

EXTERNÍ HODNOCENÍ KVALITY

EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT

EHK – 763 Sérologie toxoplasmózy

Petr Kodym

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 stanovených markerů.

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

Vzorek	KFR titr	IgG IP	IgA IP	IgM IP	IgE IP
A	negativní	0,6 negativní	0,1 negativní	0,3 negativní	0,1 negativní
B	negativní	0,5 negativní	0,1 negativní	0,2 negativní	0,1 negativní
C	1:8 pozitivní	2,9	0,1 negativní	0,2 negativní	0,2 negativní
D	1:64 pozitivní	10,2	0,2 negativní	0,4 negativní	0,3 negativní
E	1:512 pozitivní	13,5 pozitivní	2,5 pozitivní	3,6 pozitivní	1,7 pozitivní

Každý vzorek byl rozplněn do lahvíček se šroubovacím uzávěrem a předán k rozeslání. Vzorky byly rozeslány s tímto komentářem:

„Vzorky pocházejí od těhotných žen ve věku 33–42 let, které pociťují zvýšenou únavu, strach, změny nálad a nervozitu a také bolesti kloubů a tlak v oblasti krčních uzlin. Po přečtení článku v časopise Týden se rozhodly, že nic neponechají náhodě a ačkoliv žádná z nich kočky z důvodů možných rizik nechová, požádaly o vyšetření na „Nemoc šílených koťat“. Materiál posílá gynekolog, dg. Z34.9.“

VYHODNOCENÍ

Vzorky byly rozeslány celkem 104 laboratořím, k vyhodnocení v Národní referenční laboratoři pro toxoplasmózu (NRL TOXO) se vrátilo 102 vyplněné dotazníky. Nahlášené výsledky byly porovnávány s výsledky ostatních laboratoří a také s výsledky získanými v NRL, přičemž převážující kvalitativní i semikvantitativní výsledky byly v souladu se závěry NRL. Hodnocení bralo v úvahu vedle kvali-

tativních a semikvantitativních výsledků stanovení antitoxoplasmických protilátek především interpretace výsledků, a to jednak zařazení vzorků do kategorií „séronegativní“/latentní toxoplasmóza/akutní toxoplasmóza a současně i vyjádření, zdali se může či nemůže jednat o primoinfekci v graviditě s následným rizikem infekce plodu.

Tab. 1: FREKVENCE BODOVÝCH OHODNOCENÍ LABORATOŘÍ, KTERÉ SE ZÚČASTNILY EHK-763

BODY	Počet	Procento	
7,5	1	1,0%	
8,5	1	1,0%	HRANICE ÚSPĚŠNOSTI: 9,99
10,5	1	1,0%	PRŮMĚR: 13,41
11,0	7	6,9%	SMĚRODATNÁ ODCHYLKA: 1,71
11,5	13	12,57%	
12,0	3	2,9%	
12,5	18	17,6%	
13,0	3	2,9%	
13,5	2	2,0%	
14,0	7	6,9%	
15,0	46	45,1%	
Celkem	102	100,0%	

Jak je patrné z výsledků bodového ohodnocení laboratoří (tab. 1), bylo toto kolo EHK, zaměřené na vyšetřování těhotných žen na toxoplasmózu, pro většinu laboratoří spíše odpočinkové, skutečných problémů bylo minimum, „bezchybných“ 15 nebo 12,5 bodu získaly tentokrát skoro dvě třetiny zúčastněných laboratoří.

Pod oficiální hranici úspěšnosti v EHK-763, stanovenou odečtením dvojnásobku směrodatné odchylky od průměru bodového ohodnocení, se dostaly 2 (2 %) laboratoře.

Certifikát o úspěšné účasti v EHK sérologie toxoplasmózy v roce 2012 dostanou ty laboratoře, které se zúčastnily obou letošních kol a získaly dohromady alespoň 21,449 bodu (průměr: 27,2; směrodatná odchylka: 2,898). Ze 100 účastníků obou kol se pod bodový limit dostaly pouze 2 laboratoře. Pokud porovnáme bodové ohodnocení, jsou letošní výsledky lepší než v roce 2011. Maximálně možných 30 bodů dosáhlo 36% a skóre 25 bodů 9 % laboratoří; medián byl 28,75 bodů. 24 bodů a méně kvalifikovalo účastníka k zařazení do poslední čtvrtiny; minimum bylo 20 bodů. Vaše celoroční výsledky jsou na bodovacím formuláři vyznačeny červeně.

Z tabulky 2 je patrné, že žádný ze vzorků nebyl obtížný a že bodové ohodnocení je vyrovnané. Laboratoře nejčas-

těži neuspěly při vyšetřování vzorků 2 a 3, zatímco vzorky A a E byly obvykle bez potíží; rozdíly jsou však minimální.

Tab. 2: FREKVENCE BODOVÉHO OHODNOCENÍ UDĚLENÉHO ZA VZORKY EHK-763

	A	B	C	D	E
0		2 2,0%	2 2,0%		
0,5					
1			1 1,0%		
1,5			2 2,0%	1 1,0%	1 1,0%
2,0	1 1,0%	1 1,0%	15 14,7%	4 3,9%	9 8,8%
2,5	42 41,2%	40 39,2%	33 32,4%	31 30,4%	37 36,3%
3,0	59 57,8%	59 57,8%	49 48,0%	48 47,1%	55 53,9%
Průměr	2,784	2,735	2,583	2,593	2,716

POZNÁMKA: V uvozovkách kurzívou uvedeny autentické citáty z vyplněných formulářů EHK-763.

VZORKY A a B byly sérologicky negativní (viz tab. 3). – „Bez průkazu specifických protilátek“. Zcela ojediněle byly ve výsledkových protokolech uvedeny nízké titry KFR 1:4 a hraniční (A 1x, B 1x) či pozitivní (A 1x, B 2x), dvě laboratoře dokonce prohlásily vzorek B za IgG pozitivní. „Sérum neosahuje antitoxoplasmické protilátky. Žena se zatím s toxoplazmózou nesečkala, není infikována a těhotenství není toxoplazmózou ohroženo“. „K uvedenému datu odběru nepotvrzujeme proběhlou ani probíhající primoinfekci *Toxoplasma gondii*“. „N+qwaseimunní stav. Symptomatologie nesouvisí s toxopl.“ „Příznaky v.s. jiné etiologie“... „nemá vytvořenou imunitu a není chráněna proti případné infekci. Doporučuji preventivně poučit o cestách přenosu toxoplazmózy a ochraně před nákazou.“ „Doporučujeme kontrolu v dalším trimestru.“ „Doporučujeme provést konfirmační test na TOXO za 14 dní a následně také na 37. týdnu gravidity“ (nevím, jaký smysl má vyšetření zrovna těsně před porodem). Oprávněná je stížnost, že „NEUVEDENA DÉLKA GRAVIDITY, což může vést k částečně odlišné interpretaci (dalším doporučením)“, bohužel údaje o délce gravidity velice často chybí i u skutečných vzorků.

U **VZORKU C** vycházely nízké titry celkových antitoxoplasmických protilátek a nevyšší hladiny IgG (viz tab. 3), testy na IgA, IgE i IgM byly vesměs negativní. Sérologicky negativní výsledek hlásí pouze 3 laboratoře. „Vzhledem k negativitě IgA protilátek lze akutní průběh onemocnění vyloučit.“ „Anamnestické hladiny protilátek po prodělané naze.“ „Popsané obtíže nesouvisí s toxoplazmózou.“ „Matka a plod jsou chráněni proti toxoplasmóze.“ „Primoinfekci v graviditě je možné vyloučit.“ „Těhotenství není s velkou pravděpodobností toxoplazmózou ohroženo.“ „Pac. se nemusí obávat...“ „Vzhledem k popísaným příznakům doporučujeme došetřit např. chlamydie, borrelie, EBV, CMV atd.“ Je pravda, že absence údaje o délce těhotenství interpretaci komplikuje, výrok „Jedná-li se o 1. trimestr těhotenství, mělo by se jednat o protektivní protilátky“ však situaci příliš neobjasňuje. Rovněž není

jasné, co u vzorku s hladinou protilátek jen málo nad hranicí detekovatelnosti měl na mysli autor výroku „Sérol. vyš. toxopl. jsme prokázali mírné zvýšení anamnestických protilátek (pro titr IgG).“ Tu a tam se stalo, že si laboratoř nebyla s interpretací vcelku jednoznačného vzorku jistá: „Není uveden týden těhotenství, nelze zcela vyloučit a hodnotit riziko infekce plodu. Sérum zasíláme ke konfirmaci do NRL Praha.“

Tab. 3: POČTY LABORATOŘÍ, KTERÉ UDÁVAJÍ JEDNOTLIVÉ TITRY KFR (celkem: 53 pracovišť) séropozitivních vzorků a kvalitativní výsledky stanovení IgG (v mezinárodních jednotkách – celkem: 75 pracovišť) zjištěné v anti-Toxoplasma pozitivních okružních vzorcích EHK-763

	A	B	C	D	E
KFR-titr					
0	96,1%	96,1%	1,9%		
4	2,0%	4,9%	11,3%		
8	2,0%		52,8%	1,9%	
16			26,4%	3,8%	
32			5,7%	15,1%	
64			1,9%	39,6%	3,8%
128				32,1%	7,5%
256				3,8%	5,7%
512				1,9%	41,7%
1024					32,1%
2048				1,9%	7,5%
4096					1,9%
IgG-IU/ml					
minimum			0	45	17
medián			18	141	343
průměr			28	190	522
maximum			125	606	3454

VZOREK D byl obdobou vzorku C: „Pravděpodobně stav po toxoplazmóze prodělané v minulosti, bez známek aktivity. Těhotenství by nemělo být toxoplazmózou ohroženo.“ „Anamnestické protilátky přetrvávající po toxoplazmóze prodělané dávno před otěhotněním, primoinfekci v graviditě je možné vyloučit.“ „Klinické příznaky nejsou zapříčiněny toxoplazmózou.“ „Nález nevyžaduje další sledování (protektivní účinek na plod).“

Pro někoho mohla být trochu matoucí poněkud vyšší hladina anamnestických protilátek. To pro interpretaci zpravidla nemá větší význam, obzvláště jsou-li testy na antitoxoplasmické IgM jednoznačně negativní (viz tab. 4). Přesto někteří zakomponovali do interpretace i šíření poplašné zprávy: „Doporučujeme zopakovat vyšetření (vzhledem k vyššímu titru KFR).“ „Recentní akutní infekci nelze vyloučit.“ „Vzhledem k přetrvávajícímu titru 1:64 v KFR možnost postakutní infekce. K vyloučení rizika infekce plodu je vhodné doplnit aviditu IgG.“

Závěry vyšetření **VZORKU E**, u kterého byly zjištěny jak vysoké titry celkových protilátek tak i výrazné hladiny antitoxoplasmických IgA, IgE, IgG i IgM, byly vcelku jednoznačné (viz tab. 4): „*Obraz akutní infekce susp. Již ne zcela čerstvé.*“ „*Pozitivní hladiny svědčí o akutní alebo postakutní fázi infekce.*“ „*I přes vysokou aviditu IgG protilátek nelze s ohledem na přítomnost IgM protilátek vyloučit primoinfekci v graviditě.*“ „*Suspektně akutní nebo postakutní toxoplazmóza, nelze vyloučit primoinfekci v graviditě s následnou infekcí plodu.*“ „*Doporučujeme konfirmaci sérol. vyšet. v NRL, popřípadě další vyšetření. Doporučujeme kontaktovat infekční kliniku.*“ „*Okamžitě konzultujeme nález s ošetřujícím lékařem a upozorníme na riziko přenosu toxoplazmózy na plod!*“ „*Míru rizika pro probíhající těhotenství nelze stanovit bez znalosti jeho délky.*“

Primoinfekce a další rizika jsou v takovémto případě opravdu reálná, avšak při primárním vyšetření vzorku, který ani nevykazuje jednoznačné parametry úplně počáteční fáze infekce, navíc ještě při neznalosti délky těhotenství, je lepší šetřit poplašnými zprávami a raději nevyvolávat paniku výroky jako např.: „*Pravděpodobně akutní toxoplazmóza vzhledem k vysokým hodnotám IgM a IgA je riziko poškození plodu.*“ nebo „*Infekce plodu vysoce pravděpodobná.*“ Nesmíme však upadnout do opačného extrému a možné riziko ignorovat: „*Pozdní fáze infekce, případně anamnestické protilátky.*“ Kdo ví, co je to „*probíhající fáze infekce?*“

Tab. 4: KVALITATIVNÍ VÝSLEDKY STANOVENÍ VYBRANÝCH ROZHODUJÍCÍCH MARKERŮ TOXOPLASMOVÉ INFEKCE ve vzorcích D a E

Vzorek	D			E		
	IgA	IgM	IgE	IgA	IgM	IgE
Negativní	97,7%	99%	100%	1,3%	1%	
Hraniční	2,7%	1%		1,3%		
Pozitivní				97,3%	99%	100%

V poslední době se v populárním tisku stále častěji objevují zprávy o nebezpečnosti toxoplazmózy a tak se stává, že někteří pacienti jsou vyplašeni. Diagnostické laboratoře s tím však nemohou nic dělat: „*Možnosti našich dg. metod neskýtají schopnost vyjádřit se k nemoci šílených kotát.*“ „*K nemoci šílených kotát se nemohu vyjádřit.*“ „*Pacientka sice může být „šílené koté“, ale s toxoplasmou to nesouvisí.*“ „*Doporučujeme nečíst kontraverzní články bez odborných znalostí problematiky toxoplazmózy.*“

Podobně jako předchozí kolo zaměřené na vyšetřování těhotných žen bylo i EHK–763 možná až příliš snadné. Vážnější chyby, jako jsou kvalitativně nesprávné výsledky testů s důsledkem neodpovídající klasifikace statutu toxoplasmové infekce, byly ojedinělé. V jednom případě byly pravděpodobně způsobeny záměnou vzorků. Rozdíl mezi laboratořemi byly především ve správnosti interpretace z největší části správných výsledků. Nejčastějším nedostatkem

bylo, že v interpretaci chybělo vyjádření, zdali se v daném případě může jednat o toxoplasmovou primoinfekci v graviditě. Méně často zapomínali interpretující pracovníci vyjádřit se, zdali příznaky, které pacientka uvádí, mohou souviset s toxoplazmózou. Někdy byly tyto komentáře matoucí. Stržené body nebo půlbody za chyby nebo chybičky v interpretacích však měla jen asi třetina účastníků EHK–763.

V tomto kole 61,4 % laboratoří stanovuje celkové anti-toxoplasmické protilátky; v 85,5 % k tomuto účelu používají KFR, v 9,7 % NIFR a ve 4,85 % latexovou aglutinaci. Zbývajících 39 laboratoří **celkové protilátky nestanovuje**, za což jim je strháván 0,5 bodu/vzorek. Pracovníci laboratoří se s tím většinou (možná ne s radostí) smířili a 12,5 bodu berou za bezchybný výsledek. Už dost dlouho si na toto pravidlo nikdo nestěžoval, až zase v tomto kole: „*(celkové protilátky) KFR nie je vyžadované v rámci platnej legislatívy Slovenskej republiky ako súčasť sérolog. vyšetrenia na toxoplazmózu. Žiadam pri vyhodnocovaní zohľadniť tento fakt pre vzorky vyšetřované v SR. Prosím neodrátať body za nevykonanie vyšetrenia celkových protilátok...!*“ Nebudu zde opakovat notoricky známé důvody, proč stanovení celkových protilátek některou z metod (nemusí to být nutně KFR!) požadujeme. Ale ani dle platné legislativy České republiky není KFR povinné, takže i laboratoře, které tyto testy neprovádějí, mohou toxoplazmózu vyšetřovat a v EHK „*Sérologie toxoplazmózy*“ velmi dobře uspět. Při hodnocení EHK platí pro všechny stejná pravidla, hranice úspěšnosti se počítá z bodů udělených všem účastníkům. Vyhodnocování je anonymní a my nejsme schopni rozlišit, kdo ze slovensky píšících účastníků pracuje v České a kdo ve Slovenské republice. Je možné, že někteří čeští pracovníci by se raději naučili slovensky, než by prováděli KFR! Ale vážně: dobře víme, že bez ohledu na legislativu se KFR i na Slovensku běžně provádí a že zdaleka ne všichni slovensky píšící účastníci s ním mají problém – oproti česky píšícím pracovníkům tu není a nebude žádný rozdíl.

A na úplný závěr jako vždy **přehled použitých metod**. Data jsou od celkem 101 pracoviště, jedna laboratoř opomněla používané metody vypsat.

- **IgG** stanovuje 100 pracovišť pomocí celkem 14 systémů: TEST-Line (43 %), Liaison (11 %), Abbott (10 %), Roche (7 %), Biorad, Diasorin a Immulite (5 %), Access a Siemens (3 %) a dalších.
- **IgM** používá 99 pracovišť (16 systémů): TEST-Line (42,4 %), Liaison (11,1 %), Abbott (10,1 %), Roche (7,1 %), Platelia Biorad a Immulite (5,1 %), Siemens a Access (3 %) a další.
- **IgA** stanovují 73 pracovišť celkem deseti systémy: TEST-Line (75,3 %), Platelia Biorad (5,5 %), Chorus (4,1 %) a dalšími.
- **IgE** stanovují 42 pracoviště.

RNDr. Petr Kodým, CSc.

NRL pro toxoplazmózu, SZÚ-CEM