



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Šrobárova 49/48, 100 00, Praha 10

Závěrečná zpráva

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii
(Externí hodnocení kvality)

PT#M/42*/2024 (EHK 1433)

Pilotní série
Sérologie nemoci z kočičího škrábnutí

Praha, červen 2024

Obsah

1.	Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2.	Způsob přípravy vzorků	3
3.	Charakteristika materiálu	4
4.	Způsob hodnocení	5
5.	Vyhodnocení	5
6.	Závěr série EHK 1433	7

Program zkoušení způsobilosti PT#M/42*/2024 byl zaměřen na sérologii nemoci z kočičího škrábnutí. Návrh a realizace PT#M/42*/2024 byly prováděny podle standardního operačního postupu koordinátora programu na pracovišti Expertní skupiny pro zkoušení způsobilosti (ESPT) Státního zdravotního ústavu (SZÚ).

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.

Zprávu vypracoval:

Mgr. Jiří Navrátil, NRL pro lymeskou borreliózu, SZÚ Praha
Tel: 267 082 105

Zprávu autorizoval:

RNDr. K. Kybicová, Ph.D., NRL pro lymeskou borreliózu, SZÚ Praha

Dne: 25. 6. 2024

Pracoviště 2 ESPT

<https://szu.cz/sluzby/zkouseni-zpusobilosti/zkouseni-zpusobilosti-pro-lekarskou-mikrobiologii/>
e-mail: ehk@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/42*/2024

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1433
Název:	Sérologie nemoci z kočičího škrábnutí
Koordinátor:	RNDr. Kateřina Kybicová, Ph.D.
Podstata a účel PT:	Průkaz IgM a IgG protilátek proti <i>Bartonella henselae</i> , interpretace výsledků sérologických testů u dvou párových vzorků Požadavky na laboratoře: zajištění správné laboratorní praxe
Kritéria pro účast na PT:	Znalost a technické vybavení pro vyšetření protilátek proti <i>Bartonella henselae</i> , znalost správné interpretace výsledků sérologických testů a zajištění správné laboratorní praxe
Charakteristika materiálu:	krevní sérum, plasma
Hodnocené ukazatele:	Celková interpretace vzorku
Způsob přípravy:	viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Počet účastníků:	14
Termín distribuce vzorků:	13. 5. 2024
Informace účastníkům:	Viz informace zaslané spolu se vzorky
Termín odeslání výsledků účastníky:	3. 6. 2024
Označení vzorkovnic:	EHK 1433, PT#M/42*, č.A1, A2, B1, B2, 7. 5. 2024
Zabezpečení kvality vzorku:	1. Testování kontrolních vzorků sérologickými testy IFA 2. Kontrolní testování vzorků testy ELISA a CLIA Pro zajištění stability je do výchozího materiálu přidáván po rozmražení ProClinTM ve výsledné koncentraci 0,0095%.
Test homogenity a stability:	Homogenita a stabilita všech čtyř vzorků je testována ve třech testováních (před a po rozplnění a po uzavření cyklu), testováním musí být dosaženo stejných výsledků v čase
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor
Způsob vyhodnocení výsledků:	Vyhodnocuje se celková interpretace vzorku u dvou párových sér výběrem ze tří možností, detailní hodnocení viz SOP M/42
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Vztažnou hodnotou jsou výsledky NRL, které byly získané trojitým opakovaným testováním vzorků.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neprovádí se
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	13. 7. 2024
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 26. 8. 2024

2. Způsob přípravy vzorků**2.1 Postup přípravy výchozího materiálu**

Výběr vzorků byl uskutečněn cíleně pro zjištění hladiny antibartonellových protilátek ve třídách IgM a IgG. Všechny vzorky byly diagnostikovány dle standardních operačních postupů pro detekci specifických protilátek metodami IFA, ELISA a CLIA, z nichž pak byla vybrána reprezentativní skupina kontrolních vzorků, které se dále testovaly podle standardního operačního postupu SOP M/42 dalšími CE IVD sérologickými metodami nejčastěji používanými v ČR.

2.2 Zabezpečení kvality výchozího materiálu, homogenita a stabilita

Pro zajištění stability byl do výchozího materiálu přidán po rozmražení ProClin 950 s antibakteriálními účinky v koncentraci 0,05-0,1%.

Homogenita vzorků byla testována v prvním měření před rozesláním vzorků laboratořím a to ve třech paralelních měřeních. Výsledky všech měření si odpovídaly.

Stabilita v čase byla testována současně s distribucí vzorků a poté v průběhu a ke konci doby, po kterou mohou účastníci programu testovat rozeslané vzorky. Výsledky všech tří testování se shodovaly.

2.3 Rozplnění výchozího materiálu

Vzorky byly rozplněny v objemu 250 µl do označených zkumavek. Distribuovány byly v předepsaném obalu a při teplotě 2-8 °C.

3. Charakteristika materiálu

Vzorky A1 a A2 jsou prvním a druhým odběrem párových sér od zdravého krevního dárce bez známek probíhající CSD. Tato séra obsahují přetrvávající IgG protilátky proti *Bartonella henselae* pozitivní v základním titru.

Vzorky B1 a B2 jsou prvním a druhým odběrem párových sér pacienta s klinickými příznaky CSD infekce. Ve druhém odběru byl prokázán čtyřnásobný vzestup IgG protilátek proti *Bartonella henselae*, což je předpokladem akutní CSD infekce.

Všechny vzorky byly v NRL LB testovány několika sérologickými testy (IFA, ELISA, CLIA) nejčastěji používanými v ČR s výsledkem odpovídající očekávaným výsledkům.

Výsledky vyšetřovaných vzorků

Vzorek	IFA IgM	IFA IgG	Interpretace
A1	N	H, P (základní titr)	1
A2	N	H, P (základní titr)	
B1	N	N, H, P	2
B2	N	P (4x titr)	

Vysvětlivky: Kvalitativní výsledky sérologických testů

N = negativní H = hraniční P = pozitivní

Vysvětlivky: Celková interpretace párových vzorků

0 *Nebyly detekovány protilátky proti Bartonella henselae. Není pravděpodobná probíhající CSD infekce*

1 *Byly detekovány protilátky proti Bartonella henselae. V párovém séru nedochází ke čtyřnásobnému vzestupu titru protilátek, zřejmě se jedná o přetrvávající protilátky*

2 *V párovém séru byl detekován čtyřnásobný vzestup IgG protilátek a/nebo nově detekovány IgM protilátky, což svědčí pro probíhající CSD infekci.*

4. Způsob hodnocení

Bodové hodnocení probíhá na základě správného hodnotícího komentáře (interpretace) párového séra (viz bod 3.2 Interpretace párového séra a bodování). Za výsledky a interpretaci každého párového séra EHK je možno získat maximálně 3 body. Pokud výsledek a interpretace udávaná účastníkem není v souladu s výsledky a interpretacemi získanými v NRL LB, je přidělen nižší počet bodů. Za jednu sérii EHK je celkový maximální počet 6 bodů.

Celková interpretace vzorku

Z nabídnutých možností laboratoř vybere vhodný hodnotící komentář pro párové sérum:

0 *Nebyly detekovány protilátky proti Bartonella henselae. Sérologický výsledek neukazuje na probíhající nemoc z kočičího škrábnutí.*

1 *Byly detekovány protilátky proti Bartonella henselae, v párovém séru nedochází ke čtyřnásobnému vzestupu titru protilátek, zřejmě se jedná o přetrvávající protilátky*

2 *V párovém séru byl detekován čtyřnásobný vzestup IgG protilátek a/nebo nově detekovány IgM protilátky, což svědčí pro probíhající infekci nemoci z kočičího škrábnutí.*

Jestliže laboratoř uvede u vzorku správné číslo komentáře, obdrží 3 body.

Pokud je správný komentář 0, laboratoř, která uvedla komentář 1, obdrží 2 body. Laboratoř, která uvedla komentář 2, obdrží 0 bodů.

Pokud je správný komentář 1, laboratoř, která uvedla komentář 0, obdrží 2 body. Laboratoř, která uvedla komentář 2, obdrží 0 bodů.

Pokud je správný komentář 2, laboratoř, která uvedla komentář 0 nebo 1, obdrží 0 bodů.

Tabulka bodování:

Správná interpretace	Vybraná interpretace		
	0	1	2
0	3 body	2 body	0 bodů
1	2 body	3 body	0 bodů
2	0 bodů	0 bodů	3 body

5. Vyhodnocení

Konečné hodnocení bylo provedeno u 14 protokolů, které se do NRL/LB navrátily ke dni 3. 6. 2024. Tabulky uvádějí výsledky laboratoří a jejich hodnocení.

Hodnocení podle počtu bodů za jednotlivé párové vzorky

počet bodů	Vzorky A1 a A2	Vzorky B1 a B2
0	7,1 % (1)	35,7 % (5)
1	0 %	0 %
2	35,7 % (5)	0 %
3	57,1 % (8)	64,3 % (9)

CELKEM testovalo: 14

14

Celková interpretace

Hodnocení	Vzorky A1 a A2	Vzorky B1 a B2
0	5 (35,7 %)	5 (35,7 %)
1	8 (57,1 %)	
2	1 (7,1 %)	9 (64,3 %)

CELKEM testovalo: 14

14

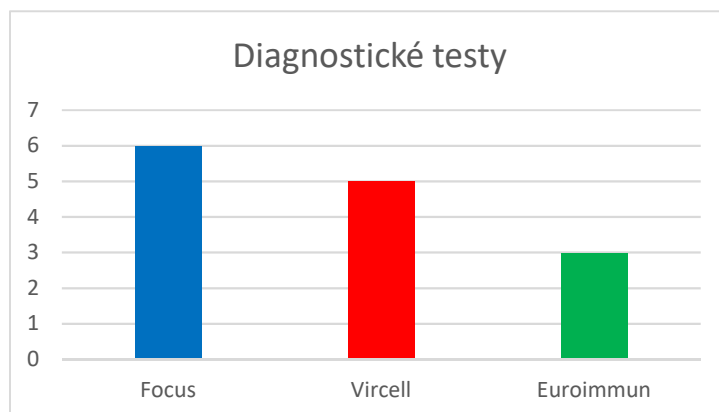
Nejčastěji používané diagnostické testy

Název	Počet uživatelů
IFA Focus	6 (42,9 %)
CLIA Vircell (Virclia)	5 (35,7 %)
IFA Euroimmun	3 (21,4 %)

CELKEM testovalo: 14

Metodou CLIA Vircell (Virclia) hodnotilo vzorky 5 laboratoří. Pouze jedna laboratoř vyhodnotila oba vzorky správně. Ostatní laboratoře nedetekovali žádné protilátky a to ani u vzorku B2, kde se jednalo o akutní infekci a významný vzestup protilátek. Jedná se zřejmě o chybné nastavení metody. Metoda CLIA není pro detekci CSD protilátek ideální. Z indexu positivity nelze správně odvodit vyšší titru, o které se odvíjí, zda se jedná o přetrvávající protilátky (které má 30% zdravé populace) nebo akutní CSD infekci.

Metody IFA (Focus nebo Euroimmun) jsou pro diagnostiku CSD infekce velmi vhodné, sedm laboratoří určilo vzorky správně. K chybám však docházelo i u laboratoří používajícím tyto metody. Ve dvou případech nebyly určeny přetrvávající protilátky vzorků A1 a A2, laboratoře vzorky určili jako negativní. V jednom případě byl u vzorku A2 detekován několikanásobný titr a vzorek A byl určen jako akutní CSD. V jednom případě byl vzorek B1+B2 určen jako negativní. Zřejmě se jednalo o chyby zpracování vzorků nebo odečtu imunofluorescence, který je vždy subjektivní a je třeba, aby vzorky odečítal zkušený laboratorní pracovník.



6. Závěr série EHK 1433

Série EHK 1433 se zúčastnilo 14 laboratoří. Hranice úspěšnosti byla stanovena na 4 body. **Úspěšně** zpracovalo vzorky **8** laboratoří. **6** laboratoří identifikovalo vzorky **bezchybně**. **6** laboratoří neuspělo.

Celkové hodnocení 14 laboratoří v PT#M/42*/2024 (EHK 1433)

	Počet bodů	Počet laboratoří	%
	6	6	42,9 %
	5	2	14,3 %
Uspělo		8	57,1 %
	3	3	21,4 %
	2	3	21,4 %
Neuspělo		6	42,9 %

Maximální počet dosažených bodů: 6

LIMIT 5 bodů

Hranici úspěšnosti je stanovena na 80 % z možného celkového počtu bodů. Účastník úspěšně absolvuje cyklus EHK, pokud dosáhne bodového limitu.

Body	Kód laboratoře
6	065, 214, 230, 293, 365, 554
5	051, 211
3	037, 702, 743
2	013, 456, 550

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamace použijte mailový nebo telefonický kontakt na koordinační pracoviště ESPT 2: ehk@szu.cz, tel. 267 082 258

Konec závěrečné zprávy