



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/8/2018 (č. 1007)**

**Sérologie leptospirózy**

**Praha, červenec 2018**

## 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/8/2018 byl zaměřen na sérologii leptospirózy. Návrh a realizace PT#M/8/2018 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.

Příloha závěrečné zprávy, t.j. 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:** 10. 7. 2018**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/8/1007**

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1007
Název:	Sérologie leptospirózy; PT#M/8/2018
Poskytovatel	SZÚ – Centrum epidemiologie a mikrobiologie - ESPT Šrobárova 48, Praha 10, 100 42 tel.: + 420 267082575, fax.: + 420 267082271
Vedoucí ESPT	Ing. Věra 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:	Znalost metody MAT
Způsob přípravy:	viz Protokol o přípravě vzorků
Množství připravovaného testovaného materiálu:	6ml od každého vzorku
Označení vzorkovnic: Termín distribuce vzorků:	EHK 1007 PT # M/8/2018 Č. 1 - 5
Zabezpečení kvality vzorku:	Test homogenity Stabilita: Opakované testování v průběhu skladování vzorků
Metrologická návaznost:	viz Protokol o přípravě vzorků
Termín testu homogenity a stability:	9.3., 12.3.,22.3.2018
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Přeprava a krátkodobé uchování při 4-12°C Chránit před světlem
Možné zdroje chyb:	
Počet účastníků:	13
Způsob distribuce:	Osobní převzetí účastnickou laboratoří / přepravní služba Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	Písemně do 27. 3. 2018 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	<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	1:1600
B	<i>L. bratislava</i>	1:3200
C	negativní	-
D	<i>L. sejroe</i>	1:800
E	negativní	-

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*, *L. icterohaemorrhagiae* a *L. bratislava*. Dva 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 – 1007 dvanáct ze 13 hodnocených laboratoř, tj. 92,3%. Jedna hodnocená laboratoř dosáhla výsledku 8 bodů (uvedla pozitivní vzorek jako negativní)

**Tabulka: Bodové hodnocení laboratoří v EHK – 1007/2018**

Dosažené body	10	8	
Počet laboratoří	12	1	= 13

**Závěrečné hodnocení** této kontrolní a edukativní série EHK laboratoří diagnostikujících leptospirózu u nás je následující. Hranice úspěšnosti je **7,98**. V této sérii dosáhlo akceptovatelných výsledků všech 13 diagnostikujících laboratoří, které by měly obdržet certifikát od AP CEM.

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, nesníma 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 Leptospiroy 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