



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/4-2/2022 (EHK 1290)

Sérologie toxoplasmózy

Praha, leden 2023

Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2. Způsob přípravy vzorků	4
3. Charakteristika materiálu	4
4. Způsob hodnocení	4
5. Vyhodnocení	5
6. Závěr	8

Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře

Program zkoušení způsobilosti PT#M/4/2022 je zaměřen na sérologii toxoplasmózy. Návrh a realizace PT#M/4-2/2022 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/4 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 pro každou zúčastněnou laboratoř k dispozici ve webové aplikaci SZÚ v odkazu: <http://ehk.szu.cz/EHK10/> po přihlášení kódem laboratoře a heslem.

Zprávu vypracoval:

RNDr. Petr Kodym, CSc., NRL pro toxoplazmózu, SZÚ Praha

Zprávu autorizoval:

RNDr. Petr Kodym, CSc.

Tel: 267 082 105

Dne: 30. 12. 2022

Pracoviště 2 ESPT

<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>)

e-mail: ehk@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/4-2/2022

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1290
Název:	Sérologie toxoplasmózy
Koordinátor:	RNDr. Petr Kodym, CSc.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3
Podstata a účel PT:	Kvalitativní a semikvantitativní stanovení protilátek proti <i>Toxoplasma gondii</i> v kontrolních vzorcích
Kritéria pro účast na PT:	Vyšetření všech 5 vzorků, interpretace výsledků, vyplnění výsledkového formuláře a jeho odeslání na ESPT.
Způsob přípravy:	viz kapitola 2
Množství připravovaného testovaného materiálu:	60 ml od každého vzorku
Označení vzorkovnic:	EHK 1290, PT # M/4-2, č. 1 – 5, 20. 9. 2022
Zabezpečení kvality vzorku:	Garance adekvátního obsahu specifických protilátek: Příprava podle standardních metod na akreditovaném pracovišti, vyšetření vzorků na testované markery akreditovanými metodami dle schválených SOP. Stabilita vzorku: průběžná kontrola, adekvátní skladování, stabilizace 0,001% azidu sodného.
Test homogenity a stability:	Výchozí materiál je testován na příslušné cílové markery. Finální vzorek je opakovaně testován na všechny příslušné cílové markery před i po rozplnění v čase, kdy laboratoře vzorky vyšetřují.
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Distribuce v předepsaném obalu. Krátkodobé uchování vzorků v chladničce při teplotě 2 - 8 °C, dlouhodobě při -18 až -24°C, zamezit opakovanému zamrazování a rozmrazování.
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor.
Počet účastníků:	101
Termín distribuce:	20. 9. 2022
Způsob distribuce:	Přepravní službou (zajišťuje Koordinační pracoviště ESPT 2)
Předání výsledků:	V elektronické podobě přes webové rozhraní SZÚ za použití aplikace EHK 10
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4. Kvalitativní a semikvantitativní výsledky a jejich interpretace jsou ohodnoceny 0-12 body/vzorek, (maximum: 60 bodů). Limit úspěšnosti se stanoví takto: od průměrného bodového ohodnocení všech laboratoří se odečtou 2 směrodatné odchylky.
Určení směrodatné odchylky:	Z hodnot bodového ohodnocení jednotlivých účastníků
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Výsledky NRL
Termín zveřejnění očekávaných výsledků:	19. 10. 2022
Termín zveřejnění závěrečné zprávy:	Do 3. 1. 2023

2. Způsob přípravy vzorků

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků bylo lidské sérum nebo plasma. Výchozí materiál byl dlouhodobě uskladněn při teplotě $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ a před použitím skladován při teplotě 2 až 8°C .

Vzorky séra či plasmy pacientů, vyšetřovaných v NRL TOXO, byly skladovány v mrazícím boxe při teplotě $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Poté, co uplynula lhůta povinného jednoletého skladování pro případ kontroly vyšetření, byly vzorky rozmrazeny a slity, a to tak, aby byly smíseny vždy vzorky, jež mají stejnou kategorii kvalitativního a semikvantitativního obsahu stanovovaných markerů. Každý vzorek byl stabilizován 0,001% azidu sodného, rozplněn do lahvíček se šroubovacím uzávěrem a předán k rozeslání.

3. Charakteristika materiál

Simulace klinického materiálu: směsné vzorky lidských sér či plasmy, odpovídající svým kvalitativním i semikvantitativním obsahem jednotlivých tříd antitoxoplasmických protilátek skutečným vzorkům zasílaným k diagnostice toxoplasmózy. Výsledky vyšetření vzorků v NRL TOXO shrnuje tabulka 1.

Vzorek EHK 1290	KFR Titr	IgG IU/ml	IgA IP	IgM IP	IgE IP	AVIDITA IgG IAv
A	N Negativní	0 Negativní	0,1 Negativní	0,1 Negativní	0,1 Negativní	-
B	N Negativní	0 Negativní	0,1 Negativní	0,2 Negativní	0,2 Negativní	-
C	N Negativní	0 Negativní	0,1 Negativní	0,1 Negativní	0,1 Negativní	-
D	1:32 Positivní	55 Positivní	0,2 Negativní	0,2 Negativní	0,2 Negativní	Vysoká
E	1:512 Positivní	410 Positivní	1,3 Positivní	1,9 Positivní	1,25 Positivní	Vysoká

Tab. 1: Výsledky vyšetření vzorků EHK 1290 v NRL TOXO.

Vzorky byly rozeslány s tímto komentářem: Vzorky pocházejí od členů městské rodiny (otec 48 let, matka 34 roky, děti 12, 15 a 18 let), kteří pravidelně konzumují zeleninu vypěstovanou v zahrádkářské kolonii hojně navštěvované toulavými kočkami. Poté, co si někteří z nich stěžovali na poruchy vidění, byť i nepříliš závažné, podstoupili všichni společně oftalmologické vyšetření. Oční lékař požaduje sérologické testy na toxoplasmózu (dg. H30.0.).

4. Způsob hodnocení

Vzorky byly rozeslány celkem 101 laboratořím, výsledkové formuláře vyplnilo 100 pracovišť. Nahlášené výsledky byly porovnávány s výsledky ostatních laboratoří a také s výsledky získanými v NRL, přičemž převažující kvalitativní i semikvantitativní výsledky byly v souladu se závěry NRL. Hodnocení bralo v úvahu vedle kvalitativních výsledků stanovení celkových antitoxoplasmických protilátek, IgG a IgM také interpretaci výsledků, a to jak typ antitoxoplasmové protilátkové odpovědi (interpretace I) tak klinické souvislosti (interpretace II). Bylo hodnoceno, zdali byl z nabídky předpřipravených hodnocení vybrán správný komentář, v případě nejasností bylo přihlíženo ke slovním hodnocením napsaným do formuláře. Za 1 vzorek může být uděleno 0-12 bodů.

5. Vyhodnocení

Počet bodů	Laboratoří	
	Počet	%
35	1	1%
NEUSPĚLO	1	1%
60	29	29%
58	1	1%
57	1	1%
56	2	2%
54	4	4%
50	26	26%
48	1	1%
47	25	25%
45	2	2%
44	6	6%
43	1	1%
42	1	1%
USPĚLO	99	99 %
CELKEM	100	100 %

Tab. 2: Frekvence bodových ohodnocení laboratoří, které se zúčastnily EHK 1290

HRANICE ÚSPĚŠNOSTI: 39,6 BODU
PRŮMĚR: 51,8 BODU
SMĚRODATNÁ ODCHYLKA: 6,1

Certifikát o úspěšné účasti v EHK sérologie toxoplasmózy v roce 2022 dostanou ty laboratoře, které se zúčastnily obou letošních kol a získaly dohromady alespoň 83 bodů (**hranice úspěšnosti: 82,2 bodu**), což splnilo 97 z 99 účastníků EHK 1251+1290. Certifikát nedostanou laboratoře, které se neúčastnily obou kol. Z 99 laboratoří, které splnily podmínku účasti v obou kolech, dosáhlo maximálně možných 120 bodů 23,2 % a skóre 100 bodů 20,2 % laboratoří, **průměrné ohodnocení bylo 104,4 bodu, směrodatná odchylka 12,1 bodu**. Naopak získá 95 a méně bodů řadí laboratoř do poslední pětiny a 91 a méně bodů do poslední desetiny, kde jsou i 3 ze 4 laboratoří, které neuspěly v alespoň v jednom z letošních kol (ta čtvrtá měla 95 bodů).

Výsledky sérologických testů, které laboratoře uvádějí, jsou shrnuty v tabulkách 3, 4 a 6, jejich interpretace v tabulce 5. Správné interpretace a komentáře k jednotlivým vzorkům uvádíme v následujícím textu. „*Autentické slovní komentáře laboratoří jsou uvedeny v uvozovkách kurzívou.*“

Komentáře k jednotlivým vzorkům:

Vzorky A, B a C jsou sérologicky negativní ve všech parametrech – v celkových antitoxoplasmických protilátkách, IgG, IgM, IgA i IgE (viz Tab. 3 a 4), což znamená, že se nejedná o infekci *Toxoplasma gondii* (interpretace I = "N"). „*Neimunní stav. Pacient nemá protilátky proti Toxoplasma gondii*“ Případné změny na očním pozadí by tedy neměly souviset s toxoplasmózou (interpretace II = "O-"). Uvedení interpretace II = "N" není hodnoceno jako chyba, ale jen jako drobná nepřesnost vzhledem k tomu, že je požadována odpověď na otázku, zdali se může či nemůže jednat o oční formu toxoplasmózy.

Všichni, kdo stanovují aviditu IgG, dobře vědí, že u sérologicky negativních vzorků aviditu stanovit nelze. Možná že pod dojmem stejné logiky nestanovily některé laboratoře u těchto vzorků ani celkové protilátky.

Vzorek D obsahoval antitoxoplasmické protilátky. Positivní výsledek dávaly testy na celkové protilátky a na IgG, naměřené hodnoty však nebyly nikterak vysoké. Vyšetření na IgM, IgA a IgE vycházela negativní. Tyto výsledky odpovídají toxoplasmóze prodělané před delším časem (interpretace I = "S"). Přítomnost protilátek svědčí pro toxoplasmovou infekci, takže případné změny na očním pozadí mohou s toxoplasmózou souviset (interpretace II = "O+"). „*Vzhledem k všeobecné vysoké séroprevalenci toxoplasmózy je oftalmologický nález rozhodující.*“ Tři níže citované laboratoře s interpretací II dlouho váhaly, nakonec však zvolily O-: „*Interpretace očních potíží je obtížná, spíše se potíže toxoplasmóze nedají připsat, na 100% to ale není.*“ „*Vzhledem k tomu, že laboratoř nevyšetřila další třídy protilátek a aviditu nelze u vzorku D vyloučit*

hodnocení O+ ". „Interpretace očních potíží je obtížná, spíše se potíže toxoplasmóze nedají připsat, na 100% to ale není."

U séropozitivních vzorků považujeme „neoční“ interpretaci II = „L“ za nesprávnou: „Latentní nákaza, anamnestické titry protilátek, akutní infekce odezněla pravděpodobně před několika lety“. Takováto interpretace evokuje závěr, že toxoplasmóza zde nepůsobí žádný problém, což z pohledu oční formy toxoplasmózy není pravda. Další problém, který se objevoval u vzorku D bylo, že některým laboratořím tu a tam vycházelo pozitivní IgA (nikoliv však IgM), což jejich interpretaci I směřovalo k nesprávné „PA“.

Tab. 3: Titry KFR, které udávají zúčastněné laboratoře (celkem: 27 pracovišť), u jednotlivých vzorků EHK 1290 a kvalitativní výsledky stanovení IgG (v mezinárodních jednotkách – celkem 87 pracovišť) v okružních vzorcích.

KFR – titer	A	B	C	D	E
0	96,15%	96,15%	96,15%		
1:4	3,85%	3,85%	3,85%		
1:8				29,63%	
1:16				44,44%	
1:32				22,22%	
1:64				3,7%	3,85%
1:128					19,23%
1:256					26,92%
1:512					34,62%
1:1024					11,54%
1:2048					3,85%
IgG-IU/ml					
Minimum	0	0	0	2	3
Medián	0	0	0	40	250
Průměr	1	1	1	60	295
Maximum	5	5	5	270	2063

Vzorek E se vyznačoval vysokým titrem celkových protilátek a jednoznačnou pozitivitou antitoxoplasmických IgA, IgG, IgE i IgM (viz tab. 3). „Pravděpodobně se jedná o akutní fázi infekce“ (interpretace I=„A“) Stejně dobře může být interpretace I=„PA“: „Vzhledem k vysoké aviditě IgG by se mohlo uvažovat už i o postakutní fázi, ale na aviditu se nelze vždy 100% spolehnout, proto při pozitivitě IgM, IgA a IgE hodnocení jako akutní toxoplasmózy je více pravděpodobné.“ „Infekce svědčí pro odeznívající toxoplasmózu. Doporučuji konzultovat na infekčním oddělení. Zopakovat vyšetření za 2 - 3 týdny.“ „Akutní infekce málo pravděpodobná z důvodu vysoké avidity a vzájemného poměru hladin IgG a IgM.“ „Může se jednat i o reaktivaci, v nabídce není uvedeno.“ Reaktivace v nabídce není uvedena proto, že se může vyskytnout jedině u osob s těžkou imunodeficiencí, což není tento případ. Interpretace II=„O+“, i když – „v tomto stádiu je nález oční formy toxoplasmózy spíše vyjíměčný.“ Spíše se projeví v postakutní nebo ještě pozdější fázi infekce. „Akutní toxoplasmóza může být původcem očních potíží, definitivní potvrzení si vyžádá delší sledování, případně pcr z komorové vody či sklivce, to ale nebude nikdo, při mírných potížích provádět, a provede spíše "preventivní" podání ATB.“ „S ohledem na uvedené klinické

příznaky uvážit i interpretaci K+", ta je však méně přesná. Naprosto nesprávná interpretace výsledků vyšetření na oční toxoplasmózu: „Suspekce na akutní fázi v těhotenství. Vzorek bychom zaslali na potvrzení do NRL." (uvedené interpretace II: vzorek E G+, ostatní G-).

Tab. 4: Kvalitativní výsledky stanovení markerů toxoplasmové infekce ve vzorcích EHK 1290. „N“ udává počet laboratoří, které daný marker vyšetřují a výsledky do protokolu uvedly.

Marker	Výsledky	A	B	C	D	E
CELKOVÉ PROTILÁTKY N=39	Negativní				5,13%	
	Hraniční	97,3%	100%	100%		
	Positivní	2,7%			94,87%	100%
IgG N=100	Negativní	100%	100%	100%		
	Hraniční					
	Positivní				100%	100%
IgM N=100	Negativní	100 %	100 %	100 %	100 %	
	Hraniční					
	Positivní					100%
IgA N=69	Negativní	100%	100 %	100%	79,1%	4,35%
	Hraniční					7,25%
	Positivní				20,9%	88,41 %
IgE N=41	Negativní	100 %	100 %	100%	100%	2,44%
	Hraniční					21,95%
	Positivní					75,61%

Tab. 5: Interpretace I a II, které udávají zúčastněné laboratoře (N=100) u jednotlivých vzorků EHK 1290.

		A	B	C	D	E
INTERPRETACE I	N	100%	100%	100%		
	S				87%	
	A				1%	80%
	PA				12%	20%
INTERPRETACE II	N	21%	21%	21%		
	K				1%	2%
	L				2%	
	G+					2%
	G-	2%	2%	2%	2%	
	O+				79%	94%
	O-	77%	77%	77%	16%	2%

Tabulka 6 ukazuje kvalitativní výsledky **stanovení avidity IgG** „mimo soutěž“ ve 45 laboratořích. Je z ní vidět, že zatímco u vzorku D panuje převážná shoda na vysoké aviditě, u „potenciálně akutního“ vzorku E jsou výsledky téměř rovnoměrně (mírně převažuje nízká avidita) rozděleny mezi všechny tři alternativy. Tyto výsledky ukazují, že vyšetření směsných vzorků má určitou, byť i omezenou, výpovědní hodnotu.

Tab. 6: Výsledná avidita IgG. Aviditu u jednotlivých vzorků stanovovalo 45 laboratoří zúčastněných v EHK 1290.

Vzorek	Avidita IgG		
	Nízká	Hraniční	Vysoká
A			
B			
C			
D	2,63%	5,26%	92,11%
E	38,64%	29,55%	31,82%

A na závěr obvyklý **aktuální přehled používaných metod:**

V tomto kole 39 (39%) laboratoří stanovuje **celkové antitoxoplasmické protilátky**, z nichž 69,2% uvádí, že k tomuto účelu používají KFR, 18% NIFR a 12,8 % latexovou aglutinaci.

IgG stanovují všechna pracoviště, a to s pomocí celkem 17 systémů:

TEST-Line (26%), Diasorin - Liaison (22%), Abbott (22%), Diesse (5%), , Cobas (4%), Euroimmun (4%) a Roche (4%) Access (3%) Biorad (3%) a dalších.

Testy na **IgM** používají rovněž všechna pracoviště (14 systémů): TEST-Line (26%), Liaison (22%), Abbott (22%), Diesse (5%), Cobas (4%), Roche (4%) a Euroimmun (4%) Access (3%), Biorad (3%) atd....

IgA stanovuje 69 (69%) pracovišť celkem 7 systémy, z nichž nejpoužívanější jsou TEST-Line (71,01%), Diesse (5,8%), Euroimmun (8,7%) a Chorus Line (7,25%).

IgE stanovuje 41 (41 %) pracovišť.

Další testy využívají 1 nebo 2 laboratoře.

6. Závěr

Cyklu EHK 1290 se účastnilo 101 laboratoří, jedna laboratoř nevrátila výsledky k hodnocení. Z výsledků hodnocení (viz Tab.2) je patrné, že EHK 1290 nebylo obtížné a že diagnostika oční toxoplasmózy nečiní většině zúčastněných potíže. Díky tomu 55 % laboratoří dostalo „bezchybné“ hodnocení 60 nebo 50 bodů. Skutečně vážných chyb bylo opravdu málo, kvalitativní i semikvantitativní výsledky jsou nesprávné jen v ojedinělých případech. Poněkud častější jsou potíže s interpretacemi, především s interpretacemi II, které neberou v úvahu, že se jedná o vyšetření pacientů s podezřením na oční toxoplasmózu. Zatímco u séronegativních vzorků A, B, a C je interpretace II="N" jen drobnou nepřesností, stejně jako interpretace II="K" u vzorků D a E, je interpretace „L“ nesprávná - naznačuje, že latentní toxoplasmóza žádné potíže nepůsobí, což u oční toxoplasmózy není ten případ. Závažné chyby vycházející z nepochopení odlišnosti interpretace výsledků při vyšetření na oční toxoplasmózu oproti akutní infekci či dokonce vyšetřování těhotných žen byly zcela ojedinělé.

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamacie použijte prosím také webovou aplikaci SZÚ: <http://ehk.szu.cz/EHK10/>

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY