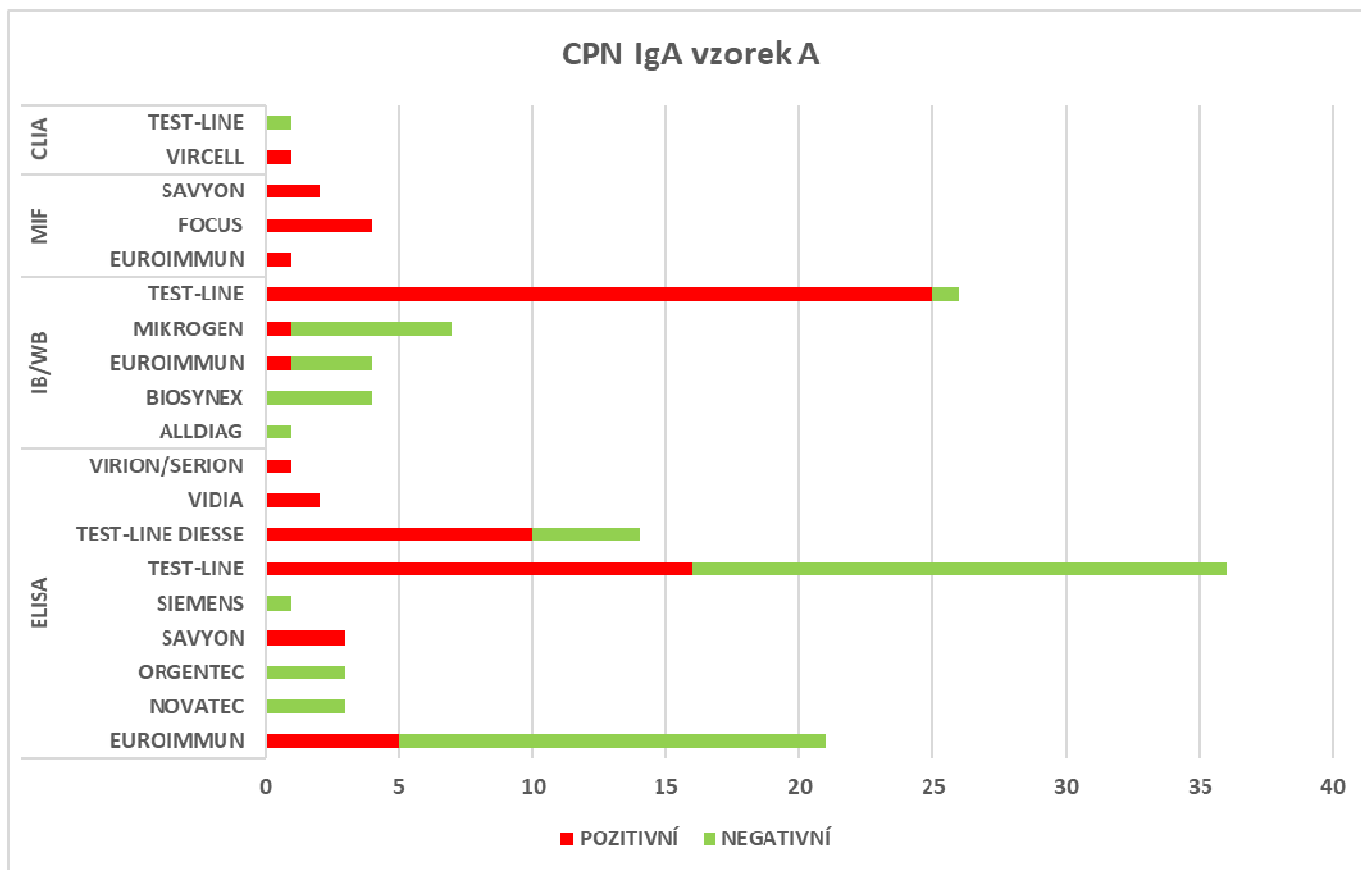
IgM protilátky byly zachyceny jen ojedinele (23 ze 765 provedených testů) v testu ELISA u vzorků A, C a D, western blot u vzorků A a C a CLIA u vzorků C a D.

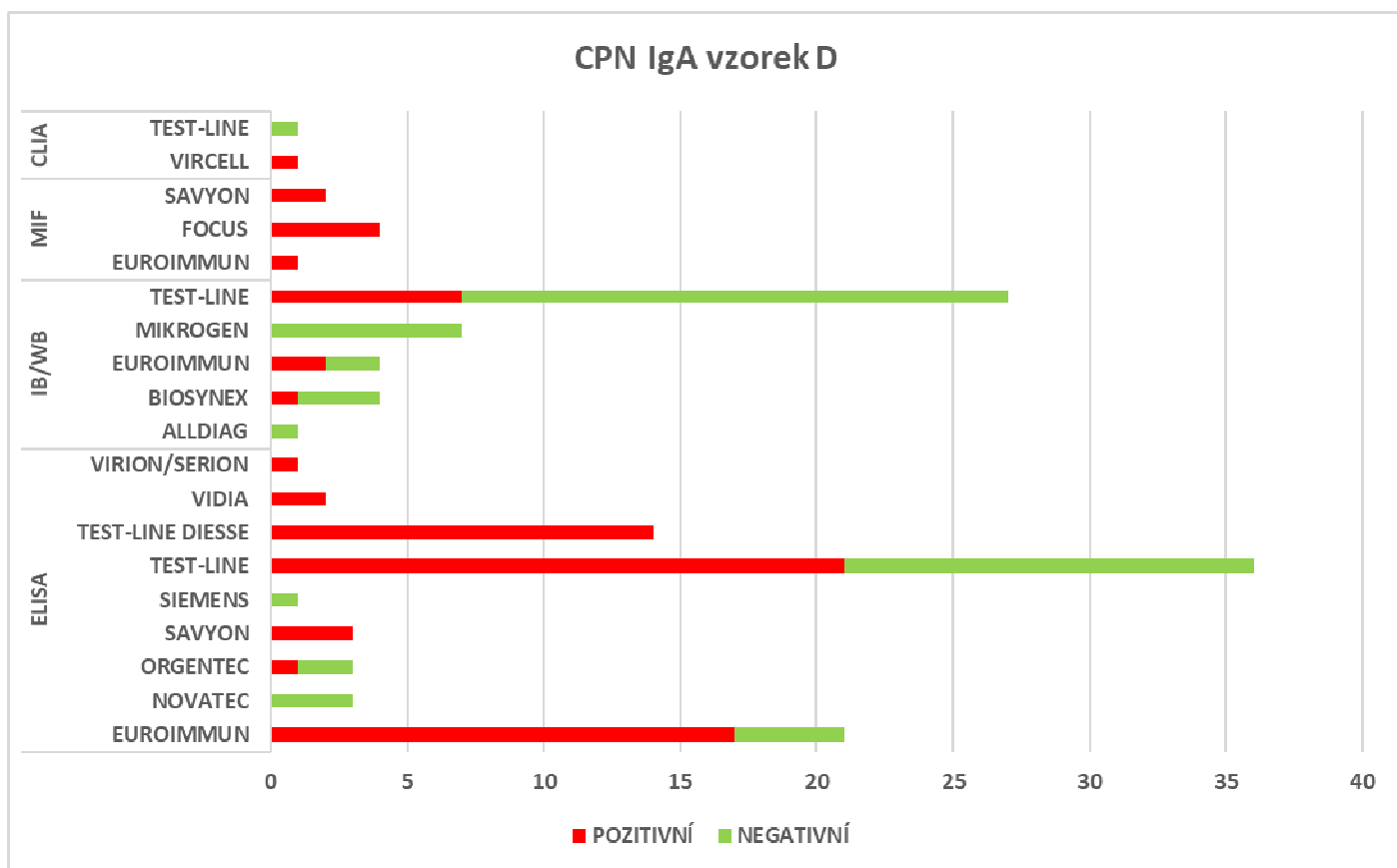
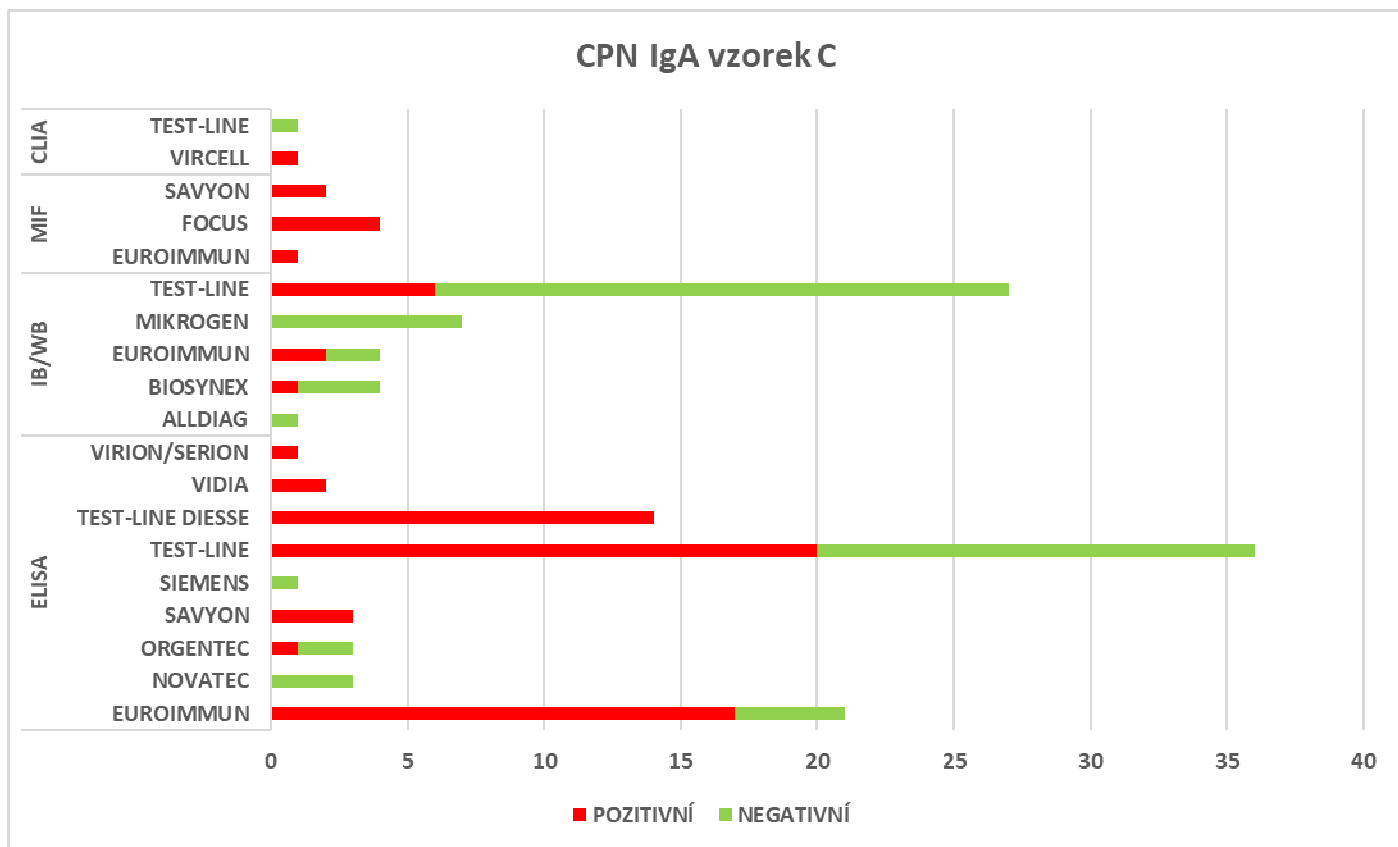
Chybný zápis výsledků do on-line formuláře jsme zaznamenali u 6 laboratoří a mohl mít výrazný vliv na počet získaných bodů.

Grafy 2 - 9 : druhové protilátky anti – *Chlamydia pneumoniae*

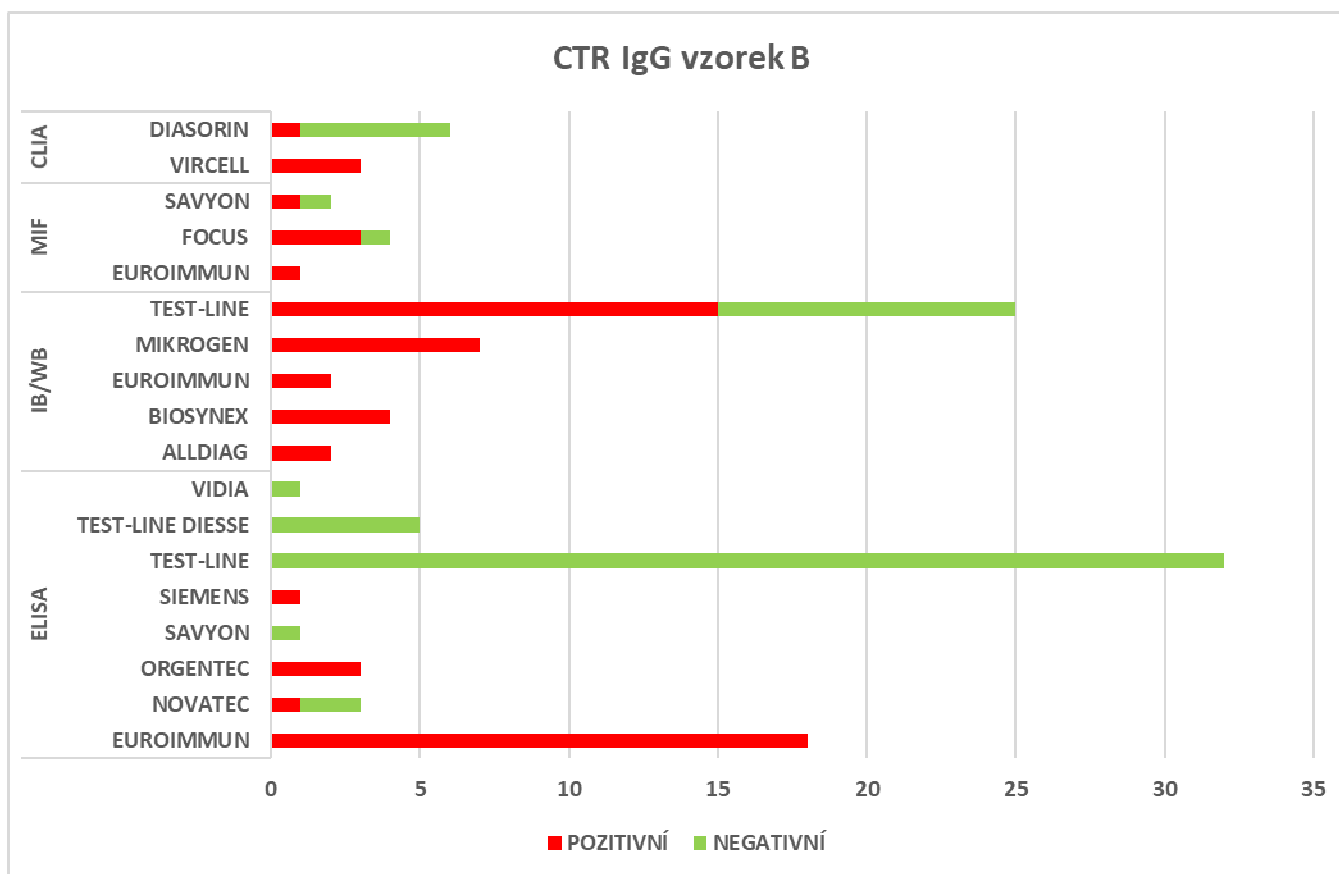
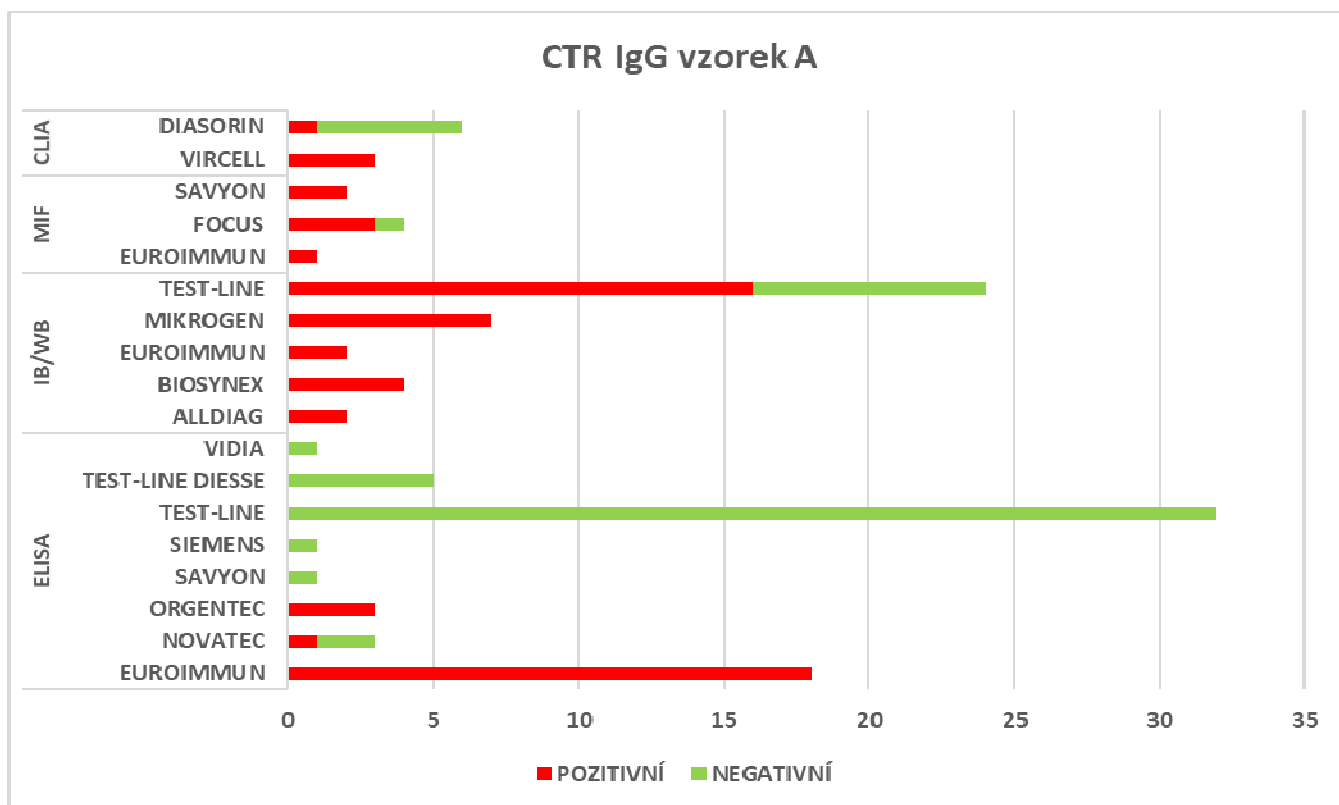


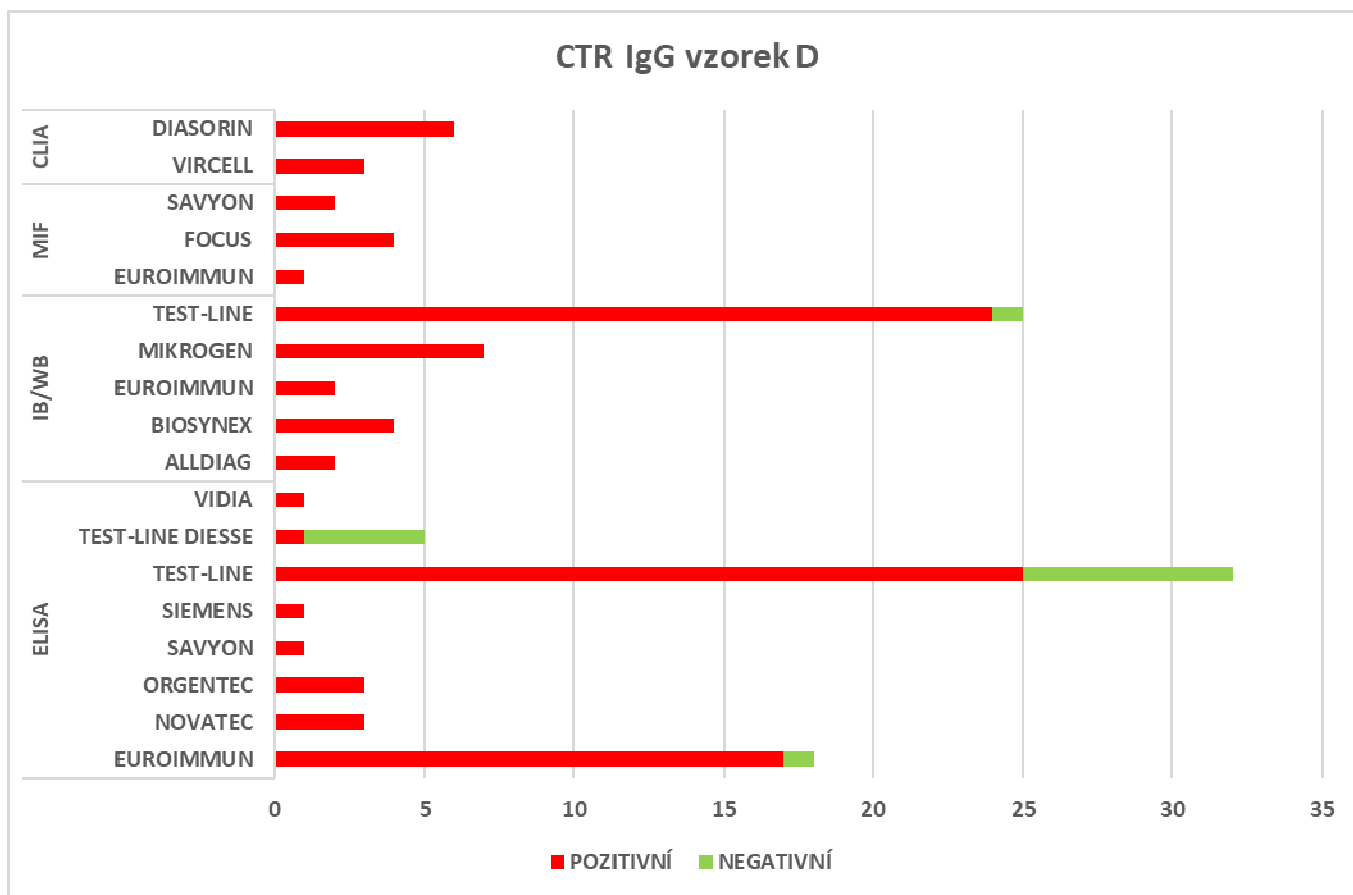
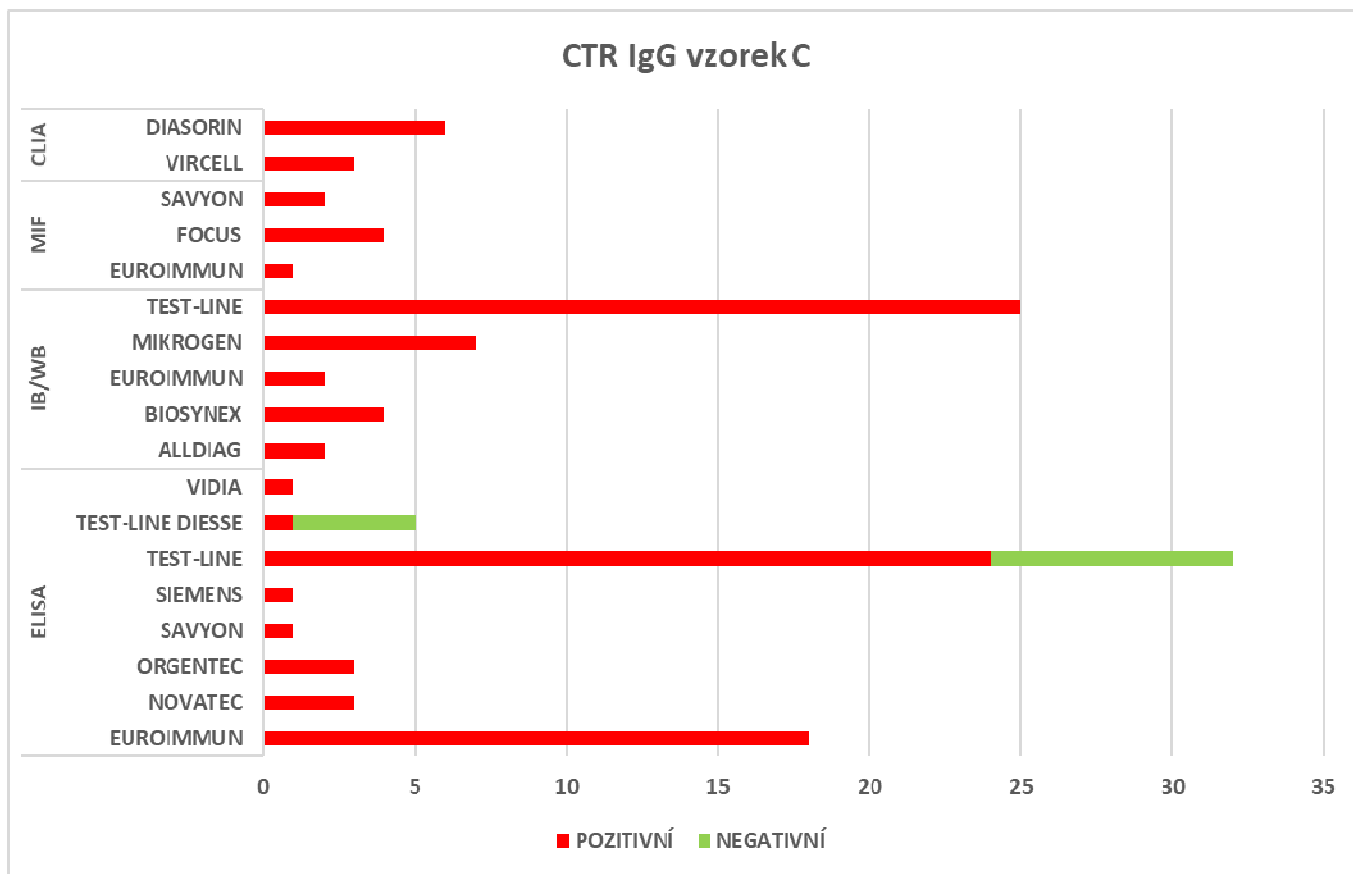


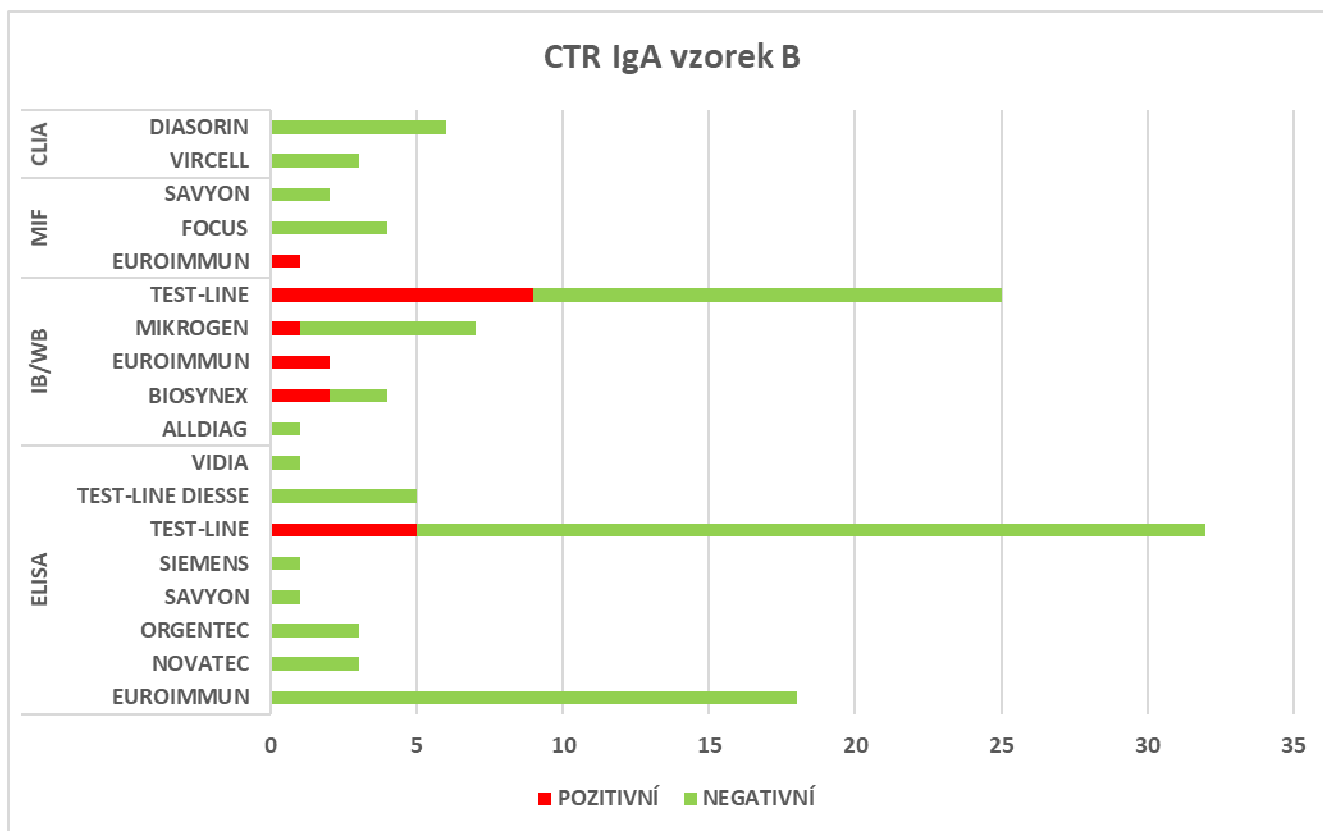
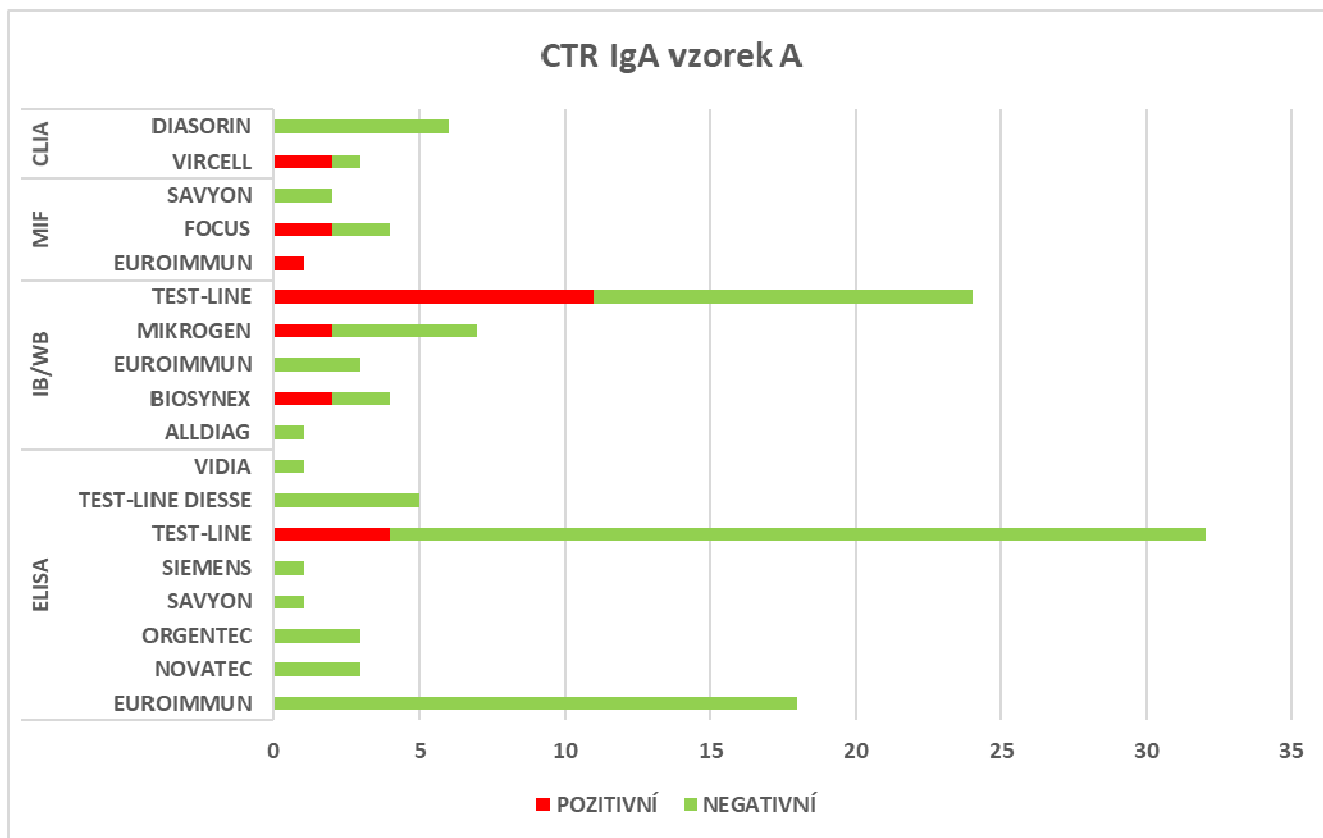


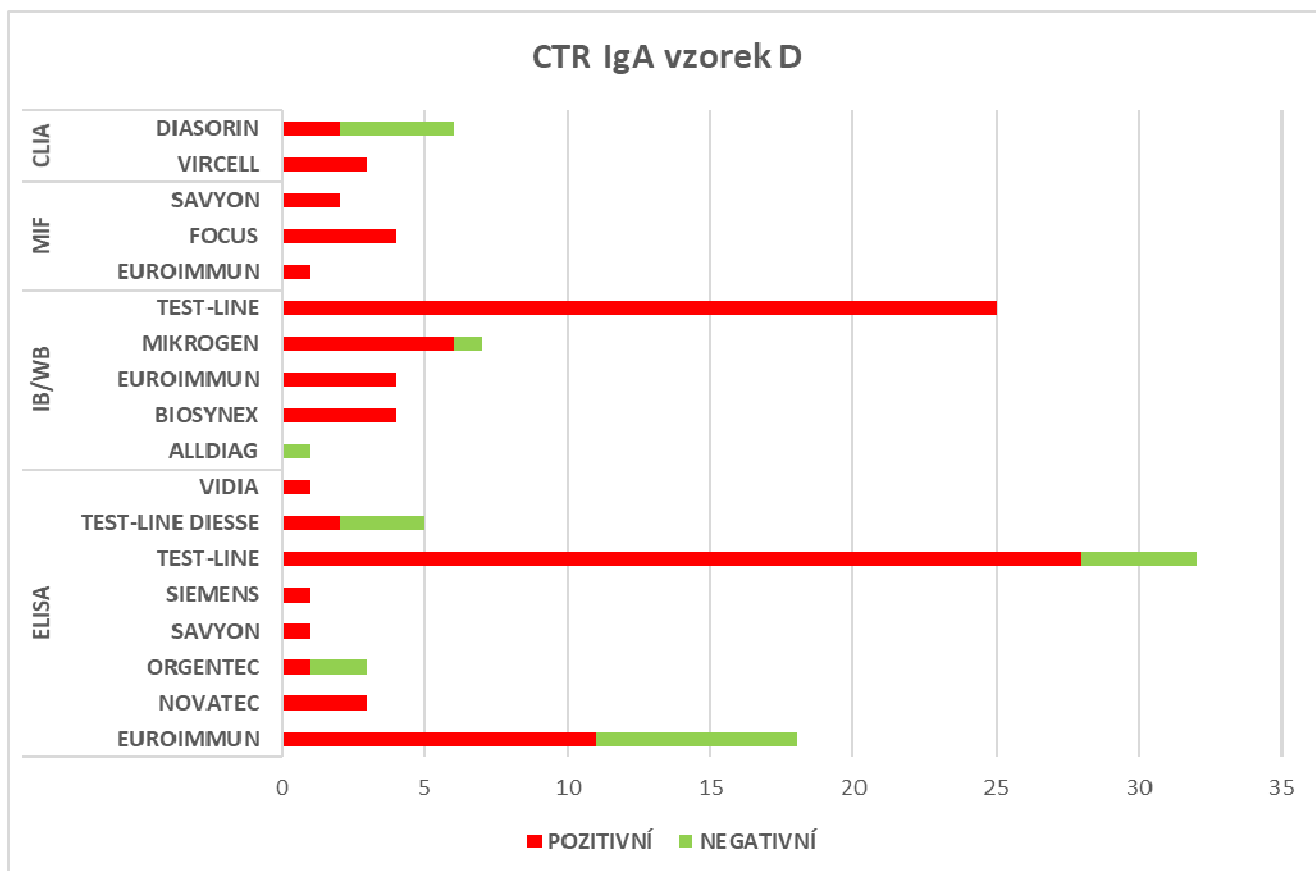
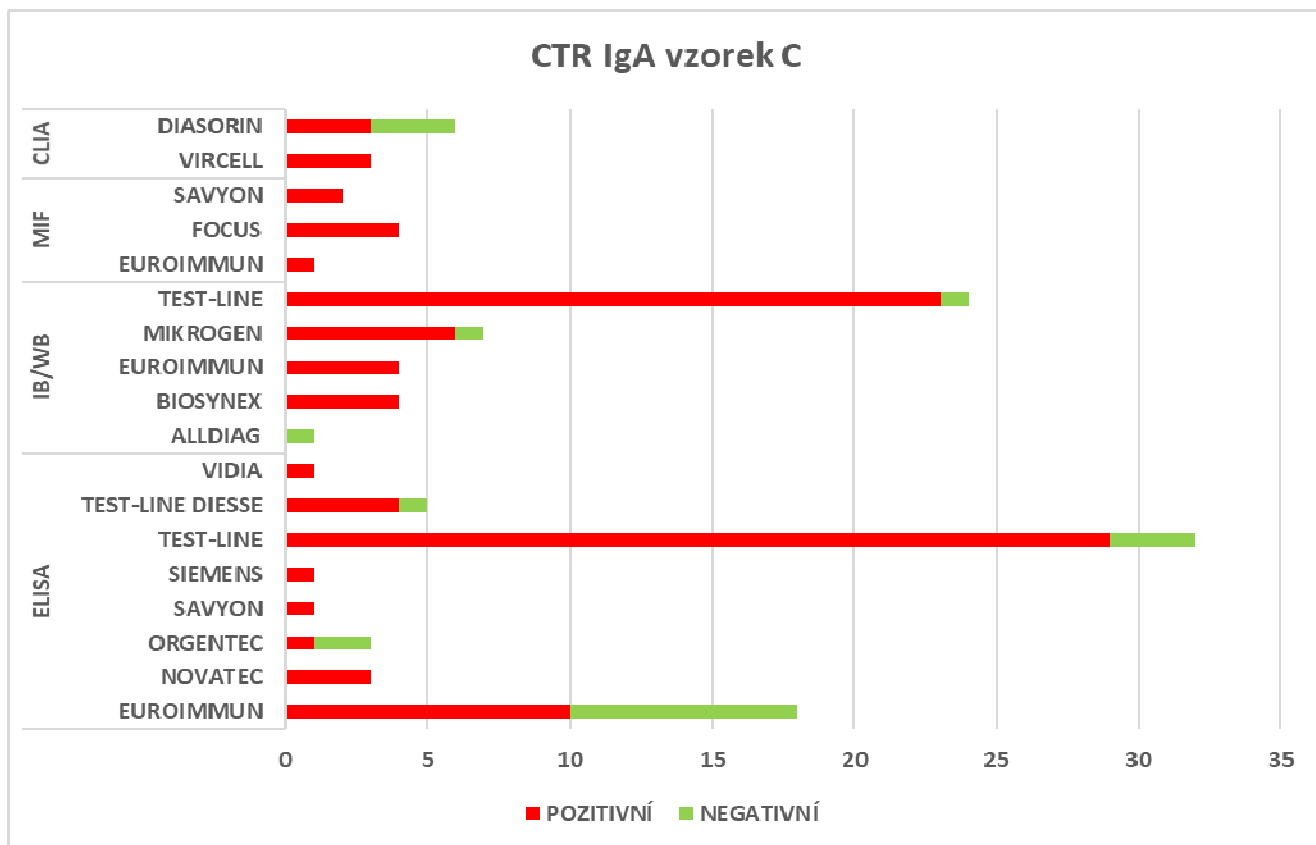


Grafy 10 – 17: druhové protilátky anti – *Chlamydia trachomatis*









6. Závěr

EHK 1272 – sérologie chlamydií se účastnilo 102 laboratoří, neuspěly 4 laboratoře (3 z nich provedly chybně zápis výsledků k jinému markeru), 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.

Laboratoř, která neuspěla, má možnost objednat si opravnou sérii přes webovou aplikaci SZÚ: <https://ehk.szu.cz/EHK10/>, viz informace o změnách v objednávání opravných sérií a zadávání reklamací na webových stránkách SZÚ: <http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>. Opravné série se budou rozesílat dne 11. 10. 2022.

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamace použijte také webovou aplikaci SZÚ.

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY