



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/4-2/2023 (EHK 1366)

Sérologie toxoplasmózy

Praha, prosinec 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/4-2/2023 je zaměřen na sérologii toxoplasmózy. Návrh a realizace PT#M/4-2/2023 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: 20. 12. 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/4-2/2023

Identifikace cyklu:	EHK 1366
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:	19. 9. 2023
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	10. 10. 2023
Označení vzorkovnic:	EHK 1366, PT#M/4-2, č. 1-5, 19. 9. 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 mínus dvě směrodatné odchylky. Laboratoř úspěšně absolvuje cyklus EHK, pokud dosáhne bodového limitu, který se vypočítává podle vzorce: Limit = aritmetický průměr výsledků všech hodnocených laboratoří mínus 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:	18. 10. 2023
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 2. 1. 2024

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 1366 v NRL TOXO

Vzorek EHK 1366	KFR Titr	IgG IU/ml	IgA IP	IgM IP	IgE IP	AVIDITA IgG IAv
A	1:8 Positivní	24 Positivní	0,2 Negativní	0,4 Negativní	0,7 Negativní	0,6 Vysoká
B	1:8 Positivní	19 Positivní	0,3 Negativní	0,4 Negativní	0,2 Negativní	0,6 Vysoká
C	1:32 Positivní	86 Positivní	0,2 Negativní	0,35 Negativní	0,25 Negativní	0,5 Vysoká
D	1:64 Positivní	89 Positivní	0,6 Negativní	1,2 Positivní	0,5 Negativní	0,8 Vysoká
E	1:256 Positivní	99 Positivní	1,2 Positivní	1,2 Positivní	1,2 Positivní	0,9 Vysoká

Vzorky byly rozeslány s tímto komentářem: Vzorky pocházejí od žen ve věku 18-72 let, které dlouhodobě pracují anebo brigádnicky vypomáhají v útulku pro kočky. V době vyšetření nebyla žádná z nich těhotná. Ženy si stěžují na přetrvávající únavnost a bolesti kloubů. Praktická lékařka u nich zjistila zduření krčních lymfatických uzlin malého či většího rozsahu a žádá o vyšetření na toxoplasmózu, dg. B58.9.

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, zda-li 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: 14 pracovišť), u jednotlivých vzorků EHK 1366 a (semi)kvantitativní výsledky stanovení IgG (v mezinárodních jednotkách – celkem 83 pracoviště) v okružních vzorcích.

KFR – titer	A	B	C	D	E
0	23,08%	25%	8,33%	8,33%	8,33%
8	30,77%	33,33%			
16	46,15%	41,67%	16,67%		
32			50%	25%	
64			16,67%	33,33%	16,67%
128				16,67%	
256			8,33%	16,67%	8,33%
512					58,33%
1024					8,33%
IgG-IU/ml					
Minimum	0,27	0,26	1,4	1,73	1,82
Medián	23,8	16,65	77,8	109	198,81
Průměr	59,46	34,56	110,7	142,57	243,98
Maximum	1603	193	425	520	1348

Komentáře k jednotlivým vzorkům:

U **vzorků A a B** vycházely pozitivní testy jak na celkové antitoxoplasmické protilátky tak na IgG, přičemž testy na IgA, IgE i IgM byly převážně negativní (viz Tab. 3 a 4), interpretace I = „S“, Jedná se tedy o „*latentní nákazu pravděpodobně staršího data*“, interpretace II = „L“. Nečetné laboratoře se s takto jednoduchým závěrem nespokojily a hledaly v tom něco více. Některé zmátlo, že v tomto kole nebyl výjimečně zařazen ani jeden skutečně negativní vzorek a tak pochybovaly o svých pozitivních výsledcích: „*Hodnota IgG není přesvědčivě vysoká, aby poskytovala ochranu před opakovanou infekcí. Seropozitivita diskutabilní.*“ Jiní se nechali zmást tím, že zaznamenali slabou nespecifickou reaktivitu IgM: „*Nelze vyloučit počínající toxoplasmózu (nízké celkové protilátky a hraniční IgM), doporučuji opakovat odběr pro posouzení vývoje.*“

Do úplně stejné kategorie, i pokud se týče obou interpretací, patří i **vzorek C**, který má jen poněkud vyšší hladiny antitoxoplasmických IgG i titry celkových protilátek. Ojedinele vyšlo i něco navíc, laboratoře si s tím však poradily: „*Vzhledem k velmi nízké hladině IgM protilátek se spíše jedná o paměťové protilátky s přetrvávající zbytkovou hladinou IgM (ev. nespecifitou ?).*“

Vzorek D se liší positivitou IgM, byť i nízkou, a také vyššími titry celkových protilátek: „*Zvýšené hodnoty IgG, hraniční IgM - ty mohou v nízkých hodnotách přetrvávat i několik let.*“ „*Nízká hladina IgM protilátek. Může se též jednat o latentní fázi s prolongovanou positivitou IgM protilátek.*“ Není snadné učinit jednoznačný závěr: „*... také interpretace I PA/S a interpretace II L.*“ Akceptovatelné jsou i jiné interpretace: „*Hraniční hodnota IgM protilátek může být nespecifická nebo naopak spojena s pozdní postakutní fází. Interpretace PA, K. Doporučuji opakovat odběr.*“ „*Mohlo by se jednat i o akutní toxoplasmosu, interpretace jako spíše postakutní. Možná interpretace u vzorku D: PA;K.*“

Tab. 3: Kvalitativní výsledky stanovení markerů toxoplasmové infekce ve vzorcích EHK 1366. „N“ udává počet laboratoří, které daný marker vyšetřují a výsledky do protokolu uvedly.

Marker	Výsledky	A	B	C	D	E
CELKOVÉ PROTILÁTKY N=28	Negativní	11,54%	14,81%			
	Hraniční	11,54%	7,41%	3,7%		3,7%
	Positivní	76,92%	77,78%	96,3%	100%	96,3%
IgG N=96	Negativní	1,04%	1,05%			
	Hraniční		1,05%	1,04%		
	Positivní	98,96%	97,89%	98,96%	100%	100%
IgM N=96	Negativní	91,67%	97,89%	92,71%	30,21%	1,04%
	Hraniční	1,04%		2,08%	19,79%	1,04%
	Positivní	7,29%	2,11%	5,21%	50%	97,92%
IgA N=69	Negativní	98,48%	100%	96,97%	80,88%	1,47%
	Hraniční			3,03%	8,82%	4,41%
	Positivní	1,52%			10,29%	94,12%
IgE N=41	Negativní	82,05%	92,31%	94,87%	40%	43,9%
	Hraniční	10,26%	7,69%	2,56%		39,02%
	Positivní	7,69%		2,56%		17,07%

Vzorek E se od vzorku předchozího liší vyšším titrem celkových protilátek, poněkud vyšší hladinou IgM i IgG a především pozitivitou IgA a IgE. „KFR 1:320, může jít o akutní nebo i PA fázi (vzhledem k aviditě a nižšímu KFR)“ „Vzhledem k vysokým titrům protilátek ve třídě IgG a "střední" aviditě lze interpretovat i jako PA, K.“ Stanovení avidity IgG u tohoto vzorku příliš nepomůže: „- vysoká avidita neodpovídá ostatním výsledkům, směsný vzorek ?????“

Tab. 4: Interpretace I a II, které udávají zúčastněné laboratoře (N=96) u jednotlivých vzorků EHK 1366.

		A	B	C	D	E
INTERPRETACE I	N					
	S	92,63%	98,95%	95,83%	43,75%	2,08%
	A	3,16%	1,05%	1,04%	11,46%	76,04%
	PA	4,21%		3,12%	44,79%	21,88%
INTERPRETACE II	N	2,11%	2,11%	2,08%		
	K	6,32%	2,11%	5,21%	47,92%	97,92%
	L	91,58%	95,79%	92,71%	52,08%	2,08%
	G+					
	G-					
	O+					
	O-					

Tab. 5: Hlášená avidita IgG. Aviditu u jednotlivých vzorků stanovovalo 50 laboratoří zúčastněných v EHK 1366.

Vzorek	Avidita IgG		
	Nízká	Hraniční	Vysoká
A	2,44%	7,32%	90,24%
B	4,88%	9,76%	85,37%
C	2,33%	6,98%	90,7%
D	8,51%	34,04%	57,45%
E	32%	26%	42%

Kvalitativní výsledky stanovení avidity IgG ukazuje tabulka 5. Je z ní vidět, že zatímco u jednoznačně „neakutních“ vzorků A, B a C panuje převážná shoda na vysoké aviditě, u „potenciálně akutního“ vzorku E jsou výsledky rozděleny mezi všechny tři alternativy. V NRL TOXO vyšla avidita u všech vzorků.

Tyto výsledky vyšetření směsných vzorků mají určitou výpovědní hodnotu, ale variabilita výsledků různých laboratoří užívajících různé soupravy je příliš veliká.

Přehled používaných sérologických testů:

Pokles počtu laboratoří, které stanovují **celkové antitoxoplasmické protilátky**, nadále pokračuje, v tomto kole to bylo 28 (29,2%) pracovišť. Z důvodu zavádění 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 uvědomují, že to je chyba, a tak alespoň píší komentáře jako „doporučujeme vyšetřit celkový titer protilátek.“ Situaci někde vyřešili změnou dodavatele: *KFR - změna firmy VIRION/SERION; v nabídce nejsou uvedena doporučená ředění KFR dodávaného touto firmou, proto je uvádíme v poznámce, hodnoty rámcově odpovídají původnímu ředění.*

NRL TOXO se chystá od příštího kola EHK napravit problém se zápisem titerů do formuláře změnou příslušné tabulky.

Laboratoře, které stále celkové protilátky stanovují, k tomuto účelu používají nejčastěji KFR (51,58%), dále potom NIFR (29,63%) a latexovou aglutinaci (18,52%).

IgG stanovují všechna pracoviště, a to pomocí celkem 15 systémů: TEST-Line (23,96%), Abbott (21,88%), Diasorin - Liaison (12,5%), Diasorin (10,42%), Diesse (4,16%), Euroimmun (4,16%), Roche (5,21%) Access (4,17%) Cobas (3,12%), Biorad (3,12%) a dalších.

Testy na **IgM** používají rovněž všechna pracoviště (15 systémů): TEST-Line (23,96%), Abbott (21,88%), Liaison (21,88%), Diesse (5,21%), Roche (5,21%), Access (4,17%), Euroimmun (4,17%), Biorad a Cobas (3,12%) atd....

IgA stanovuje 67 (69,79%) pracovišť celkem 8 systémy, z nichž nejpoužívanější jsou TEST-Line (73,13%), Euroimmun (8,96%), Diesse (8,96%), Chorus Line (2,99%), Biorad (1,49%) a NOVATEC (1,49%).

IgE stanovuje 40 (41,66%) pracovišť.

Další testy využívají 1 nebo 2 laboratoře.

6. Závěr

PT#M/4-2/2023 (EHK 1366) Sérologie toxoplasmózy se zúčastnilo 99 laboratoří, z nichž výsledky nedodaly 3 laboratoře. Uspěly 92 laboratoře, neuspěly 4 laboratoře. Parametry úspěšnosti a výsledky ohodnocení shrnuje Tab. 6. Je z ní patrné, že EHK 1366 nebylo obtížné a že diagnostika akutní toxoplasmózy nečiní většině diagnostických laboratoří žádné potíže. Díky tomu 50% všech laboratoří dostalo „bezchybné“ hodnocení 60 nebo 50 bodů.

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 1366

	Laboratoří	
	Počet	%
34	2	2,08%
36	1	1,04%
37	1	1,04%
NEUSPĚLO	4	4,16%
41	3	3,12%
42	3	3,12%
43	2	2,08%
47	4	4,17%
48	5	5,21%
49	20	20,83%
50	30	31,25%
52	2	2,08%
53	1	1,04%
54	1	1,04%
55	2	2,08%
57	1	1,04%
60	18	18,75%
USPĚLO	92	95,81 %
CELKEM	96	100 %

HRANICE ÚSPĚŠNOSTI: 38,4 BODU
PRŮMĚR: 50,4 BODU
SMĚRODATNÁ ODCHYLKA: 6

V roce 2023 se úspěšně účastnily EHK sérologie toxoplasmózy ty laboratoře, které se zúčastnily obou letošních kol a získaly dohromady alespoň 83 bodů (**hranice úspěšnosti: 82,4 bodu**), což splnilo 95 z 96 účastníků EHK 1327+1366. Z 96 laboratoří, které splnily podmínku účasti v obou kolech, dosáhlo maximálně možných 120 bodů 14,6 % a skóre 100 bodů 20,8 % laboratoří, **průměrné ohodnocení bylo 103 body, směrodatná odchylna 10,3 bodu**. Naopak získání 97 a méně bodů řadí laboratoř do poslední pětiny a 91 a méně bodů do poslední desetiny.

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