

EHK – 649 Sérologická diagnostika leptospirózy

Kamil Zitek

V letošní jarní sérii parazitologického EHK–649 Sérologie leptospirózy, rozeslalo AP CLČ SZÚ ve spolupráci s NRL pro leptospiry OML CLČ stejně jako v předchozích letech pět kontrolních vzorků sér do 15 přihlášených laboratoří. Odpověď jsme obdrželi 12. 4. 2010 od všech obeslaných laboratoří.

Kontrolní pozitivní séra pro tuto sérii EHK (celkem 4) byla tentokrát připravena v NRL OML CLČ vzhledem k nedostatku více sér různého druhu, ze dvou identických pozitivních sér, které byly do zkušebního kontrolního cyklu vzájemně prošťidány. Negativní sérum bylo vybráno z rutinní diagnostiky.

V zaslaných vzorcích séra měla opět jako každoročně, každá diagnostická laboratoř zjistit sérologickou metodou MAT (mikroskopický aglutinační test) kvalitativně a semikvantitativně přítomnost (nebo nepřítomnost) anti-leptospirových protilátek. Uvedená metoda je (nejen) u nás akreditována jako standardní a vyhlášena hlavním hygienikem MZ k diagnostice jako závazný „zlatý standard“. Živé (vysoce specifické a senzitivní) antigeny si kultivuje v požadované a akreditované standardní škále každá diagnostická laboratoř a tyto jsou v případě potřeby doplňovány z banky referenčních kmenů v NRL CLČ SZÚ (genofond ČR).

Ve zkušebních vzorcích byly jako vždy před tím, přítomny protilátky proti u nás nejčastěji se vyskytujícím leptospirám, kauzálním agens našich nejběžnějších leptospiróz – Weilovy žloutenky (*Leptospira icterohaemorrhagiae*) a polní horečky (*Leptospira grippotyphosa*).

Určení kauzálního sérovaru a výše titru protilátek bylo potom v NRL hodnoceno podle již známé bodové stupnice: **2 body** za správný výsledek kvalitativní i kvantitativní, **1 bod** za správné určení sérovaru, ale odlišně udanou titraci (v subjektivní toleranci +/- 1 titr oproti NRL), hodnocení **0 bodů** pak udělila NRL za celkově uvedený chybný výsledek jednoho vzorku. Nejvyšší hodnocení **celé správné série** je tedy **10 bodů**.

Maximálního počtu 10 bodů dosáhlo v poslední sérii EHK–649 devět z 15 hodnocených laboratoří, tj. 60 %. Další dvě hodnocené laboratoře (13 %) mají snížené hodnocení takto: 1. laboratoř na 9 bodů, (–1 bod) za nízký (již netolerovaný) titr ve vzorku A, 2. laboratoř na 8 bodů, (–2 body) za nízké titry ve vzorcích A a C, i když se jednalo, jak už jsem předeslal, o stejná zkušební séra se dvěma identickými protilátkami a ve stejných titrech hladin protilátek. S tímto faktem se nevypořádaly také poslední tři (20 %) z ještě hodnocených laboratoří, které mají snížené hodnocení (na 6 bodů), jednak (lab. č. 603) za nízkou vyhodnocené titry (mimo toleranci), jednak za fatální diagnostické chyby ve dvou vzorcích (lab. č. 388 vzorky B + D, lab. č. 283 vzorky A + C). Poslední 15. la-

boratoř je zavedeným akreditovaným systémem kontroly a hodnocení nehodnotitelná, protože dodala své výsledky z imunoenzymatických metod (Virion/Serion Elisa IgG a IgM), při čemž navíc touto nestandardní metodou nezjistila ani jedno ze čtyřech pozitivních sér. Nedoporučujeme této laboratoři (č. 209) se věnovat diagnostice leptospirózy na takové úrovni.

Závěrečné hodnocení této kontrolní a edukativní série EHK–469 laboratoří diagnostikujících leptospirózu u nás je následující.

**Tabulka: BODOVÉ HODNOCENÍ LABORATOŘÍ
v EHK–469 Sérologie leptospirózy**

Dosažené body	10	9	8	6	0	
Počet laboratoří	9	1	1	3	1	celkem 15

Hranice úspěšnosti vypočtená z aritmetického průměru 8,3 a dvakrát směrodatné odchylky 2,8 bodového hodnocení všech laboratoří je **1,7**. To znamená, že při takto měkce nastaveném kontrolním a hodnotícím systému hodnocených diagnostikujících laboratoří dosáhlo v této sérii akceptovatelných výsledků a mělo by tedy od AP CLČ SZÚ obdržet další osvědčení a certifikáty k činnosti 14 laboratoří (93 %) v ČR – opravňujících je k diagnostice leptospirózy a smlouvám (proplácení laboratorních vyšetření) s pojišťovnami.

Diagnostické problémy ovšem mohou mít tři z těchto laboratoří (lab. č. 209, 283, 388). Stále se opakující chybou, která zbytečně některým diagnostickým laboratořím snižuje bodový zisk z EHK, je kvantitativní určení titru protilátek při titraci MAT v netolerovaných hodnotách NRL. Znovu opakujeme, že pozitivní aglutinace končí v řadě tam, kde je v příslušném ředění séra aglutinováno ještě alespoň 50 % volných leptospir v zorném zástinovém poli mikroskopu.

Obecně můžeme konstatovat, že rutinní diagnostika leptospirózy v ČR je i nadále hodnocena na trvale vysoké úrovni úspěšnosti. Přesto, že kontrola prostřednictvím EHK není represivním, ale edukativním opatřením, nesnímá z diagnostikujících laboratoří **vlastní odpovědnost za klinickým vykazované výsledky a jejich interpretaci. Tato skutečnost je závažná a riziková zejména u smrtelné Weilovy choroby.**

Standardní metoda MAT může být v indikovaných případech vhodně doplňována komerčními sety, které prokazují genus specifické IgM protilátky a potvrdí tak akutní fázi čerstvé infekce u suspektního pacienta. Toto není ovšem doporučení k použití Elisa souprav fy Virion/Serion, které neprošly expertizním hodnocením v akreditované NRL CLČ SZÚ.

DOPORUČENÁ LITERATURA

1. Human leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control, ILS, WHO 2003.
2. Standardní metoda laboratorní diagnostiky leptospirózy, AHEM, příloha 2, Praha 1979.
3. Jírovec O, a kol.: Parasitologie pro lékaře (kapitoly Leptosiry a leptospirózy a Kultivácia leptospír), Avicenum, Praha 1977.
4. Zitek K, Beneš Č.: Dlouhodobá epidemiologie leptospirózy (1963–2003) v České republice. *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2005; 54(1): 27–33.

*Kamil Zitek
NRL pro leptosiry
OML CLČ SZÚ, Praha*