



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/21/2020 (č. 1131)

Sérologie chlamydií

Praha, srpen 2020

Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing) 3
2. Příprava vzorku 4
3. Hodnocení 4-8
4. Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře

Program zkoušení způsobilosti PT#M/21/2020 byl zaměřen na sérologii chlamydií. Návrh a realizace PT#M/21/2020 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 rozesílána poštou.

Koordinátor:

MUDr. Hana Zákoucká
Tel: 267 082 782

Zprávu vypracoval:

MUDr. Hana Zákoucká, NRL pro chlamydie, SZÚ Praha

Zprávu schválil: MUDr. Hana Zákoucká

Dne: 14. 8. 2020

Pracoviště 2 ESPT

www.szu.cz/espt

email: apcem@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/21/2020

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/21/2020 EHK 1131
Název:	Sérologie chlamydií
Poskytovatel:	SZÚ - ESPT Šrobárova 49/48, Praha 10, 100 00 Tel. 267 082 258
Vedoucí ESPT	Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor:	MUDr. Hana Zákoucká
Charakteristika materiálu:	5 vzorků á 0,5/ 1 ml obsahující lidské sérum a plasmu
Podstata a účel EHK:	Stanovení rodových a druhových protilátek proti chlamydiím
Kritéria pro účast na PT:	Není omezena
Způsob přípravy:	Vzorky byly připraveny z poolovaného lidského séra a plasmu a vyšetřeny na přítomnost cílových markerů. K dosažení potřebného objemu (daného přihlášeným počtem účastníků EHK) byl výchozí materiál doředěn negativní lidskou plasmou.
Množství připravovaného test. materiálu:	Pro 116 laboratoří
Označení vzorkovnic:	EHK – 1131, PT#M/21, č. 1 – 5, 21. 4. 2020
Zabezpečení kvality vzorku:	Test homogenity byl proveden pro 2 náhodně vybrané vzorky z připravených aliquotů vzorků A až E dle SOP M/21. Stabilita: testování anonymizovaných vzorků v rámci kola EHK.
Návaznost metody:	Klinický materiál
Termín testu homogenity a stability:	Před distribucí vzorků a v termínu příslušného kola
Termín distribuce:	21. 4. 2020
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Přeprava a krátkodobé uchování při 4 – 12 ° C chránit před světlem
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe
Počet účastníků:	104 laboratoří
Způsob distribuce:	Výchozí materiál spadá dle klasifikace IATA týkajících se nebezpečného zboží do kategorie Infekční materiál 6.2 kategorie B . Infekční látky zařazené v kategorii B jsou pro přepravu označeny UN kódem - UN3373 Biologická látka, kategorie B. Přeprava vzorků je zajišťována přepravcem se službou přeprava biologického materiálu. Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	elektronicky do 12. 5. 2020
Způsob vyhodnocení výsledků:	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. Každý správně diagnostikovaný marker je hodnocen 1 bodem, nesprávný výsledek testu konkrétního markeru pak 0 body. Laboratoře mohou získat maximálně za všechna možná stanovení 90 bodů.
Určení maximální odchylky:	80 - 100% z maximálně možného počtu bodů
Určení přijaté vztahné hodnoty:	Výsledky NRL pro chlamydie
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 12 týdnů po odevzdání výsledků k hodnocení

2. Příprava vzorků

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 .

K dosažení potřebného objemu (daného přihlášeným počtem účastníků EHK) byl materiál doředen 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/ 1 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 min. 0,5 ml/1 ml do připravených sterilních zkumavek. Vzorky byly označeny pořadovým číslem 1 – 5, číslem EHK a datem rozeslání.

3. Hodnocení

Dne 21. 4. 2020 byly rozeslány vzorky 104 laboratořím. Ke dni 12. 5. 2020 obdrželo Koordinační pracoviště ESPT 2 výsledky 102 laboratořím.

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 B a C obsahovaly identická séra.

Za referenční výsledek pro daný vzorek byl považován výsledek opakovaného testování v NRL pro chlamydie. Dále byla posuzována shoda hodnoceného výsledku s 80% laboratořím, 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 laboratořím.

Tabulka č.1: Výsledky vyšetření v NRL

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

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

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

Použité zkratky:

CPN *Chlamydia pneumoniae*

CTR *Chlamydia trachomatis*

CPS *Chlamydia psittaci*

neg.=negativní, POZ.=pozitivní, HRAN.=hraniční

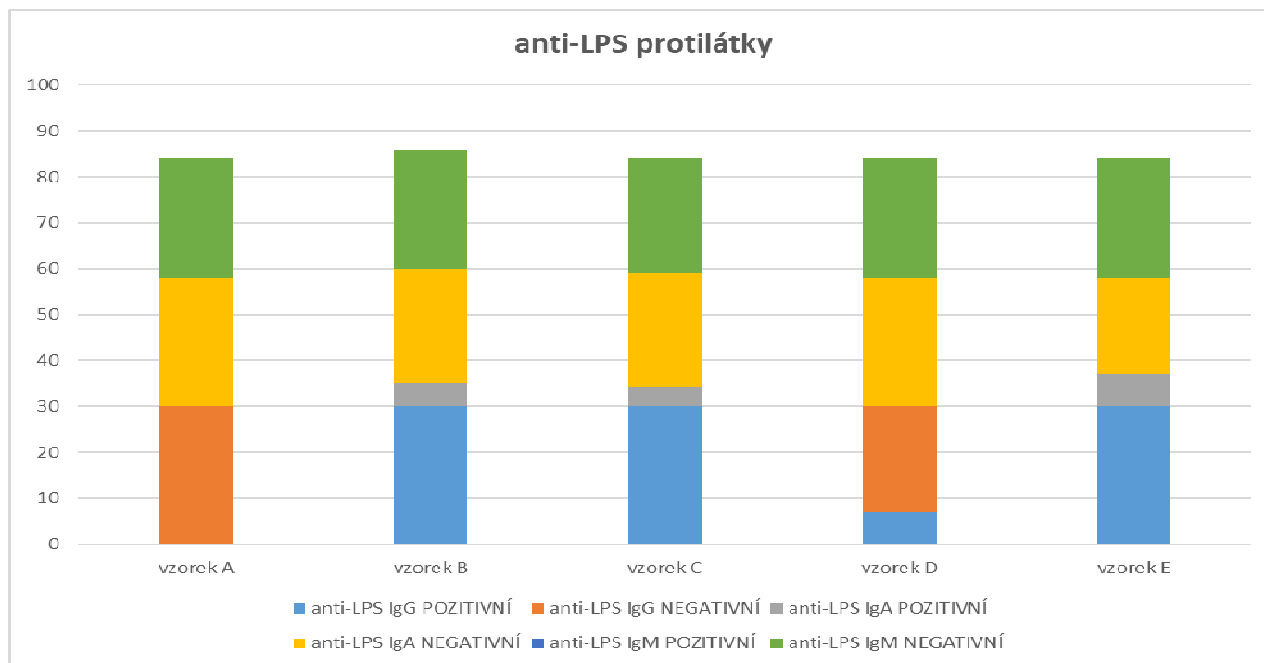
Výsledky zúčastněných laboratoří:

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 (vzorek E, anti-*Chlamydia pneumoniae* IgG), tak i odchylky způsobené užitím různých diagnostik. Tento postup, stejně jako při předcházejících ročních EHK, respektuje poměrně značnou nevyrovnanost výsledků vyšetření dosažených různými diagnostiky a různými metodickými přístupy.

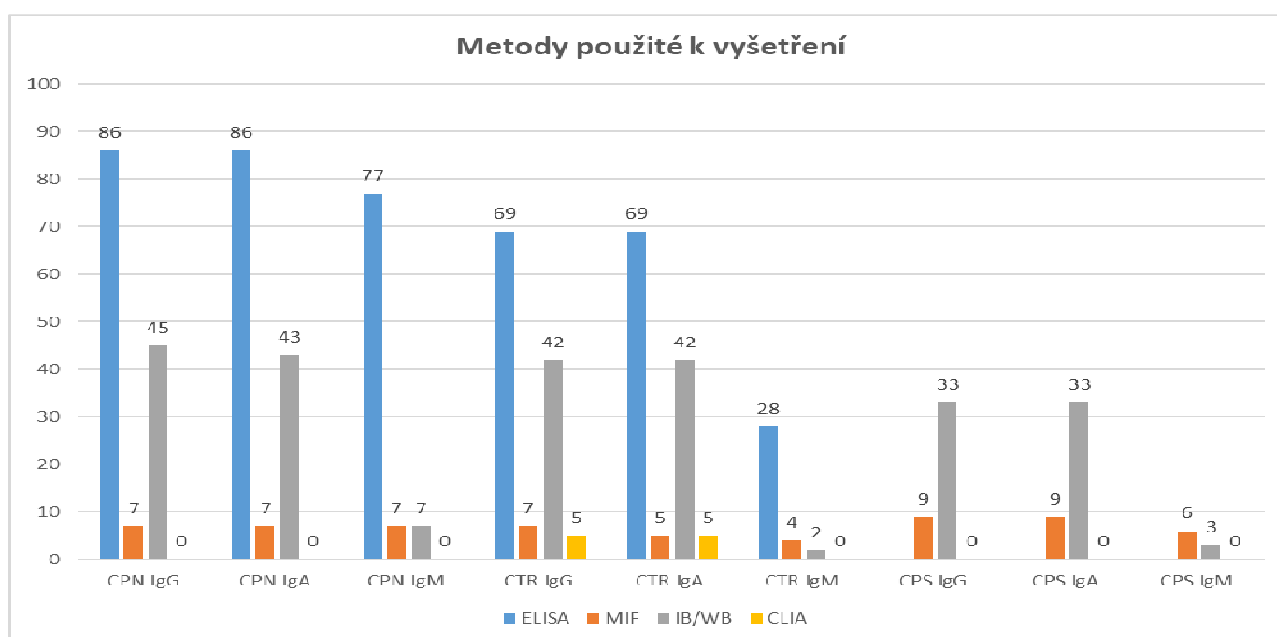
Zastoupení jednotlivých výsledků uvádíme v následujících grafech:

Graf 1: rodové protilátky (anti-LPS) vyšetřilo celkem 30 laboratoří



Letošní série obsahovala materiál s IgG anti-LPS protilátkami ve vzorku B, C a E. Testy anti-LPS provedlo 30 laboratoří, z toho 29 v kombinaci s některými testy druhových protilátek. Laboratoře použily diagnostika 4 různých výrobců Euroimmun, Medac, Savyon, Test-Line. U testů Euroimmun zkrsluje výsledek přidání druhových antigenů, tento fakt byl, jako vždy, zohledněn.

Graf 2: druhové protilátky vyšetřilo celkem 101 laboratoří v různých kombinacích agens a Ig



Použité zkratky:

CPN *Chlamydia pneumoniae*

CTR *Chlamydia trachomatis*

CPS *Chlamydia psittaci*

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

CLIA chemiluminiscence

Při testování druhových protilátek (graf 2) byla patrná variabilita (graf 3 a 4) 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 obsažené 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 pozitivity.

U testu CLIA na protilátky anti-*Chlamydia trachomatis* se opět objevilo selhání diagnostika. U laboratoří, které jej použily, nebyl tento test zahrnut do hodnocení EHK.

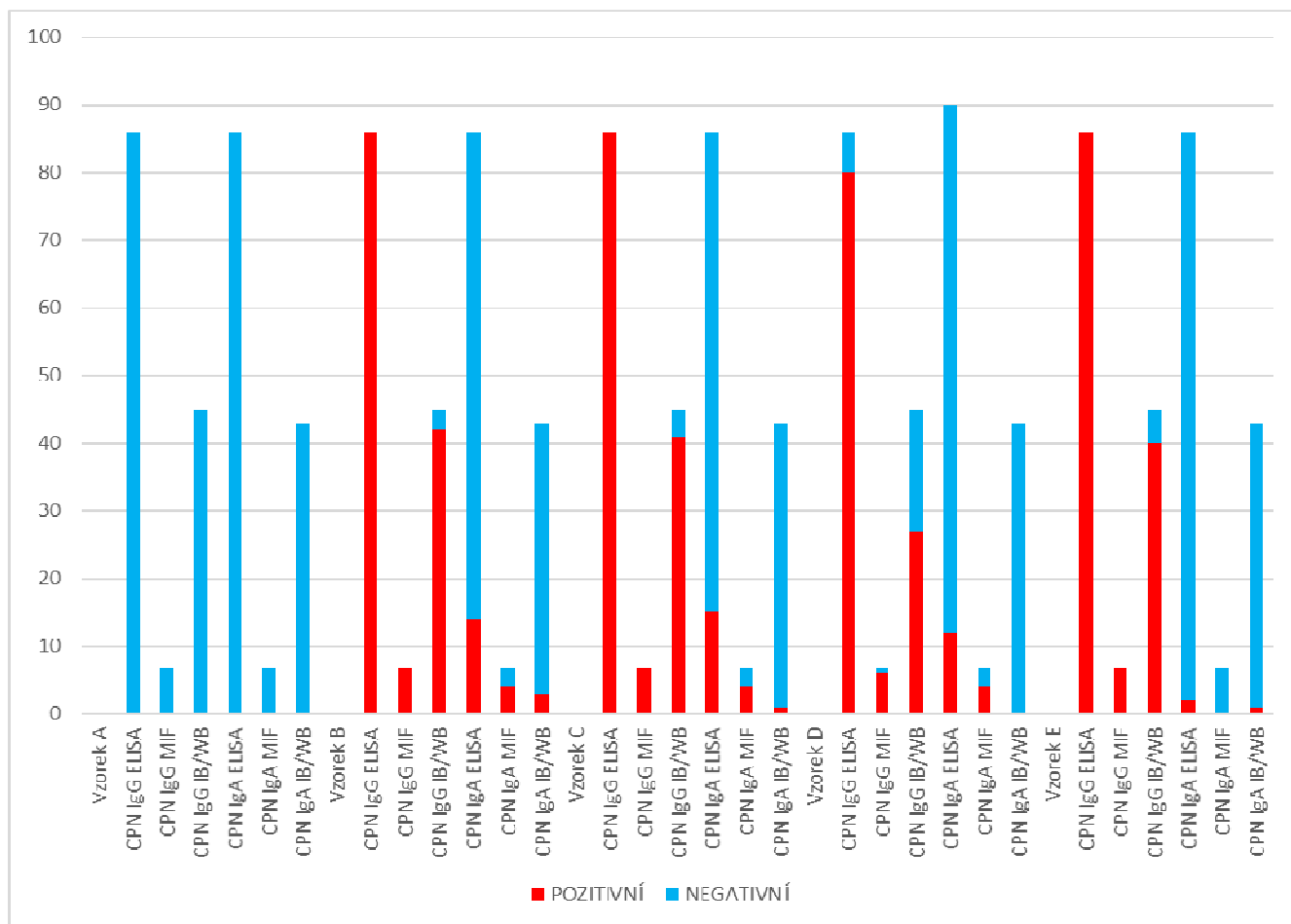
Rovněž u stanovení protilátek anti-*Chlamydia trachomatis* se projevil v celkovém zastoupení negativního a pozitivního nálezu výrazný podíl diagnostika od jednoho výrobce na poměru výsledků ve třídě IgG.

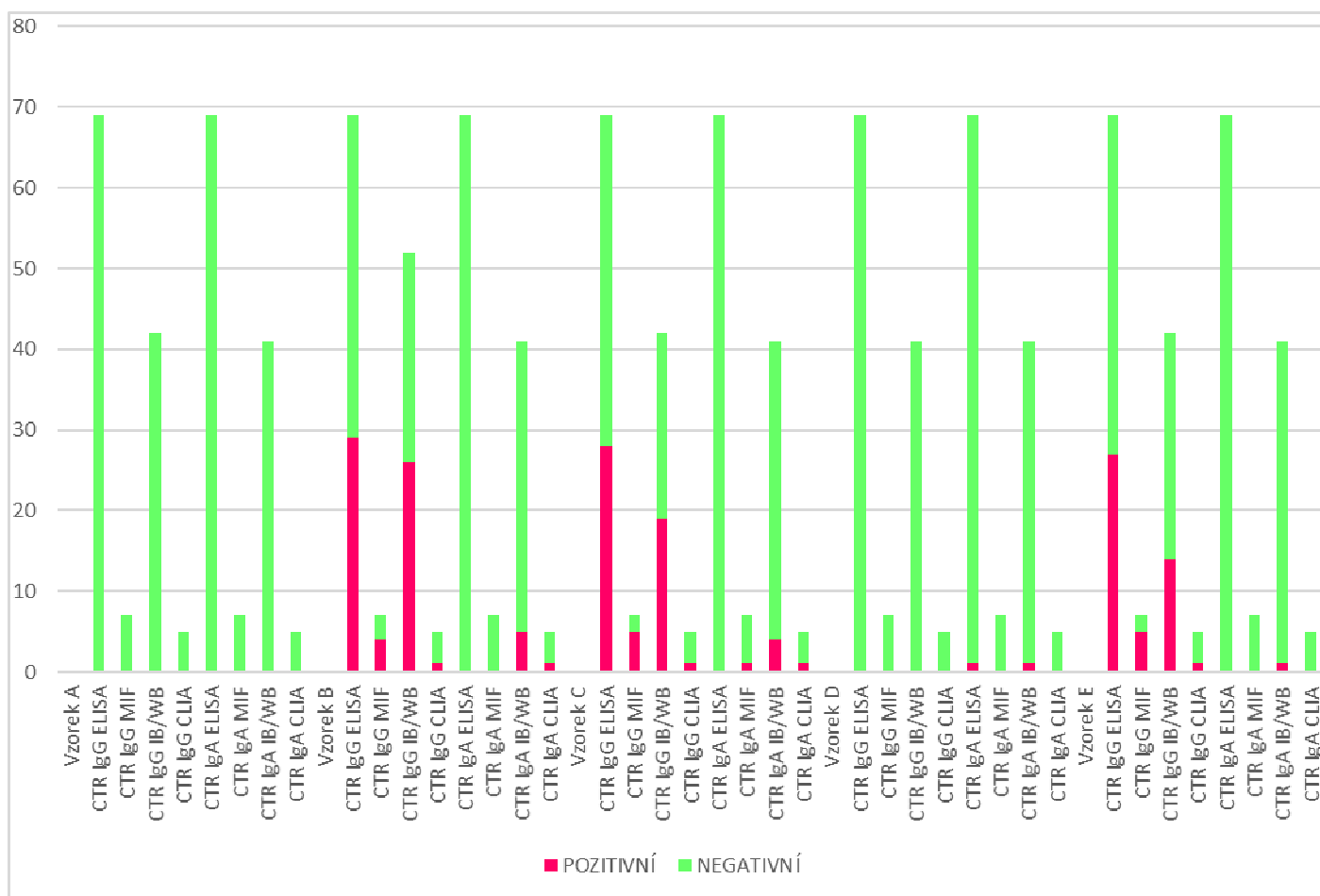
Protilátky proti *Chlamydia psittaci* nebyly ve vzorcích obsaženy. Ojedinele se vyskytla zkřížená reaktivita v testech anti-*Chlamydia psittaci* IgG IB/WB u vzorků B, C a E (7x), anti-*Chlamydia psittaci* IgA IB/WB u vzorku B (1x) a anti-*Chlamydia psittaci* IgG MIF u vzorků B, C a E (4x).

IgM protilátky byly zachyceny jen ojedinele v testu ELISA 3 různých výrobců.

Chybný zápis výsledků do on-line formuláře jsme zaznamenali u 25 laboratoří a mohl mít výrazný vliv na počet získaných bodů.

Graf 3: druhové protilátky anti – *Chlamydia pneumoniae*



Graf 4: druhové protilátky anti – *Chlamydia trachomatis*

Závěr

V testování série EHK-1131 sérologie chlamydií neuspěly 3 laboratoře, 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.

Laboratoře, které neuspěly, si mohou do 14 dnů po obdržení výsledků požádat cestou Koordinačního pracoviště ESPT 2 o opravnou sérii, která proběhne v říjnu 2020.

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