



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/4-1/2022 (EHK 1251)

Sérologie toxoplasmózy

Praha, květen 2022

Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2. Způsob přípravy vzorků	4
3. Charakteristika materiálu	4
4. Způsob hodnocení	4
5. Vyhodnocení	5
6. Závěr	8
Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/4-1/2022 je zaměřen na sérologii toxoplasmózy. Návrh a realizace PT#M/4-1/2022 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 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: 12. 5. 2022

Pracoviště 2 ESPT

<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>)

e-mail: ehk@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/4-1/2022

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1251
Název:	Sérologie toxoplasmózy
Koordinátor:	RNDr. Petr Kodym, CSc.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3
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:	viz kapitola 2
Množství připravovaného testovaného materiálu:	60 ml od každého vzorku
Označení vzorkovnic:	EHK 1251, PT # M/4-1, č. 1 – 5, 1. 2. 2022
Zabezpečení kvality vzorku:	Garance adekvátního obsahu specifických protilátek: Příprava podle standardních metod na akreditovaném pracovišti, vyšetření vzorků na testované markery akreditovanými metodami dle schválených SOP. Stabilita vzorku: průběžná kontrola, adekvátní skladování, stabilizace 0,001% azidu sodného.
Test homogenity a stability:	Výchozí materiál je testován na příslušné cílové markery. Finální vzorek je opakovaně testován na všechny příslušné cílové markery před i po rozplnění v čase, kdy laboratoře vzorky vyšetřují.
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Distribuce v předepsaném obalu. Krátkodobé uchování vzorků v chladničce při teplotě 2 - 8 °C, dlouhodobě při -18 až -24°C, zamezit opakovanému zamrazování a rozmrazování.
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe, lidský faktor.
Počet účastníků:	100
Termín distribuce:	1. 2. 2022
Způsob distribuce:	Přepravní službou (zajišťuje Koordinační pracoviště ESPT 2)
Předání výsledků:	V elektronické podobě přes webové rozhraní SZÚ za použití aplikace EHK 10
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4. 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 vztažné hodnoty:	Výsledky NRL
Termín zveřejnění očekávaných výsledků:	28. 2. 2022
Termín zveřejnění závěrečné zprávy:	Do 17. 5. 2022

2. Způsob přípravy 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 skladován při teplotě 2 až 8°C .

Vzorky séra či plasmy pacientů, vyšetřovaných v NRL TOXO, byly skladovány 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 stabilizován 0,001% azidu sodného, rozplněn do lahvíček se šroubovacím uzávěrem a předán k rozeslání.

3. Charakteristika materiál

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.

Vzorek EHK 1251	KFR Titr	IgG IP	IgA IP	IgM IP	IgE IP	AVIDITA IgG IAv
A	N Negativní	0,25 Negativní	0,09 Negativní	0,06 Negativní	0,05 Negativní	-
B	1:8 Positivní	1,62 Positivní	0,09 Negativní	0,17 Negativní	0,12 Negativní	Vysoká
C	1:64 Positivní	4,44 Positivní	0,20 Negativní	0,22 Negativní	0,20 Negativní	Vysoká
D	1:512 Positivní	4,15 Positivní	1,60 Positivní	1,89 Positivní	2,10 Positivní	Vysoká
E	1:1024 Positivní	4,19 Positivní	1,88 Positivní	2,01 Positivní	2,26 Positivní	Vysoká

Tab. 1: Výsledky vyšetření vzorků EHK 1251 v NRL TOXO.

Vzorky byly rozeslány s tímto komentářem: Vzorky pocházejí od těhotných žen (13.-15. týden) ve věku 19-33 let, klientek gynekologické ambulance, milovnic koček, které si stěžují na neklid, únavu, bolesti kloubů a nepravidelné horečky. O vyšetření žádá gynekolog, dg. Z34.9.

4. Způsob hodnocení

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

5. Vyhodnocení

Tab. 2: Frekvence bodových ohodnocení laboratoří, které se zúčastnily EHK 1251

	Laboratoří	
	Počet	%
13	1	1,01%
31	1	1,01%
39	1	1,01%
NEUSPĚLO	3	3,03%
41	1	1,01%
42	2	2,02%
43	1	1,01%
44	5	5,05%
45	2	2,02%
47	1	1,01%
49	1	1,01%
50	40	40,4%
51	1	1,01%
54	2	2,02%
55	1	1,01%
56	1	1,01%
57	2	2,02%
58	5	5,05%
59	1	1,01%
60	30	30,3%
USPĚLO	96	96,96 %
Celkem	99	100 %

HRANICE ÚSPĚŠNOSTI: 40,2 BODU
 PRŮMĚR: 52,8 BODU
 SMĚRODATNÁ ODCHYLKA: 6,3

Výsledky sérologických testů, které laboratoře uvádějí, jsou shrnuty v tabulkách 3, 4 a 6, jejich interpretace v tabulce 5. Správné interpretace a komentáře k jednotlivým vzorkům uvádíme v následujícím textu. „Autentické slovní komentáře laboratoří jsou uvedeny v uvozovkách kurzívou.“

Komentáře k jednotlivým vzorkům:

Vzorek A neobsahoval antitoxoplasmické protilátky (viz Tab. 3 a 4), interpretace I = „N“. Výsledky sérologických testů neschvídají pro toxoplasmovou infekci, těhotenství tudíž není toxoplasmózou ohroženo, interpretace II = G- (viz Tab. 5). V tomto duchu se nesly i slovní komentáře laboratoří: „Je možná i interpretace II N - negativní, momentálně neinfikován *Toxoplasma gondii*.“ „...neimunní stav“.

„Doporučujeme poučit o ochraně před nákazou a opakovat vyšetření za 3 měsíce.“

Vícero komentářů upozorňuje na možné (byť i ve skutečnosti velice nízké) riziko dodatečné infekce imunologicky naivní ženy v průběhu těhotenství: „Při podezření na infekci *Toxoplasma gondii* dop. opakovat vyšetření v dalších trimestrech těhotenství.“ „Vzhledem k séronegativitě a rizikovým kontaktům s kočkami doporučujeme provést vyšetření u těhotné ještě v II. a III. trimestru.“ Některé laboratoře situaci dramaturgizují: „Vzhledem k anamnéze pacientky nelze vyloučit infekci v počátečním stádiu, kdy ještě nedošlo k tvorbě protilátek. Proto doporučujeme zopakovat vyšetření za 2 - 3 týdny. V případě opakovaně negativního vzorku není žena chráněna před případnou infekcí.“ Bohužel se objevují i poplašné komentáře, které berou toxoplasmovou infekci za hotovou věc: „Nejedná se o primoinfekci, ale gravidita je primoinfekcí ohrožena, protože pacientka dosud primoinfekci neprodělala.“ „Signalizační hlášení infekční nemoci. Zopakovat vyšetření za 2 - 3 týdny. Jedná se o primoinfekci v těhotenství, mohlo by dojít k poškození plodu.“ Je záhadou, na základě čeho dospěla k nesprávné interpretaci II „...možno hodnotit i jako G+“, laboratoř, která u vzorku hlásí komplet negativní výsledky. –

U **vzorku B** vycházely nízké a u **vzorku C** střední titry celkových antitoxoplasmických protilátek jakož i hladiny IgG; testy na IgA, IgE i IgM byly negativní (viz Tab. 3 a 4). Tomu odpovídá interpretace I = „S“. Nejedná se o primoinfekci v graviditě, „*latentní nákaza, anamnestické titry protilátek. Těhotenství není ohroženo.*“ - interpretace II = G- (viz Tab. 5). „*Pacientka prodělala toxoplazmózu před delším časem a získala protektivní imunitu.*“ Obsah protilátek ve vzorku B je nižší: „*Vzorka B - hraničný výsledek IgG. Odporúčam zopakovať odber s časovým odstupom na odlíšenie, či ide o negatívny výsledok alebo dávno prekonanú toxoplazmózu s veľmi nízkym titrom IgG.*“ Ojedinele byly hlášeny nesprávné negativní výsledky testů na celkové protilátky i na IgG.

Vzorky D a E s vysokými titry celkových antitoxoplasmických protilátek a s jednoznačně pozitivními hladinami IgM a IgA a s pozitivními hodnotami IgE odpovídají akutní toxoplazmóze (interpretace I=„A“). Případně, „*interpretaci PA jsme jako pravděpodobnější zvolili vzhledem k poměru mezi vcelku nízkými hladinami IgM a vysokými hladinami IgG.*“ Interpretace II = „G+“: „*Jedná se o primoinfekci v těhotenství, mohlo by dojít k poškození plodu.*“ „*Vzhledem k pozitivitě IgM protilátek dop. vyšetření avidity IgG protilátek, bez nichž se nelze jednoznačně vyjádřit k ohrožení plodu toxoplazmózou a dále event. vyšetření plodové vody.*“ Další doporučení již nelze v rámci EHK realizovat: „*Dop. kontaktovat specialistu-infektologa a doplnit další vyšetření (aviditu specifických IgG protilátek, PCR vyšetření plodové vody, UZ vyšetření plodu...)*“.

Tab. 3: Titry KFR, které udávají zúčastněné laboratoře (celkem: 31 pracovišť), u jednotlivých vzorků EHK 1251 a kvalitativní výsledky stanovení IgG (v mezinárodních jednotkách – celkem 86 pracovišť) v okružních vzorcích.

KFR – titr	A	B	C	D	E
0	93,55%	3,23%			
1:2	3,23%				
1:4	3,23%	22,58%			
1:8		64,52%			
1:16		6,45%	12,9%		
1:32		3,23%	38,71%		
1:64			45,16%		
1:128			3,23%	16,13%	12,9%
1:256				51,61%	41,94%
1:512				22,58%	38,71%
1:1024				6,45%	6,45%
1:2048				3,23%	
IgG-IU/ml					
Minimum	0	0,35	42,9	100	5
Medián	0,7	13	123	316,3	281
Průměr	1,58	22,36	193,23	383,72	348,93
Maximum	5	82,36	1556,19	2252	2160,86

Tab. 4: Kvalitativní výsledky stanovení markerů toxoplasmové infekce ve vzorcích EHK 1251. „N“ udává počet laboratoří, které daný marker vyšetřují a výsledky do protokolu uvedly; ne všechny z nich vyšetřily úplně všechny vzorky.

Marker	Výsledky	A	B	C	D	E
CELKOVÉ PROTILÁTKY N=43	Negativní	100%	13,95%	2,33%		
	Hraniční		6,98%			
	Positivní		79,07%	97,67%	100%	100%
IgG N=99	Negativní	97,98%	3,03%			1,01%
	Hraniční		5,05%			
	Positivní	2,02%	91,92%	100%	100%	98,99%
IgM N=99	Negativní	97,98%	98,99%	91,92%	1,01%	1,01%
	Hraniční			6,06%		
	Positivní	2,02%	1,01%	2,02%	98,99%	98,99%
IgA N=69	Negativní	98,51%	100%	94,03%	1,45%	1,45%
	Hraniční			4,48%		
	Positivní	1,49%		1,49%	98,55%	98,55%
IgE N=40	Negativní	100%	100%	100%		
	Hraniční				22,5%	
	Positivní				77,5%	100%

Tab. 5: Interpretace I a II, které udávají zúčastněné laboratoře (N=99) u jednotlivých vzorků EHK 1251.

		A	B	C	D	E
INTERPRETACE I	N	96,97%	5,05%			1,02%
	S	1,01%	93,94%	91,84%	1,02%	
	A	2,02%		1,02%	87,76%	90,82%
	PA		1,01%	7,14%	11,22%	8,16%
INTERPRETACE II	N	30,3%				
	K				4,08%	4,08%
	L		4,04%	5,1%		
	G+	3,03%	1,01%	6,12%	92,86%	93,88%
	G-	66,67%	94,95%	88,78%	3,06%	2,04%
	O+					
	O-					

Tabulka 6 ukazuje kvalitativní výsledky **stanovení avidity IgG** „mimo soutěž“ ve 46 laboratořích (ne každá z nich stanovovala aviditu u všech vzorků). Je z ní vidět, že zatímco u jednoznačně „neakutních“ vzorků B a C převažuje shoda na vysoké aviditě, u „potenciálně akutních“ vzorků D a E jsou výsledky do jisté míry rovnoměrně rozděleny mezi všechny tři alternativy. Tyto výsledky vyšetření směsných vzorků mají určitou výpovědní hodnotu, ale především u vzorků, kde je i na základě výsledků ostatních testů jasné, že akutní toxoplasmózu nereprezentují.

Tab. 6: Výsledná avidita IgG. Aviditu u jednotlivých vzorků stanovovalo až 46 laboratoří zúčastněných v EHK 1251.

Vzorek	Avidita IgG		
	Nízká	Hraniční	Vysoká
A	33,33%		66,67%
B	16,67%	22,22%	61,11%
C	10,53%	2,63%	86,84%
D	23,91%	41,30%	34,78%
E	41,30%	32,61%	26,09%

Aktuální přehled používaných metod:

V tomto kole 43 (43,43%) laboratoře stanovuje **celkové antitoxoplasmické protilátky**, z nichž 72,09% uvádí, že k tomuto účelu používají KFR, 16,28% NIFR a 11,63% latexovou aglutinaci.

IgG stanovují všechna pracoviště, a to s pomocí celkem 13 systémů:

TEST-Line (26,26%), Abbott (22,22%) Diasorin - Liaison (21,21%), DIESSE (7,07%), Roche (6,06%) Access (4,04%), Novatec a Biorad a (3,03%) a dalších.

Testy na **IgM** používají rovněž všechna pracoviště (13 systémů): TEST-Line (26,26%), Abbott (22,22%), Liaison (21,21%), DIESSE (7,07%), Roche (6,06%), Access (4,04%), Biorad a Novatec (3,03%) atd....

IgA stanovuje 69 (69,7%) pracovišť celkem 6 systémy, z nichž nejpoužívanější jsou TEST-Line (73,91%), DIESSE (8,7%), Euroimmun (7,25%) a NOVATEC (4,35%) a Chorus Line a Biorad (2,9%).

IgE stanovuje 40 (40,4%) pracovišť.

Další testy využívají 1 nebo 2 laboratoře.

6. Závěr

Cyklu EHK 1251 se účastnilo 100 laboratoří, jedna laboratoř nevrátila výsledky k hodnocení.

Z výsledků hodnocení (viz Tab.2) je patrné, že EHK 1251 nebylo obtížné. Díky tomu 70,7% laboratoří dostalo „bezchybné“ hodnocení 60 nebo 50 bodů. Z bezproblémového hodnocení výrazně vybočuje jedna laboratoř, která má jak výsledky testů, tak interpretace u 4 vzorků z 5 úplně špatně. Příčinou mohla být záměna („prohození“) okružních vzorků EHK v laboratoři.

Žádný vzorek nelze označit za problematický. Chyby jak ve kvalitativních výsledcích testů, tak ve volbě interpretací byly spíše ojedinělé a málokdy je lze považovat za vážné. Závěry EHK 1251 ukazují, že diagnostiku toxoplasmózy u těhotných žen naprostá většina laboratoří výborně zvládá.

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamace použijte prosím také webovou aplikaci SZÚ: <http://ehk.szu.cz/EHK10/>

Informace o změnách v objednávání opravných sérií a zadávání reklamací naleznete na webových stránkách SZÚ: <http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY