



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/4-1/2023 (EHK 1327)

Sérologie toxoplasmózy

Praha, květen 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	5
5.	Vyhodnocení	5
6.	Závěr	8
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/4-1/20223 je zaměřen na sérologii toxoplasmózy. Návrh a realizace PT#M/4-1/2023 byly prováděny podle standardního operačního postupu koordinátora programu EHK 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 toxoplasmózu, SZÚ Praha

Zprávu autorizoval:

RNDr. Petr Kodym, CSc.

Tel: 267 082 105

Dne: 15. 5. 2023

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/4-1/2023

Identifikace cyklu:	EHK 1327
Název PT:	Sérologie toxoplasmózy
Koordinátor:	RNDr. Petr Kodym, CSc.
Podstata a účel PT:	Kvalitativní a semikvantitativní stanovení protilátek proti <i>Toxoplasma gondii</i> v kontrolních vzorcích.
Kritéria pro účast na PT:	Znalost a technické vybavení pro vyšetření protilátek proti <i>Toxoplasma gondii</i> . Znalost postupů, interpretace sérologických výsledků.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3 závěrečné zprávy
Hodnocené ukazatele:	Pozitivita či negativita sérologických testů.
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Počet účastníků:	99
Termín distribuce vzorků:	31. 1. 2023
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	21. 2. 2023
Označení vzorkovnic:	EHK 1327, PT#M/4-1, č. 1-5, 31. 1. 2023
Zabezpečení jakosti vzorku včetně testu homogenity a stability:	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe, nesprávné vyhodnocení testů, nesprávný zápis do formuláře.
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4 závěrečné zprávy
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Vztaženou hodnotou jsou výsledky NRL, které byly získané trojitým opakovaným testováním vzorků.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Z hodnot bodového ohodnocení jednotlivých účastníků. Aritmetický průměr všech hodnocených laboratoří minus dvě směrodatné odchylky. Laboratoř úspěšně absolvuje cyklus EHK, pokud dosáhne bodového limitu, který se vypočítává podle vzorce: Limit = aritmetický průměr výsledků všech hodnocených laboratoří minus dvě směrodatné odchylky. Pokud se v hodnocené skupině vyskytne pracoviště s extrémně nízkým bodovým ziskem (je menší než 50% maximálního bodového zisku), je vyloučeno z výpočtu limitu. Takové pracoviště je automaticky hodnoceno jako neúspěšné.
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	3. 3. 2023
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 16. 5. 2023

2. Způsob přípravy vzorků

2.1 Postup přípravy výchozího materiálu

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků bylo lidské sérum nebo plasma – pacientské vzorky vyšetřené na obsah protilátek proti *Toxoplasma gondii*. Výchozí materiál byl dlouhodobě uskladněn 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 lahviček se šroubovacím uzávěrem a předán k rozeslání. Vzorky jsou až do rozeslání skladovány při teplotě 4°C .

2.2 Zabezpečení kvality výchozího materiálu, homogenita a stabilita

Zabezpečení homogenity: Homogenita je zajištěna promícháním vzorků před zahájením alikvotování do vzorkovnic. V den distribuce vzorků je testováno libovolných 5 vzorků 3x na přítomnost antitoxoplasmických protilátek.

Zabezpečení stability vzorků: Stabilita je zajištěna vhodným skladováním při teplotě $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ až do rozplnění vzorků. Kontrola stability byla prováděna testováním 5 vzorků 3x na přítomnost antitoxoplasmický protilátek v termínu odeslání výsledků účastníků.

3. Charakteristika materiálu

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.

Tab. 1: Výsledky vyšetření vzorků EHK 1327 v NRL TOXO

Vzorek EHK 1327	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	1:8 Positivní	20 Positivní	0,15 Negativní	0,15 Negativní	0,2 Negativní	Vysoká
C	1:32 Positivní	85 Positivní	0,25 Negativní	0,3 Negativní	0,3 Negativní	Vysoká
D	1:256 Positivní	180 Positivní	0,6 Negativní	1,2 Positivní	0,7 Negativní	Vysoká
E	1:512 Positivní	240 Positivní	1,2 Positivní	1,3 Positivní	1,2 Positivní	Vysoká

Vzorky byly rozeslány s tímto komentářem: Vzorky pocházejí od těhotných žen ve věku 19-47 let, které byly v době odběru vzorků ve 12.-15. týdnu těhotenství. Všechny chovají v domácnosti kočku. Ženy si stěžují na přetrvávající únavnost a bolesti kloubů. Vyšetření požaduje gynekologická klinika, dg. Z34.9.

4. Způsob hodnocení

Nahlášené výsledky byly porovnávány s očekávanými výsledky získanými trojitým opakovaným testováním vzorků v NRL. Při porovnání s výsledky zúčastněných laboratoří se potvrdilo, že 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

Výsledky sérologických testů, které laboratoře uvádějí, jsou shrnuty v tabulkách 2, 3 a 5, jejich interpretace v tabulce 4. Správné interpretace a komentáře k jednotlivým vzorkům uvádíme v následujícím textu. „*Autentické slovní komentáře laboratoří jsou uvedeny v uvozovkách kurzívou.*“

Tab. 2: Titry KFR, které udávají zúčastněné laboratoře (celkem: 30 pracovišť), u jednotlivých vzorků EHK 1327 a (semi)kvantitativní výsledky stanovení IgG (v mezinárodních jednotkách – celkem 83 pracoviště) v okružních vzorcích.

KFR – titer	A	B	C	D	E
0	86,67%	3,33%			
2		3,33			
4	3,33%	6,67%			
8	6,67%	50%	3,33%		
16		13,33%	26,67%		
32	3,33%	10%	46,67%	3,33%	3,33%
64		6,67%	3,33%	10%	10%
128		6,67%	13,33%	30%	3,33%
256			3,33%	26,67%	30%
512			3,33%	16,67%	30%
1024				10%	16,67%
2048					3,33%
4096				3,33%	3,33%
IgG-IU/ml					
Minimum	0	0	27	85	100
Medián	0,5	18	82	202	296
Průměr	3	31	119	290	388
Maximum	164	151	455	1559	2764

Komentáře k jednotlivým vzorkům:

Vzorek A neobsahoval antitoxoplasmické protilátky (viz Tab. 2 a 3), interpretace I = „N“. Výsledky sérologických testů nesvědčí pro toxoplasmovou infekci, těhotenství tudíž není toxoplasmózou ohroženo, interpretace II = „G-“ (viz Tab. 4). „*Primoinfekce v graviditě v současnosti nepravděpodobná, event. doporučit kontrolní odběr v dalším trimestru.*“ Asi čtvrtina zúčastněných laboratoří uváděla interpretaci II = „N“ a nebrala v úvahu, že se jedná o vyšetření těhotných žen. Ačkoliv to nebylo vyhodnoceno jako chyba, za kterou by byly strhávány body, opakování stejného hodnocení při obou interpretacích je lepší se vyhnout.

Komentáře některých laboratoří byly podezřívavé: „*Neimunní stav, při podezření na infekci Toxoplasma gondii dop. opakovat vyšetření v dalších trimestrech těhotenství*“. „*Doporučuji poučit těhotnou, jak snížit riziko infekce na minimum.*“ „*Vzhledem k anamnéze pacientky nelze vyloučit infekci v počátečním stádiu, kdy ještě nedošlo k tvorbě protilátek. Proto doporučuji zopakovat vyšetření za 2 - 3 týdny.*“ „*Doporučujeme vyšetření opakovat ve 2. a 3. trimestru, z důvodu kočky v domácnosti.*“

Tab. 3: Kvalitativní výsledky stanovení markerů toxoplasmové infekce ve vzorcích EHK 1327. „N“ udává počet laboratoří, které daný marker vyšetřují a výsledky do protokolu uvedly.

Marker	Výsledky	A	B	C	D	E
CELKOVÉ PROTILÁTKY N=34	Negativní	100%	2,94%			
	Hraniční		5,88%			
	Positivní		91,18%	100%	100%	100%
IgG N=99	Negativní	98,98%	1,02%			
	Hraniční					
	Positivní	1,02%	96,94%	100%	100%	100%
IgM N=99	Negativní	98,98%	97,94%	97,96%	4,08%	2,04%
	Hraniční		1,03%	2,04%	4,08%	1,02%
	Positivní	1,02%	1,03%		91,84%	96,94%
IgA N=69	Negativní	100%	97,06%	98,53%	60%	2,86%
	Hraniční		1,47%	1,47%	12,86%	10%
	Positivní		1,47%		27,14%	87,14%
IgE N=40	Negativní	97,5%	97,5%	100%	90,48%	30,95%
	Hraniční	2,5%			7,14%	45,25%
	Positivní		2,5%		2,38%	23,81%

U **vzorku B** vycházely nízké a u **vzorku C** o něco vyšší titry celkových antitoxoplasmických protilátek a jim odpovídající hladiny IgG; testy na IgA, IgE i IgM byly negativní (viz Tab. 2 a 3). Prakticky všichni účastníci EHK se shodli s NRL TOXO na interpretaci I = „S“ a na interpretaci II = „G-“. Tyto vzorky reprezentující anamnestické protilátky bez ohrožení těhotenství toxoplasmózou byly veskrze bezproblémové.

U **vzorku D** výsledné nepříliš vysoké titry celkových protilátek, nízké pozitivní IgM a negativní IgA a IgE svědčí pro postakutní toxoplasmózu (interpretace I = „PA“). Interpretace tohoto vzorku není úplně jednoznačná: „Mezi interpretací „A“ a „PA“ není jednoznačně ostrá hranice. I když by bylo možné vzorek zařadit (negativní IgA) do kategorie „PA“, je třeba k hodnocení přistupovat obezřetně a vzhledem k pozitivitě IgM nelze udělat jednoznačný závěr - dop. vyšetřit aviditu IgG a vyšetření zopakovat (za 2-3 týdny) pro zhodnocení dynamiky protilátek.“ „Vzhledem k časné fázi gravidity je spíše pravděpodobné, že nákaza proběhla před otěhotněním (interpretace II = „G-“). Nicméně vzhledem k pozitivitě IgM, doporučíme obezřetnost a jednoznačně primoinfekci těsně před počatím nevyloučíme“. Většina laboratoří proto upřednostnila interpretaci II = „G+“.

Vzorek E se od vzorku předchozího liší vyšším titrem celkových protilátek, poněkud vyšší hladinou IgM i IgG a především pozitivitou IgA a IgE. „Výsledek vyšetření svědčí pro akutní toxoplasmózu, těhotenství může být ohroženo“ (interpretace I=„A“, případně i „PA“, interpretace II = „G+“). Ani tento závěr není úplně jednoznačný: „U vzorku D a nejspíše i u vzorku E je poškození plodu vzhledem k délce gravidity asi jen málo pravděpodobné, nicméně nelze vyloučit a proto upřednostněna interpretace „G+“. Takto se nakonec (správně) rozhodla naprostá většina laboratoří.

Tab. 4: Interpretace I a II, které udávají zúčastněné laboratoře (N=98) u jednotlivých vzorků EHK 1327.

		A	B	C	D	E
INTERPRETACE I	N	97,96%	1,02%			
	S	1,02%	96,94%	100%	3,06%	1,02%
	A	1,02%	2,04%		41,48%	75,51%
	PA				55,1%	23,47%
INTERPRETACE II	N	25,51%				
	K				1,02%	2,04%
	L		2,04%	2,04%	1,02%	
	G+	1,02%	3,06%	1,02%	79,59%	92,86%
	G-	73,47%	94,9%	96,94%	18,37%	5,1%
	O+					
	O-					

Tab. 5: Hlášená avidita IgG. Aviditu u jednotlivých vzorků stanovovalo 47 laboratoří zúčastněných v EHK 1327.

Vzorek	Avidita IgG		
	Nízká	Hraniční	Vysoká
A			
B		2,94%	97,06%
C	5,71%	11,43%	82,86%
D	19,57%	43,48%	36,96%
E	8,7%	43,48%	47,83%

Kvalitativní výsledky stanovení avidity IgG ukazuje tabulka 5. Je z ní vidět, že zatímco u jednoznačně „neakutních“ vzorků B a C panuje převážná shoda na vysoké aviditě, u „potenciálně akutních“ vzorků D a E jsou výsledky rozděleny mezi všechny tři alternativy. V NRL TOXO vyšla avidita vzorků B - E vysoká. Tyto výsledky vyšetření směsných vzorků mají určitou výpovědní hodnotu, ale variabilita výsledků různých laboratoří užívajících různé soupravy je příliš velká.

Jediná laboratoř, která stanovila aviditu IgG u séronegativního vzorku A, hlásí vysokou aviditu.

Přehled používaných sérologických testů:

V tomto kole 33 (33,67%) laboratoře stanovují **celkové antitoxoplasmické protilátky**, což je oproti minulým kolům výrazný pokles. Z důvodu zavedení IVDR byla zrušena výroba souprav KFR firmou TestLine Clinical Diagnostics s.r.o. a vícero laboratoří hlásí, že celkové protilátky již nevyšetřují. Některé z nich si asi si uvědomují, že to je chyba, a tak alespoň píší komentáře jako „*u vzorků E, C, D a B doporučujeme vyšetřit titr celkových protilátek.*“

Laboratoře, které stále celkové protilátky stanovují, k tomuto účelu používají nejčastěji KFR (57,6%), dále potom NIFR (21,2%) a latexovou aglutinaci (21,2%).

IgG stanovují všechna pracoviště, a to pomocí celkem 15 systémů: TEST-Line (23,47%), Abbott (22,45%), Diasorin - Liaison (20,4%), Diesse (6,12%), Roche (5,1%) Access (4,08%) Cobas a Biorad a (3,06%) a dalších.

Testy na **IgM** používají rovněž všechna pracoviště (14 systémů): TEST-Line (23,47%), Abbott (22,45%), Liaison (20,41%), Diesse (6,12%), Roche (5,1%), Access (4,08%), Biorad a Cobas (3,06%) atd....

IgA stanovuje 70 (71,42%) pracovišť celkem 7 systémy, z nichž nejpoužívanější jsou TEST-Line (68,57%), Euroimmun (11,43%), Diesse (8,57%), Chorus Line (4,29%), Biorad (2,86 %) a NOVATEC (1,43%).

IgE stanovuje 40 (40,4 %) pracovišť.?

Další testy využívají 1 nebo 2 laboratoře.

6. Závěr

PT#M/4-1/2023 (EHK 1327) Sérologie toxoplasmózy se zúčastnilo 98 laboratoří, výsledky nedodala 1 laboratoř. Uspělo 96 laboratoří, neuspěly 2 laboratoře. Parametry úspěšnosti a výsledky ohodnocení shrnuje Tab. 6. Je z ní patrné, že EHK 1327 nebylo obtížné a že diagnostika toxoplasmózy u těhotných žen nečiní většině diagnostických laboratoří žádné potíže. Díky tomu více než 80% laboratoří dostalo „bezchybné“ hodnocení 60 nebo 50 bodů. Z 98 laboratoří neuspěly 2.

Naprostá většina uváděných laboratorních výsledků - kvalitativních nebo semikvantitativních – byla bezchybných, opravdu závažné chyby jako zcela neadekvátní výsledky nebo nesprávné interpretace byly naprosto ojedinělé. Opět se objevila podezření na záměnu vzorků, tu a tam nebyly zadány výsledky všech povinných stanovení.

Tab. 6: Frekvence bodových ohodnocení a parametry úspěšnosti laboratoří v EHK 1327

	Laboratoří	
	Počet	%
31	1	1,02%
40	1	1,02%
NEUSPĚLO	2	2,04%
41	1	1,02%
42	1	1,02%
44	2	2,04%
45	1	1,02%
47	3	3,06%
48	1	1,02%
49	2	2,04%
50	51	52,04%
53	1	1,02%
55	2	2,04%
57	1	1,02%
58	1	1,02%
60	29	29,59%
USPĚLO	96	97,95 %
CELKEM	98	100 %

HRANICE ÚSPĚŠNOSTI: 40,9 BODU
PRŮMĚR: 52,5 BODU
SMĚRODATNÁ ODCHYLKA: 5,8

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 vyřešení 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