



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/4-2/2018 (č. 1034)
Sérologie toxoplazmózy

Praha, prosinec 2018

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/4/2018 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.

Příloha závěrečné zprávy, t.j. 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:** 31. 12. 2018**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/4-2/2018 - EHK 1034

Identifikace kola/cyklu:	PT # M/4-2/2018, EHK 1034
Název:	Sérologie toxoplazmózy
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:	60 ml od každého vzorku
Označení vzorkovnic:	EHK – 1034, PT # M/4-2, č. 1 – 5, 18. 9. 2018
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:	17.9. - 2. 10. 2018
Podmínky distribuce a uchovávání vzorků:	Distribuce v předepsaném obalu. Uchovávání vzorků v chladničce při teplotě 2 - 8 °C.
Počet účastníků:	98
Způsob distribuce:	Zasílání kurýrní službou účastnickým laboratořím v AP 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 vztažné 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. 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°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 lahvíček se šroubovacím uzávěrem a předán k rozeslání.

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

Vzorek EHK 1034	KFR Titr	IgG IP	IgA IP	IgM IP	IgE IP
A	1:8 Positivní	1,3 Positivní	0,1 Negativní	0,1 Negativní	0,1 Negativní
B	1:8 Positivní	1,6 Positivní	0,1 Negativní	0,2 Negativní	0,1 Negativní
C	1:8 Positivní	1,7 Positivní	0,1 Negativní	0,2 Negativní	0,1 Negativní
D	1:64 Positivní	4,6 Positivní	0,3 Negativní	0,3 Negativní	0,3 Negativní
E	1:256 Positivní	5 Positivní	1,5 Positivní	2,2 Positivní	0,7 Negativní

Vzorky byly rozeslány s tímto komentářem:

Vzorky pocházejí od žen ve věku 16-39 let, které dlouhodobě pravidelně obhospodařují záhony s ovocem a zeleninou v zahrádkářské kolonii „Kočíč zahrádka“ na kraji města. Prostor kolonie a okolí obývá početná populace toulavých koček. Poté, co se rozpoutala vášnivá diskuse o možnosti přenosu toxoplazmózy, začaly si ženy stěžovat na únavu, bolesti kloubů, zvýšené teploty, u některých se objevily zvětšené mízní uzliny a navštívily praktického lékaře. Ten požaduje sérologické vyšetření na toxoplazmózu (dg. B58.9).

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 69,4 % zúčastněných laboratoří. Pod oficiální hranici úspěšnosti v EHK 1034, stanovenou odečtením dvojnásobku směrodatné odchylky od průměru bodového ohodnocení, se dostala 3 (3,1 %) laboratoří (viz tabulka 1).

Certifikát o úspěšné účasti v EHK sérologie toxoplazmózy v roce 2018 dostanou ty laboratoře, které se zúčastnily obou letošních kol a získaly dohromady alespoň 83,9 bodů, což je 97 z 98 účastníků EHK 1003+1034. Maximálně možných 120 bodů dosáhlo 31,6 % a skóre 100 bodů 19,39% laboratoří. Maximální počet utekl 2 laboratořím o 1 bod. Naopak získal méně než 100 bodů řadí laboratoř do poslední třetiny a 98 bodů a méně do poslední čtvrtiny. Ohodnocení v intervalu 79-92 bodů znamená, že se laboratoř propadla do poslední osminy. **Celoroční výsledky jsou na bodovacím formuláři dopsány nad ohodnocením v EHK 1034.**

Tab. 1: Frekvence bodových ohodnocení laboratoří, které se zúčastnily EHK 1034

Bodů	Laboratoří	
	Počet	%
35	2	2,04 %
38	1	1,02 %
39	1	1,02 %
40	1	1,02 %
41	1	1,02%
42	4	4,08%
43	2	2,04 %
45	2	2,04%
46	4	4,08%
47	1	1,02%
48	3	3,06%
49	4	4,08%
50	31	18,37%
52	3	3,06%
57	1	1,02%
60	37	37,76%
CELKEM	98	100 %

HRANICE ÚSPĚŠNOSTI: 38,5 BODU
SMĚRODATNÁ ODCHYLKA: 6,9
PRŮMĚR: 52,3 BODU

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

v následujícím textu.

Vzorky A, B, C a D jsou sérologicky jsou sérologicky pozitivní – byly zde zjištěny nízké (A+B+C) nebo i vyšší (D) titry celkových antitoxoplasmických protilátek. Hladiny antitoxoplasmických IgG byly nízké, obzvláště u vzorku A, kde se blížily detekčnímu limitu některých testů. Naproti tomu u vzorku D byly hlášeny i poměrně vysoké hladiny specifických IgG (viz tab. 2). Specifické IgM, IgA ani IgE (tab. 3) nebyly prokázány. Séropositivita svědčí o infekci *Toxoplasma gondii* (interpretace I = "S"), má však charakter anamnestických protilátek přetrvávajících po toxoplazmóze prodělané před delším časem, forma infekce se v současnosti jeví jako latentní (interpretace II = "L"). Souvislost mezi uváděnými subjektivními obtížemi a toxoplazmózou je tudíž nepravděpodobná.

Vzorek E s vysokým titrem celkových antitoxoplasmických protilátek a s jednoznačně pozitivními hladinami IgM, IgA a někde i IgE reprezentoval akutní toxoplazmózu (interpretace I = "A"; případně i „PA“). S akutní toxoplazmózou se pojí i klinické příznaky (interpretace II = „K“), takže je

pravděpodobné, že uváděné subjektivní obtíže mají toxoplasmovou etiologii a interpretace II = „L“ nezbyvá než brát jako nesprávné.

Pokud laboratoře stanovovaly aviditu IgG, byla, na rozdíl od vzorků A-D, zpravidla nízká.

Tab. 2: Titry KFR, které udávají zúčastněné laboratoře (celkem: 41 pracoviště), u jednotlivých vzorků EHK 1034 a kvalitativní výsledky stanovení IgG (v mezinárodních jednotkách - celkem: 83 pracoviště) zjištěné v okružních vzorcích.

KFR-titr	A	B	C	D	E
0	15%	5%	2,44%		
4	10%	2,5%	2,44%		
8	72,5%	80%	82,93%		
16	2,5%	12,5%	12,2%	2,44%	
32				19,51%	
64				60,98%	2,44%
128				14,63%	17,07%
256				2,44%	63,41%
512					17,07%
IgG-IU/ml					
Minimum	0,6	1,15	1,3	3,56	4,1
Medián	7	11,5	15,4	109	197
Průměr	11,4	25	23,1	121,5	231,1
Maximum	87,8	759	136,4	598	1706

Toto kolo EHK bylo nebylo vůbec obtížné a skoro všechny laboratoře potvrdily, že s diagnostikou akutní toxoplazmózy nemají žádný problém. Některé možná trochu zmátlo, že zde tentokrát nebyl žádný negativní vzorek. Zdá se, že u žen, které pravidelně obhospodařují záhony v zahrádkářské kolonii „Kočí z zahrádka“, je prevalence toxoplazmózy vysoká, ale 5 vzorků je málo na vyvození závěrů ohledně zdroje infekce.

Nejproblematictější byl vzorek A s velmi nízkou hladinou antitoxoplasmických protilátek, který pětina laboratoří prohlásila za negativní. Pozor na citlivost testů! Od negativních výsledků se potom odvíjejí i nesprávné interpretace I i II „N“. Mnohem méně pochopitelné mi připadají interpretace II „K“ u vzorků A, B a C (u vzorku D se přeci jen jistý náznak logiky najít dá) při negativním výsledku stanovení IgM nebo dokonce všech tříd protilátek.

Tab. 3: Kvalitativní výsledky stanovení markerů toxoplasmové infekce ve vzorcích EHK 1034.
„N“ udává počet laboratoří, které daný marker vyšetřují a výsledky do protokolu uvedly.

Marker	Výsledek	A	B	C	D	E
CELKOVÉ PROTILÁTKY N=53	Negativní	21,57%	5,77%	1,89%		
	Hraniční	3,92%				
	Positivní	74,51%	94,23%	98,11%	100%	100%
IgG N=98	Negativní	19,39%			1,02%	
	Hraniční	19,39%	1,02%			
	Positivní	61,22%	98,98%	100%	98,98%	100%
IgM N=98	Negativní	100%	100%	100%	98,98%	1,02%
	Hraniční					1,02%
	Positivní				1,02%	97,96%
IgA N=69	Negativní	100%	100%	98,48%	92,42%	1,45%
	Hraniční			1,52%	4,55%	7,25%
	Positivní				3,03%	91,3%
IgE N=40	Negativní	100 %	100 %	100 %	100 %	57,5%
	Hraniční					35%
	Positivní					7,5%

Tab. 4: Interpretace I a II, které udávají zúčastněné laboratoře (N=98) u jednotlivých vzorků EHK 1034.

		A	B	C	D	E
INTERPRETACE I	N	20,62%				
	S	79,38%	100%	100%	93,88%	
	A					64,29%
	PA				6,12%	35,71%
INTERPRETACE II	N	21,65%	1,03%	1,02%	1,02%	
	K	2,06%	3,09%	3,06%	11,22%	97,96%
	L	76,29%	95,88%	95,92%	87,76%	2,04%
	G+					
	G-					
	O+					
	O-					

A na závěr tradiční přehled použitých metod:

V tomto kole 53 (54,1 %) laboratoří stanovuje **celkové antitoxoplasmické protilátky**; z nichž 77,4 % uvádí, že k tomuto účelu používají KFR, 11,3 % NIFR a 9,4 % latexovou aglutinaci.

IgG stanovují všechna pracoviště, a to s pomocí celkem 15 systémů: TEST-Line (29,6 %), Diasorin (9,2 %)+Liaison (11,4 %), Abbott (20,4 %), Access a Platelia Biorad, (4,1%), Diesse, Roche, Siemens a Novatec (3,1%) a dalších.

Testy na **IgM** používají rovněž všechna pracoviště (14 systémů): TEST-Line (27,6 %), Liaison a Abbott (20,4 %), Access a Biorad (4,1%), Cobas, Euroimmun, Novatec, Roche a Siemens (3,1 %) a další.

IgA stanovuje 69 (70,4%) pracovišť celkem 10 systémy, z nichž nejpoužívanější jsou TEST-Line (69,6 %), Diesse (7,3 %), Euroimmun (5,8%) Biorad a Chorus Line (4,4%); zbývající používají vždy jen 1-2 laboratoře.

IgE stanovuje 40 (40,8) % pracovišť.

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