



Státní zdravotní ústav  
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti  
Poskytovatel zkoušení způsobilosti akreditovaný ČIA  
podle ČSN EN ISO/IEC 17043, reg. č. 7001  
Šrobárova 48, 100 42 Praha 10 – Vinohrady



# **Závěrečná zpráva**

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii  
(Externí hodnocení kvality)

**PT#M/4-2/2016 (č. 943)**

**Sérologie toxoplazmózy**

**Praha, prosinec 2016**

## Obsah

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

Program zkoušení způsobilosti PT#M/4/2016 je zaměřen na sérologii toxoplazmózy. Návrh a realizace PT#M/4/2016 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 programů zkoušení způsobilosti č. 7001.

S veškerými informacemi dodanými účastníky je zacházeno jako s důvěrnými a nejsou bez souhlasu účastníka poskytovány třetím stranám.

Nedílnou součástí závěrečné zprávy je výsledkový protokol jednotlivé laboratoře.

**Koordinátor:**

RNDr. Petr Kodym, CSc.

Tel: 267 082 105

**Zprávu vypracoval:**

RNDr. Petr Kodym, CSc.

**Zprávu schválil:** RNDr. Petr Kodym, CSc.**Dne:** 22.12.2016**Pracoviště 2 ESPT (AP CEM - Akreditační pracoviště Centra epidemiologie a mikrobiologie):**

www.szu.cz/espt

email: [apcem@szu.cz](mailto:apcem@szu.cz)

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/4-2/2016 - EHK 943**

Identifikace kola/cyklu:	PT # M/4-2/2016,EHK 943
Název:	Sérologie toxoplasmózy
Poskytovatel:	SZÚ – Centrum epidemiologie a mikrobiologie – ESPT Šrobárova 48, Praha 10, 100 42
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:	50 ml od každého vzorku
Označení vzorkovnic:	ESPT SZÚ PT # M/4-2/2016 Sérologie toxoplasmózy
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:	21.9. - 16.10. 2016
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Distribuce v předepsaném obalu. Uchování vzorků v chladničce při teplotě 2 - 8 °C.
Počet účastníků:	99
Způsob distribuce:	Zasílání kurýrní službou účastnickým laboratořím v AP určeném termínu.
Předání výsledků:	Doporučeným dopisem, písemně na předepsaných formulářích
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 laboratoří se odečtou 2 směrodatné odchyly.
Určení směrodatné odchyly:	Z hodnot bodového ohodnocení jednotlivých účastníků
Určení přijaté vztahné hodnoty:	Výsledky NRL
Termín semináře, rozeslání zprávy účastníkům:	prosinec 2016

## 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  $8^{\circ}\text{C}$ .

Séra pacientů, vyšetřovaných v NRL TOXO, byla skladována v mrazicím 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 lahvíček se šroubovacím uzávěrem a předán k rozeslání.

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

Vzorek EHK 943	KFR titr	IgG IP	IgA IP	IgM IP	IgE IP
A	1:8 Positivní	1,68 Positivní	0,16 Negativní	0,53 Negativní	0,12 Negativní
B	1:8 Positivní	2,58 Positivní	0,24 Negativní	0,44 Negativní	0,33 Negativní
C	1:64 Positivní	5,79 Positivní	0,30 Negativní	0,80 Negativní	0,18 Negativní
D	1:256 Positivní	5,70 Positivní	0,46 Negativní	1,97 Positivní	0,42 Negativní
E	1:512 Positivní	6,16 Positivní	1,02 Hraniční	3,52 Positivní	0,86 Negativní

### Vzorky byly rozeslány s tímto komentářem:

V malé obci byly na přelomu let 2015/2016 hlášeny tři případy akutní toxoplazmózy u žen, z nichž jedna byla gravidní. Při šetření v ohnisku a sledování kontaktů bylo vytipováno pět mužů ve věku 16-48 let, žijících v jejich blízkém sousedství. Když se tito muži na internetu seznámili s nejnovějšími výsledky vědeckých studií o sexuálním přenosu toxoplazmózy a o všech možných projevech a následcích této infekce, „v obavách z neblahých souvislostí“, požádali o vyšetření. Materiál posílá praktický lékař, dg. B58.9.

## 3. Vyhodnocení

Vzorky byly rozeslány celkem 99 laboratořím, k vyhodnocení v Národní referenční laboratoři pro toxoplazmózu (NRL TOXO) se vrátilo 99 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 42,5 % zúčastněných laboratoří. Pod oficiální hranici úspěšnosti v EHK 943, stanovenou odečtením dvojnásobku směrodatné odchylky od průměru bodového ohodnocení, se dostaly 2 (2 %) laboratoře (viz tabulka 1).

**Certifikát o úspěšné účasti** v EHK sérologie toxoplazmózy v roce 2016 dostanou ty laboratoře, které se zúčastnily obou letošních kol a získaly dohromady alespoň 79,4 bodu. Z 99 účastníků obou kol se pod bodový limit dostaly pouze 3 laboratoře se 77, 74 a 72 body. Maximálně možných 120 bodů dosáhlo 20,2 % a skóre 100 bodů 9,1% laboratoří. Maximální počet utekl 1 laboratoři o 1 bod a 6 o 2 body. Ke kvalifikaci do první čtvrtiny bylo třeba získat alespoň 118 bodů, do první poloviny 107 bodů. Celoroční zisk 95 bodů a méně odsunul účastníka do poslední čtvrtiny. **Celoroční výsledky jsou na bodovacím formuláři dopsány (červeně) pouze u laboratoří, které nesplnily limit.**

**Tab. 1:** Frekvence bodových ohodnocení laboratoří, které se zúčastnily EHK 943

Bodů	Laboratoří	
	Počet	%
<b>31</b>	1	1,0 %
<b>36</b>	1	1,0 %
<b>39</b>	2	2,0 %
<b>42</b>	6	6,1 %
<b>43</b>	2	2,0 %
<b>44</b>	2	2,0 %
<b>45</b>	3	3,1 %
<b>46</b>	1	1,0 %
<b>47</b>	12	12,1 %
<b>48</b>	2	2,0 %
<b>49</b>	2	2,0 %
<b>50</b>	17	17,1 %
<b>51</b>	1	1,0 %
<b>52</b>	2	2,0 %
<b>53</b>	5	5,1 %
<b>54</b>	1	1,0 %
<b>55</b>	1	1,0 %
<b>56</b>	3	3,0 %
<b>57</b>	1	1,0 %
<b>58</b>	8	8,0 %
<b>59</b>	1	1,0 %
<b>60</b>	25	25,2 %
<b>CELKEM</b>	99	100 %

**HRANICE ÚSPĚŠNOSTI: 38,3 BODU**  
**PRŮMĚR: 51,9 BODU**  
**SMĚRODATNÁ ODCHYLKA: 6,8**

Výsledky, které laboratoře uvádějí, jsou shrnuty v tabulkách 2-4; správné interpretace a komentáře k jednotlivým vzorkům uvádíme v následujícím textu.

**Vzorky A a B** obsahovaly antitoxoplasmické protilátky třídy IgG (interpretace I = „S“), což svědčí o latentní toxoplazmóze. Případné klinické příznaky pacienta s toxoplazmózou nesouvisejí (interpretace II = „L“).

**Vzorek C** byl ze všech nejproblematictější. Jak z pohledu obsahu antitoxoplasmických protilátek tak i interpretací sice patří do stejné kategorie, oproti vzorkům A a B vykazuje ale výrazně vyšší titr antitoxoplasmických protilátek a vyšší hladinu IgG. Nezanedbatelné části zúčastněných laboratoří však kromě toho vyšly testy na IgM hraniční nebo dokonce pozitivní (Tabulka 3). Pouze 3

laboratoře se výsledkem IgM nechaly zmást natolik, že zařadily vzorek do kategorie „akutní toxoplazmóza“, možnou souvislost s klinickými projevy toxoplazmózy zde předpokládalo 17 laboratoří. Ostatní laboratoře uvedly správné nebo víceméně přijatelné interpretace (Tabulka 4).

**Tab. 2:** Titry KFR, které udávají zúčastněné laboratoře (celkem: 41 pracoviště), u jednotlivých vzorků EHK 943 a kvalitativní výsledky stanovení IgG (v mezinárodních jednotkách - celkem: 48 pracovišť) zjištěné v okružních vzorcích.

KFR-titr	A	B	C	D	E
0	2,44 %	2,44 %			
4	4,88 %	7,32 %			
8	24,40 %	70,76 %			
16	43,92 %	17,08 %	2,44 %	2,44 %	
32	19,52 %	2,44 %	7,32 %		2,44 %
64	2,44 %		65,88 %	26,84 %	7,32 %
128			24,40 %	63,44 %	43,92 %
256				7,32 %	43,92 %
512	2,44 %				2,44 %
IgG-IU/ml					
Minimum	0	7	30,7	47	1
Medián	11	25	201	162	163
Průměr	18	35	221	186	206
Maximum	103	188	1701	1131	1215

**Vzorek D** obsahoval vyšší titry celkových antitoxoplasmických protilátek v ne příliš vysokém titru a vedle IgG zde bylo možno zjistit sice pozitivní, ale nikterak příliš vysoké hodnoty IgM. Jedná se o postakutní (interpretace I = „PA“) toxoplazmózu, která se zpravidla již klinicky neprojevuje (Interpretace II = „L“). Výsledné hodnoty mohly být také interpretovány jako anamnestické protilátky s nízkou zbytkovou hladinou antitoxoplasmických IgM a tak byla za víceméně přijatelnou považována i interpretace I = „S“.

Při hodnocení bylo bráno v úvahu, že přítomnost antitoxoplasmických IgM činí výsledek ne zcela jednoznačným a může nabádat k určité opatrnosti. To bylo možné vyjádřit ve slovním komentáři. Proto byla uznána i Interpretace II = „K“ a případně i interpretace I = „A“.

**Vzorek E** s vysokým titrem celkových antitoxoplasmických protilátek a s jednoznačně pozitivními hladinami IgM, IgA a někde i IgE reprezentoval akutní toxoplazmózu (interpretace I = „A“; případně i „PA“). S akutní toxoplazmózou se pojí i klinické příznaky (interpretace II = „K“), takže je zde důvod k opatrnosti a interpretace I = „S“ a interpretace II = „L“ nezbývá než brát jako nesprávné.

Pokud laboratoře stanovovaly aviditu IgG, byla vesměs vysoká.

**Toto kolo EHK**, jelikož zahrnovalo nejednoznačný vzorek C a ne zcela nesporný vzorek D, **bylo problematictější než obvykle**. Při hodnocení byly tyto kontroverze brány v úvahu, při nesprávné interpretaci byly hledány polehčující okolnosti jako třeba slovní komentáře. Byly akceptovány i další interpretace, které mají stejný nebo podobný význam, za nepřesné interpretace se body strhávaly jen symbolicky. A tak je paradoxně laboratoří s „bezchybnými“ 50/60 body více

než ve vcelku bezproblémovém loňském podzimním kole. Nižší průměrné ohodnocení a větší směrodatná odchylka snížila hranici úspěšnosti, takže limit nesplnily jen 2 laboratoře.

**Tab. 3:** Kvalitativní výsledky stanovení markerů toxoplasmové infekce ve vzorcích EHK 943.

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

Marker	Výsledky	A	B	C	D	E
<b>CELKOVÉ PROTILÁTKY N=52</b>	Negativní	5,9 %	3,9 %			
	Hraniční	1,9 %	3,9 %			
	Positivní	92,3 %	92,3 %	100 %	100 %	100 %
<b>IgG N=99</b>	Negativní	5,1 %				1,0 %
	Hraniční	6,1 %				
	Positivní	88,9 %	100 %	100 %	100 %	99,0 %
<b>IgM N=99</b>	Negativní	99,0 %	100 %	62,6 %	10,1 %	2,0 %
	Hraniční	1,0 %		21,2 %	12,1 %	2,0 %
	Positivní			16,2 %	77,8 %	96,0 %
<b>IgA N=66</b>	Negativní	97,0 %	100 %	94,0 %	91,0 %	44,8 %
	Hraniční			4,5 %	4,5 %	31,3 %
	Positivní	3,0 %		1,5 %	4,5 %	23,9 %
<b>IgE N=42</b>	Negativní	100 %	100 %	100 %	100 %	73,8 %
	Hraniční					19,1 %
	Positivní					7,1 %

**Tab. 4:** Interpretace I a II, které udávají zúčastněné laboratoře (N=97) u jednotlivých vzorků EHK 943.

		A	B	C	D	E
<b>INTERPRETACE I</b>	<b>N</b>	6,1 %				
	<b>S</b>	92,9 %	100 %	65,7 %	19,0 %	4,0 %
	<b>A</b>			3,0 %	15,2 %	53,5 %
	<b>PA</b>	1,0 %		31,3 %	65,7 %	42,4 %
<b>INTERPRETACE II</b>	<b>N</b>	6,1 %	1,0 %			
	<b>K</b>	1,0 %		17,2 %	43,3 %	78,4 %
	<b>L</b>	92,9 %	99,0 %	82,8 %	56,7 %	21,7 %
	<b>G+</b>					
	<b>G-</b>					
	<b>O+</b>					
	<b>O-</b>					

Hlavní potíží byla se vzorkem C. Citlivější metody zde zachytily jistou hladinu antitoxoplasmických IgM, méně citlivé testy nikoliv. Bez ohledu na to však v interpretacích dospěly laboratoře ve většině případů ke správnému závěru. Významnou náповědou pro laboratoře, které je stanovují, byly titry celkových protilátek. U vzorku D byla situace obdobná, byť i výrazně jednodušší. Vyšetřování a interpretace výsledků ostatních vzorků se obešly bez problémů.

A ještě **komentář ke komentáři ke vzorkům**: „Poněkud "divoká" konstrukce celého případu, prof. Flégr by měl radost. Zatím jsou informace o pohlavním přenosu potvrzené u zvířat, u lidí *T.gondii* bylo nalezeno v ejakulátu několika imunokompromitovaných osob. Bylo by potřeba znát KDO, S KYM, KDY a pod. - věkové rozpětí může představovat i různou sexuální aktivitu = s tím by asi souviselo i to, kdo vyšetřoval a vytypoval oněch 5 mužů. Přestože účast mužů na onemocnění oněch žen nelze zcela vyloučit (ani potvrdit), domníváme se, že hlavní faktor bude ona malá obec = kočky (a koťata!), chov domácích zvířat na maso, zabijačky, ..... Označení L v interpretaci II. = muži se ani v akutním stádiu toxoplazmózy pravděpodobně necítili být nemocní.“

Zajímavou a skoro oprávněnou námitku vznesla jedna laboratoř proti interpretaci K u vzorku E: „Interpretace II není možná, nejsou uvedeny klinické příznaky“. Není ale ani uvedeno, že pacienti žádné nemají. Cílem vyšetření je zjistit, jestli by toxoplazmóza v dané fázi potenciálně mohla mít nějaký vliv na kliniku pacienta. A tak odpověď NRL byla: „Laboratoř neuvedení interpretace II u vzorků D a E vysvětlila slovním komentářem. Příště ale už takovéto vysvětlení (které má sice nepopíratelnou logiku a vtip, ale EHK takto neplní svůj účel) nebude uznáno.“

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

V tomto kole 52 (53,1 %) laboratoří stanovuje **celkové antitoxoplasmické protilátky**; z nichž 78,9 % uvádí, že k tomuto účelu používají KFR, 11,5 % NIFR, 7,7 % latexovou aglutinaci a 1,9 % jiný test.

**IgG** stanovují všechna pracoviště, a to s pomocí celkem 16 systémů: TEST-Line (31,6 %), Diasorin (7,1 %)+Liaison (14,3 %), Abbott (17,4 %), Siemens (5,1 %), Platelia Biorad, Access a Roche (4,1%), a dalších.

Testy na **IgM** používají rovněž všechna pracoviště (14 systémů): TEST-Line (31,6 %), Liaison (21,4 %), Abbott (17,4 %), Siemens (5,1 %), Biorad, Access a Roche (4,1%), a dalších.

**IgA** stanovuje 66 (67,3%) pracovišť celkem 9 systémy, z nichž nejpoužívanější jsou TEST-Line (77,3 %), Euroimmun a DIESSE (4,6 %), zbývající používají vždy jen 1-2 laboratoře.

**IgE** stanovuje 42,9 % pracovišť.

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