



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/8/2017 (č. 962)**

**Sérologie leptospirózy**

**Praha, listopad 2017**

## 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/8/2017 byl zaměřen na sérologii leptospirózy. Návrh a realizace PT#M/8/2017 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 programů zkoušení způsobilosti č. 7001.

S veškerými informacemi dodanými účastníky je zacházeno jako s důvěrnými a nejsou bez souhlasu účastníka poskytovány třetím stranám.

Nedílnou součástí závěrečné zprávy je výsledkový protokol jednotlivé laboratoře.

**Koordinátor:**

RNDr. Petr Kodym, CSc.

Tel: 267 082 105

**Zprávu vypracoval:** Mgr. Tereza Kreysová**Zprávu schválil:** RNDr. Petr Kodym, CSc.**Dne:** 23. 11. 2017**Pracoviště 2 ESPT (AP CEM - Akreditační pracoviště Centra epidemiologie a mikrobiologie):**

www.szu.cz/espt

email: [apcem@szu.cz](mailto:apcem@szu.cz)

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/8/962**

|   |  |
|---|--|
| Identifikace kola/cyklu:                          | EHK 962  |
| Název:  | Sérologie leptospirózy; PT#M/8/2017  |
| Poskytovatel                                      | SZÚ – Centrum epidemiologie a mikrobiologie - ESPT<br>Šrobárova 48, Praha 10, 100 42<br>tel.: + 420 267082575, fax.: + 420 267082271 |
| Vedoucí ESPT                                      | Ing. Věra Vrbíková   |
| Koordinátor:                                      | RNDr. Petr Kodým, 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:                         | Znalost metody MAT   |
| Způsob přípravy:                                  | viz Protokol o přípravě vzorků   |
| Množství připravovaného testovaného materiálu:    | 6ml od každého vzorku  |
| Označení vzorkovnic:<br>Termín distribuce vzorků: | ESPT SZÚ<br>PT # M/8/2017<br>Sérologie leptospirózy  |
| Zabezpečení kvality vzorku:                       | Test homogenity<br>Stabilita: Opakované testování v průběhu skladování vzorků  |
| Metrologická návaznost:                           | viz Protokol o přípravě vzorků   |
| Termín testu homogenity a stability:              | 25.9., 3.10.,9.10.2017   |
| Podmínky distribuce a uchování vzorků:            | Přeprava a krátkodobé uchování při 4-12°C<br>Chránit před světlem  |
| Možné zdroje chyb:                                |  |
| Počet účastníků:                                  | 14   |
| Způsob distribuce:                                | Osobní převzetí účastnickou laboratoří / přepravní služba<br>Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům                |
| Předání výsledků:                                 | Písemně do 17.10.2017 na předepsaných formulářích  |
| Způsob vyhodnocení výsledků:                      | za vyhovující jsou považovány hodnoty +/- 2 titry oproti NRL   |
| Určení maximální směrodatné odchylky:             | z hodnot účastníků   |

## 2. Příprava vzorků

Simulované klinické vzorky pro EHK byly připraveny z lidských sér dříve vyšetřovaných v NRL a ze zásobních směsí hyperimunních králičích sér.

**Příprava zásobních směsí králičích sér:** Séra imunizovaných králíků a patientská séra, byla skladována v mrazicím boxu při teplotě  $-20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Poté byly vzorky rozmrazeny a slity, a to tak, aby byly smíšeny vždy vzorky, jež mají stejnou kategorii kvalitativního a semikvantitativního obsahu stanovovaných markerů – viz tabulka:

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

Objem každého vzorku EHK byl směsí sér příslušné kategorie upraven na 6 ml. Vzorky byly stabilizovány přidáním 0,1% roztoku azidu sodného na vzorek (finální koncentrace: 0,001%). Každý vzorek byl rozplněn do lahviček – objem 300  $\mu\text{l}$  (17 od každého vzorku). Vzorky byly označeny a předány k zabalení a rozeslání. Skladovány byly v chladničce při  $2^{\circ}\text{C} - 8^{\circ}\text{C}$ .

## 3. Hodnocení

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

Ve zkušebních vzorcích byly jako vždy před tím, přítomny protilátky proti u nás nejčastěji se vyskytujícím leptospirám, kauzálním agens našich nejběžnějších leptospiróz *L. sejroe* a *L. bratislava*. Tři zkušební vzorky byly negativní.

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

Maximálního počtu 10 bodů dosáhlo v poslední sérii EHK – 962 jedenáct ze 14 hodnocených laboratoř, tj. 78,6%. Jedna hodnocená laboratoř má snížené hodnocení o bod, jedna laboratoř dosáhla výsledku 8 bodů. Jedna laboratoř výsledku 6 bodů (dva vzorky zcela chybně).

**Tabulka: Bodové hodnocení laboratoří v EHK – 917/16**

|                  |    |   |   |   |      |
|------------------|----|---|---|---|------|
| Dosažené body    | 10 | 9 | 8 | 6 |      |
| Počet laboratoří | 11 | 1 | 1 | 1 | = 14 |

**Závěrečné hodnocení** této kontrolní a edukativní série EHK laboratoří diagnostikujících leptospirózu u nás je následující. Hranice úspěšnosti vypočtena z aritmetického průměru a dvakrát směrodatné odchylky je V této sérii dosáhlo akceptovatelných výsledků 13 diagnostikujících laboratoří, které by měly obdržet certifikát od AP CEM. Jedna laboratoř by letos mohla mít problémy.

Opravné kolo série proběhne v podzimním termínu. O opravné vzorky můžete zažádat **do 14 dnů** od doručení závěrečné zprávy. V případě reklamaci vyhodnocení série, prosím postupujte dle reklamačního řádu.

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 klinikům vykazované výsledky a jejich interpretaci. Tato skutečnost je závažná a riziková zejména u smrtelné Weilovy choroby.

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.

**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. O. Jírovec 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. 54, 2005, č. 1, s. 27-33