

EXTERNÍ HODNOCENÍ KVALITY

EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT

EHK – 689 Sérologie toxoplasmózy

Petr Kodym

PŘÍPRAVA VZORKŮ

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

Séra pacientů, vyšetřovaných v NRL TOXO, byla skladována v mrazicím boxe při teplotě $-20\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$. 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. Vzorky byly stabilizovány azidem sodným a vyšetřeny. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.

Každý vzorek byl rozplněn do lahviček se šroubovacím uzávěrem a předán k rozeslání.

Vzorky byly rozeslány s tímto komentářem:

„Vzorky pocházejí od mužů ve věku 21–67 let – pracovníků masokombinátu (profese nebyly specifikovány) – kteří si stěžují na přetrvávající únavnost a bolest kloubů. Závodní lékařka u nich zjistila zduření krčních lymfatických uzlin malého či většího rozsahu a žádá o vyšetření na toxoplasmózu, dg. B58.9.“

HODNOCENÍ

K vyhodnocení v Národní referenční laboratoři pro toxoplasmózu (NRL TOXO) se vrátilo 107 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 a semikvantitativních výsledků stanovení antitoxoplasmických protilátek především interpretace výsledků, a v první řadě odpověď na otázku, zdali potíže, na které si pacienti stěžují, mohou souviset s toxoplasmózou.

Jak ukazuje tabulka 2, bylo toto kolo EHK pro naprostou většinu zúčastněných laboratoří spíše odpočinkové až nudné a laboratoří, které měly s vyšetřením vzorků a vyhodnocením výsledků vážnější potíže, bylo jen pár a „bezchybných“ 15 nebo 12,5 bodu tentokrát obdrželo více než 3/4 zúčastněných.

Pod oficiální hranici úspěšnosti v kole, stanovenou odečtením dvojnásobku směrodatné odchylky od průměru bodového ohodnocení, se dostaly 4 (3,7 %) laboratoře. O udělení certifikátu však rozhodne podzimní kolo.

Žádný vzorek (alespoň podle bodového ohodnocení - viz tabulka 3) nelze označit za problematický. Nejnižší bodový průměr získali účastníci za nejednoznačný vzorek

Tabulka 1: HODNOTY HLADIN A TITRY IgG, IgA, IgM a IgE ANTITOXOPLASMICKÝCH PROTILÁTEK VE VZORCÍCH EHK-689

Vzorek	KFR titr	IgG	IgA	IgM	IgE	poznámka
		IP	IP	IP	IP	
A	neg.	0,7	0,3	0,1	0,4	
B	neg.	0,8	0,3	0,1	0,3	
C	1:32	3,1	0,4	0,2	0,4	Antikompl. ++++
D	1:512	6,5	0,5	0,87	0,5	Antikompl. ++++
E	1:512	6,7	1,9	2,4	1,6	Antikompl. ++++

Tabulka 2: BODOVÉ OHODNOCENÍ LABORATOŘÍ ZÚČASTNĚNÝCH V EHK-689

BODY	POČET	PROCENTO	
7	1	0,9%	
7,5	2	1,9%	
9	1	0,9%	HRANICE ÚSPĚŠNOSTI
10	1	0,9%	9,787 BODU
10,5	1	0,9%	
11	2	1,9%	
11,5	8	7,5%	
12	3	2,8%	
12,5	29	27,1%	
13	3	2,8%	
13,5	2	1,9%	
14	2	1,9%	
14,5	1	0,9%	
15	51	47,7%	
Celkem	107	100,0%	

PRŮMĚR: 13,435
SMĚRODATNÁ ODCHYLKA: 1,824
MEDIÁN: 14

D, na scestí však přivedly vždy 2–3 laboratoře negativní vzorky A a B a také níže pozitivní vzorek C.

POZNÁMKA: V uvozovkách kurzívou uvedeny autentické citáty z vyplněných formulářů EHK 689.

**Tabulka 3: FREKVENCE BODOVÉHO OHODNOCENÍ
UDĚLENÉHO ZA JEDNOTLIVÉ VZORKY EHK-689**

VZOREK	A		B		C		D		E	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%	abs.	%	abs.	%
0	3	2,8%	2	1,9%	2	1,9%				
0,5										
1			1	0,9%						
1,5	1	0,9%	2	1,9%	1	0,9%	6	5,6%	1	0,9%
2					6	5,6%	12	11,2%	7	6,5%
2,5	43	40,2%	42	39,3%	42	39,3%	37	34,6%	42	39,3%
3	60	56,1%	60	56,3%	56	52,3%	52	48,6%	57	53,3%
Průměr	2,701		2,701		2,678		2,631		2,724	

VZORKY A a B byly negativní, neobsahovaly žádné antitoxoplasmické protilátky (viz tabulka 4), příslušní pacienti nejsou infikováni *Toxoplasma gondii*. „Sérologický nález nesvědčí pro toxoplasmovou etiologii.“ „V případě klin. nejasností dopor. vyšetření s odstupem 2-3 týdnů zopakovat.“

Na identifikaci negativních sér a jejich náležitém okomentování se shodli skoro všichni účastníci EHK. Asi 3 laboratoře na základě výsledků nadměru citlivých metod výsledky interpretují nesprávně jako „latentní infekci s vysokou hladinou persistujících protilátek“ (IgG 10x vyšší než udávají u vzorku E!) nebo dokonce podle výsledků IgM „souvislost s udávanými potížemi nelze t.č. vyloučit“.

VZOREK C obsahoval nízkou hladinu antitoxoplasmických IgG (viz tabulka 5) a tomu odpovídající nízký titr celkových antitoxoplasmických protilátek (tabulka 4). Antitoxoplasmické IgA, IgM ani IgE nebyly detekovány. Jedná se tedy o anamnestické protilátky; příznaky, na které si pacienti stěžují, s nejvyšší pravděpodobností s toxoplasmózou žádnou souvislost nemají – „Stav latentní infekce *T.gondii* nelze považovat za etiologické agens lymfadenitis“.

I vzorek C byl bezproblémový, pouze 2 laboratoře hlásí séronegativitu: „Neprokazujeme protilátky proti *Toxoplasma gondii*“.

Na rozdíl od jednoznačných vzorků A, B a C byl **VZOREK D** oříškem jak pro laboratoře tak pro hodnotitele: vedle vyšší hladiny antitoxoplasmických IgG (tabulka 5) a trochu vyššího titru KFR (tabulka 4) zde zhruba polovina laboratoří zjistila jakoustakous hladinu IgM (převážně hraniční nebo níže pozitivní) a semtam někdo i hladiny IgA (tabulka 5). Ať tak nebo tak, interpretovaly laboratoře výsledky v naprosté většině případů správně: „Hodnoty protilátek v séru pacienta jsou anamnestické“. „Pravděpodobně stav po dříve proběhlé nákaze“. „Slabě pozitivní IgM - pravděpodobně přetrvávající protilátky (mohou přetrvávat až 1 rok po infekci), nebo mohou být zachyceny díky vysoce citlivému testu, který používáme.“ Kdo IgM detekoval, napsal: „Toxoplasmóza jako příčina

uvedených klinických obtíží je možná, i když málo pravděpodobná“.

V reálné situaci (nikoliv však v EHK) by se případ pravděpodobně dořešil zopakováním vyšetření. Laboratoře, kterým vyšly testy na IgM jako negativní, napsaly např. „souvislost nynějších obtíží s toxoplasmózou je nepravděpodobná“. Pokud interpretace odpovídaly zjištěným výsledkům, byly zpravidla akceptovány. Nepříliš časté interpretace typu „Výsledek svědčí pro akutní toxoplasmózu v odeznívající či postakutní fázi“ (při KFR 1:8 a hodnotě IgM kousek nad cut-off!!), „Pravděpodobně ještě aktivní akutní onemocnění“, „toxoplasmová etiologie je pravděpodobná“ atp. za správné považovat nelze, naštěstí by však při reálném vyšetřování nezapříčinily ohrožení pacienta a tak bylo hodnocení pro tentokrát dosti benevolentní. Komentář bez komentáře: „Pro vyloučení možnosti probíhající reinfekce doporučuji provést kontrolní vyšetření za 3 týdny“.

Problémem, který bohužel provázel vyšetření (nejen) vzorku D, byla antikomplementarita séra.

VZOREK E, podobně jako vzorek D, obsahoval vyšší hladiny antitoxoplasmických IgG, rovněž titr KFR nebyl nízký. Na rozdíl od spíše „anamnestického“ vzorku D zde skoro všechny zúčastněné laboratoře zaznamenaly dosti vysoké hladiny antitoxoplasmických IgM a IgA (tab. 4), v 96 % provedení byla pozitivní i ELISA na antitoxoplasmické IgE (1,3 % negativní, 2,7 % hraniční). Některé laboratoře dokonce hlásí nízkou aviditu IgG.

Na interpretaci vzorku E se víceméně shodly všechny laboratoře: „Akutní toxoplasmóza (poz. IgA,E,M). „Odeznívající akutní stadium toxoplasmové infekce“. „Výsledky svědčí pro akutní toxoplasmovou infekci, která může být příčinou obtíží uváděných pacientem.“ „Dopor. předání pacienta ke specialistovi“.

CHYB bylo tentokrát méně než v předchozích kolech, byly však stále stejné: nesprávná, nejasná nebo nepřesná interpretace a také chybějící nebo nesprávná odpověď na otázku případné toxoplasmové etiologie obtíží pacientů. Zcela nesprávné kvalitativní či semikvantitativní výsledky sérologických testů byly poměrně vzácné, většina chyb

Tabulka 4: POČTY LABORATOŘÍ, KTERÉ UDÁVAJÍ JEDNOTLIVÉ TITRY KFR (celkem: 53 pracovišť) všech vzorků a kvalitativní výsledky stanovení antitoxoplasmických IgG u vzorků A a B (celkem: 107) ve vzorcích EHK–689

TITR	A	B	C	D	E
0	92,3%	94,2%	3,8%		
4	5,8%	5,8%	7,5%		
8	1,9%		56,6%	2,0%	
16			28,3%	2,0%	
32			1,9%	7,8%	
64			1,9%	21,6%	3,8%
128				29,4%	5,7%
256				33,3%	24,5%
512				3,9%	32,1%
1024					28,3%
2048					3,8%
4096					1,9%
IgG					
negativní	97,3%	96,3%			
hraniční		1,9%			
pozitivní	2,9%	1,9%			

v této sféře byla považována za méně závažné. Potěšitelné je, že některé laboratoře, které se do EHK „Sérologická diagnostika toxoplasmózy“ zapojily později a zpočátku zde nebyly příliš úspěšné, se postupně „rozkoukaly“ a nyní dosahují dobrých výsledků.

Na závěr jako vždy uvádíme **přehled používaných diagnostických metod**. Celkové antitoxoplasmické protilátky stanovuje nejčastěji pomocí KFR, NIFR nebo i latexové aglutinace 64 (59,8 %) laboratoří ze 107 zúčastněných

Tabulka 5: FREKVENCE KVALITATIVNÍCH VÝSLEDKŮ STANOVENÍ ANTITOXOPLASMICKÝCH IgA (75 pracovišť) a IgM (107 pracovišť). Semikvantitativní výsledky stanovení antitoxoplasmických IgG (v mezinárodních jednotkách – 73 laboratoře ve vzorcích D a E v EHK–689).

VZOREK	C		D		E	
	IgA	IgM	IgA	IgM	IgA	IgM
negativní	100,0%	100,0%	89,0%	49,5%	1,3%	
hraniční			5,6%	17,8%	2,7%	0,9%
pozitivní			5,6%	32,7%	96,0%	99,1%
IgG (IU/ml)						
minimum	0		16		35	
medián	21		210		300	
průměr	28		226		402	
75 % do	31		250		419	
maximum	158		1374		3136	

v EHK–689. Antitoxoplasmické IgG i IgM stanovuje všech 107 pracovišť, IgA 73 a IgE 41. Seřadíme-li metody podle četnosti používání, dostaneme toto pořadí:

- **IgG** (celkem 17 systémů): TEST-Line (42,5 %), Abbott (12,2 %) Immulite (10,3 %), Liaison (8,5 %), Platelia Biorad (7,5 %), Access (3,8 %) a DiaSorin (2,8 %).
- **IgM** (celkem 18 metod): TEST-Line (41,5 %), Abbott (12,2 %), Immulite (10,3 %), Liaison (8,5 %) Platelia Biorad (8,5 %) a Access (3,8 %).
- **IgA** (celkem 9 metod): TEST-Line (72,6 %), Platelia Biorad (9,6 %), Diesse (5,5 %).

Zbývající testy používají vždy jen 1–2 laboratoře.

Dne: 23. 6. 2011

RNDr. Petr Kodym, CSc.

NRL pro toxoplasmózu, SZÚ - CEM