



Státní zdravotní ústav  
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti  
Poskytovatel programů zkoušení způsobilosti č. 7001 akreditovaný ČIA  
podle ČSN EN ISO/IEC 17043:2010  
Šrobárova 49/48, 100 00, Praha 10 – Vinohrady



# **Závěrečná zpráva**

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii  
(Externí hodnocení kvality)

**PT#M/21/2023 (EHK 1347)**

**Sérologie chlamydií**

**Praha, srpen 2023**

## Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2. Způsob přípravy vzorku	3
3. Charakteristika materiálu	4
4. Způsob hodnocení	4
5. Vyhodnocení	4-17
6. Závěr	18
Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/21/2023 (EHK 1347) byl zaměřen na sérologii chlamydií. Návrh a realizace PT#M/21/2023 (EHK 1347) byly prováděny podle standardního operačního postupu koordinátora programu 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, 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:** 7. 8. 2023

**Pracoviště 2 ESPT:**

<https://szu.cz/sluzby/zkouseni-zpusobilosti/zkouseni-zpusobilosti-pro-lekarskou-mikrobiologii/>

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

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/21/2023**

Identifikace cyklu:	<b>EHK 1347</b>
Název PT:	Sérologie chlamydií
Koordinátor:	MUDr. Hana Zákoucká Národní referenční laboratoř chlamydie tel.: +420 267082795; email: hana.zakoucka@szu.cz
Podstata a účel PT:	Stanovení rodových a druhových protilátek proti chlamydiím
Kritéria pro účast na PT:	Znalost postupů; technické vybavení pro diagnostiku cílových markerů
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3 závěrečné zprávy
Hodnocené ukazatele:	Pozitivita, negativita vzorku
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Počet účastníků:	102
Termín distribuce vzorků:	25. 4. 2023
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	16. 5. 2023
Označení vzorkovnic:	EHK 1347, PT # M/21, č. 1 – 5, 25. 4. 2023
Zabezpečení jakosti vzorku včetně testu homogenity a stability:	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Možné zdroje chyb:	nedodržení správné laboratorní praxe a pokynů organizátora, záměna vzorků
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4 závěrečné zprávy
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Neurčuje se
Určení maximální směrodatné odchylky:	-20 % z maximálního počtu bodů
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	29. 5. 2023
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 8. 8. 2023

**2. Způsob přípravy vzorků**

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). 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 matreiálu

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byla lidská plazma/sérum. Výchozí materiál byl dlouhodobě uskladněn při teplotě -18°C nebo nižší a před použitím rozmrazen a skladován při teplotě 2 až 8 °C.

### 4. Způsob hodnocení

Za referenční výsledek pro daný vzorek je 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 25. 4. 2023 byly rozeslány vzorky 102 laboratořím. Ke dni 16. 5. 2023 obdrželo pracoviště ESPT2 výsledky 101 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 obsahovaly identická séra.

Jako každý rok se objevily v několika (10) 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.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.
B	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.
C	POZ.	neg.	neg.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
D	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
E	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	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.	neg.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.
B	POZ.	neg.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.
C	POZ.	neg.	neg.	HRAN.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
D	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
E	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	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.	POZ.	neg.	HRAN.	neg.	neg.
B	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	HRAN.	neg.	neg.
C	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	POZ.	neg.	neg.
D	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
E	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	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

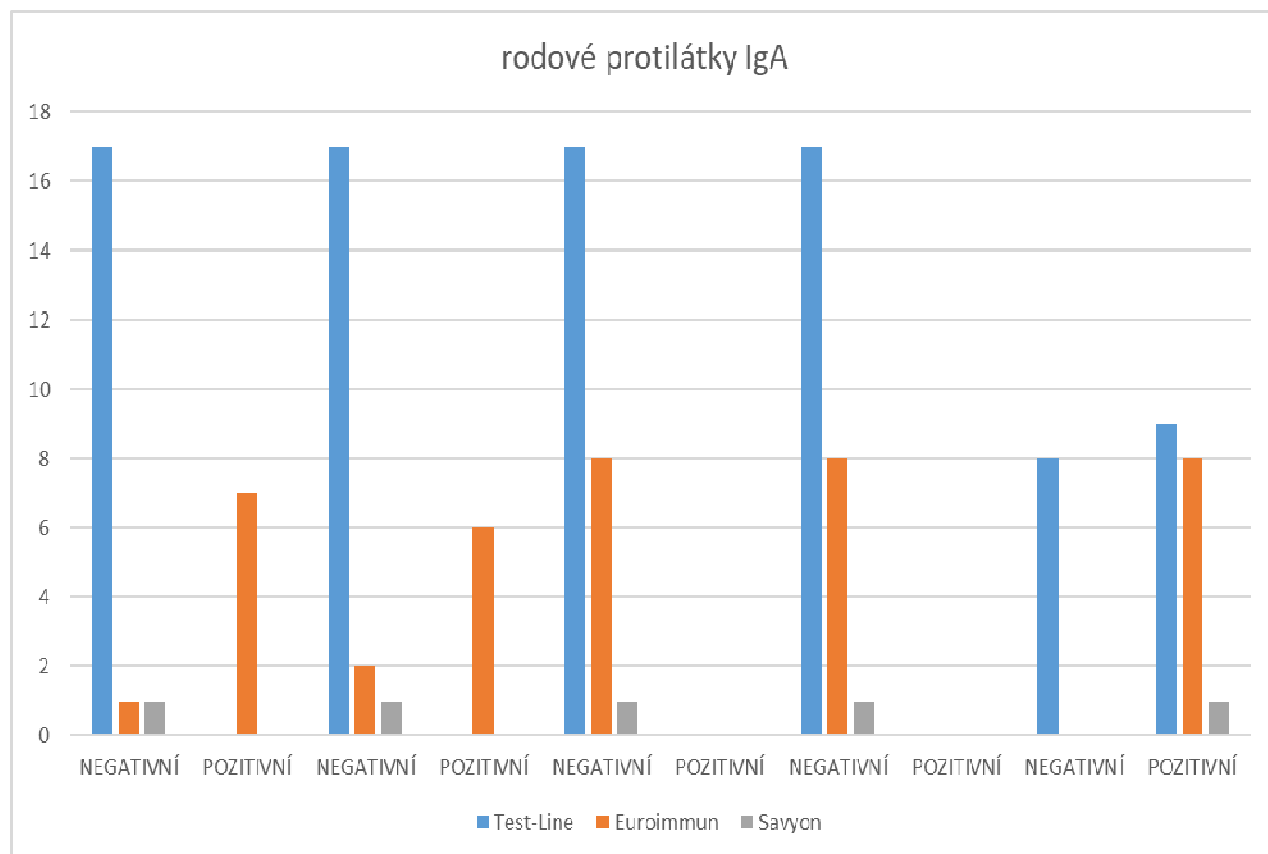
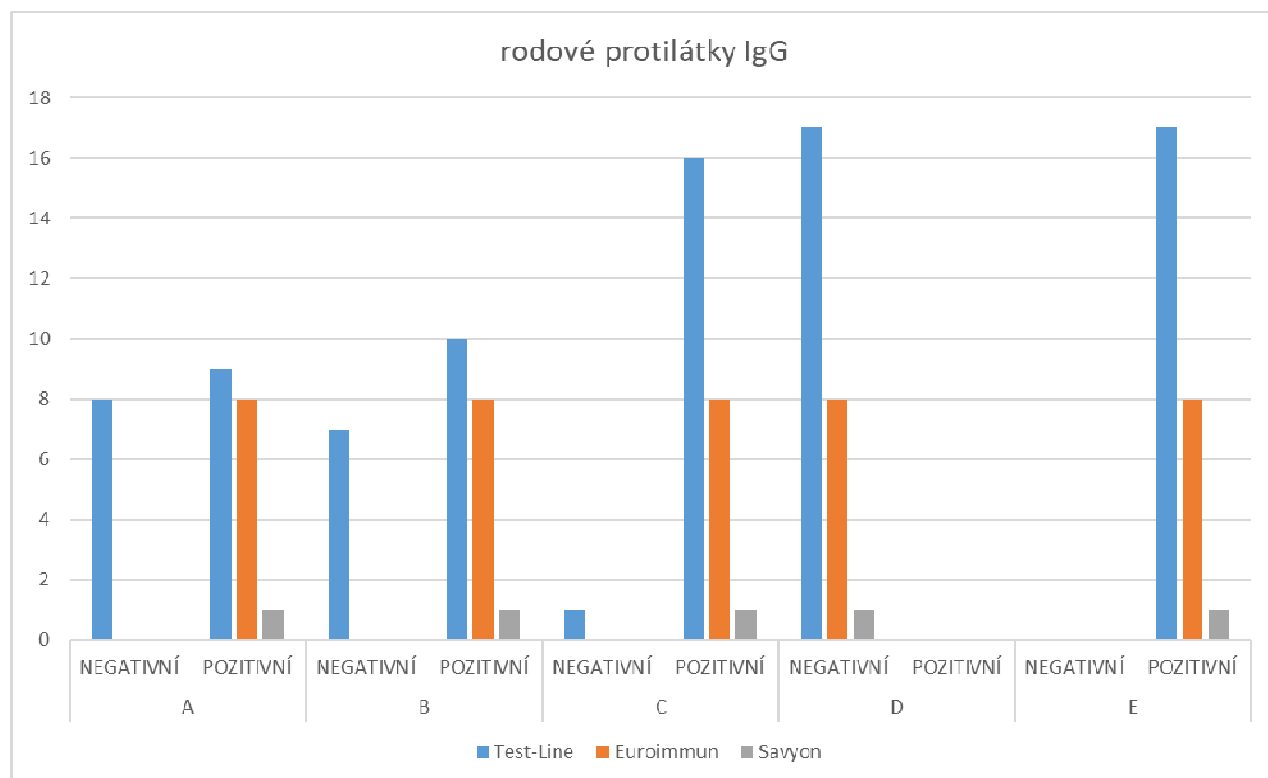
### Výsledky zúčastněných laboratoří:

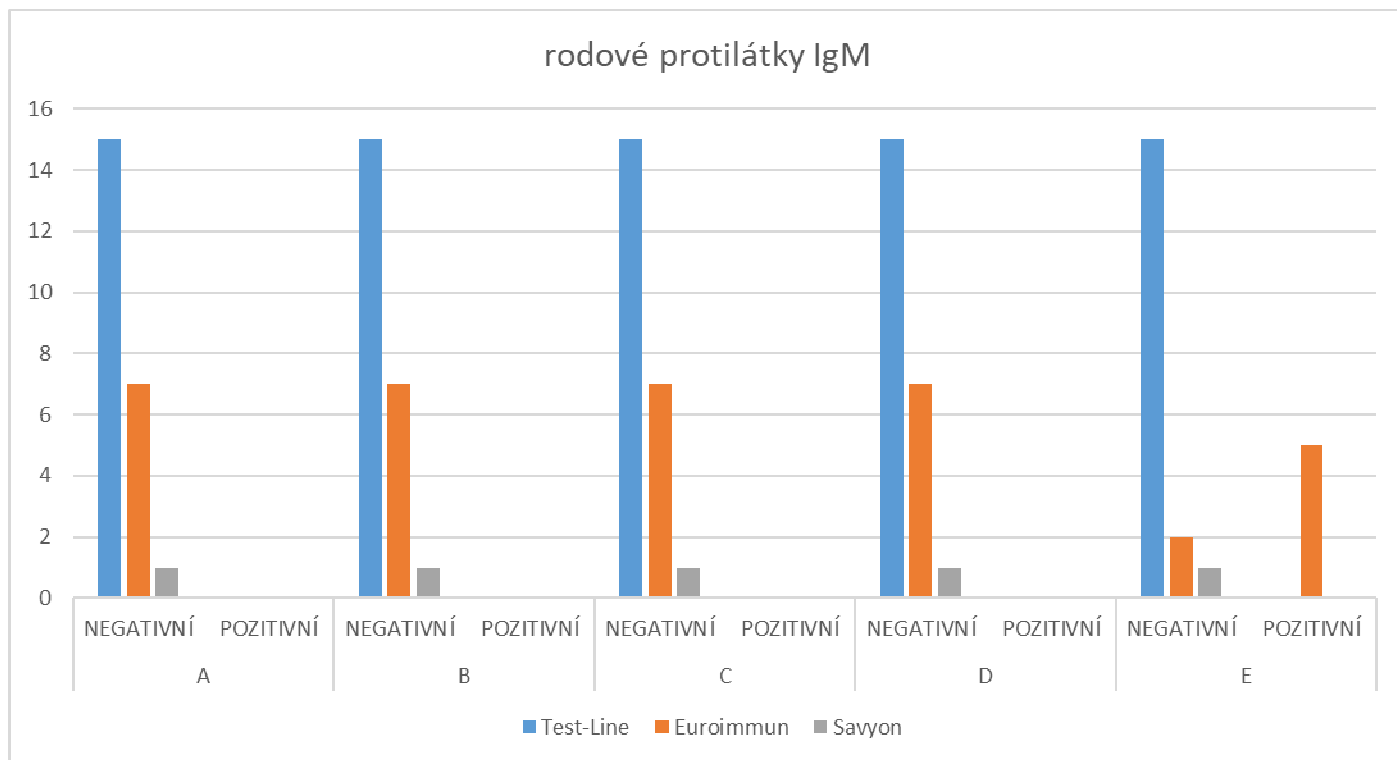
Při hodnocení výsledků rodově specifických testů (detekce anti-LPS protilátek) bylo možno získat maximálně 15 bodů (za každý vzorek maximálně 3 body, za každou jednu chybu - mínus 1 bod). Při hodnocení druhově specifických protilátek bylo hodnoceno všech 9 parametrů (IgG, IgA, IgM u tří druhů: *Chl. 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, v letošním roce jen v případě významného rozporu u některého z metodických přístupů, odchylky způsobené užitím různých diagnostik. Tento postup, stejně jako při předcházejících ročnících EHK, respektuje poměrně značnou nevyrovnanost výsledků vyšetření dosažených různými diagnostiky a různými metodickými přístupy.

Zastoupení jednotlivých výsledků uvádíme v následujících grafech:

### Graf 1 – 3 : rodové protilátky





Letošní série obsahovala materiál s IgG anti-LPS protilátkami ve vzorku A, B, C a E. 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 zkruskuje výsledek přidání druhových antigenů, tento fakt byl, jako vždy, zohledněn.

Při testování druhových protilátek, které provedlo 100 laboratoří, byla patrná variabilita (viz grafy 4 až 23) 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 pozitivity.

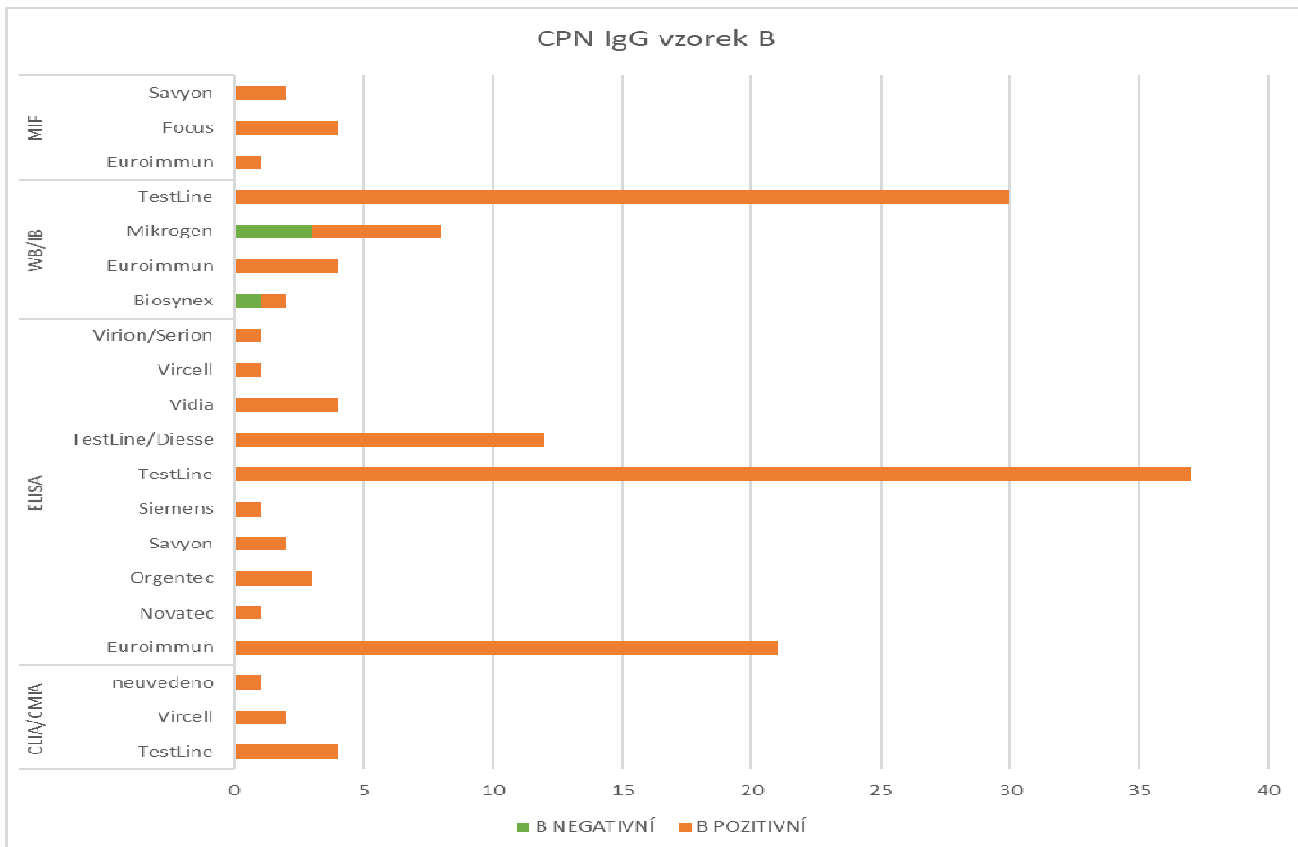
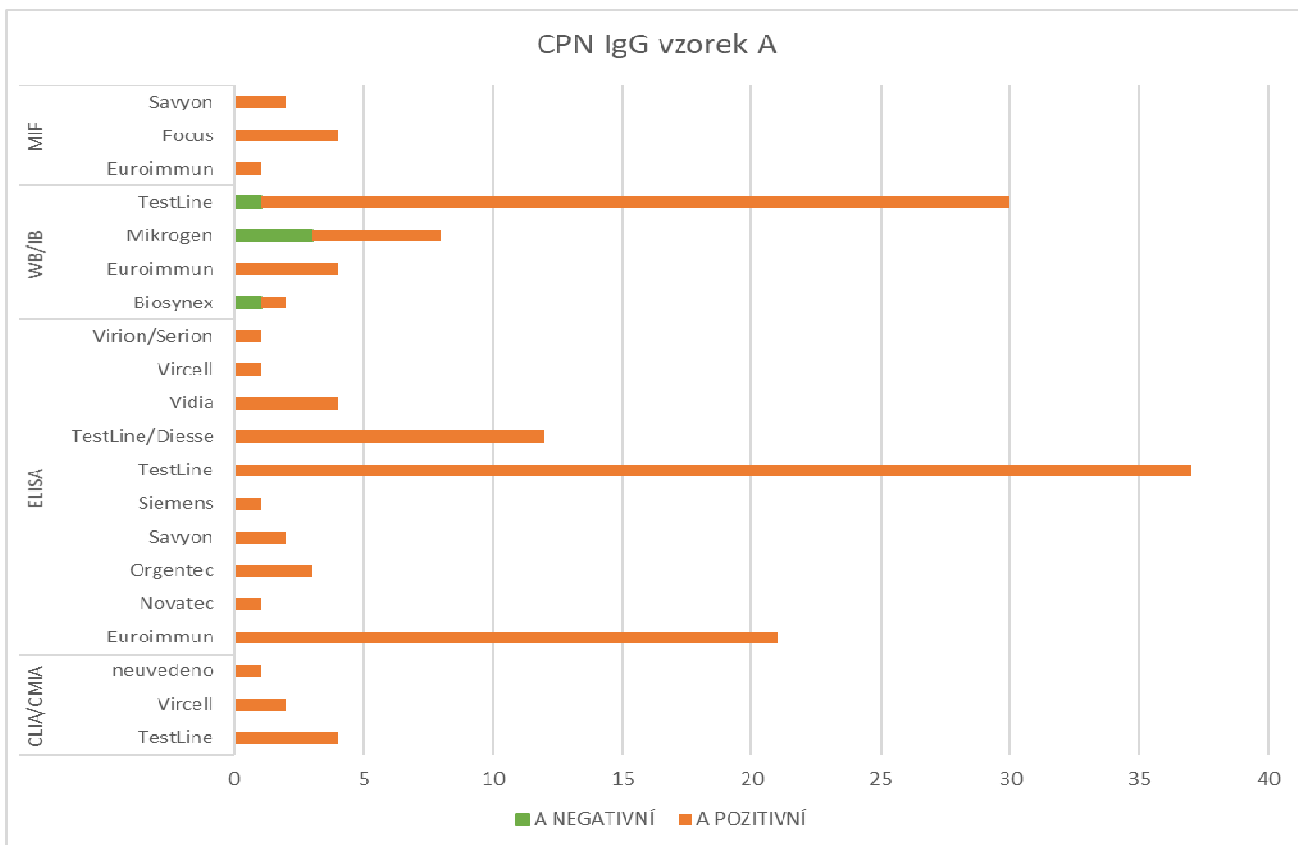
U stanovení protilátek anti-*Chlamydia trachomatis* se projevil v celkovém zastoupení negativního a pozitivního nálezu výrazný podíl diagnostika od jednoho výrobce na poměru výsledků vzorků A a B (identické vzorky) ve třídě IgG a IgA. U *Chlamydia pneumoniae* je patrný stejný fenomén u testů ELISA ve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

Protilátky proti *Chlamydia psittaci* nebyly ve vzorcích obsaženy. Ojedinele se vyskytla zkřížená reaktivita v testech anti-*Chlamydia psittaci* IgG v testech MIF a IB/WB (6 laboratoří).

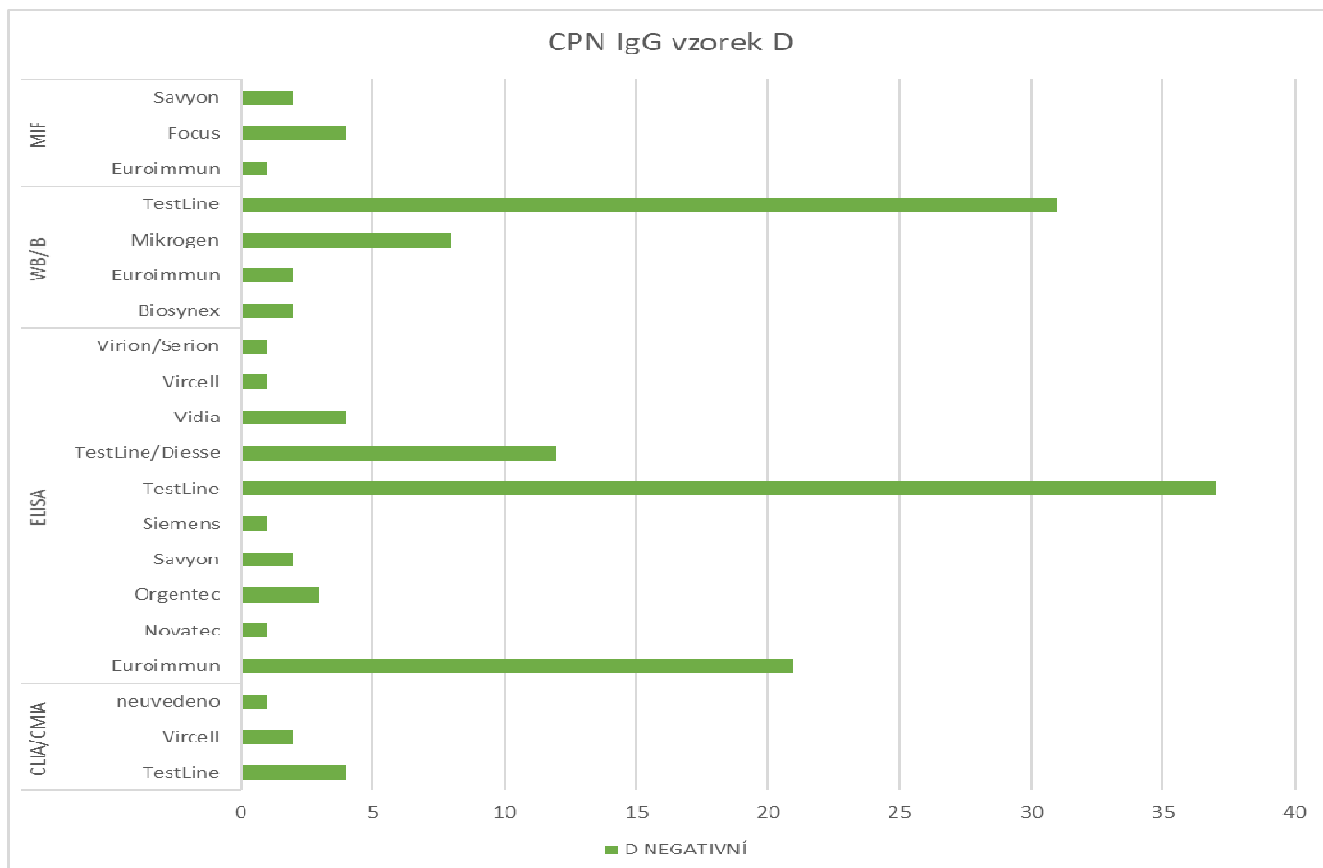
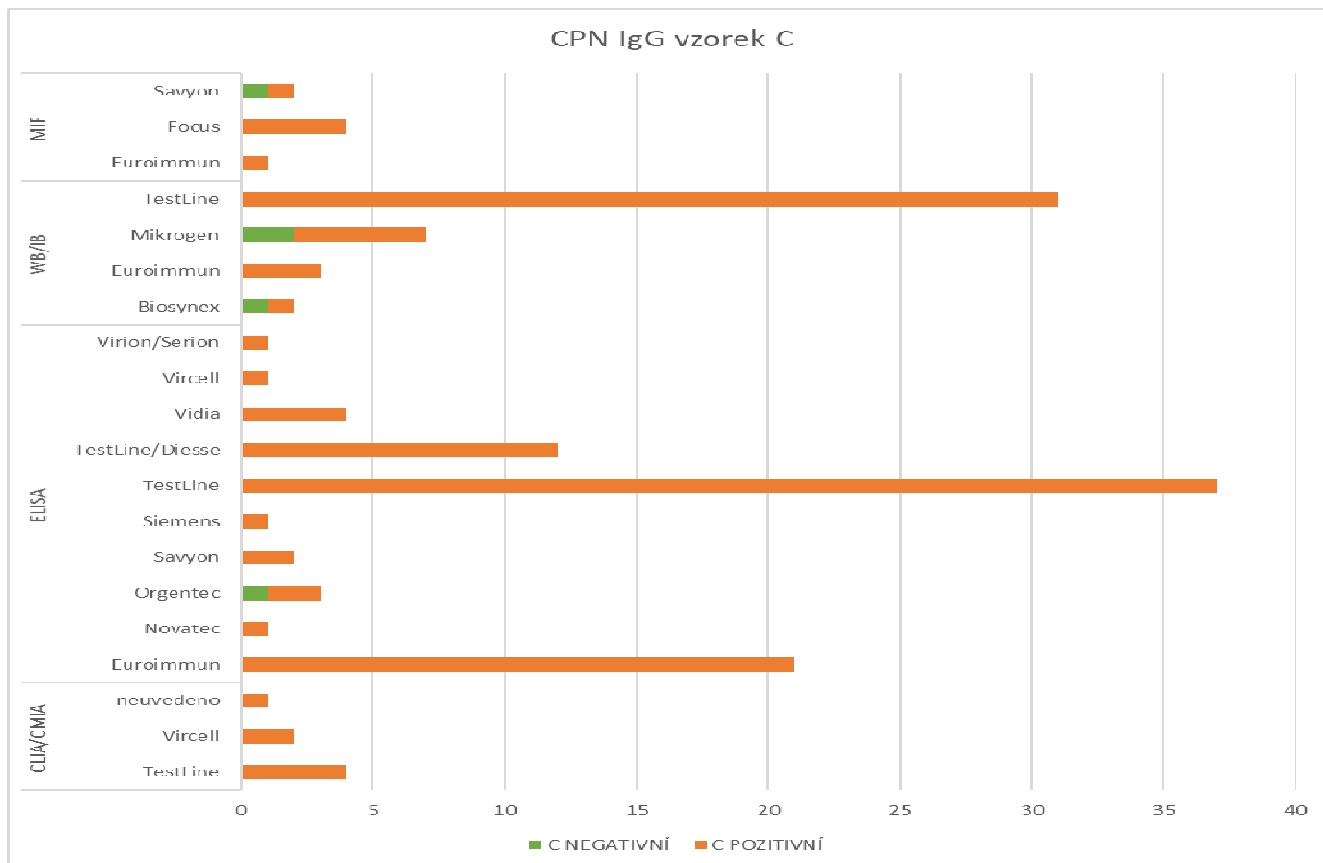
IgM protilátky byly zachyceny jen ojedinele (29 ze 675 provedených testů) v testech ELISA a CLIA/CMIA u vzorků A, B, C a E.

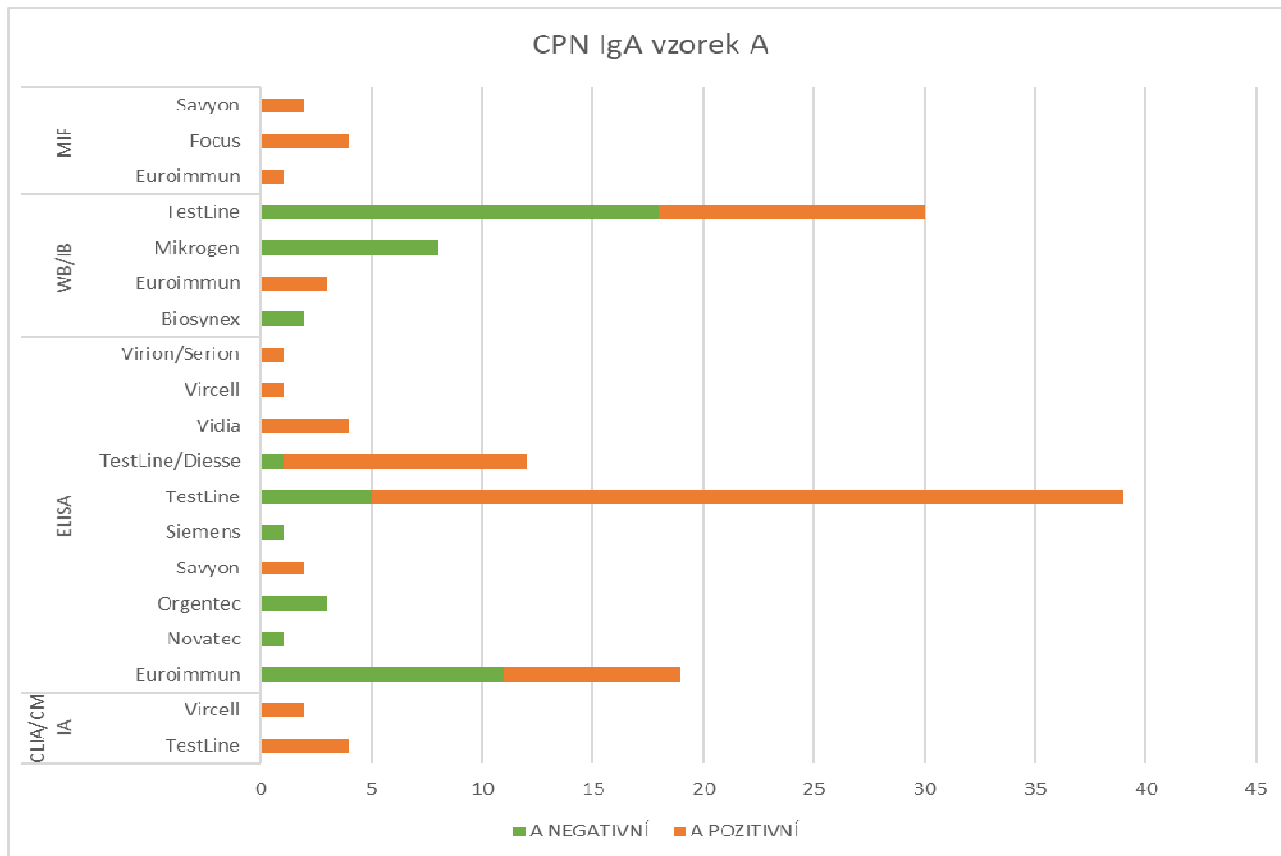
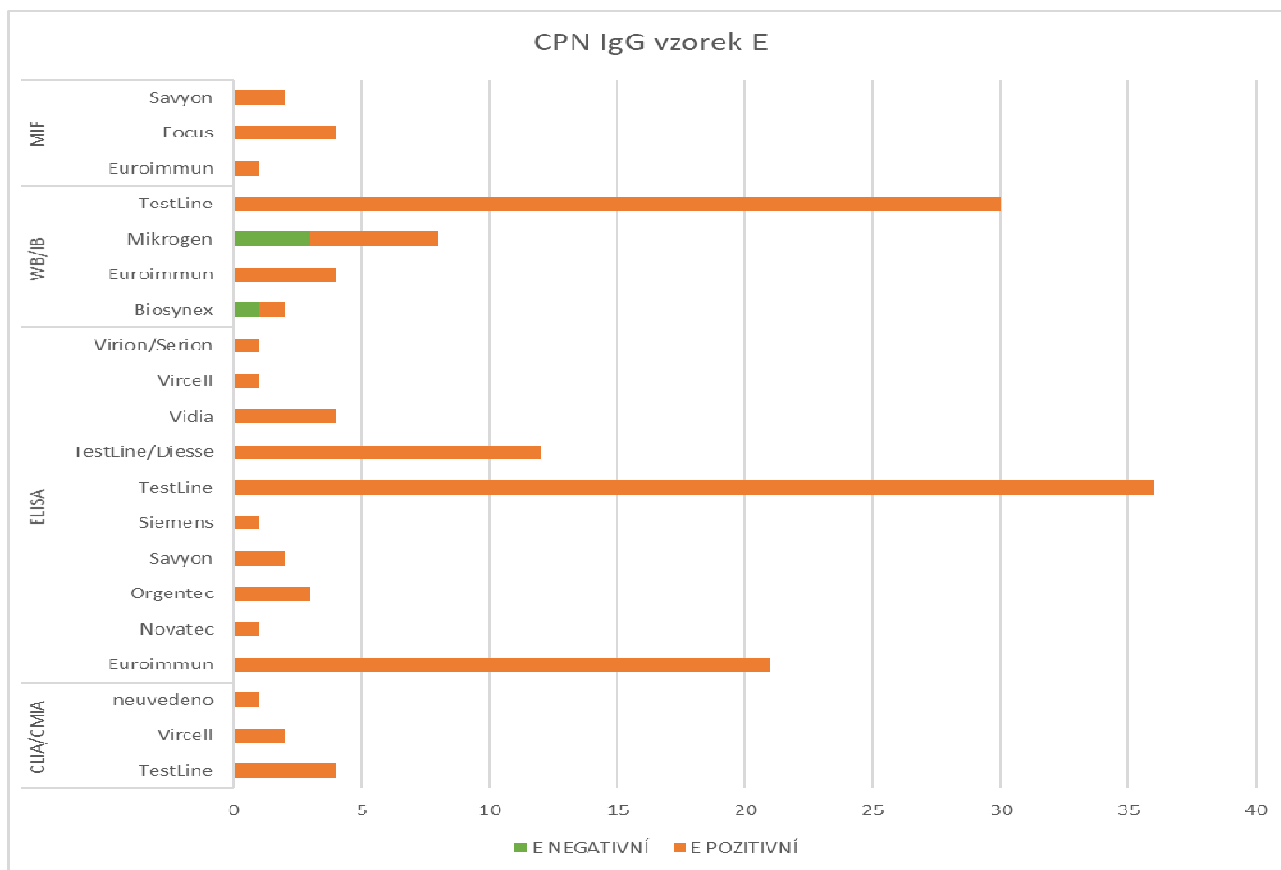
Chybný zápis výsledků do on-line formuláře jsme zaznamenali u 10 laboratoří a mohl mít výrazný vliv na počet získaných bodů.

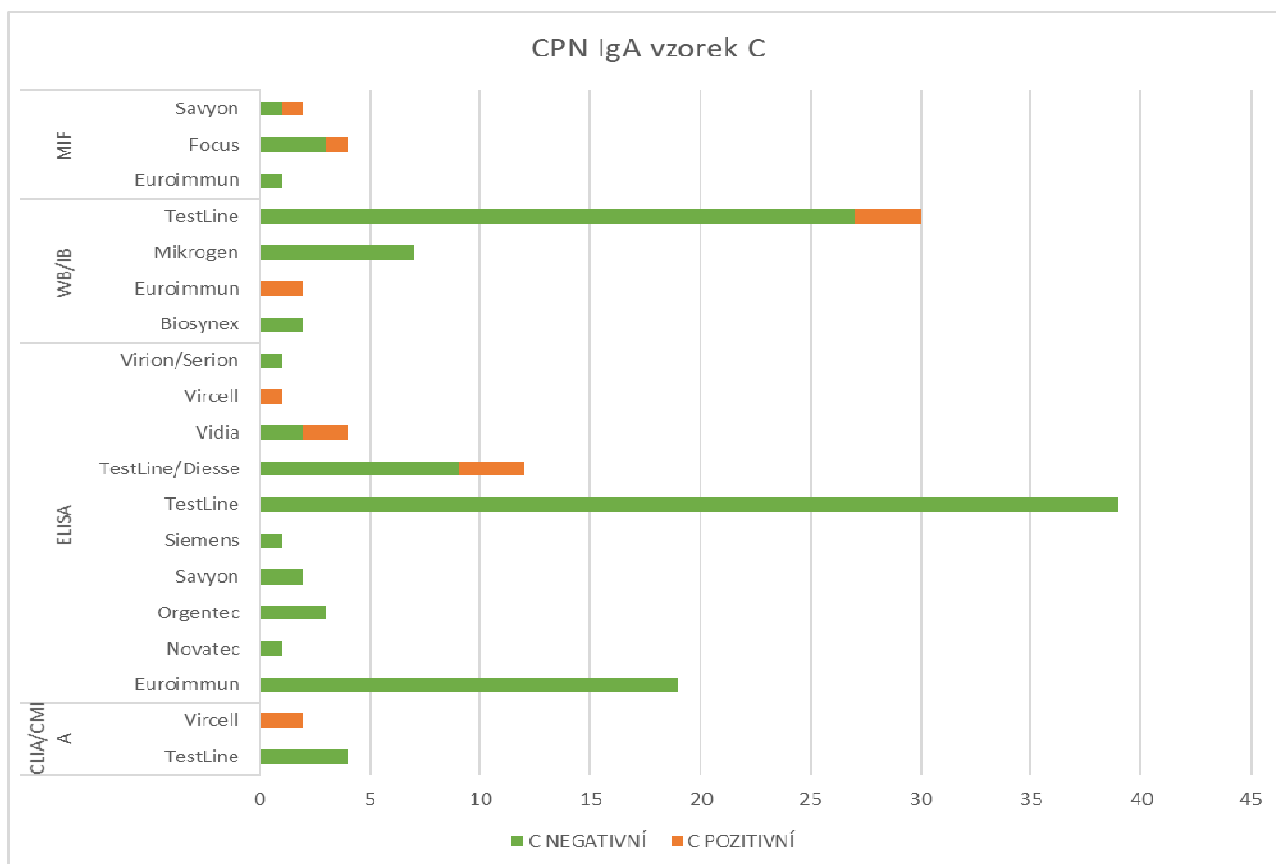
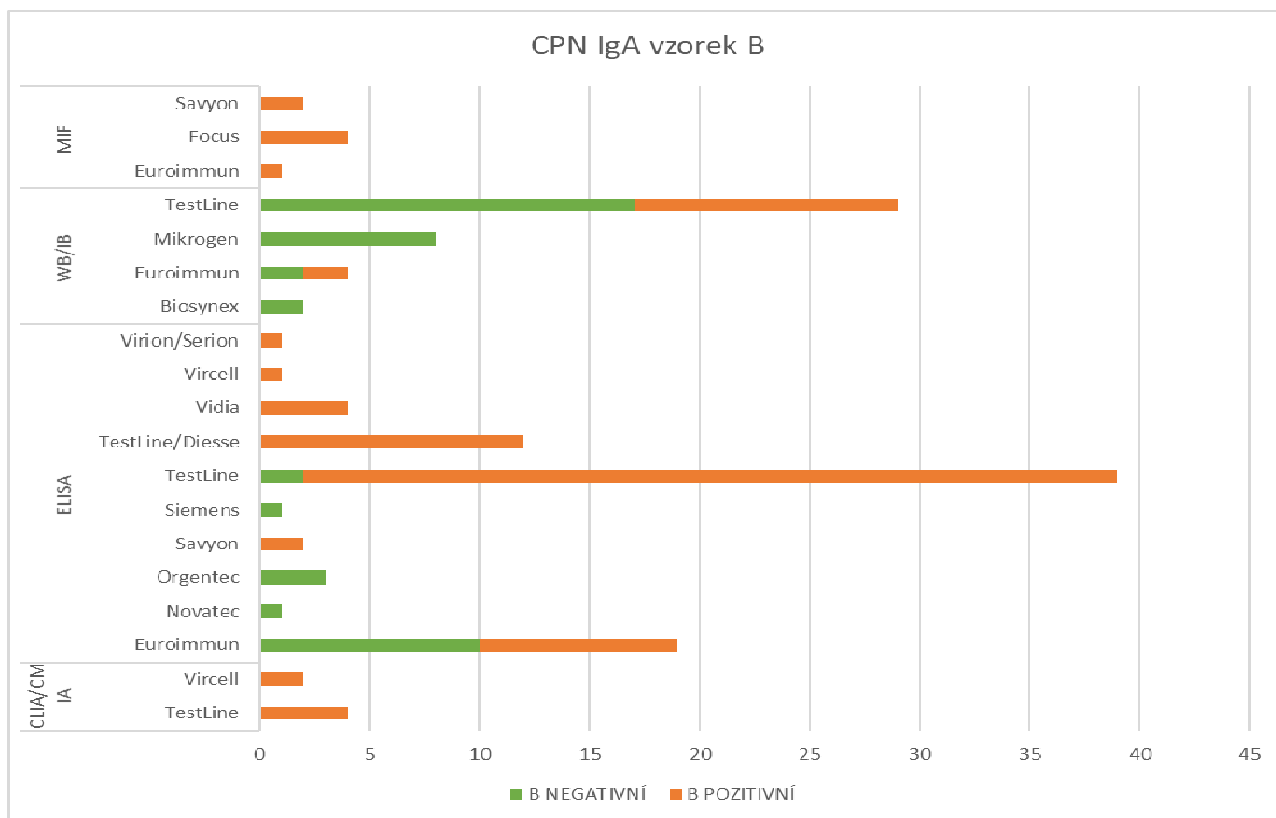
Grafy 4 - 13 : druhové protilátky anti – *Chlamydia pneumoniae*

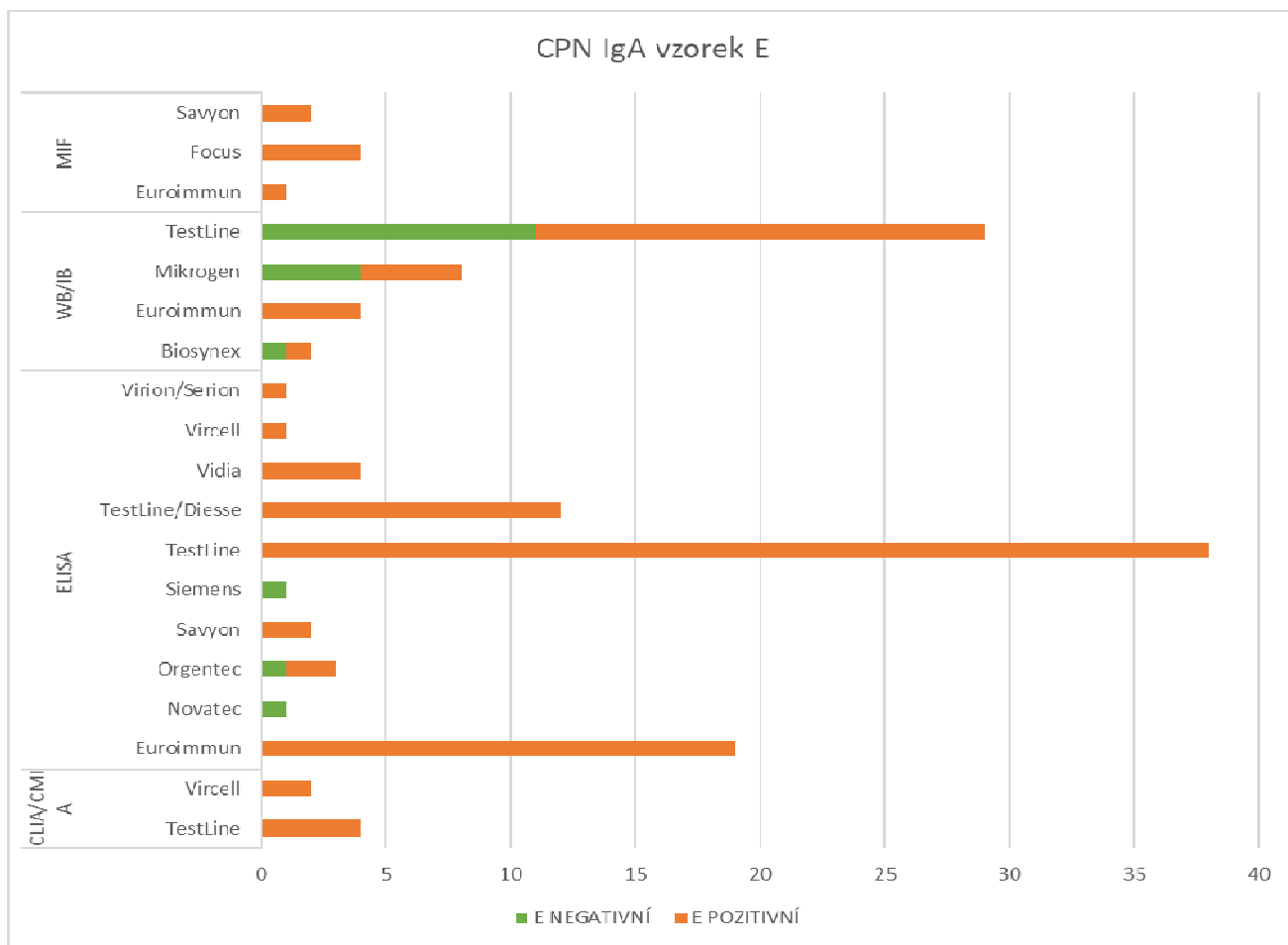
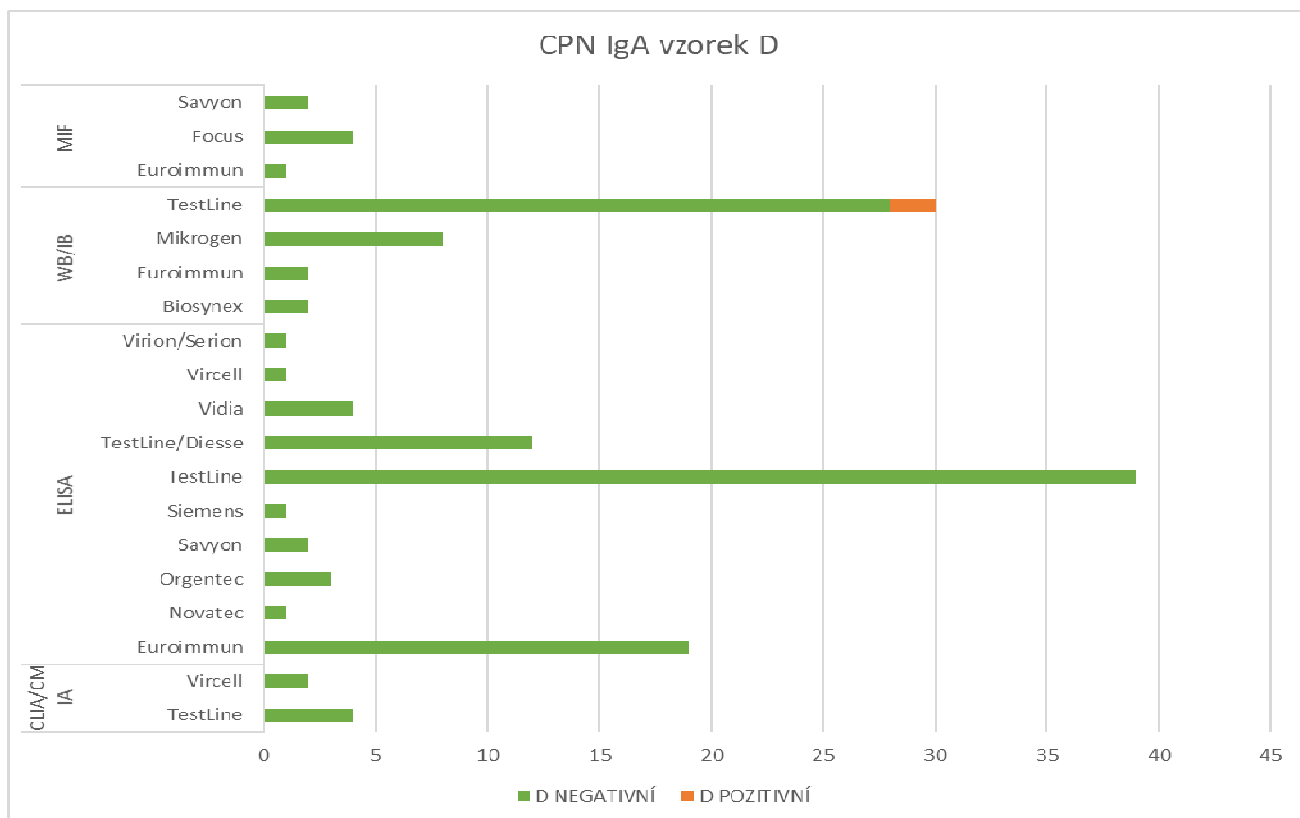




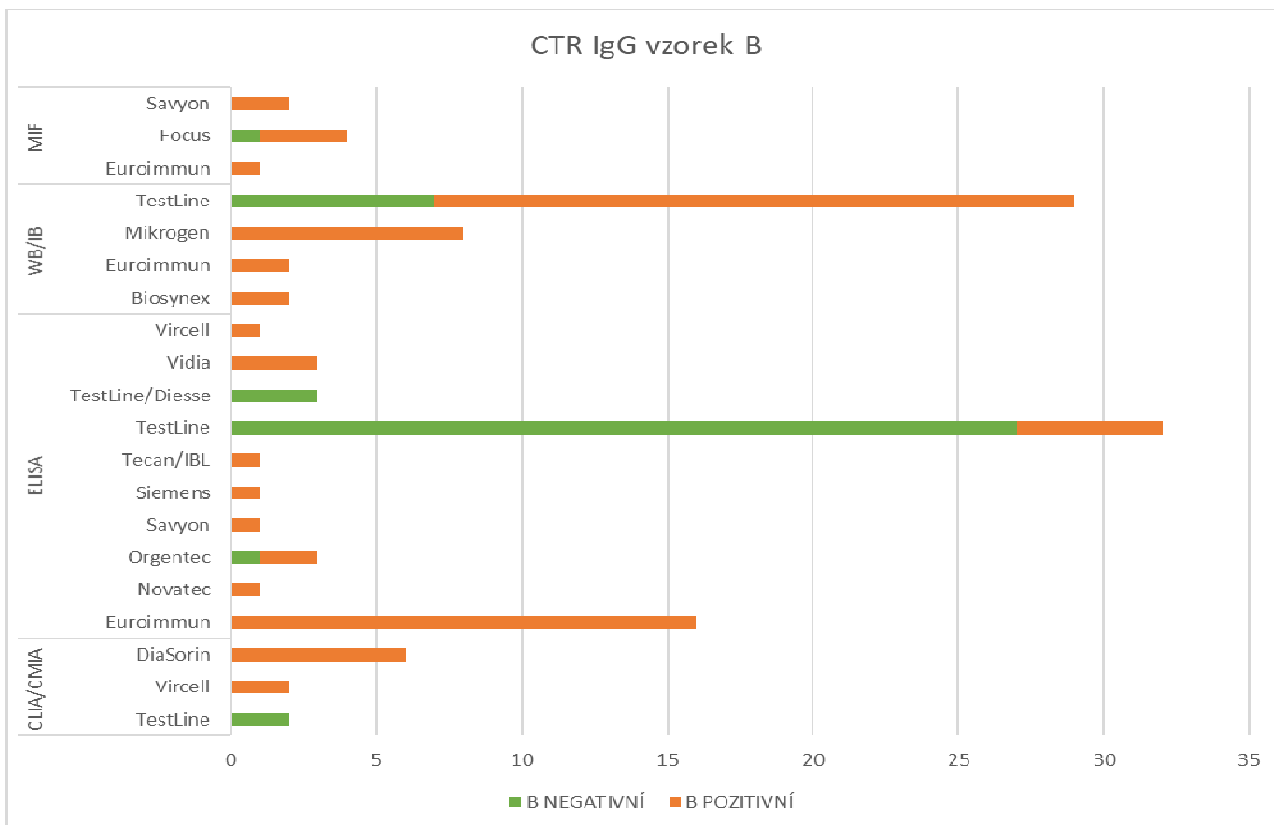
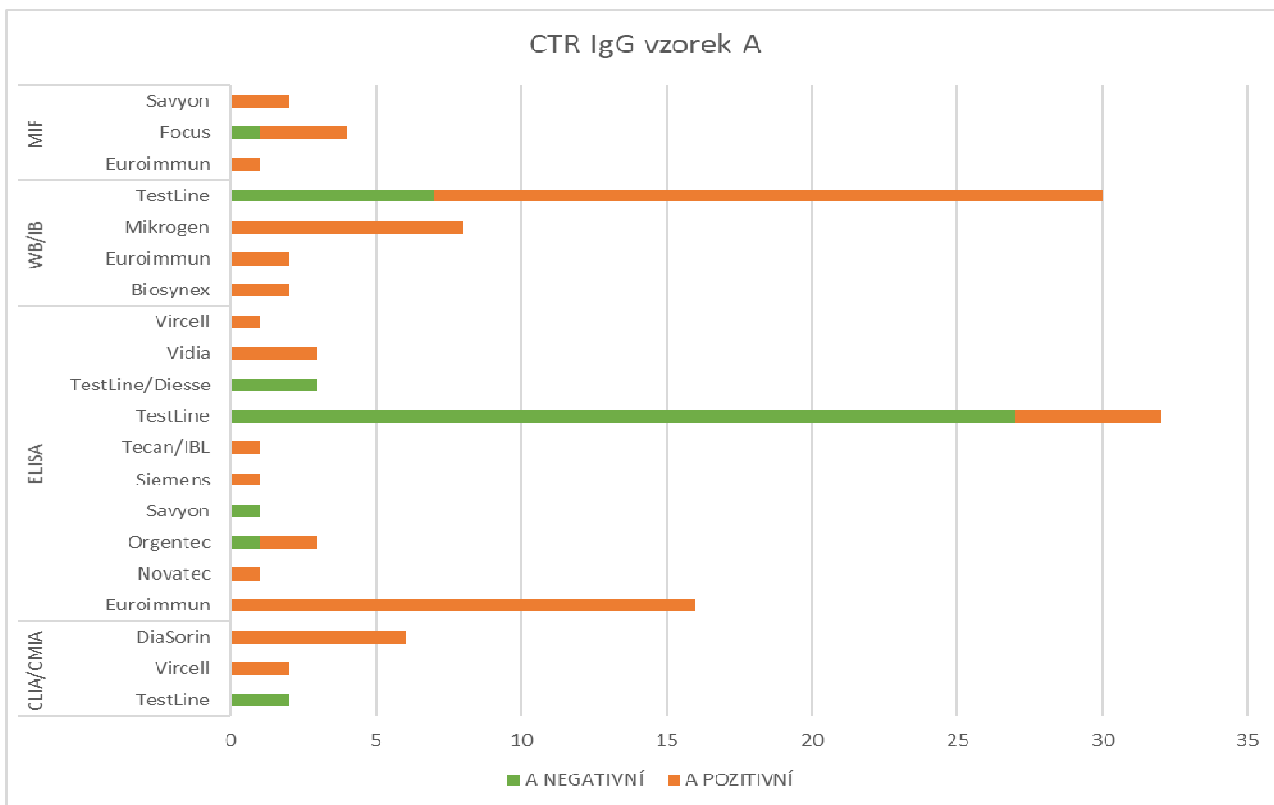


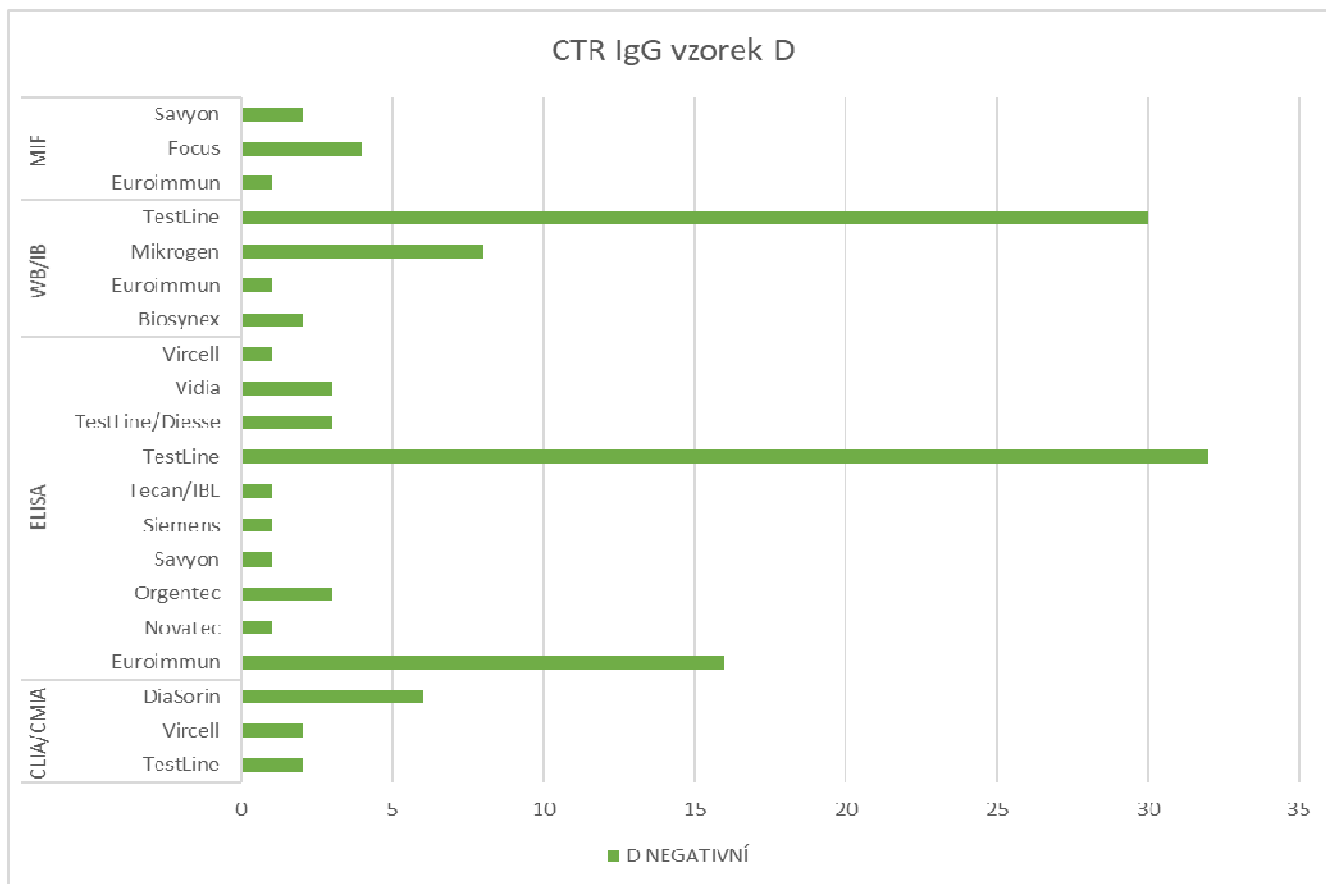


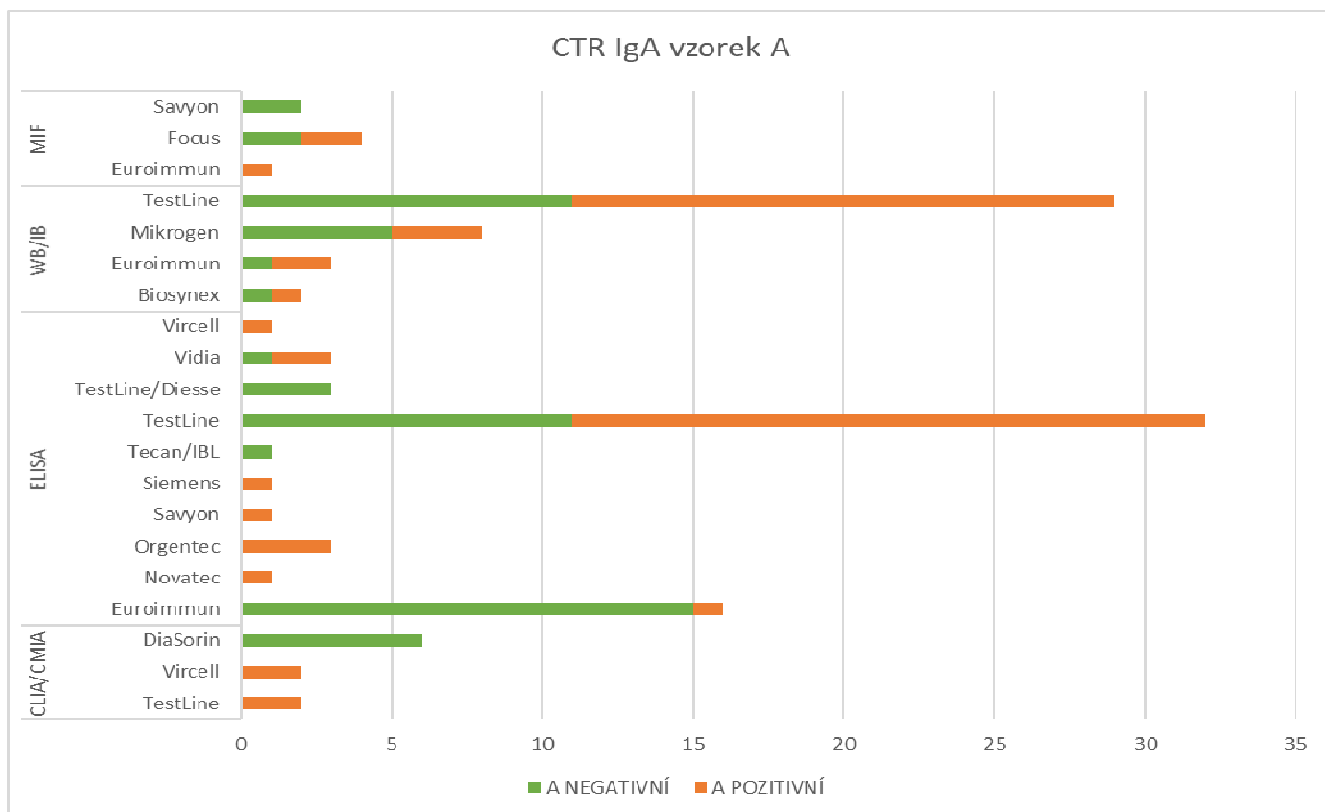
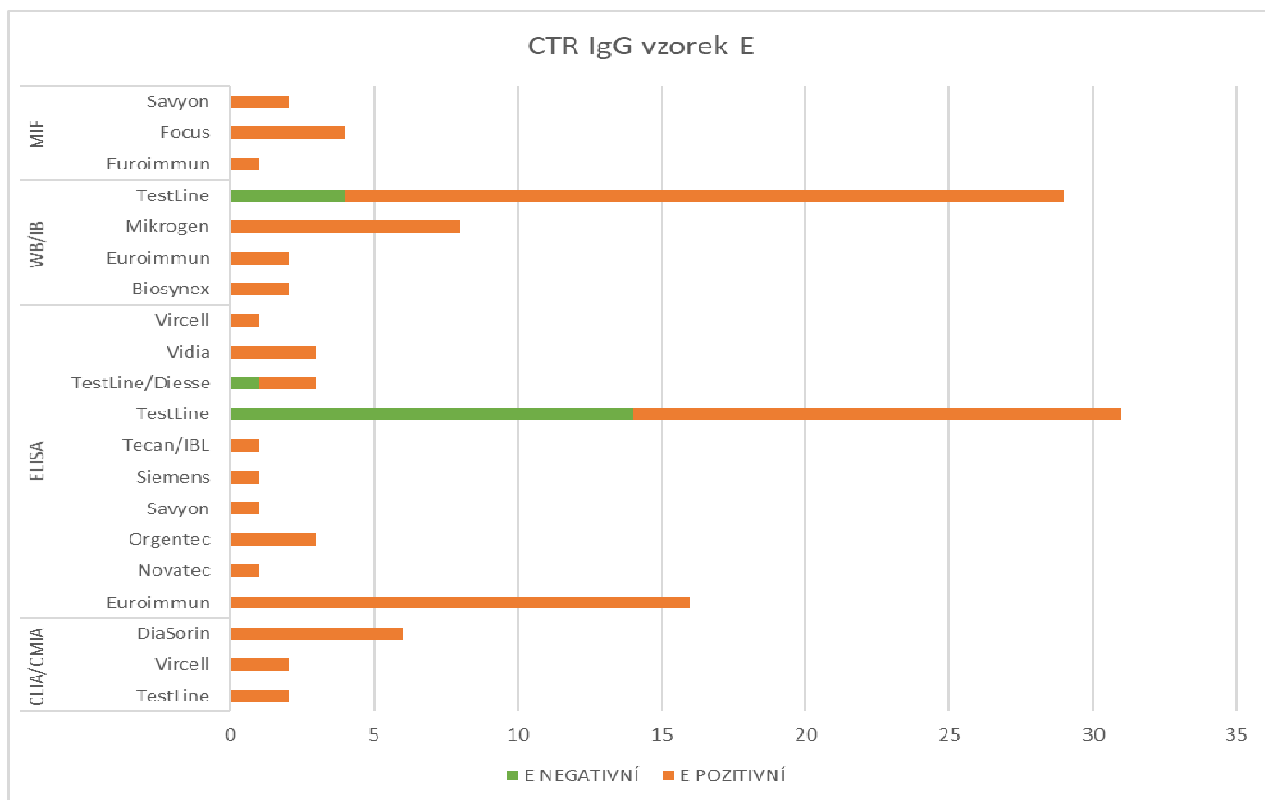


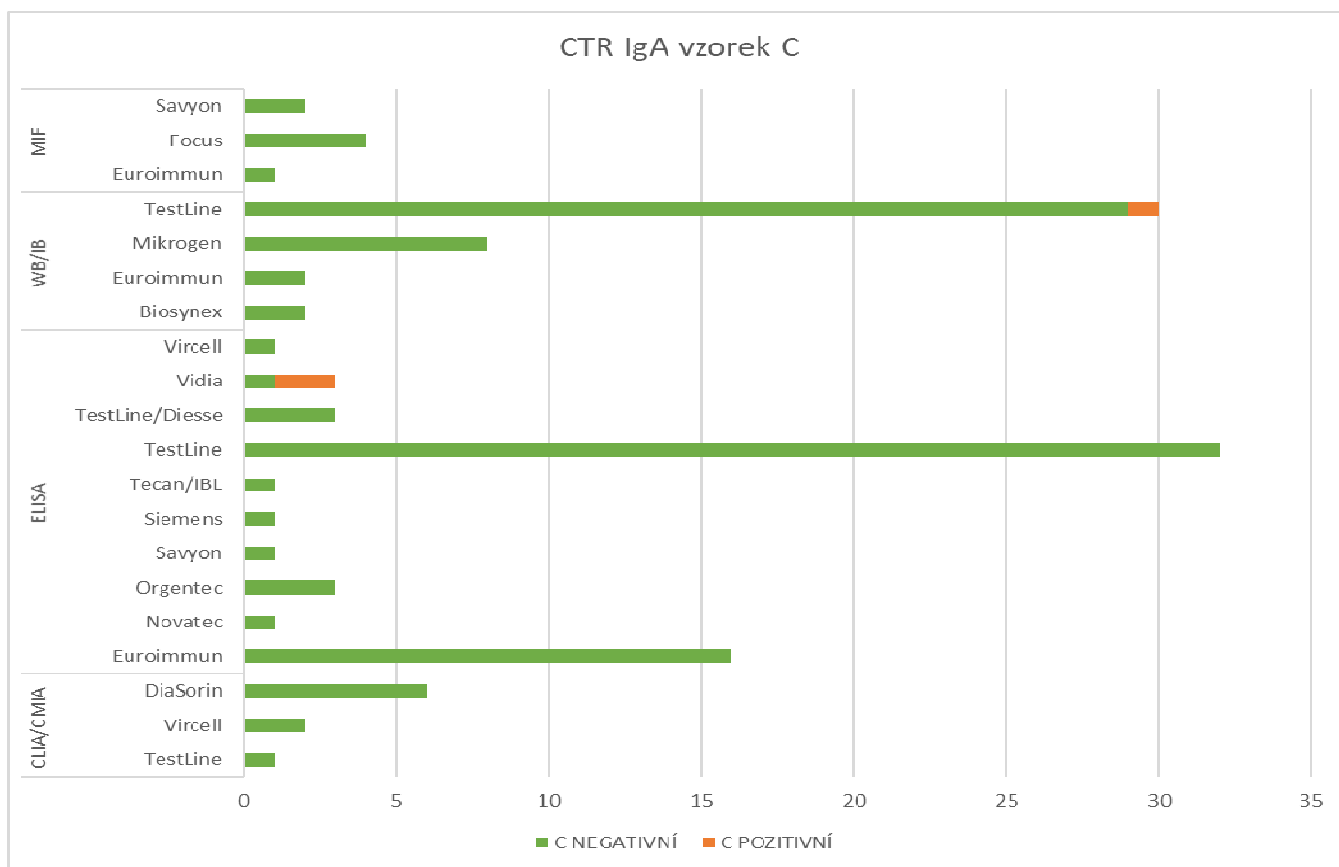
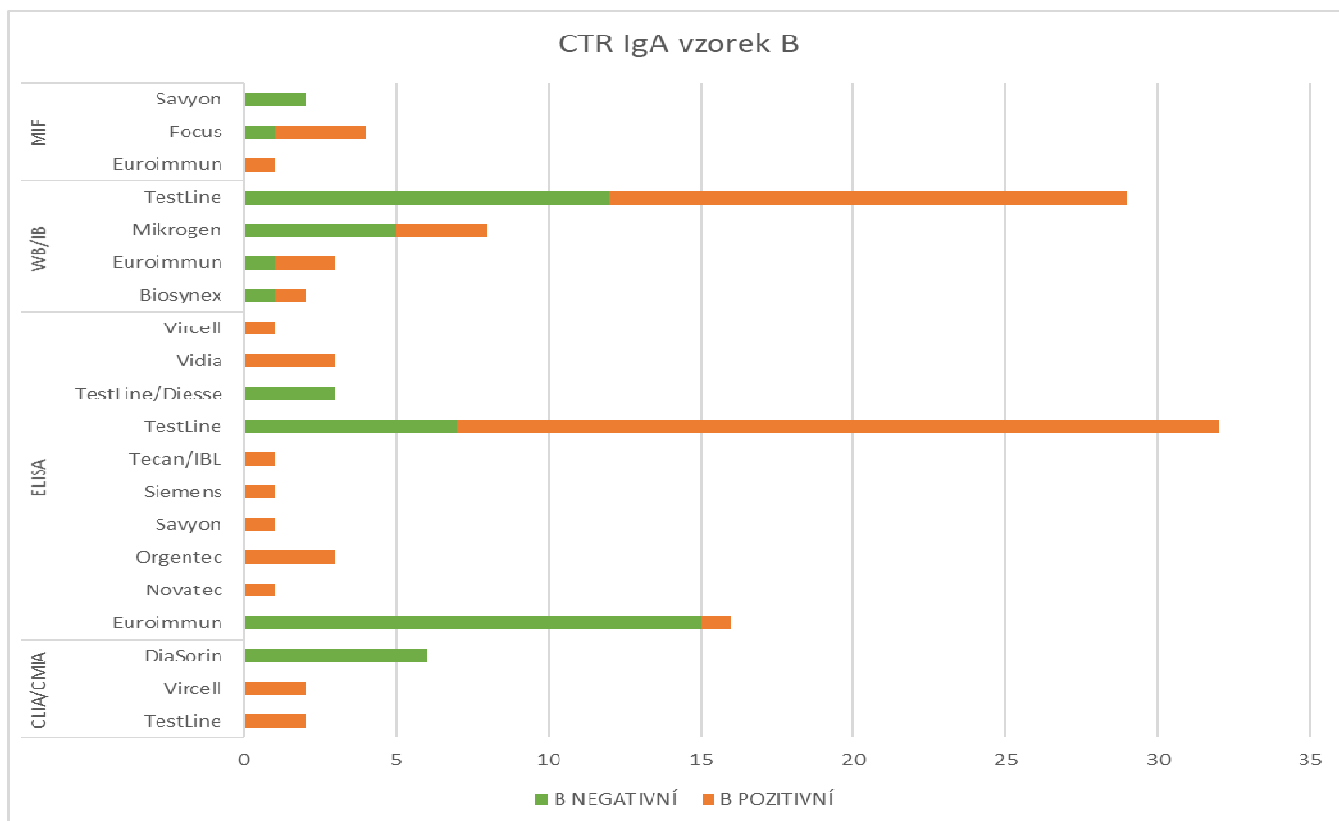


Grafy 14 – 23: druhové protilátky anti – *Chlamydia trachomatis*

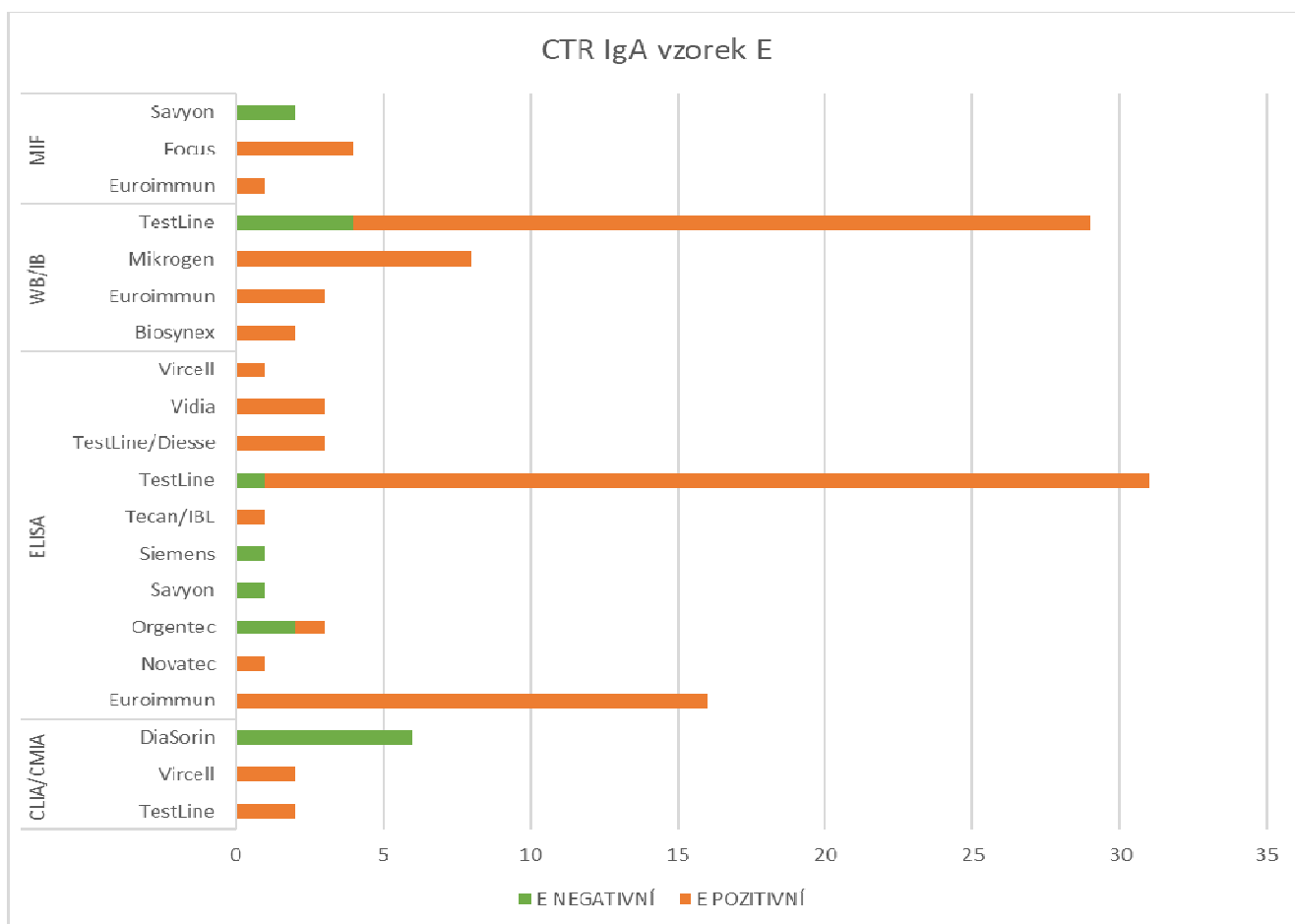
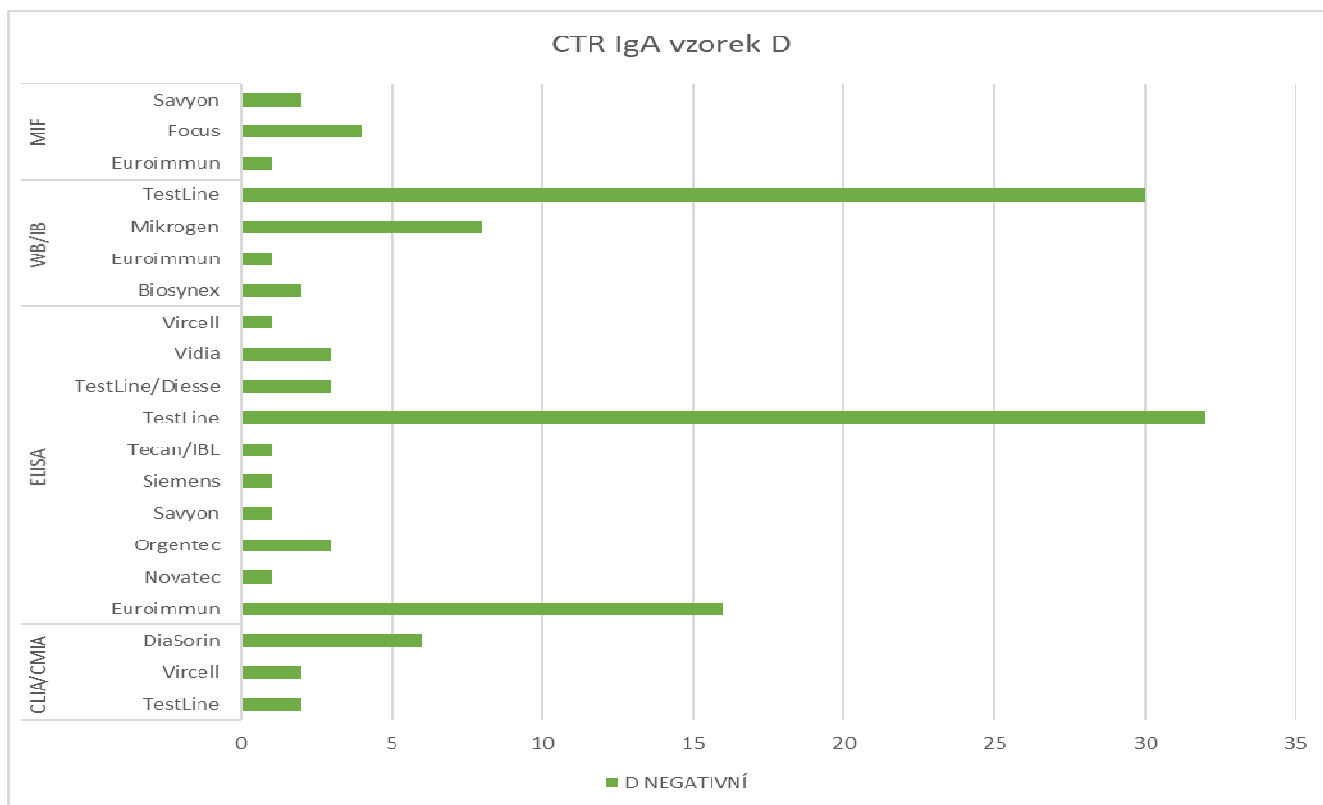












## 6. Závěr

V testování série EHK 1347 sérologie chlamydií neuspělo 8 laboratoří (4 z nich provedly chybně zápis výsledků k jinému markeru), ostatní splnily požadovaný 80% 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 objednat edukativní vzorky prostřednictvím webové aplikace SZÚ, a to do 30 dnů po obdržení svých výsledků. Výsledky edukativních vzorků nebudou mít vliv na opravu předchozího neúspěšného výsledku v rámci EHK a slouží pouze jako podklad pro vylepšení případné neshodné práce v laboratoři.

Edukativní vzorky laboratoř obdrží obvyklou cestou v co nejkratším termínu po objednání.

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

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY