



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/4-2/2024 (EHK 1423)

Sérologie toxoplasmózy

Praha, leden 2025

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/4-2/2024 je zaměřen na sérologii toxoplasmózy. Návrh a realizace PT#M/4-2/2024 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: 3. 1. 2025

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/4-2/2024

Identifikace cyklu:	EHK 1423
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:	24. 9. 2024
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	15. 10. 2024
Označení vzorkovnic:	EHK 1423, PT#M/4-2, č. 1-5, 24. 9. 2024
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:	29. 10. 2024
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 7. 1. 2025

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 1423 v NRL TOXO

Vzorek EHK 1423	KFR Titr	IgG IU/ml	IgA IP	IgM IP	IgE IP	AVIDITA IgG IAv
A	Negativní	0 Negativní	0,3 Negativní	0,2 Negativní	0,1 Negativní	
B	Negativní	0 Negativní	0,2 Negativní	0,2 Negativní	0,1 Negativní	
C	1:16 Positivní	38 Positivní	0,2 Negativní	0,2 Negativní	0,05 Negativní	0,7 Vysoká
D	1:128 Positivní	44 Positivní	0,4 Negativní	0,8 Negativní	0,3 Negativní	0,8 Vysoká
E	1:512 Positivní	207 Positivní	1,3 Positivní	1,9 Positivní	1,2 Positivní	0,5 Vysoká

Vzorky byly rozeslány s tímto komentářem: Vzorky sér pocházejí od dětí (3 dívky, 2 chlapci) ve věku od 4 do 8 let, které žijí na sídlišti na okraji města. Pravidelně si hrají na hřišti a pískovišti, jež je známo tím, že na něm bývají často spatřeny toulavé kočky. Ty jsou krmeny obyvatelkami okolních domů a do této lokality stahují z širokého dalekého okolí. Výsledek parazitologického vyšetření písku není dosud znám. Děti si stěžují na únavu, bolesti kloubů, zvýšené teploty v minulosti i v současnosti, u některých se objevily zvětšené mízní uzliny. Sérologické vyšetření na toxoplazmózu požaduje dětská lékařka (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, 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.*

Komentáře k jednotlivým vzorkům:

U **vzorků A a B** vycházely testy jak na celkové antitoxoplasmické protilátky tak na IgG vesměs negativně, stejně jako testy na antitoxoplasmické IgA, IgE i IgM (viz Tab. 3 a 4). Všechny zúčastněné laboratoře se shodly, že oba vzorky jsou negativní a že výsledky nesvědčí pro toxoplasmovou infekci. Shoda panovala i v interpretaci I a interpretaci II – u obou vzorků „N“ a „N“.

Vzorek C obsahoval vcelku nízký titr celkových antitoxoplasmických protilátek a nevysokou hladinu IgG. Testy na IgA, IgM i IgE vyšly v drtivé většině laboratoří negativní. Jedná se tedy o anamnestické protilátky (interpretace I = „S“), latentní toxoplazmózu (interpretace II = „L“), takže případné klinické příznaky nejspíše nemají s toxoplazmózou žádnou souvislost. Některé z ojedinelých laboratoří, kterým přeci jen vyšlo IgM pozitivní, se přesto dopracovaly správné interpretace: *„pozitivně IgM ale IgA už negativně, skôr prekonaná toxoplazmóza pred dlhším časom, o čom svedčí aj nižší titer IgG“.*

Vzorek D vykazoval kvalitativně úplně stejné kvalitativní výsledky i interpretace I i II, pouze titr KFR i hladina IgG byly poněkud vyšší. V citlivějších testech na IgM však poměrně často vycházely hraniční nebo i níže pozitivní výsledky, což by mohlo znamenat postakutní infekci bez klinických následků, tedy interpretaci I = „PA“ a interpretaci II = „L“. Tímto způsobem výsledky vyhodnotila celá řada laboratoří: *„Laboratorní nález svědčí pro anamnestické protilátky s přetrvávající hladinou zbytkových protilátek IgM, nelze vyloučit ani doznívající postakutní toxoplazmózu.“ „Hraniční hodnota IgM protilátek může být nespecifická nebo naopak spojená s pozdní postakutní fází“ „Zachyceny akutní protilátky ve třídě IgM, ostatní markery akutního stavu - protilátky třídy IgA a IgE, jsou negativní. Vytvořeny anamnestické protilátky třídy IgG. Sérologický nález pravděpodobně svědčí pro postakutní fázi toxoplasmové infekce.“ „Upřednostněn interpretační komentář "L" vzhledem k vysoké aviditě IgG protilátek. IgM protilátky mohou přetrvávat i déle než rok po infekci.“ „IgM jsou nejspíš slabě pozitivní, současně je ale přítomna*

„pouze vcelku nízká hladina IgG. Pravděpodobnější tedy je, že se jedná o postinfekční protilátky nebo o nespecifickou reaktivitu IgM, nežli o akutní či doznívající infekci (proto interpretace L).“

Jiné laboratoře byly velice opatrné: „Vzhledem k slabě pozitivním hodnotám IgM protilátek a pozitivním hodnotám IgG protilátek nelze zcela bez historie laboratorního vyšetření zcela určit, zda se jedná už o doznívající postakutní toxoplazmózu či případný počátek akutní infekce.“ „...doporučíme opakovat odběr.“ (to bohužel v EHK nejde). „Rozhodlo by stanovení avidity IgG, ale to jak řečeno u EHK neprovádíme.“ „Může se jednat o nespecifitu, event. přetrvávající zbytkové IgM po postakutní fázi. Udávané klinické potíže nález přesvědčivě nevysvětluje.“ Další připustili i možnost, že příznaky souvisejí s toxoplazmózou: „Možno interpretovat i komentářem "K"“. A tak byla i tato dramatictější interpretace II akceptována.

Tab. 2: Titry KFR, které udávají zúčastněné laboratoře (celkem: 12 pracovišť), u jednotlivých vzorků EHK 1423 a (semi)kvantitativní výsledky stanovení IgG (v mezinárodních jednotkách – celkem 84 pracoviště) v okružních vzorcích.

KFR – titr	A	B	C	D	E
0	72,73%	81,82%			
4	18,18%	18,18%			
8			16,67%		
16			16,67%		
20	9,09%		8,33%		
32				8,33%	
40			16,67%	8,33%	
64			41,67%	33,33%	
80				8,33%	
128				25%	16,67%
160				8,33%	
256				8,33%	8,33%
320					8,33%
512					33,33%
640					16,67%
1024					16,67%
IgG-IU/ml					
Minimum	0	0	0,2	39,4	94
Medián	1,02	0,85	28,5	94,6	231
Průměr	1,64	1,64	44,93	133,23	277,95
Maximum	6	6	164,5	523	1667

Vzorek E se vyznačoval vcelku vysokými titry celkových protilátek i obsahem antitoxoplasmických IgG, průkaznými hladinami IgA i IgM a také hladinou IgE, byť i ne příliš vysokou. Naprostá většina laboratoří zde uvádí správné interpretace I („A, „PA“) i II („K“): „Zde se jedná o poměrně nízkou hladinu IgM při vysoké hladině IgG. To odpovídá zcela nedávné či doznívající spíše než probíhající akutní infekci, při nejasně definovaných klinických příznacích u daného pacienta ale upřednostněna interpretace A a K. Mezi akutní a nedávnou infekcí by opět rozhodlo stanovení avidity IgG.“ „Nelze zcela vyloučit postakutní fázi infekce.“

Tab. 3: Kvalitativní výsledky stanovení markerů toxoplasmové infekce ve vzorcích EHK 1423. „N“ udává počet laboratoří, které daný marker vyšetřují a výsledky do protokolu uvedly.

Marker	Výsledky	A	B	C	D	E
CELKOVÉ PROTILÁTKY N=12	Negativní	100%	100%			
	Hraniční					
	Positivní			100%	100%	100%
IgG N=97	Negativní	100%	100%	1,03%		
	Hraniční					
	Positivní			98,97%	100%	100%
IgM N=97	Negativní	100%	100%	84,54%	26,8%	
	Hraniční			7,22%	25,77%	
	Positivní			8,25%	47,42%	100%
IgA N=64	Negativní	100%	100%	96,83%	78,12%	
	Hraniční			3,17%	3,12%	
	Positivní				18,75%	100%
IgE N=38	Negativní	100%	100%	97,22%	100%	10,53%
	Hraniční					44,74%
	Positivní			2,78%		44,74%

Tab. 4: Interpretace I a II, které udávají zúčastněné laboratoře (N=97) u jednotlivých vzorků EHK 1423.

		A	B	C	D	E
INTERPRETACE I	N	100%	100%	1,03%		
	S			90,72%	35,05%	
	A				13,4%	85,57%
	PA			8,25%	51,55%	14,43%
INTERPRETACE II	N	100%	100%	1,03%		
	K			6,19%	54,17%	100%
	L			92,78%	45,83%	
	G+					
	G-					
	O+					
	O-					

Kvalitativní výsledky stanovení avidity IgG ukazuje tabulka 5. Je z ní vidět, že zatímco u „neakutních“ vzorků a D naprosto převažuje vysoká nebo alespoň hraniční avidita, u „potenciálně akutního“ vzorku E

jsou výsledky rozděleny mezi všechny tři alternativy. Tyto výsledky vyšetření směsných vzorků mají určitou výpovědní hodnotu, ale variabilita výsledků různých laboratoří užívajících různé soupravy je příliš velká.

Laboratoře s politováním konstatují, že spoléhat na aviditu IgG při interpretaci výsledků vzorků EHK může být ošidné.

Kupodivu se stále najdou laboratoře, které stanovují a hlásí aviditu antitoxoplasmických IgG i u (negativních) vzorků, které IgG neobsahují. Ale naštěstí jich není mnoho.

Tab. 5: Hlášená avidita IgG. Aviditu u jednotlivých vzorků stanovovalo 53 laboratoří zúčastněných v EHK 1423.

Vzorek	Avidita IgG		
	Nízká	Hraniční	Vysoká
A			100%
B			100%
C	2,13%	6,38%	91,49%
D	5,66%	15,09%	79,25%
E	35,85%	32,08%	32,08%

Přehled používaných sérologických testů:

Pokles počtu laboratoří, které stanovují **celkové antitoxoplasmické protilátky**, nadále pokračuje, v tomto kole to bylo jen 24 (24,7%) pracovišť. Z důvodu zavádění IVDR byla zrušena výroba souprav KFR firmou TestLine Clinical Diagnostics s.r.o. a posléze i VIRION/SERION bohužel nezbývá mnoho vhodných prostředků, kterými by se mohly celkové protilátky vyšetřovat.

Laboratoře, které stále celkové protilátky stanovují, k tomuto účelu používají nejčastěji KFR (50%), dále potom NIFR (37,5%) a latexovou aglutinaci (12,5%).

IgG stanovují všechna pracoviště, a to pomocí celkem 15 systémů: Abbott (22,68%), TEST-Line (19,59%), Diasorin (14,43%), Diasorin - Liaison (11,34%), Diesse (7,22%), Euroimmun (5,15%), Roche (5,15%) Access (4,12%) Cobas (4,12%), Biorad (2,06%) a dalších.

Testy na **IgM** používají rovněž všechna pracoviště (12 systémů): Liaison-Diasorin (25,77%), Abbott (22,68%), TEST-Line (19,59%), Diesse (7,22%), Roche (5,15%), Euroimmun (5,15%), Access (4,12%), Cobas (4,12%) a Biorad (2,06%) a atd....

IgA stanovuje 65 (67,01%) pracovišť celkem 5 systémy, z nichž nejpoužívanější jsou TEST-Line (69,23%), Diesse (13,85%), Euroimmun (10,77%), Chorus Line (3,08%) a NOVATEC (3,08%).

IgE stanovuje (39,17%) pracovišť.

Další testy využívají 1 nebo 2 laboratoře.

6. Závěr

PT#M/4-2/2024 (EHK 1423) Sérologie toxoplasmózy se zúčastnilo 99 laboratoří, výsledky nedodaly 2 laboratoře. Uspělo 96 laboratoří, neuspěla 1 laboratoř. Parametry úspěšnosti a výsledky ohodnocení shrnuje Tab. 6. Vzorky EHK 1423 byly bezproblémové s výjimkou kontroverzního vzorku D, kde se objevovaly hraniční nebo i nízké pozitivní hladiny IgM a interpretace tak byla nejednoznačná. I s tím si však účastníci EHK poradili a prokázali, že diagnostika akutní toxoplasmózy nečiní většinu diagnostických

laboratoří žádné potíže. Díky tomu nadpoloviční většina všech laboratoří dostala „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.

Tab. 6: Frekvence bodových ohodnocení a parametry úspěšnosti laboratoří v EHK 1423

	Laboratoří	
	Počet	%
36	1	1,03%
NEUSPĚLO	1	1,03%
39	6	6,19
40	1	1,03
42	1	1,03
44	4	4,12
45	3	3,09
46	2	2,06
47	14	14,43
48	2	2,06
49	1	1,03
50	39	40,21
52	1	1,03
54	2	2,06
57	4	4,12
58	3	3,09
60	13	13,4
USPĚLO	96	98,95%
CELKEM	97	100 %

HRANICE ÚSPĚŠNOSTI: 38,4 BODU
PRŮMĚR: 50,0 BODU
SMĚRODATNÁ ODCHYLKA: 5,8

EHK **Sérologie toxoplasmózy** pro rok 2024 úspěšně splnily ty laboratoře, které se zúčastnily obou letošních kol a získaly dohromady alespoň 79 bodů (**hranice úspěšnosti: 78,5 bodu; průměr: 99,5 bodu; směrodatná odchylna: 10,5 bodu**), což splnilo 95 z 97 účastníků EHK 1383+1423. 2 laboratoře skončily pod limitem, navíc jedna se účastnila jen jarního kola. Z 97 laboratoří, které splnily podmínku účasti v obou kolech, dosáhlo maximálně možných 120 bodů 6,9 % a skóre 100 bodů 22,7 % laboratoří. Naopak získá 92 a méně bodů řadí laboratoř do poslední pětiny a 85 a méně bodů do poslední desetiny.

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamace použijte také webovou aplikaci SZÚ.

Konec závěrečné zprávy