



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/21/2024 (EHK 1401)

Sérologie chlamydií

Praha, říjen 2024

Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2. Způsob přípravy vzorku	3-4
3. Charakteristika materiálu	4
4. Způsob hodnocení	4
5. Vyhodnocení	4-14
6. Závěr	15
Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/21/2024 (EHK 1401) byl zaměřen na sérologii chlamydií. Návrh a realizace PT#M/21/2024 (EHK 1401) 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: 22. 10. 2024

Pracoviště 2 ESPT:

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

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/21/2024

Identifikace cyklu:	EHK 1401
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:	103
Termín distribuce vzorků:	23. 4. 2024
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	14. 5. 2024
Označení vzorkovnic:	EHK 1401, PT # M/21, č. 1 – 5, 23. 4. 2024
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:	24. 5. 2024
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	6. 8. 2024

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 materiálu

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 23. 4. 2024 byly rozeslány vzorky 103 laboratořím. Ke dni 14. 5. 2024 obdrželo pracoviště ESPT2 výsledky 103 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 D a E 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	ELISA CPN			ELISA CTR			ELISA LPS		
	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM
A	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
B	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
C	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	HRAN.	neg.
D	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.
E	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.

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	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
C	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.
D	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	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	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
B	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
C	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	HRAN.	neg.	neg.	neg.	neg.
D	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.
E	POZ.	POZ.	neg.	POZ.	POZ.	neg.	neg.	neg.	neg.

IB recomLine Chlamydia – reaktivita podle antigenů												
		<i>Chlamydia trachomatis</i>			<i>Chlamydia pneumoniae</i>				<i>Chlamydia psittaci</i>			
vzorek	antigen	IgG	IgA	IgM	antigen	IgG	IgA	IgM	antigen	IgG	IgA	IgM
A	MOMP	-	-	-	MOMP	-	-	-	MOMP	-	-	-
	OMP2	-	-	-	OMP2	-	-	-	OMP2	-	-	-
	TARP	-	-	-	TARP	-	-	-	TARP	-	-	-
	CPAF	-	-	-	CPAF	-	-	-	CPAF	+	-	-
	HSP60	-	-	-	YwbM	-	-	-				
B	MOMP	-	-	-	MOMP	-	-	-	MOMP	-	-	-
	OMP2	-	-	-	OMP2	-	-	-	OMP2	-	-	-
	TARP	-	-	-	TARP	-	-	-	TARP	-	-	-
	CPAF	-	-	-	CPAF	-	-	-	CPAF	+	-	-
	HSP60	-	-	-	YwbM	-	-	-				
C	MOMP	++	+	-	MOMP	-	±	-	MOMP	-	-	-
	OMP2	+++	+	-	OMP2	+++	+	-	OMP2	+++	±	-
	TARP	-	+	-	TARP	-	+	-	TARP	-	±	-
	CPAF	-	>+	-	CPAF	-	±	-	CPAF	-	-	-
	HSP60	-	±	-	YwbM	++	-	-				

D	MOMP	++	+++	-	MOMP	-	-	-	MOMP	-	-	-
	OMP2	+++	++	-	OMP2	+++	++	-	OMP2	+++	++	-
	TARP	-	-	-	TARP	-	-	-	TARP	-	-	-
	CPAF	-	-	-	CPAF	-	++	-	CPAF	-	-	-
	HSP60	-	++	-	YwbM	++	-	-				
E	MOMP	++	+++	-	MOMP	-	-	-	MOMP	-	-	-
	OMP2	+++	++	-	OMP2	+++	++	-	OMP2	+++	++	-
	TARP	-	-	-	TARP	-	-	±	TARP	-	-	-
	CPAF	-	-	-	CPAF	-	++	-	CPAF	-	-	-
	HSP60	-	++	-	YwbM	++	-	-				

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:

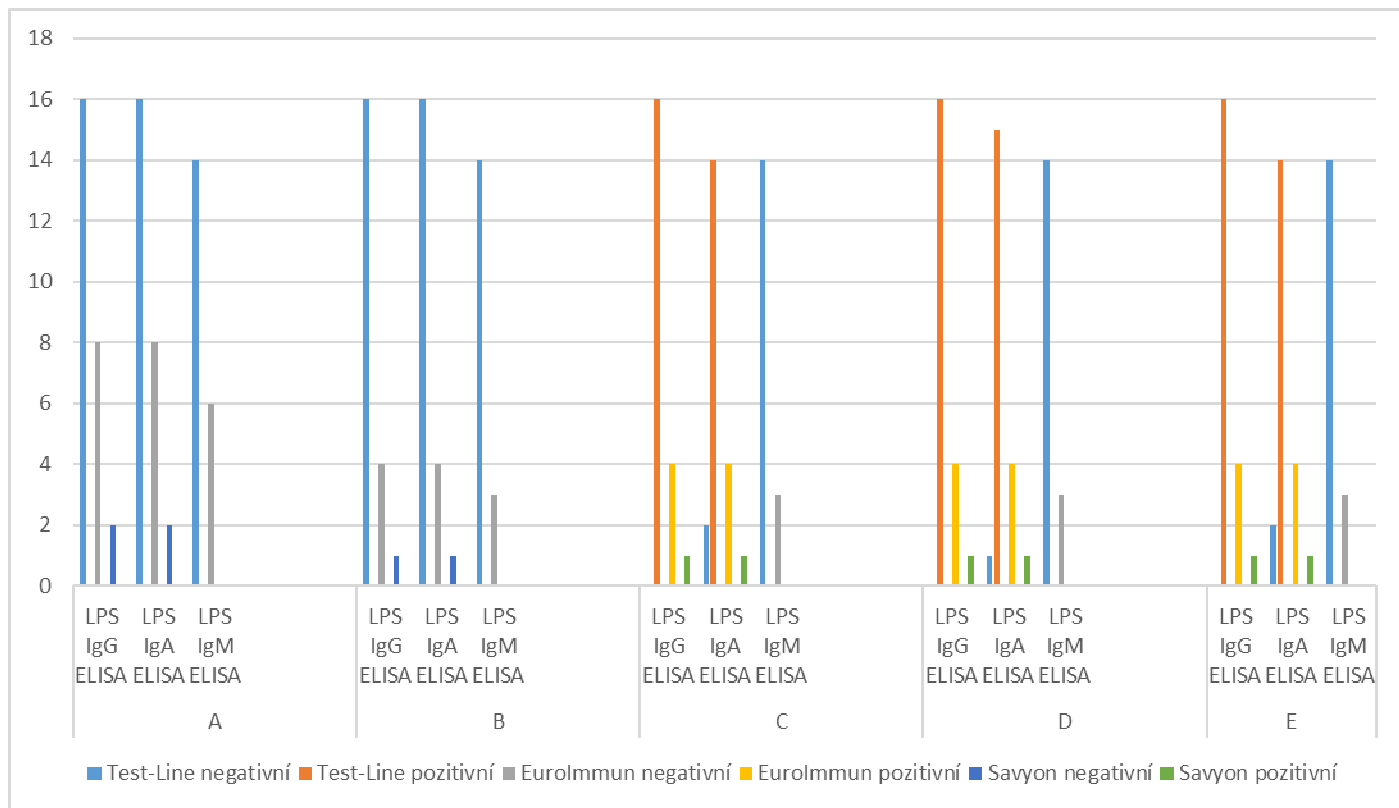
Při hodnocení výsledků rodově specifických testů (detekce anti-LPS protilátek) bylo možno získat maximálně 15 bodů (za každý vzorek maximálně 3 body, za každou jednu chybu - mínus 1 bod).

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 105 bodů (pokud 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: rodové protilátky



Letošní série obsahovala materiál s IgG anti-LPS protilátkami ve vzorku C, D a E. Testy na rodové protilátky provedlo 22 laboratoří vždy v kombinaci s některými testy druhových protilátek. Laboratoře použily diagnostika 3 různých výrobců Euroimmun, Savyon, Test-Line. U testů Euroimmun a Savyon zkrusuje výsledek přidání druhových antigenů, tento fakt se letos vzhledem k protilátkovému profilu materiálu neprojevil.

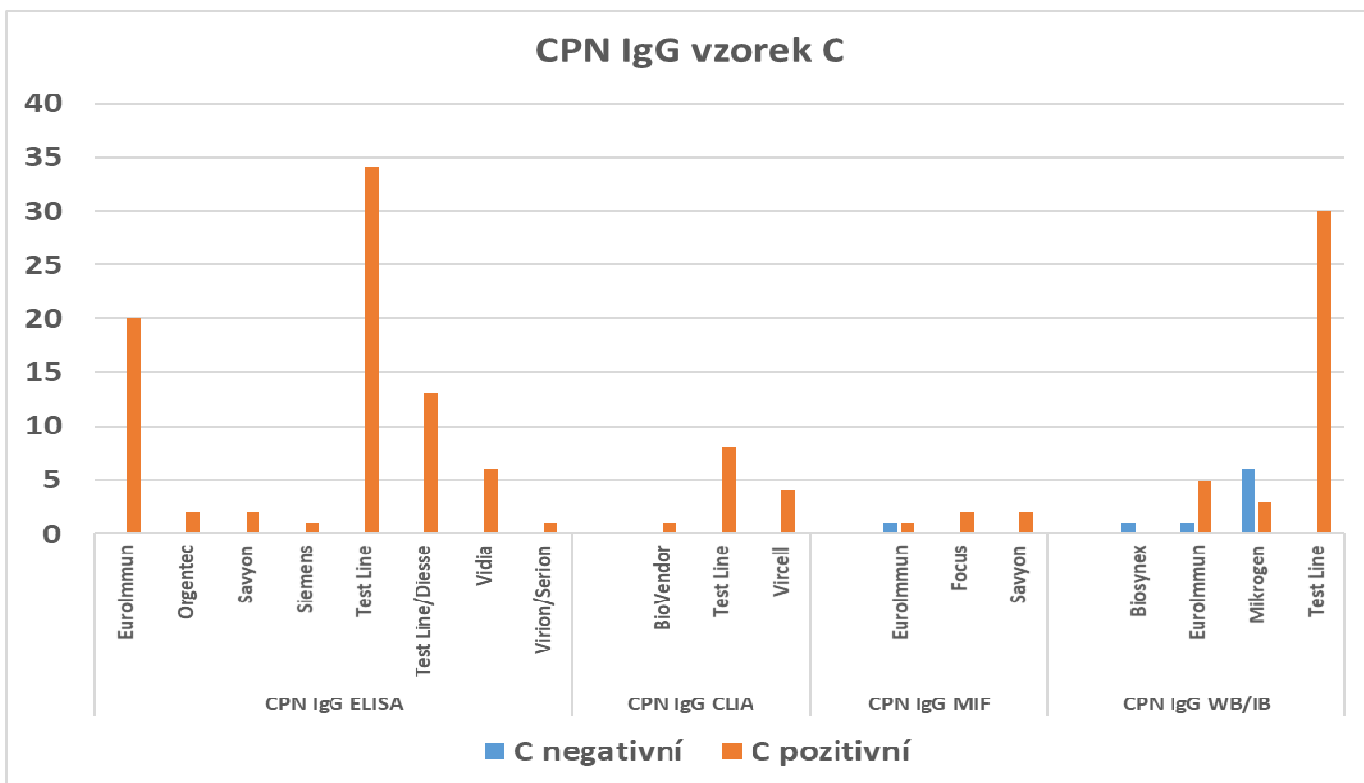
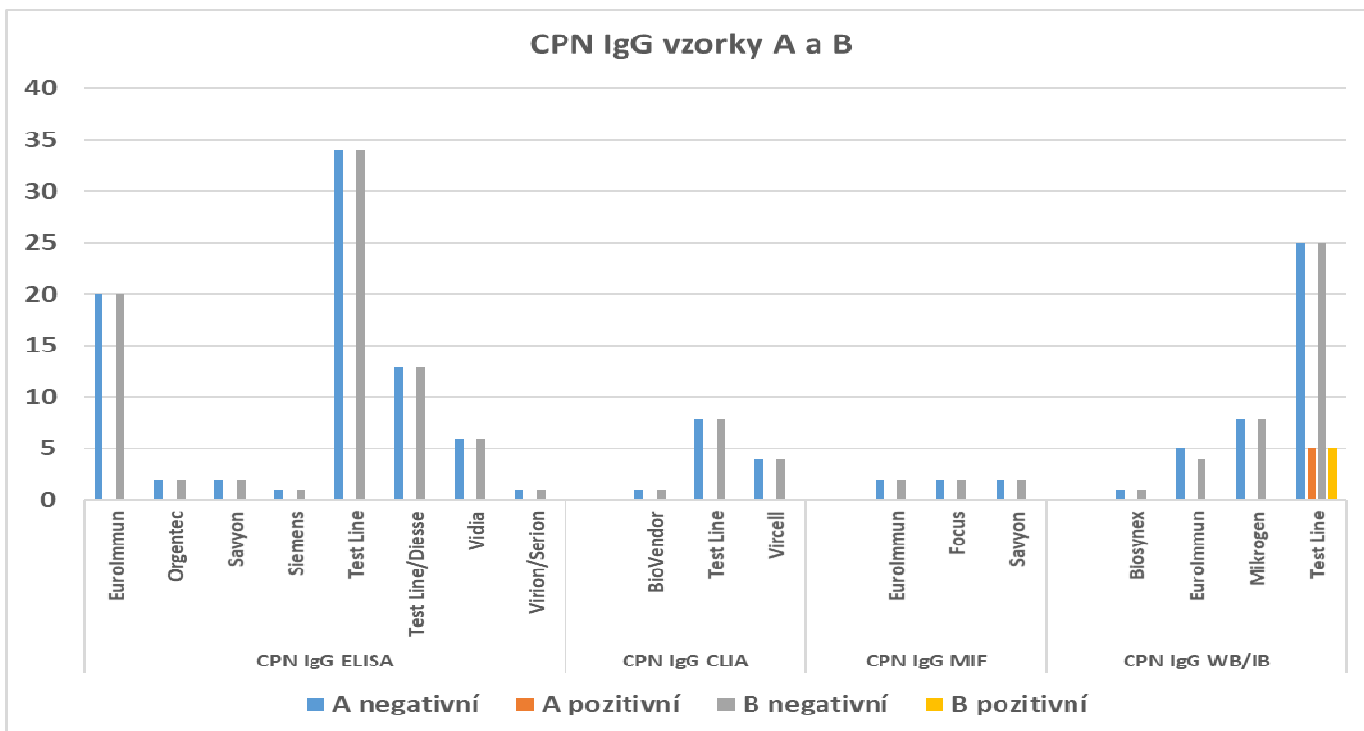
Při testování druhových protilátek provedlo 103 laboratoří. Variabilita (viz grafy 2 až 15) mezi jednotlivými výrobci testů byla v tomto ročníku EHK mimořádně nízká.

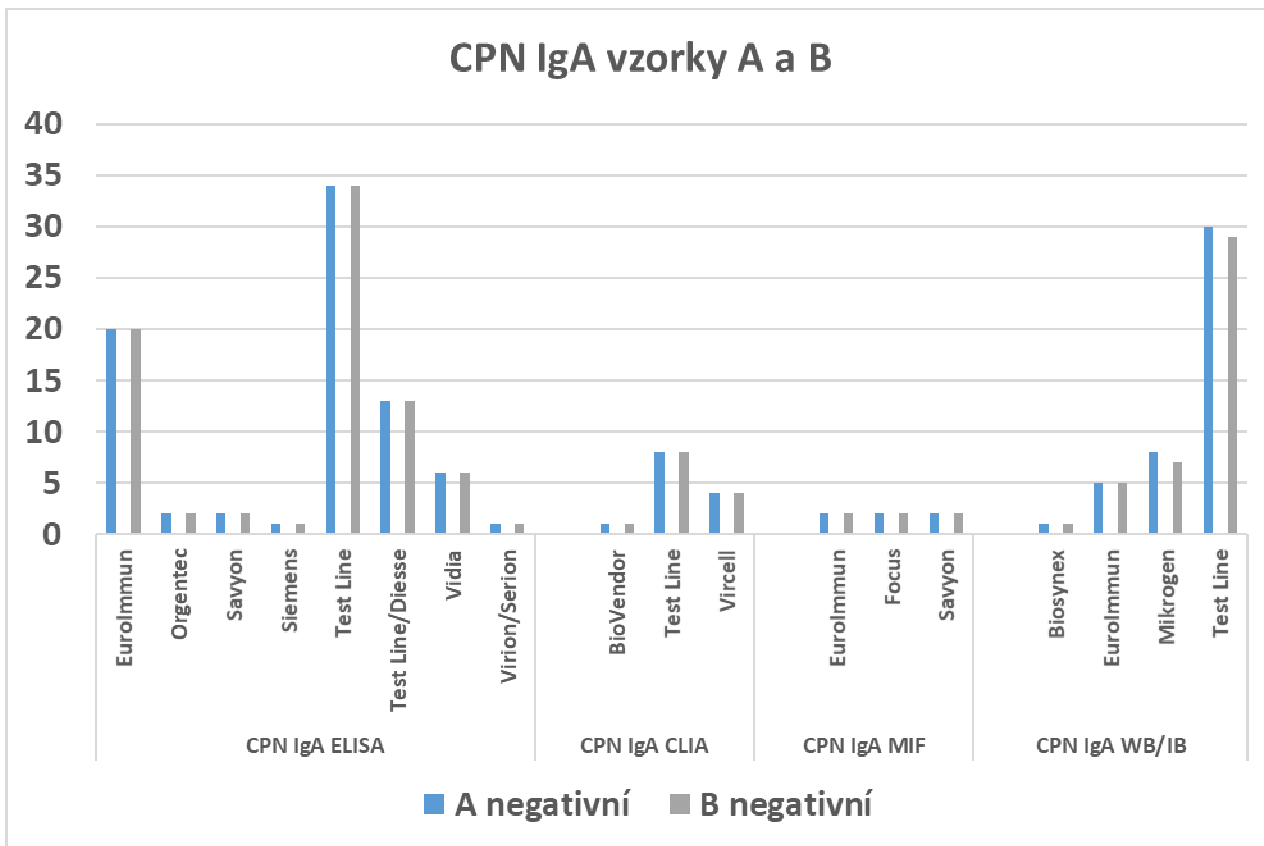
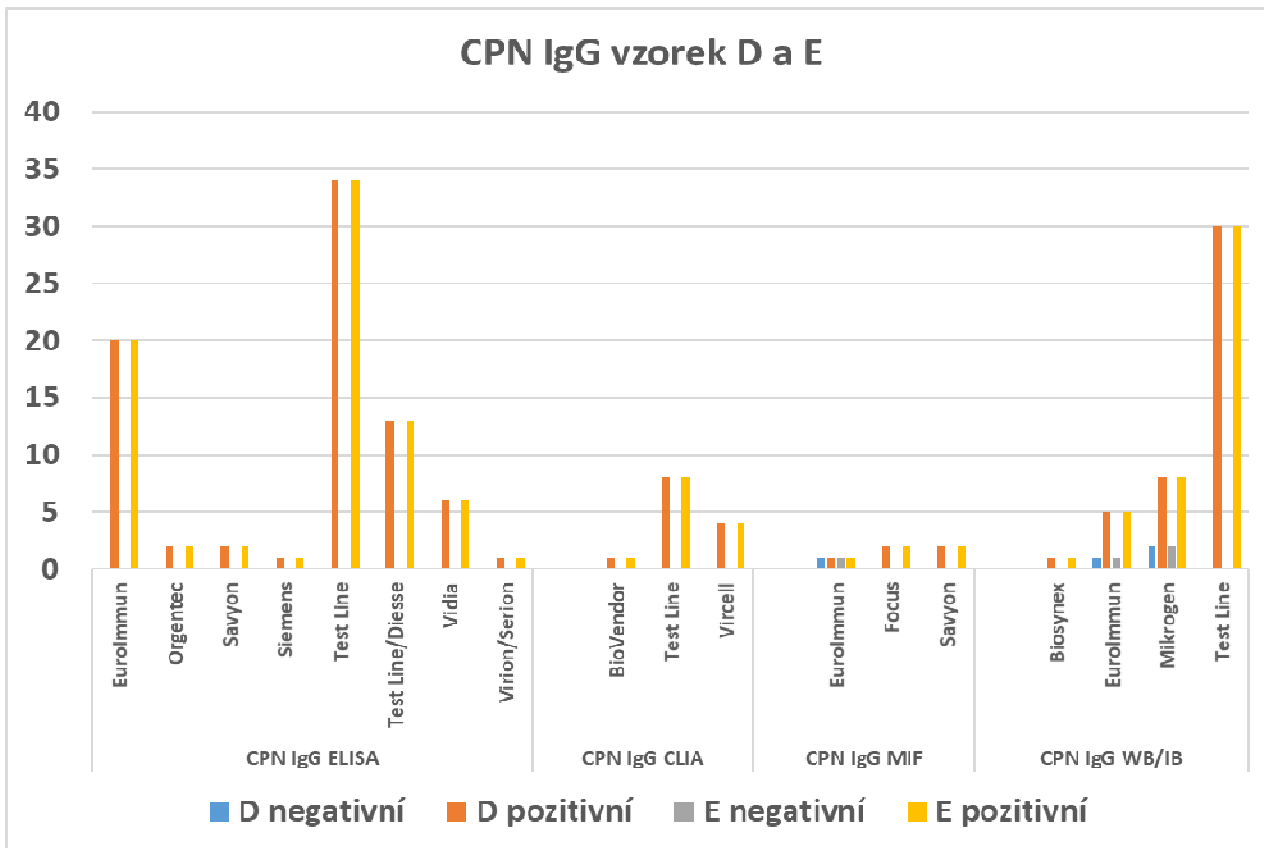
Protilátky proti *Chlamydia psittaci* nebyly ve vzorcích obsaženy. Ojedinele se vyskytla zkřížená reaktivita u vzorků pozitivních na protilátky proti *Chlamydia pneumoniae* a/nebo *Chlamydia trachomatis* v testech anti-*Chlamydia psittaci* IgG MIF (4 laboratoře) a IB/WB (6 laboratoří) a v testech IgA IB/WB (3 laboratoře).

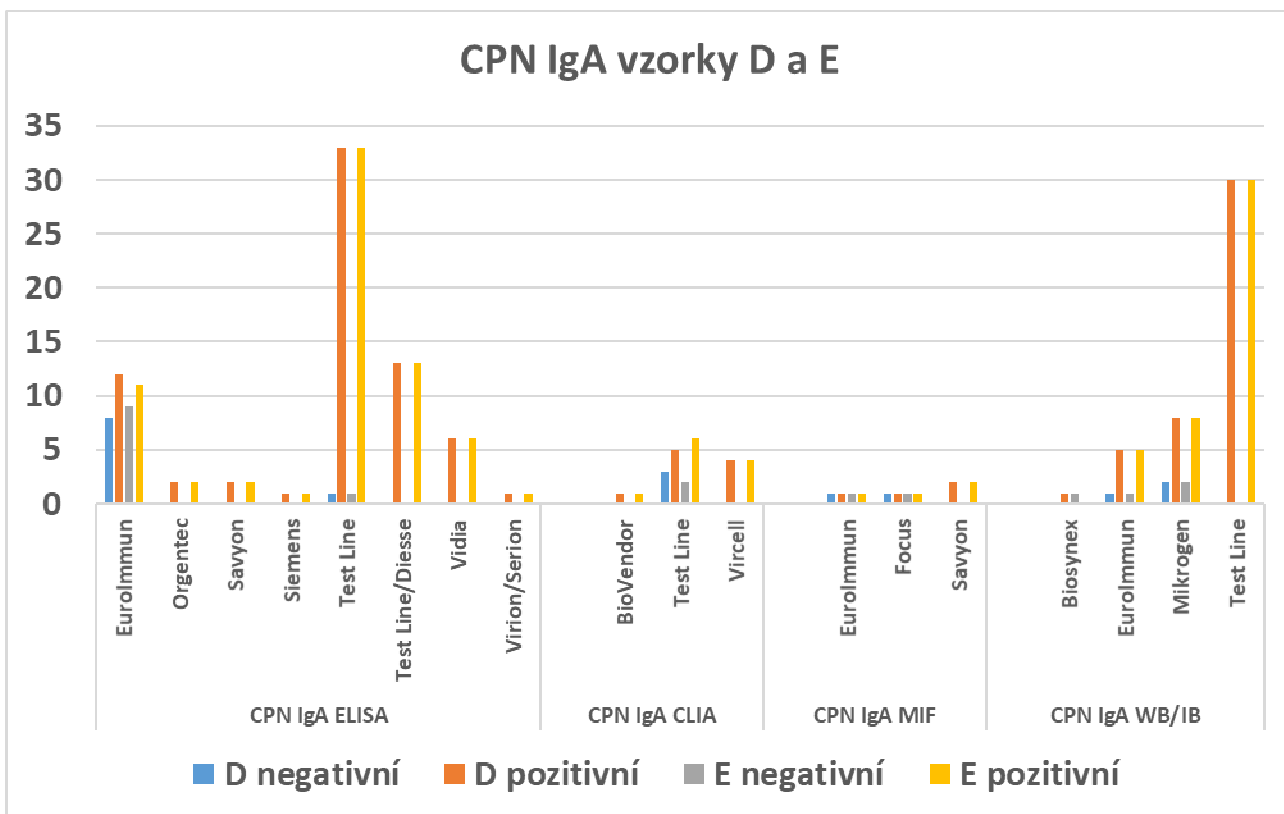
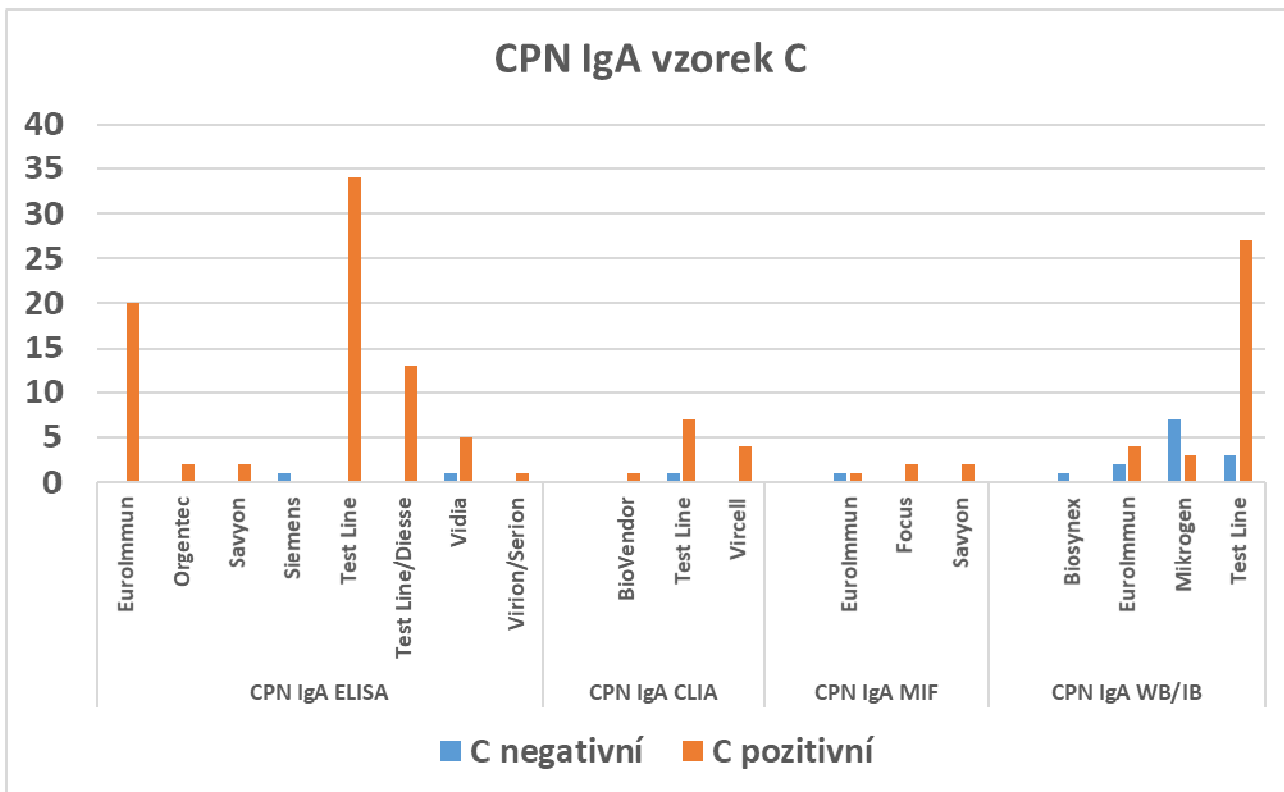
IgM protilátky byly zachyceny jen ojedinele proti *Chlamydia pneumoniae* (38 ze 454 provedených testů) v metodách ELISA, CLIA/CMIA a MIF u vzorků C, D a E. IgM protilátky proti *Chlamydia trachomatis* byly zachyceny rovněž vzácně (10 ze 190 provedených testů) v metodách ELISA a CLIA/CMIA u vzorků D a E, které byly identické.

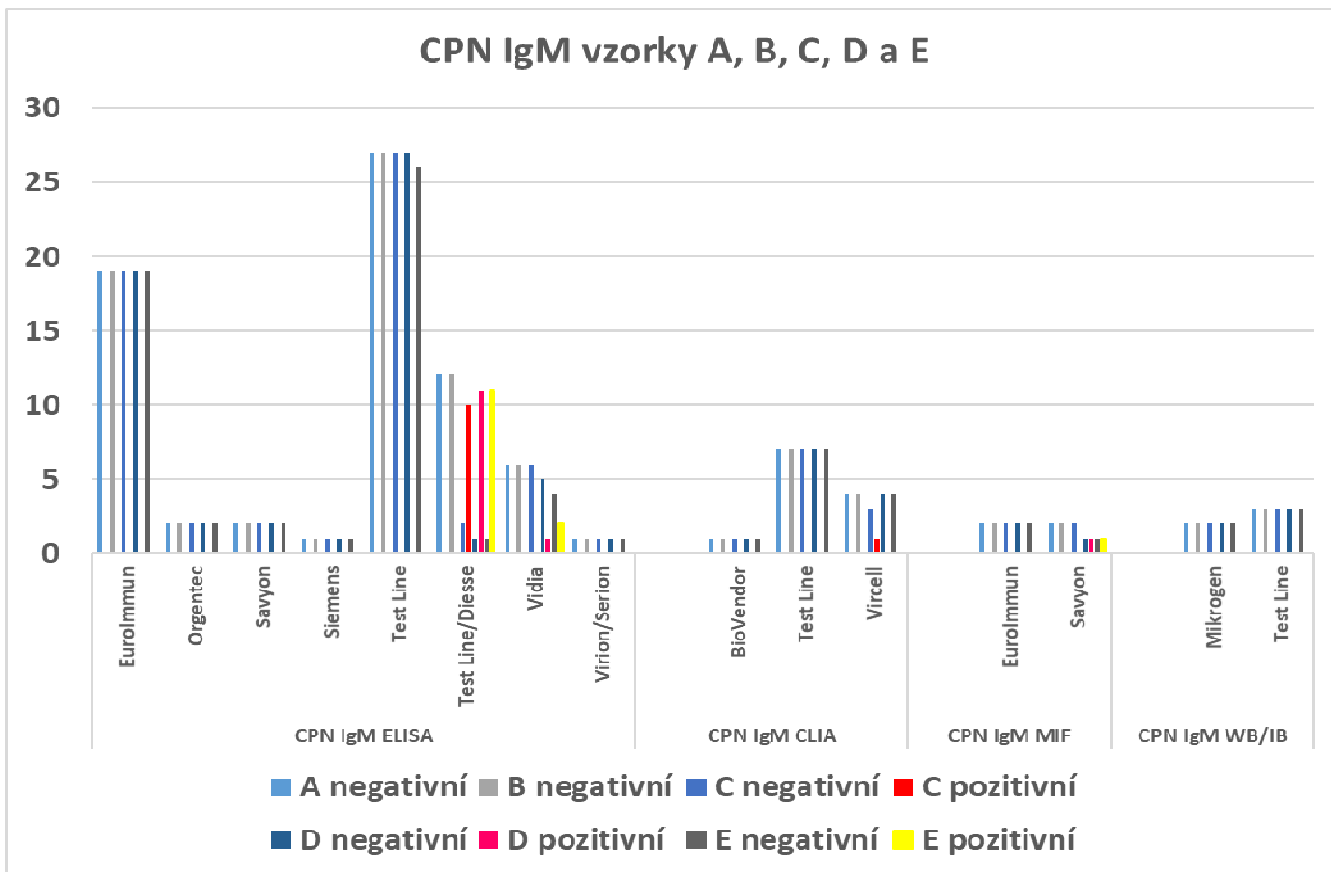
Chybný zápis výsledků do on-line formuláře jsme zaznamenali u 10 laboratoří a mohl mít výrazný vliv na počet získaných bodů.

Grafy 2 - 8: druhové protilátky anti – *Chlamydia pneumoniae*

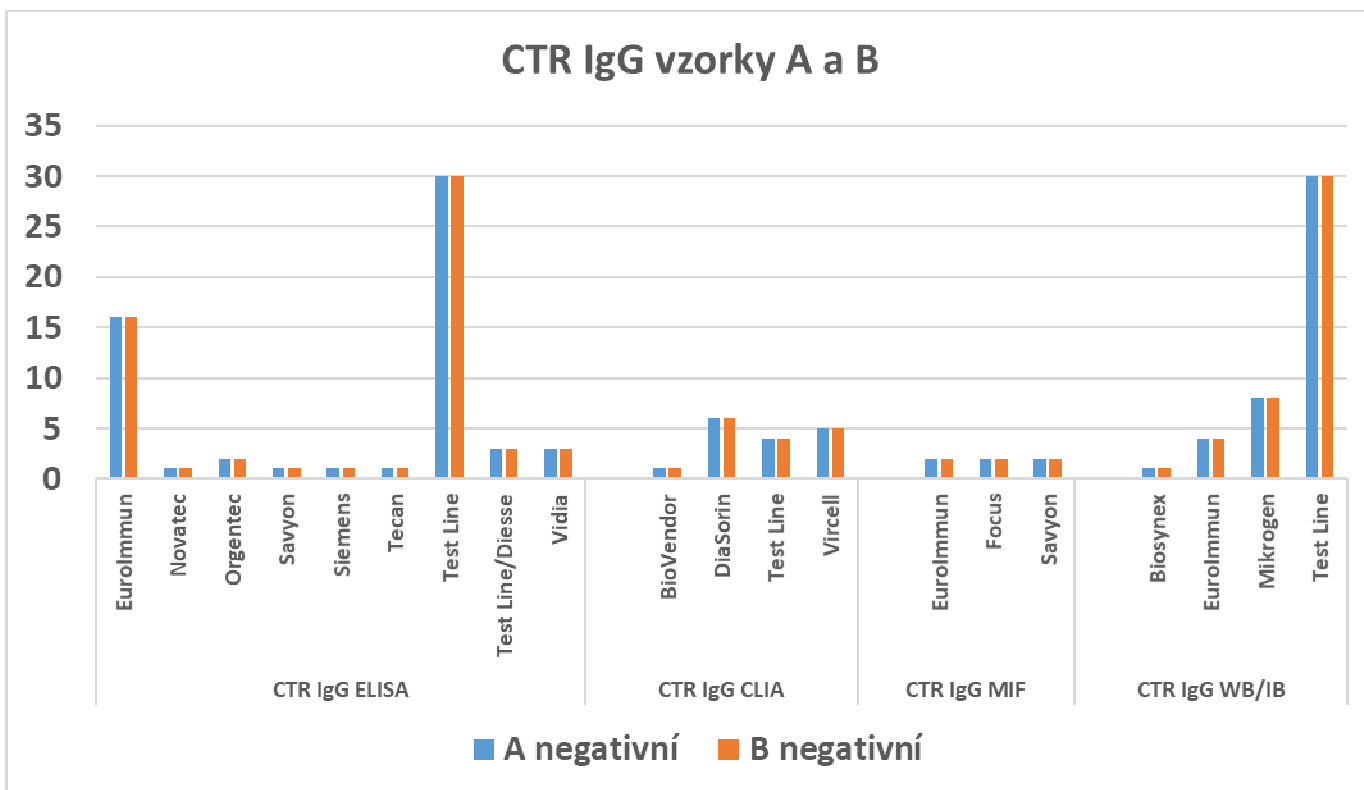


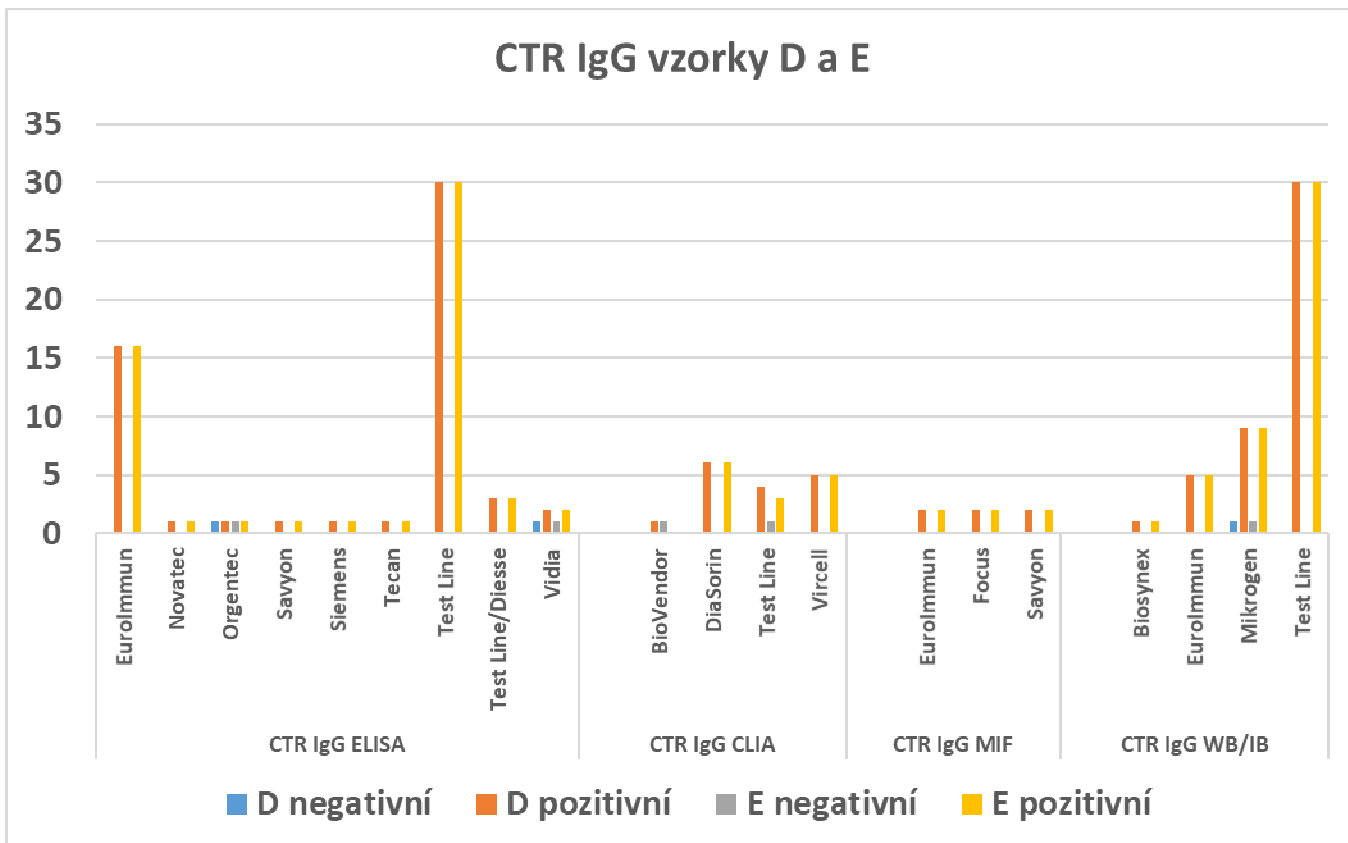
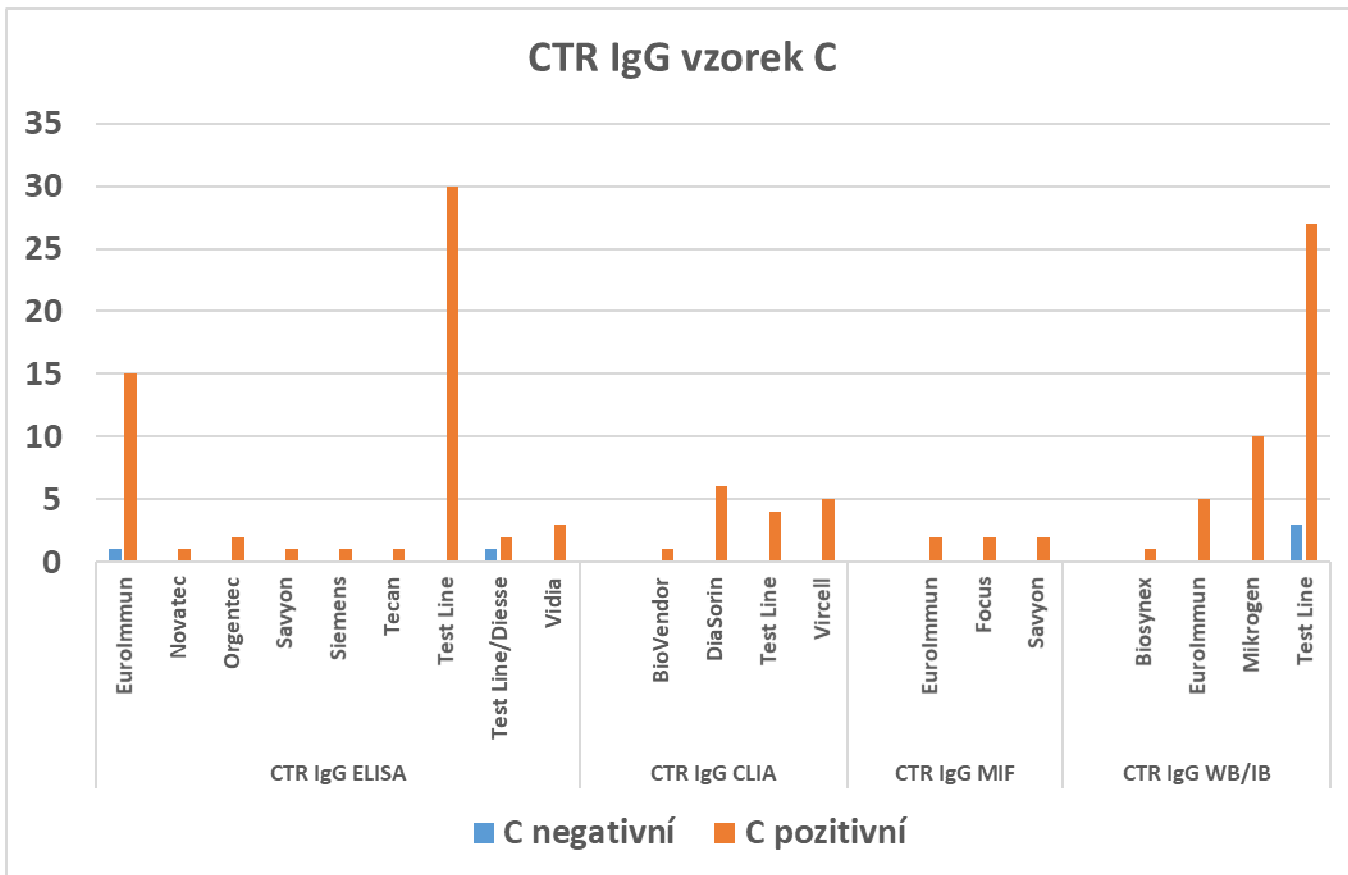


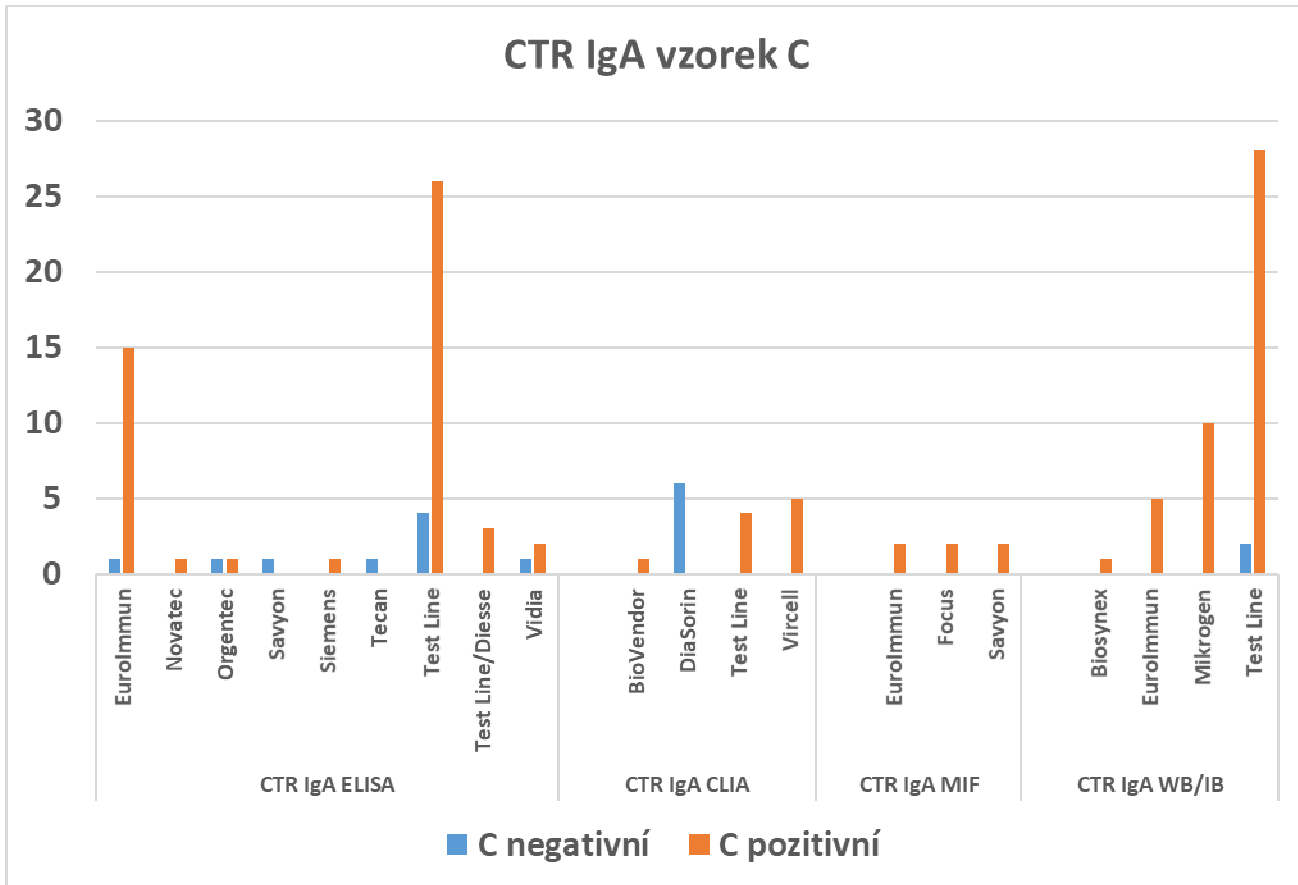
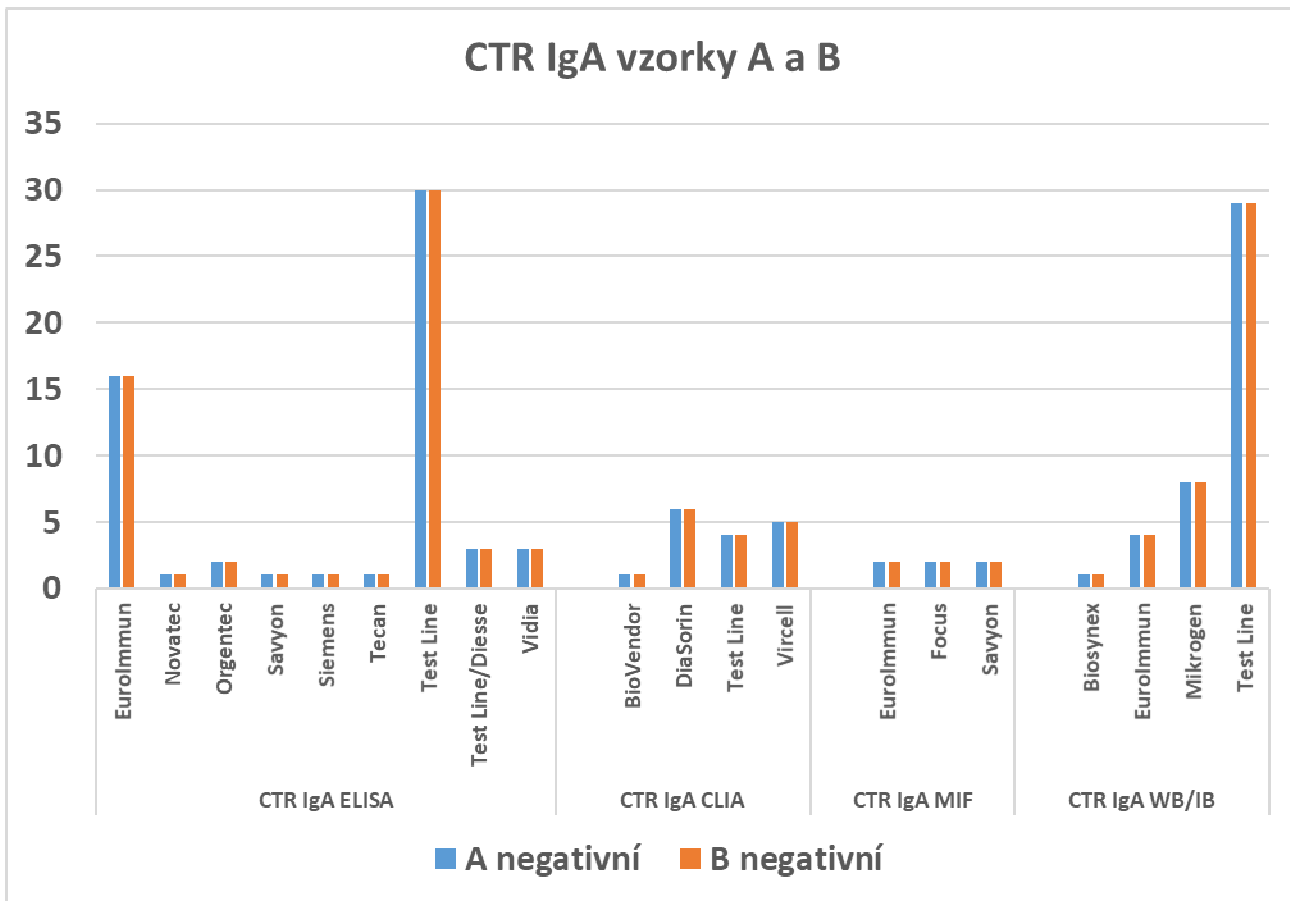


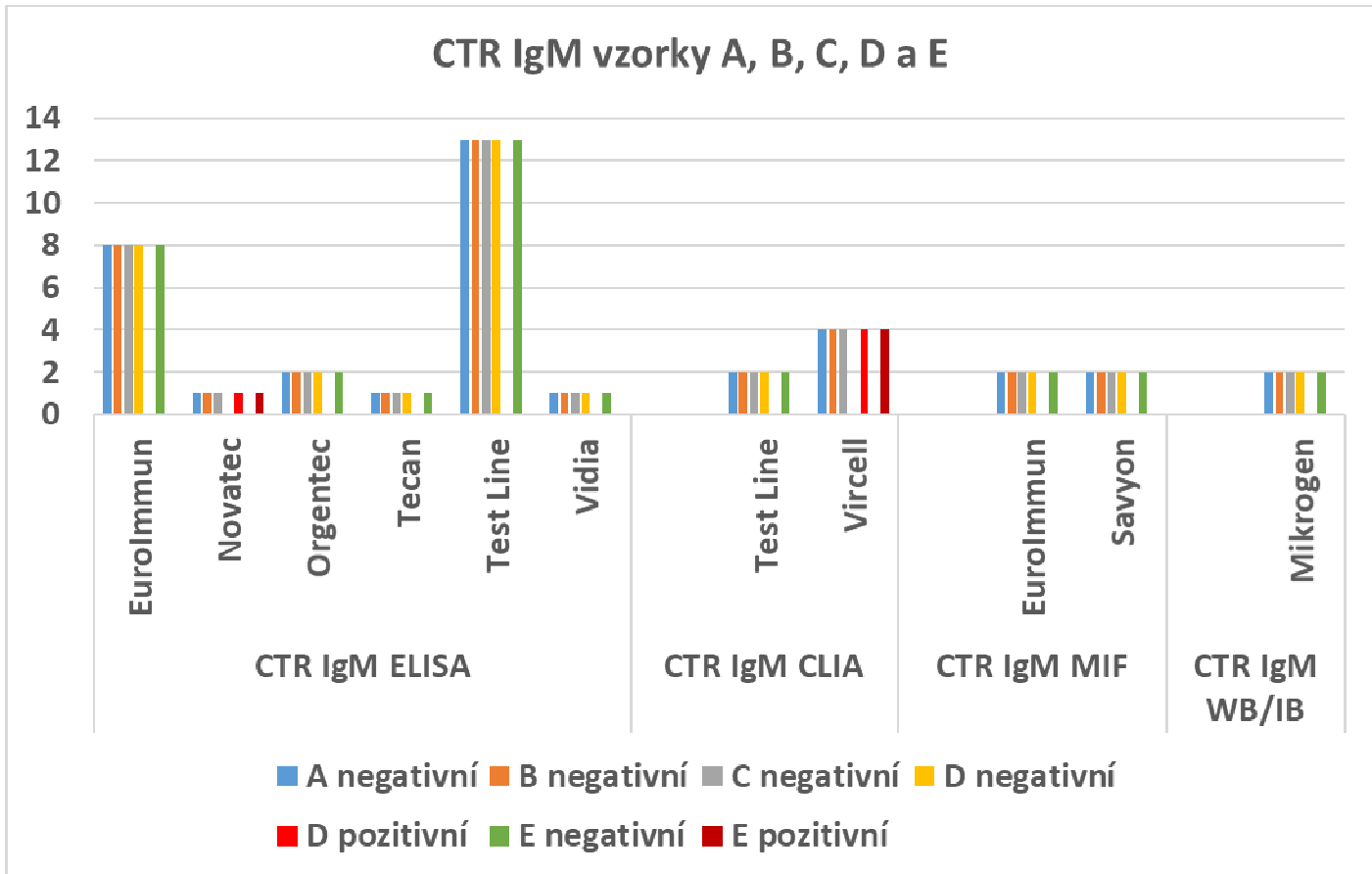
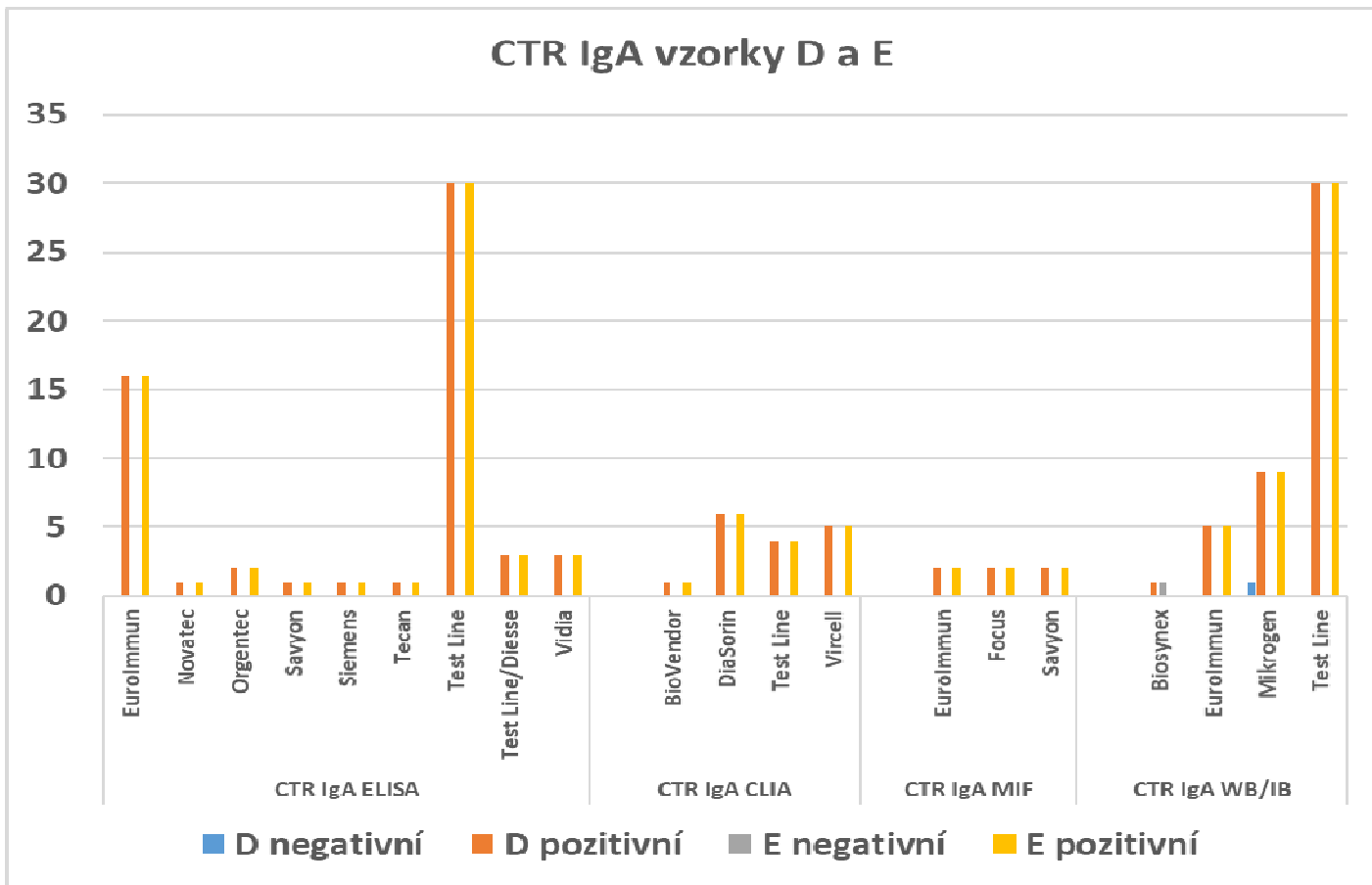


Grafy 9 – 15: druhové protilátky anti – *Chlamydia trachomatis*









6. Závěr

V testování série EHK 1401 sérologie chlamydií neuspěly 3 laboratoře. Dvě laboratoře zejména proto, že chybně zapsaly výsledky do jiných markerů než testovaných. Ostatní pracoviště splnila požadovaný 80% limit.

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