



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/4-2/2020 (EHK 1146)

Sérologie toxoplazmózy

Praha, leden 2021

Obsah

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

Program zkoušení způsobilosti PT#M/4/2020 je zaměřen na sérologii toxoplazmózy. Návrh a realizace PT#M/4/2020 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 rozesílána poštou.

Zprávu vypracoval:

RNDr. Petr Kodym, CSc.

Zprávu autorizoval:

RNDr. Petr Kodym, CSc.

Tel: 267 082 105

Dne: 6. 1. 2021

Pracoviště ESPT 2

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

E-mail: ehk@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/4-2/2020

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1146
Název:	Sérologie toxoplasmózy
Poskytovatel:	SZÚ – ESPT Šrobárova 49/48, Praha 10, 100 00
Vedoucí ESPT	Ing. Viera Vrbíková
Koordinátor:	RNDr. Petr Kodym, CSc.
Charakteristika materiálu:	Simulace klinického materiálu: směsné vzorky lidských sér
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:	Séra pacientů vyšetřená v NRL byla smíšena tak, aby směsný vzorek měl požadovaný kvalitativní a semikvantitativní obsah stanovovaných markerů.
Množství připravovaného test. materiálu:	60 ml od každého vzorku
Označení vzorkovnic:	EHK – 1146, PT # M/4-2, č. 1 – 5, 22. 9. 2020
Zabezpečení kvality vzorku:	Přípravou podle standardních metod na akreditovaném pracovišti Vyšetření vzorků na testované markery akreditovanými metodami dle schválených SOP.
Metrologická návaznost:	Klinický materiál
Termín testu homogenity a stability:	22.9. - 7. 10. 2020
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Distribuce v předepsaném obalu. Uchování vzorků v chladničce při teplotě 2 - 8 °C.
Počet účastníků:	100
Způsob distribuce:	Zasílání kurýrní službou účastnickým laboratořím v určeném termínu.
Předání výsledků:	V elektronické podobě přes webové rozhraní SZÚ
Způsob vyhodnocení výsledků:	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 laboratořích se odečtou 2 směrodatné odchylky.
Určení směrodatné odchylky:	Z hodnot bodového ohodnocení jednotlivých účastníků
Určení přijaté vztažené hodnoty:	Výsledky NRL
Termín zveřejnění závěrečné zprávy:	Do 12 týdnů po obdržení výsledků k hodnocení

2. Příprava vzorků

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

Séra pacientů, vyšetřovaných v NRL TOXO, byla skladována 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 rozplněn do lahviček se šroubovacím uzávěrem a předán k rozeslání.

Vzorky byly stabilizovány 0,001% azidu sodného a **vyšetřeny s těmito výsledky:**

Vzorek EHK 1146	KFR Titr	IgG IP	IgA IP	IgM IP	IgE IP
A	Negativní	0,21 Negativní	0,01 Negativní	0,03 Negativní	0,05 Negativní
B	Negativní	0,21 Negativní	0,01 Negativní	0,07 Negativní	0,04 Negativní
C	1:8 Positivní	1,82 Positivní	0,07 Negativní	0,22 Negativní	0,06 Negativní
D	1:128 Positivní	4,25 Positivní	0,18 Negativní	0,64 Negativní	0,23 Negativní
E	1:128 Positivní	4,20 Positivní	0,35 Negativní	1,58 Positivní	0,44 Negativní

Vzorky byly rozeslány s tímto komentářem:

Vzorky pocházejí od chlapců ve věku 4-6 let, kteří si chodili hrát na pískoviště v parku na okraji sídliště. Chlapci si stěžovali na únavu a občasné zvýšené teploty. Vzhledem k tomu, že hřiště je hojně navštěvováno toulavými kočkami, doporučil pediatr vyšetření na toxoplazmózu (Dg. B58.9).

3. Vyhodnocení

Vzorky byly rozeslány celkem 100 laboratořím, k vyhodnocení v Národní referenční laboratoři pro toxoplazmózu (NRL TOXO) se vrátilo 98 vyplněných dotazníků. 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 i tentokrát přihlíženo ke slovním hodnocením napsaným do formuláře. Za 1 vzorek může být uděleno 0-12 bodů.

Jak je vidět z tabulky 1, „bezchybných“ 60 nebo 50 bodů získalo 48 % zúčastněných laboratoří. Pod oficiální hranici úspěšnosti v EHK 1146, stanovenou odečtením dvojnásobku směrodatné odchylky od průměru bodového ohodnocení, se dostaly 4 (4 %) laboratoře (viz tabulka 1).

Certifikát o úspěšné účasti v EHK sérologie toxoplazmózy v roce 2020 dostanou ty laboratoře, které se zúčastnily obou letošních kol a získaly dohromady alespoň 83,4 bodů, což splnilo 96 z 97 účastníků EHK 1112+1146. Certifikát nedostanou laboratoře, které se zúčastnily pouze jarního (2) nebo pouze podzimního (1) kola. Z 97 laboratoří, které splnily podmínku účasti v obou kolech, dosáhlo maximálně možných 120 bodů 20,6 % a skóre 100 bodů 12,4 % laboratoří, průměrné ohodnocení bylo 106,8 bodu, medián 109 bodů. Naopak získá méně než 100 bodů řadí laboratoř do poslední třetiny a méně než 92 bodů do poslední jedenáctky, kde je i 5 laboratoří, které neuspěly v jednom z letošních kol. Žádná z laboratoří nebyla neúspěšná v obou kolech. **Celoroční výsledky jsou na bodovacím formuláři dopsány nad ohodnocením v EHK 1146.**

Výsledky, které laboratoře uvádějí, jsou shrnuty v tabulkách 2-4; správné interpretace a komentáře k jednotlivým vzorkům uvádíme v následujícím textu. „*Autentické slovní komentáře laboratoří jsou uvedeny v uvozovkách kurzívou.*“

Bodů	Laboratoří	
	Počet	%
39	2	2,04 %
41	2	2,04 %
Neuspělo	4	4,08 %
42	3	3,06 %
44	1	1,02 %
47	2	2,04 %
48	15	15,31 %
49	2	2,04 %
50	22	22,45 %
51	2	2,04 %
52	1	1,02 %
56	5	5,1 %
57	2	2,04 %
58	14	14,29 %
60	25	25,51 %
Uspělo	94	95,92 %
CELKEM	98	100 %

Tab. 1: Frekvence bodových ohodnocení laboratoří, které se zúčastnily EHK 1146

HRANICE ÚSPĚŠNOSTI: 41,1 BODU
SMĚRODATNÁ ODCHYLKA: 6
PRŮMĚR: 53,1 BODU

Vzorky A a B byly sérologicky negativní – v celkových antitoxoplasmických protilátkách, IgG, IgM, IgA i IgE. Séronegativita (interpretace I = "N") znamená, že se nejedná o infekci *Toxoplasma gondii* (interpretace II = "N") Negativní výsledky u těchto vzorků vyšly skoro všem. Pokud ne, dokázali si s interpretací poradit třeba takto: „*Je přítomný nízký titr celkových protilátek - může se jednat o nespecifickou reaktivitu. Vzhledem k negativitě specifických protilátek rovněž při přetrvávajícím klinickém podezření na akutní toxoplazmózu doporučujeme vyšetření 2. vzorku séra. Protilátky ještě nemusí být vytvořeny.*“ nebo „*susp. nespecifická reaktivita v KFR*“. Záludností byly pravděpodobně nespecifické pozitivní reakce testů na celkové protilátky, které se objevily u vzorku B, avšak laboratoře se při interpretaci nedaly zmást.

Vzorky C a D antitoxoplasmické protilátky obsahovaly. Positivní výsledky dávaly testy na celkové protilátky a na antitoxoplasmické IgG, u vzorku C byly titry a hladiny nižší, u vzorku D vyšší (viz tab.2), zatímco vyšetření na IgM, IgA a IgE vycházela negativní (interpretace I = "S"). To odpovídá latentní toxoplazmóze (interpretace II = "L") a pokud by chlapci měli nějaké klinické příznaky, nedaly by se považovat za následky toxoplazmózy.

I u vzorků C a D naprosto převládaly správné výsledky a interpretace: „*latentní nákaza, anamnestické titry protilátek po prožití infekci*“. Některým laboratořím vyšlo u vzorku C velice nízké IgG, a tak si nad ním lámaly hlavu: „*Atypický vzorec protilátek, vysoká avidita, velice nízké IgG. Doporučujeme opakovat odběr s časovým rozestupem*“, jiné zazmatkovaly: „*interpretace I a II - vzhledem k nízké hodnotě IgG se pravděpodobně bude jednat o nespecifickou reakci, proto zvoleno hodnocení "N a N"*“.

Tab. 2: Titry KFR, které udávají zúčastněné laboratoře (celkem: 38 pracovišť), u jednotlivých vzorků EHK 1146 a kvalitativní výsledky stanovení IgG (v mezinárodních jednotkách - celkem: 81 pracovišť) zjištěné v okružních vzorcích.

KFR-titr	A	B	C	D	E
0	97,37%	62,16%	2,7%		
2		2,70%			
4	2,63%	13,51%	5,41%		
8		16,22%	59,46%	2,63%	
16		5,41%	24,32%	7,89%	5,26%
32			8,11%	34,21%	18,42%
64				50%	44,74%
128				2,63%	28,95%
256				2,63%	
512					
1024					
IgG-IU/ml					
Minimum	0	0	1,01	2,86	2,88
Medián	0,51	0,7	9,16	81,2	90,9
Průměr	1,64	1,63	17,16	114,09	120,98
Maximum	9,09	8,75	106,7	537,9	472,2

Vzorek E se vyznačoval vyšším, byť i ne opravdu vysokým titrem celkových protilátek, vyšší hladinou antitoxoplasmických IgG a nízkou, případně hraniční hladinou IgM (viz tab. 3), přičemž IgA ani IgE nebyly detekovány. Mohlo se tedy jednat buď o doznívající postakutní toxoplazmózu nebo o anamnestické protilátky s přetrvávající hladinou zbytkových IgM (interpretace I = „PA/S“). „*Hladina IgM protilátek se blíží k hraniční hodnotě. Může se jednat o zbytkové protilátky během postakutní fáze.*“

Na akutní toxoplazmózu to ale není, výsledky odpovídají latentní infekci (interpretace II = „L“). „*Hladina antitoxoplasmových protilátek svědčí o postakutní toxoplasmové infekci spíše staršího data. Doporučuji zopakovat vyšetření za 3 týdny*“. „*U vzorku E by se mohlo jednat i o postakutní stav, nelze zcela vyloučit ani akutní toxoplazmózu, daná interpretace byla upřednostněna z důvodu pouze nízké hladiny IgM a nijak zvlášť vysoké hladiny IgG, což neodpovídá ani akutní infekci, a*

příliš ani postakutnímu stavu (aviditu IgG u EHK vzorků nestanovujeme). "Zdá se ale, že některé příznaky, jako je zvětšení mízních uzlin, mohou v některých případech přetrvávat i dlouho po infekci, kdy už hladiny antitoxoplasmických protilátek, obzvláště IgM, výrazně poklesly, a tak nemůžeme interpretaci II="K" označit za nesprávnou. „Tento případ je trochu nejasný, očividně jde ze všech chlapců o nejmladší infekci, pravděpodobně bude při opakovaném odběru za pár týdnů vykazovat známky séropozitivity, jako ostatní. Postupně se stane avidita vysokou. Nízké hladiny IgM mohou přetrvávat delší dobu. Doporučili bychom tedy opakovaný odběr za tři týdny." Hodnocení výsledků komplikovaného vzorku bylo pokud možno benevolentní.

Kamenem úrazu tohoto kola EHK TOXO byla hladina antitoxoplasmických IgM u vzorku E. Výsledky se pohybovaly kolem hranice positivity testů (viz tabulka 3). Ty citlivější vyšly nad touto hranicí, méně citlivé na hranici nebo pod ní: „*hladina protilátek IgM poklesla těsně pod hraniční hodnotu, jedná se již o anamnestické protilátky*”.

Interpretace II="G+" u vzorku E byla vyhodnocena jako nesprávná. Zde nevyšetřujeme těhotnou ženu!

Tab. 3: Kvalitativní výsledky stanovení markerů toxoplasmové infekce ve vzorcích EHK 1146.

„N“ udává počet laboratoří, které daný marker vyšetřují a výsledky do protokolu uvedly.

Marker	Výsledky	A	B	C	D	E
CELKOVÉ PROTILÁTKY N=51	Negativní	100%	83,33%	10,42%		
	Hraniční		2,08%	4,17%		
	Positivní		14,58%	85,42 %	100%	100%
IgG N=98	Negativní	98,97%	100%	3,06%		
	Hraniční	1,03%		9,18%		
	Positivní			87,76%	100%	100%
IgM N=98	Negativní	98,97%	100%	100%	98,98%	40,82%
	Hraniční				1,02%	18,37%
	Positivní	1,03%				40,82%
IgA N=69	Negativní	100%	100%	100%	95,52%	91,3%
	Hraniční				4,48%	4,35%
	Positivní					4,35%
IgE N=38	Negativní	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
	Hraniční					
	Positivní					

Novinkou EHK 1146 byla nepovinná tabulka pro výsledky stanovení **avidity antitoxoplasmických IgG**, do které nám 33 laboratoře napsaly „mimo soutěž“ výsledky alespoň od 1 vzorku.

vzorek A: 1x nízká

vzorek B: 1x nízká

vzorek C: 26x vysoká

vzorek D: 25x vysoká, 3x hraniční, 2x nízká

vzorek E: 20x vysoká, 11x hraniční, 2x nízká

„*Avidita vyšetřena pouze u vzorků s dostatečně vysokou hladinou IgG protilátek*“ – stanovení avidity IgG u IgG-negativních vzorků A a B je nesmyslné.

Vidíme tedy, že výsledky jsou značně variabilní, ale jelikož mezi nimi (v souladu s očekáváním a výsledky NRL) převládá vysoká avidita, zdá se, že přeci jen určitou logiku mají.

Tab. 4: Interpretace I a II, které udávají zúčastněné laboratoře (N=97,98) u jednotlivých vzorků EHK 1146.

		A	B	C	D	E
INTERPRETACE I	N	98,98%	100%	4,08%		
	S	1,02%		95,92%	93,88%	42,86%
	A					5,1%
	PA				6,12%	52,04%
INTERPRETACE II	N	98,98%	100%	4,08%	1,02%	
	K			2,04%	7,14%	42,27%
	L	1,02%		93,88%	91,84%	56,7%
	G+					1,03%
	G-					
	O+					
	O-					

A na závěr tradiční **přehled použitých metod:**

V tomto kole 50 (51,02 %) laboratoří stanovuje **celkové antitoxoplasmické protilátky**; z nichž 76 % uvádí, že k tomuto účelu používají KFR, 14 % NIFR a 10 % latexovou aglutinaci.

IgG stanovují všechna pracoviště, a to s pomocí celkem 14 systémů: TEST-Line (27,6 %), Diasorin (9,2 %)+Liaison (14,3 %), Abbott (21,4 %), Access (4,1%), a Roche, Biorad, Siemens a Novatec (3,1%) a dalších.

Testy na **IgM** používají rovněž všechna pracoviště (14 systémů): TEST-Line (27,6 %), Liaison (23,5%), Abbott (21,4 %), Diesse (5,1%) Access (4,1%) a Roche, Biorad, Novatec, a Siemens (3,1 %) Euroimmun (2,1%) a další.

IgA stanovuje 69 (70,4%) pracovišť celkem 7 systémy, z nichž nejpoužívanější jsou TEST-Line (71 %), Diesse (8,7%) a Chorus Line a Euroimmun (5,8 %) a Novatec (4,4 %); zbývající používají vždy jen 1-2 laboratoře.

IgE stanovuje 38 (38,8 %) pracovišť.

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