



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel programů 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/4-2/2017 (č. 988)
Sérologie toxoplazmózy

Praha, leden 2018

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/4/2017 je zaměřen na sérologii toxoplazmózy. Návrh a realizace PT#M/4/2017 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:** 22.12.2017**Pracoviště 2 ESPT (AP CEM - Akreditační pracoviště Centra epidemiologie a mikrobiologie):**

www.szu.cz/espt

email: apcem@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/4-2/2017 - EHK 988

| | |
|---|---|
| Identifikace kola/cyklu: | PT # M/4-2/2017,EHK 988 |
| 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/4-2/2017 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: | 19.9. - 3.10. 2017 |
| 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 odchylky. |
| Určení směrodatné odchylky: | Z hodnot bodového ohodnocení jednotlivých účastníků |
| Určení přijaté vztažené hodnoty: | Výsledky NRL |
| Termín semináře, rozeslání zprávy účastníkům: | prosinec 2017 |

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 988 | KFR Titr | IgG IP | IgA IP | IgM IP | IgE IP |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| A | Negativní | 0,1 Negativní | 0,05 Negativní | 0,05 Negativní | 0,05 Negativní |
| B | Negativní | 0,05 Negativní | 0,05 Negativní | 0,1 Negativní | 0,03 Negativní |
| C | Negativní | 0,1 Negativní | 0,05 Negativní | 0,15 Negativní | 0,18 Negativní |
| D | 1:8 Positivní | 1,8 Positivní | 0,05 Negativní | 0,2 Negativní | 0,1 Negativní |
| E | 1:64 Positivní | 5,3 Positivní | 0,1 Negativní | 0,5 Negativní | 0,3 Negativní |

Vzorky byly rozeslány s tímto komentářem:

Vzorky pocházejí od mužů ve věku 15-28 let, obyvatel malé osady, kteří si stěžují na poruchy zraku (rozplývající se vidění, fotofobie...). Oční lékař požaduje sérologické vyšetření na toxoplazmózu (dg. H30.0.).

3. Vyhodnocení

Vzorky byly rozeslány celkem 99 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 57,1 % zúčastněných laboratoří. Pod oficiální hranici úspěšnosti v EHK 988, stanovenou odečtením dvojnásobku směrodatné odchylky od průměru bodového ohodnocení, se dostala 1 (1,02 %) laboratoř (viz tabulka 1).

Tab. 1: Frekvence bodových ohodnocení laboratoří, které se zúčastnily EHK 988

HRANICE ÚSPĚŠNOSTI: 38,8 BODU
PRŮMĚR: 52,8 BODU
SMĚRODATNÁ ODCHYLKA: 7

| Bodů | Laboratoří | |
|---------------|------------|--------|
| | Počet | % |
| 36 | 1 | 1,02 % |
| 39 | 1 | 1,02 % |
| 40 | 1 | 1,02 % |
| 41 | 4 | 4,08% |
| 42 | 1 | 1,02% |
| 43 | 4 | 4,08% |
| 44 | 5 | 5,1% |
| 45 | 2 | 2,04% |
| 46 | 3 | 3,06% |
| 47 | 6 | 6,12% |
| 50 | 18 | 18,37% |
| 51 | 1 | 1,02 % |
| 53 | 2 | 2,04% |
| 54 | 2 | 2,04% |
| 55 | 4 | 4,08% |
| 56 | 1 | 1,02% |
| 57 | 4 | 4,08% |
| 60 | 38 | 38,78% |
| CELKEM | 98 | 100 % |

Certifikát o úspěšné účasti v EHK sérologie toxoplazmózy v roce 2017 dostanou ty laboratoře, které se zúčastnily obou letošních kol a získaly dohromady alespoň 81,7 bodu, což je všech 98 účastníků EHK 988. Maximálně možných 120 bodů dosáhlo 30,6 % a skóre 100 bodů 11,2 % laboratoří. Maximální počet utekl 1 laboratoři o 1 bod. Naopak získá méně než 100 bodů řadí laboratoř do poslední třetiny a 95 bodů a méně do poslední čtvrtiny. Ohodnocení v intervalu 85-90 bodů znamená, že se laboratoř propadla do poslední osminy. **Celoroční výsledky jsou na bodovacím formuláři dopsány (červeně) pod ohodnocením v EHK 988.**

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

Vzorky A, B a C jsou sérologicky negativní – nebyly v nich zjištěny celkové antitoxoplasmické protilátky ani specifické IgG (viz tab. 2), ani IgM, IgA, či IgE (tab. 3), které by svědčily o infekci *Toxoplasma gondii*, (interpretace I = "N"). Toxoplasmová etiologie změn zjištěných u příslušných pacientů na očním pozadí je tudíž velmi málo pravděpodobná (interpretace II = „O-“-(tab. 4).

Vzorek D je sérologicky pozitivní – byly zde zjištěny nízké titry celkových antitoxoplasmických protilátek jakož i nevysoké hladiny specifických IgG (viz tab. 2), zatímco specifické IgM, IgA ani IgE (tab. 3) nebyly prokázány. Séropositivita svědčí o infekci *Toxoplasma gondii* (interpretace I = "S") ukazuje, že změny zjištěné na očním pozadí pacienta mohou mít toxoplasmovou etiologii (interpretace II = „O+“-(tab. 4). Nejedná se však o nezvratný důkaz, vzhledem k všeobecně vysoké seroprevalenci toxoplazmózy je rozhodující oftalmologický nález.

Vzorek E je co do kvalitativních sérologických parametrů shodný se vzorkem D, rovněž interpretace I i II jsou u obou vzorků stejné. Rozdíl je čistě kvantitativní – titry celkových protilátek i hladiny antitoxoplasmických IgG jsou u vzorku E výrazně vyšší. Tyto vyšší hodnoty, obzvláště pokud navíc při použití vysoce citlivých metod vyšly hraniční či dokonce níže pozitivní IgM, sváděly k interpretaci I „PA“ (postakutní toxoplazmóza). Ta nakonec nebyla při hodnocení považována za nesprávnou.

Pokud laboratoře stanovovaly u obou séropozitivních vzorků aviditu IgG, byla vesměs vysoká.

Tab. 2: Titry KFR, které udávají zúčastněné laboratoře (celkem: 39 pracovišť), u jednotlivých vzorků EHK 988 a kvalitativní výsledky stanovení IgG (v mezinárodních jednotkách - celkem: 79 pracovišť) zjištěné v okružních vzorcích.

| KFR-titr | A | B | C | D | E |
|-----------|--------|---------|--------|--------|--------|
| 0 | 94,87% | 79,49 % | 94,87% | 5,00% | |
| 4 | 5,13% | 15,38 % | 5,13% | 7,50% | |
| 8 | | 5,13% | | 80,00% | |
| 16 | | | | 7,50% | |
| 32 | | | | | 5,00% |
| 64 | | | | | 50,00% |
| 128 | | | | | 37,50% |
| 256 | | | | | 7,50% |
| 512 | | | | | |
| IgG-IU/ml | | | | | |
| Minimum | 0 | 0 | 0 | 1,04 | 0,75 |
| Medián | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 14,8 | 127,5 |
| Průměr | 1,28 | 1,29 | 1,26 | 23,83 | 154,63 |
| Maximum | 11 | 13 | 9 | 122,1 | 592,6 |

Toto kolo EHK bylo téměř bezproblémové. Díky kontinuálnímu rozložení bodového ohodnocení laboratoří vybočovala při statistickém vyhodnocení od průměrné hodnoty o více než 2 směrodatné odchylky jen jedna laboratoř; při celoročním vyhodnocení obou kol ze stejného důvodu formálně uspěly dokonce všechny laboratoře. Ve kvalitativních výsledcích sérologických testů bylo minimum chyb. Trochu problematičtější, vzhledem k výsledkům testů na IgM, byl snad jen vzorek E (viz výše), ojedinělé chyby u ostatních vzorků lze považovat spíše za úlety.

Tab. 3: Kvalitativní výsledky stanovení markerů toxoplasmové infekce ve vzorcích EHK 988.
„N“ udává počet laboratoří, které daný marker vyšetřují a výsledky do protokolu uvedly.

| Marker | Výsledky | A | B | C | D | E |
|--|-----------|-------|--------|-------|-------|--------|
| CELKOVÉ PROTILÁTKY N=50 | Negativní | 100% | 92,2 % | 100 % | 7,7% | |
| | Hraniční | | 3,9 % | | 7,7% | |
| | Positivní | | 3,9% | | 84,6% | 100 % |
| IgG N=98 | Negativní | 100% | 100 % | 100 % | | 1,0 % |
| | Hraniční | | | | | |
| | Positivní | | | | 100% | 99,0 % |
| IgM N=98 | Negativní | 97,9% | 100 % | 100% | 100% | 86,8% |
| | Hraniční | | | | | 6,1% |
| | Positivní | 2,1% | | | | 7,1% |
| IgA N=70 | Negativní | 100% | 100 % | 100% | 100% | 94,3% |
| | Hraniční | | | | | 5,7% |
| | Positivní | | | | | |
| IgE N=40 | Negativní | 100 % | 100 % | 100 % | 100 % | 100% |
| | Hraniční | | | | | |
| | Positivní | | | | | |

Tab. 4: Interpretace I a II, které udávají zúčastněné laboratoře (N=98) u jednotlivých vzorků EHK 988.

| | | A | B | C | D | E |
|------------------------|-----------|--------|--------|--------|-------|-------|
| INTERPRETACE I | N | 99,0% | 100% | 100% | | |
| | S | | | | 100% | 86,7% |
| | A | 1,0 % | | | | 1,0% |
| | PA | | | | | 12,3% |
| INTERPRETACE II | N | 27,8% | 28,6% | 28,6% | 1,0% | 1,0% |
| | K | | | | 2,0% | 2,0% |
| | L | | | | 7,1% | 8,2% |
| | G+ | | | | | |
| | G- | | | | | |
| | O+ | | | | 74,5% | 83,7% |
| | O- | 72,16% | 71,4 % | 71,4 % | 15,3% | 5,1% |

Nejčastější chyby byly v interpretacích. Ani ne tak v „sérologické“ Interpretaci I. Pochybnosti ohledně vzorku E řešily laboratoře i slovním komentářem: „U vzorku č1 na našem měřícím systému vychází hraniční pozitivita IgM protilátek, z tohoto důvodu by mi připadalo vhodné

u interpretace I zvažoval i variantu PA. Vzhledem k tomu, že IgG jsou sice vyšší, ale ne až tolik a vzhledem ke zkušenostem z předchozích cyklů, kdy naše hraniční hodnota ve třídě IgM je zpravidla u jiných systémů negativní, přistupuji k hodnocení způsobem "poučen z nezdaru" a dávám hodnocení S. Ostatně myslím, že není závažnou chybou formulaci "antitoxoplasmické protilátky přetrvávající po toxoplasmóze prodělané před delším časem" aplikovat i na variantu infekce proběhlé eventuelně již před několika měsíci."

Častější jsou potíže s „klinickou“ Interpretací II. Vyloženě nesprávné, tedy hlásající možnou souvislost mezi klinickými potížemi pacienta a toxoplazmózou tehdy, když není, anebo naopak (v daném případě např. při prohození O- a O+), byly tyto interpretace vcelku málokdy. Některé laboratoře však neberou v úvahu, že se jedná o vyšetření pacienta s podezřením na oční toxoplazmózu a namísto O+/O- uvádějí interpretace jiné, například K/L. Ty však mohou v dané souvislosti dostat zavádějící smysl. Například interpretace „L“ skutečně odpovídá latentní toxoplasmóze - anamnestickým protilátkám přetrvávajícím po prodělané infekci a vylučuje akutní toxoplazmózu, takže z ní lze vyvodit, že pacient není v ohrožení. Jenže při vyšetřování na oční toxoplazmózu může tento typ protilátkové odpovědi svědčit pro to, že pacient toxoplazmózou skutečně trpí a uklidňující podtext latentní infekce zde na místě rozhodně není. I při vědomí toho, že výsledek sérologického vyšetření má pro konečnou diagnózu oční formy toxoplazmózy jen podpůrný význam, měla by laboratoř dokázat své výsledky v rámci možností jasně interpretovat. Ale jak je vidět i z výsledků EHK 988, naprostá většina laboratoří si i s tímto diagnostickým oříškem dokáže poradit.

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

V tomto kole 50 (51 %) laboratoří stanovuje **celkové antitoxoplasmické protilátky**; z nichž 70 % uvádí, že k tomuto účelu používají KFR, 10 % NIFR, 6 % latexovou aglutinaci a 4 % jiný test.

IgG stanovují všechna pracoviště, a to s pomocí celkem 16 systémů: TEST-Line (33,7 %), Diasorin (13,3 %)+Liaison (7,1 %), Abbott (18,4 %), Access a Roche (4,1%), Platelia Biorad, Siemens a Novatec (3,1%) a dalších.

Testy na **IgM** používají rovněž všechna pracoviště (14 systémů): TEST-Line (31,6 %), Liaison (20,4 %), Abbott (18,4 %), Access a Roche (4,1%), Biorad, Novatec a Siemens (3,1 %) a další.

IgA stanovuje 70 (71,4%) pracovišť celkem 10 systémy, z nichž nejpoužívanější jsou TEST-Line (71,4 %), Diesse (5,7 %) a Euroimmun (4,3%); zbývající používají vždy jen 1-2 laboratoře.

IgE stanovuje 40,8 % pracovišť.

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