



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/4-1/2020 (č. 1112)**  
**Sérologie toxoplasmózy**

**Praha, květen 2020**

## Obsah

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

Program zkoušení způsobilosti PT#M/4/2020 je zaměřen na sérologii toxoplasmózy. Návrh a realizace PT#M/4/2020 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 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 rozesílána poštou.

**Koordinátor:**

RNDr. Petr Kodym, CSc.  
Tel: 267 082 105

**Zprávu vypracoval:**

RNDr. Petr Kodym, CSc.

**Zprávu schválil:** RNDr. Petr Kodym, CSc.

**Dne:** 29. 5. 2020

**Pracoviště ESPT 2**

[www.szu.cz/espt](http://www.szu.cz/espt)  
tel: 267 082 258

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/4-1/2020 - EHK 1112**

Identifikace kola/cyklu:	PT # M/4-1/2020,EHK 1112
Název:	Sérologie toxoplasmózy
Poskytovatel:	SZÚ – ESPT Šrobárova 49/48, Praha 10, 100 00
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:	60 ml od každého vzorku
Označení vzorkovnic:	EHK – 1112, PT # M/4-1, č. 1 – 5, 11. 2. 2020
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:	11. - 26. 2. 2020
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 určeném termínu.
Předání výsledků:	V elektronické podobě přes webové rozhraní SZÚ
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 zveřejnění závěrečné zprávy:	Do 12 týdnů po obdržení výsledků k hodnocení

## 2. Příprava vzorků

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků bylo lidské sérum nebo plasma. Výchozí materiál byl dlouhodobě uskladněn při teplotě  $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  a před použitím rozmražen a skladován při teplotě 2 až  $8^{\circ}\text{C}$ .

Vzorky séra či plasmy 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 1112	KFR Titř	IgG IP	IgA IP	IgM IP	IgE IP
A	1:64 Positivní	2,8 Positivní	0,2 Negativní	0,6 Negativní	0,1 Negativní
B	1:64 Positivní	2,7 Positivní	0,4 Negativní	1,8 Positivní	0,4 Negativní
C	1:128 Positivní	2,9 Positivní	0,5 Negativní	2,5 Positivní	0,5 Negativní
D	1:1024 Positivní	3 Positivní	2,3 Positivní	3,7 Positivní	1,8 Positivní
E	1:1024 Positivní	3,2 Positivní	2,2 Positivní	3,2 Positivní	1,4 Positivní

Byly rozeslány s tímto komentářem:

**Vzorky pocházejí od těhotných žen (9.-13. týden) ve věku 18-33 let, klientek gynekologické ambulance. Byly vybrány na základě výsledků screeningového vyšetření na toxoplasmózu, vyvolávajících podezření na primoinfekci v graviditě (dg. B58.9). Gynekolog proto žádá o konfirmační vyšetření.**

## 2. Vyhodnocení

Vzorky byly rozeslány celkem 100 laboratořím, výsledkové formuláře vyplnilo 99 pracovišť. Nahlášené výsledky byly porovnávány s výsledky ostatních laboratoř 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 přihlíženo ke slovním hodnocením napsaným do formuláře. Za 1 vzorek může být uděleno 0-12 bodů

EHK 1112 nebylo zcela bez potíží, přesto „bezchybných“ 60 nebo 50 bodů získaly téměř dvě třetiny zúčastněných laboratoř. Pod oficiální hranici úspěšnosti v EHK 1112, stanovenou odečtením dvojnásobku směrodatné odchylky od průměru bodového ohodnocení, se dostaly 2 (2 %) laboratoře a další tři unikly neúspěchu o 1,6 bodu (viz tabulka 1). Získání certifikátu o úspěšné účasti bude záviset na součtu bodového ohodnocení za obě letošní kola.

Výsledky, které laboratoře uvádějí, jsou shrnuty v tabulkách 2-4; správné interpretace a komentáře k jednotlivým vzorkům uvádíme v následujícím textu. „*Autentické slovní komentáře laboratoř jsou uvedeny v uvozovkách kurzívou.*“

**Tab. 1:** Frekvence bodových ohodnocení laboratoří, které se zúčastnily EHK 1112

Bodů	Laboratoří	
	Počet	%
38	1	1,01%
40	1	1,01%
NEUSPĚLO	2	2,02%
42	3	3,03%
44	4	4,04%
45	4	4,04%
46	7	7,07%
47	1	1,01%
48	5	5,05%
49	1	1,01%
50	21	21,21%
53	1	1,01%
54	1	1,01%
55	2	2,02%
56	4	4,04%
58	1	1,01%
60	42	42,42 %
USPĚLO	97	97,97 %
CELKEM	99	100 %

**HRANICE ÚSPĚŠNOSTI: 40,4 BODU**  
**PRŮMĚR: 53,4 BODU**  
**SMĚRODATNÁ ODCHYLKA: 6,5**

### **Komentáře k jednotlivým vzorkům:**

U **vzorku A** vycházely nevysoké titry celkových antitoxoplasmických protilátek a tomu úměrné hladiny IgG, testy na IgA, IgE i IgM byly negativní (interpretace I = „S“, viz Tab. 2 a 3). Nejedná se o primoinfekci v graviditě, těhotenství není toxoplasmózou ohroženo. „*Latentní nákaza v klidovém stádiu. Těhotenství není ohroženo. Žena je chráněna díky specifické imunitě*“ (interpretace II = G-). Interpretace i komentáře byly skoro stoprocentně bez problémů.

Sérologické výsledky **vzorků B a C** vycházely všem laboratořím vcelku shodně. Nepříliš vysoké titry celkových protilátek, středně vysoké hladiny antitoxoplasmických IgG, IgM jednoznačně pozitivní, nikoliv však vysoké, IgA i IgE negativní. Většina laboratoří se shodla i na tom, že interpretace I = „PA“: „*Pravdepodobne ide o postakútnu toxoplasmózu prekonanú pred začiatkom tehotenstva, protilátky IgM ešte nestačili poklesnúť, „Již nejsou přítomny IgA a IgE protilátky, susp. se tedy jedná o infekci prodělanou před více jak 6-ti měsíci*“. Více než dvoutřetinová většina uvedla, že interpretace II = „G-“: „*Vzhledem k nízkému stupni gravidity lze předpokládat, že nákaza proběhla před početím a těhotenství pravděpodobně není ohroženo.*“ Avšak nejedna laboratoř upozornila, že je „*nutno k hodnocení přistupovat obezřetně. Jsou přítomny IgM protilátky, kdy nelze s jistotou vyloučit nespecifickou reaktivitu v těhotenství. - vzhledem k pozitivitě protilátek ve třídě IgM nelze udělat jednoznačný závěr, těhotenství může být suspektně ohroženo (chybí stanovení avidity protilátek ve třídě IgG).*“ Pomoci by mohlo vyšetření avidity IgG protilátek a vyšetření opakovat s odstupem 2 - 3 týdnů, pro zhodnocení dynamiky protilátek.“ To však u okružních vzorků není možné. Tudíž „*nelze vyloučit primoinfekci těsně před otěhotněním nebo v začátku gravidity, riziko infekce plodu je možné, poté by bylo možno hodnotit i jako PA/G+)*“. A tak byly akceptovány obě protichůdné interpretace II, zejména tehdy, když laboratoř nejednoznačnost vysvětlila slovním komentářem.

**Vzorky D a E** s vysokými titry celkových antitoxoplasmických protilátek a s jednoznačně pozitivními hladinami IgM a IgA a s pozitivními či alespoň hraničními hodnotami IgE odpovídají akutní toxoplasmóze, (interpretace I = „A“). Primoinfekci v graviditě s rizikem toxoplasmové infekce plodu nelze vyloučit (interpretace II = „G+“). „Akutní probíhající infekce. Doporučuji konzultaci na inf. odd. Signalizační hlášení infekční nemoci. Zopakujte vyšetření za 2 až tři týdny. Jedná se o primoinfekci v těhotenství, mohlo by dojít k postižení plodu.“

„U všech vzorků kromě A je interpretace I sporná - může být A i PA, interpretace PA upřednostněna vzhledem k nízkým hladinám IgM či relativnímu poměru hladin IgM a IgG. U vzorků kromě A je sporná i interpretace II - při udané délce gravidity by riziko infekce plodu mohlo prakticky vyloučit stanovení avidity IgG, to však u kontrolních (směsných) vzorků neprovádíme. Takže interpretace musí být G+, i když pravděpodobnější je vzhledem k výše zdůvodněné interpretaci I interpretace II G-.“

**Tab. 2:** Titry KFR, které udávají zúčastněné laboratoře (celkem: 39 pracovišť), u jednotlivých vzorků EHK 1112 a kvalitativní výsledky stanovení IgG (v mezinárodních jednotkách – celkem 82 pracovišť) v okružních vzorcích.

KFR-titr	A	B	C	D	E
1:8	5,13%				
1:16	12,82%				
1:32	58,97%	23,08%			
1:64	23,08%	51,28%	48,72%		
1:128		20,51%	41,03%		
1:256		5,13%	10,26%	25,64%	33,33%
1:512				38,46%	33,33%
1:1024				35,90%	33,33%
IgG-IU/ml					
Minimum	2,46	2,44	2,55	3,05	2,85
Medián	79	95,5	129	400	400
Průměr	121,65	120,63	166,74	399,18	370,98
Maximum	570,5	428,6	634	1562,1	1348,3

**Skutečně vážných chyb** bylo v EHK 1112 málo. Problémem nejsou kvalitativní nebo semikvantitativní výsledky jednotlivých sérologických testů, ale spíše jejich interpretace, avšak i s interpretací kontroverzních vzorků si dokázala naprostá většina laboratoří poradit. Při volbě interpretací je třeba myslet na to, že je vyšetřována těhotná žena. Při hodnocení interpretace II bereme v úvahu, že mezi „A“ a „PA“ není jednoznačná ostrá hranice.

Novinkou této zprávy je tabulka 5, která ukazuje kvalitativní výsledky **stanovení avidity IgG** v 17 laboratořích (ne každá z nich stanovovala aviditu u všech vzorků). Je z ní vidět, jak při vyšetření směsných sér mohou vycházet různé výsledky, takže nelze na aviditu IgG při interpretaci příliš spoléhat. Avšak označit všechny výsledky za zcestné nelze - ve frekvenci nízkých, hraničních i vysokých avidit u jednotlivých vzorků lze vysledovat určitou logiku. Avidita IgG se stanovuje „mimo soutěž“ a proto ji nebudujeme.

Pokud laboratoř stanovuje aviditu IgG, měla by vedle výsledného indexu avidity uvádět i příslušné hodnocení (vysoká/hraniční/nízká) podle pokynů výrobce. U různých diagnostických souprav se může interpretace lišit a i relativně poučený zadavatel (včetně NRL TOXO) může být uveden na scesti.

**Tab. 3:** Kvalitativní výsledky stanovení markerů toxoplasmové infekce ve vzorcích EHK 1112. „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					
	Hraniční					
	Positivní	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
<b>IgG N=99</b>	Negativní					
	Hraniční					
	Positivní	100%	100%	100%	100%	100%
<b>IgM N=98</b>	Negativní	98,98 %	100 %	100 %	90,82%	
	Hraniční				8,16%	
	Positivní	1,02%			1,02%	100%
<b>IgA N=71</b>	Negativní	97,06%	94,37 %	91,55%		
	Hraniční	1,47%	1,41%	7,04%		
	Positivní	1,47%	4,23%	1,41%	100%	100 %
<b>IgE N=40</b>	Negativní	100 %	100 %	97,5%		
	Hraniční			2,5%	5%	2,5%
	Positivní				95%	97,5%

**Tab. 4:** Interpretace I a II, které udávají zúčastněné laboratoře (N=98) u jednotlivých vzorků EHK 1112.

		A	B	C	D	E
<b>INTERPRETACE I</b>	<b>N</b>					
	<b>S</b>	95,96%	16,16%	10,1%		
	<b>A</b>	1,01%	3,03%	6,06%	96,97%	95,96%
	<b>PA</b>	3,03%	80,81%	83,84%	3,03%	4,04%
<b>INTERPRETACE II</b>	<b>N</b>	1,01%				
	<b>K</b>		1,02%	1,02%		
	<b>L</b>	3,03%				
	<b>G+</b>	2,02%	26,53%	30,61%	100%	100%
	<b>G-</b>	93,94%	72,45%	68,37%		
	<b>O+</b>					
	<b>O-</b>					

**Tab. 5:** Výsledná avidita IgG. Aviditu u jednotlivých vzorků stanovovalo 14-17 laboratoří zúčastněných v EHK 1112. V NRL TOXO vyšla avidita vzorků A-D vysoká, u vzorku E nízká.

Vzorek	Avidita IgG		
	Nízká	Hraniční	Vysoká
<b>A</b>	0,0%	0,0%	100,0%
<b>B</b>	5,9%	23,5%	70,6%
<b>C</b>	12,5%	37,5%	50,0%
<b>D</b>	37,5%	25,0%	37,5%
<b>E</b>	62,5%	0,0%	37,5%

A na závěr nemůže chybět **aktuální přehled používaných metod:**

V tomto kole 52 (52,5%) laboratoří stanovuje **celkové antitoxoplasmické protilátky**, z nichž 75% uvádí, že k tomuto účelu používají KFR, 13,5% NIFR a 9,6 % latexovou aglutinaci.

**IgG** stanovují všechna pracoviště, a to s pomocí celkem 14 systémů:

TEST-Line (27,3%), Diasorin - Liaison (22,2%), Abbott (20,2%), Diesse (6%), Access(4%), a Roche, Biorad, Siemens a Novatec (3%) a dalších.

Testy na **IgM** používají rovněž všechna pracoviště (14 systémů): TEST-Line (26,3%), Liaison (22,2%), Abbott (20,2%), Diesse (6%), Access (4%), Biorad, Euroimmun, Novatec, Roche a Siemens (3%) atd....

**IgA** stanovuje 71 (71,7 %) pracovišť celkem 7 systémy, z nichž nejpoužívanější jsou TEST-Line (69%), Diesse (8,5%), Euroimmun a Chorus Line (5,6%) a NOVATEC (4,2%).

**IgE** stanovuje 40 (40,4 %) pracovišť.

Další testy využívají 1 nebo 2 laboratoře.

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