



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel 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/30/2016 (č.940)

**Mikroskopická diagnostika tropických
tkáňových parazitóz**

Praha, říjen 2016

Obsah

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

Program zkoušení způsobilosti PT#M/30/2016 byl zaměřen na mikroskopickou diagnostiku tropických tkáňových parazitóz. Návrh a realizace PT#M/30/2016 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/30 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 způsobilosti č. 7001.

S veškerými informacemi dodanými účastníky je zacházeno jako s důvěrnými a nejsou bez souhlasu účastníka poskytovány třetím stranám.

Nedílnou součástí závěrečné zprávy je výsledkový protokol jednotlivé laboratoře.

Za správnost výsledků ručí koordinátor příslušného cyklu EHK.

Koordinátor:

MUDr. Barbora Macková
ESPT SZÚ Praha

Zprávu vypracoval:

RNDr. Eva Nohýnková, Ph.D. (Oddělení tropické medicíny, ÚIM 1. LF UK)
Tel: 224 968 525

Zprávu schválil: MUDr. Barbora Macková

Dne: 18. října 2016

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/30/2016

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/30/2016
Název:	Mikroskopická diagnostika tropických tkáňových parazitóz
Poskytovatel:	SZÚ - ESPT Šrobárova 48, Praha 10, 100 42
Vedoucí ESPT	Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor:	MUDr. Barbora Macková
Subdodavatel:	Oddělení tropické medicíny, ÚIM, 1. LFUK, Studničkova 7, 128 00 Praha 2, RNDr. Eva Nohýnková, PhD.
Charakteristika materiálu:	8 mikroskopických preparátů (5 vzorků)
Podstata a účel PT/EHK:	Nalézt a identifikovat původce tropických tkáňových parazitóz, zejména malárie, na mikroskopických preparátech zhotovených z klinického materiálu a interpretovat výsledek.
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Znalost a technické vybavení pro identifikaci původců tropických tkáňových parazitóz na mikroskopických preparátech
Způsob přípravy:	Výchozím materiálem je krev pro průkaz malarických plasmodií. Z krve jsou připraveny krevní roztěry, tenký nátěr a tlustá kapka. Vzorek představuje jeden až dva mikroskopické preparáty (podle popisu v legendách ke každému vzorku).
Množství připravovaného test. materiálu:	pro 30 laboratoří
Označení vzorkovnic:	ESPT SZÚ PT # M/30/2016 – EHK 940 Mikroskopická diagnostika tropických tkáňových parazitóz
Zabezpečení kvality vzorku:	Je zajištěna příprava vzorků za aseptických podmínek. Materiál je zpracován tj. preparáty jsou zhotoveny a dále zpracovány (fixace, barvení) okamžitě po odběru. Kromě tlusté kapky jsou po zaschnutí všechny preparáty fixovány metanolem. Všechny preparáty rozesílané v dané sérii jsou mikroskopicky zkontrolovány, zda obsahují cílový marker a zda je identifikovatelný v odpovídající kvalitě.
Návaznost metody:	klinický materiál
Termín testu homogenity a stability:	Všechny preparáty před distribucí vzorků a náhodně vybrané preparáty po termínu jednotného zahájení odečítání všemi účastníky.
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	Přeprava a uchování trvalých mikroskopických preparátů dlouhodobě při pokojové teplotě.
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe
Počet účastníků:	26 laboratoří
Termín distribuce:	6. 9. 2016
Způsob distribuce:	Rozvoz přepravní službou Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	písemně do 28. 9. 2014 na předepsaných formulářích
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Za vztažnou hodnotu je považován výsledek získaný odd. trop. medicíny
Způsob vyhodnocení výsledků:	Bodování pro identifikaci je provedeno ve stupnici 3, 2, 1 a 0 bodů.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Aritmetický průměr výsledků účastníků +/-2 směrodatné odchylky od průměru celkově získaných bodů
Termín rozeslání zprávy účastníkům:	Říjen 2016

2. Příprava vzorků

Vzorky byly připraveny na pracovišti subdodavatele – Oddělení tropické medicíny (dále OTM), ÚIM, 1. LF UK, Studničkova 7, 128 00 Praha 2, RNDr. Eva Nohýnková, Ph.D.. Vzorky jsou připravovány průběžně dle SOP M/30. Vzorky byly rozeslány do 26 laboratoří, výsledky odevzdalo 23 laboratoří.

Simulované klinické vzorky pro EHK byly připraveny z žilní krve pacientů. Žilní krev odebraná do EDTA nebo do citrátu byla zpracována do dvou hodin po odběru dle rutinního postupu přípravy nátěrů pro vyšetření krevních parazitů.

Každý vzorek tvoří vždy 1-2 podložní skla (jeden fixovaný a barvený tenký nátěr z 5 µl žilní krve a jedna nefixovaná a barvená tlustá kapka).

Kromě tlusté kapky byly po zaschnutí všechny preparáty fixovány metanolem (5 minut). Všechny preparáty vč. tlusté kapky byly následně barveny roztokem Giemsa-Romanowski.

Každý preparát dané série byl mikroskopicky vyšetřen a zkontrolován, zda obsahuje cílový marker a zda je identifikovatelný v odpovídající kvalitě.

Trvalé mikroskopické preparáty jsou uchovávány dlouhodobě při pokojové teplotě.

Vzorky (podložní skla s mikroskopickými preparáty) byly označeny a uloženy do přepravní krabice a pracovníky OTM přepraveny z OTM do SZU.

Vzorky (podložní skla s mikroskopickými preparáty) jsou označeny pořadovým číslem 1 – 5, číslem EHK a datem rozeslání a umístěny do přepravního umělohmotného boxu na podložní skla. Až do distribuce účastníkům EHK následující den byly uskladněny při pokojové teplotě. Přeprava vzorků je zajišťována přepravcem.

3. Hodnocení

Maximálně dosažitelný počet bodů: 15

Vzorek č. 1: *Plasmodium vivax*

parazitémie: 0,008%

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za nenalezení plasmodií; 2 body za chybné určení druhu;
1 bod za každý další falešně pozitivní nález plasmodií, 2 body
za falešně pozitivní nález jiného původce

Vzorek č.1/ výsledky	<i>P. vivax</i>	<i>P. falciparum</i>	<i>Plasmodium</i> sp.	NEGATIVNI
Počet laboratoří	20	1	1	1

Vzorek č. 2: *Plasmodium falciparum*

parazitémie: 0,26%

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za nenalezení plasmodií; 2 body za chybné určení druhu;
1 bod za každý další falešně pozitivní nález plasmodií, 2 body
za falešně pozitivní nález jiného původce

Vzorek č.2/ výsledky	<i>P. falciparum</i>
Počet laboratoří	23

Vzorek č. 3: *Plasmodium vivax*

parazitémie: 0,25%

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za nenalezení plasmodií; 2 body za chybné určení druhu;
1 bod za každý další falešně pozitivní nález plasmodií, 2 body
za falešně pozitivní nález jiného původce

Vzorek č.3/výsledky	<i>P. vivax</i>
Počet laboratoří	23

Vzorek č. 4: NEGATIVNÍ

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za každý falešně pozitivní nález

Vzorek č.4/ výsledky	NEGATIVNÍ
Počet laboratoří	23

Vzorek č. 5: *Plasmodium falciparum*

parazitémie: 0,8%

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za nenalezení plasmodií; 2 body za chybné určení druhu;
1 bod za každý další falešně pozitivní nález plasmodií

Vzorek č.5/výsledky	<i>P. falciparum</i>
Počet laboratoří	23

U všech pozitivních vzorků byl výpočet parazitémie hodnocen.

Vzorek č.	1	2	3	5
Parazitémie (%)	0,008	0,26	0,25	0,8
Rozptyl správných výsledků (%)	0,001 – 0,03	0,05 – 0,5	0,1 – 0,5	0,16 – 1,45
Chybné výsledky (%)		1,59; 1,6	1,5	0,06

KOMENTÁŘ

Čtyři vzorky v této sérii byly od pacientů s malárií: vzorky 1 a 3 s benigní terciánou *P. vivax*, vzorky 2 a 5 s tropickou malárií (maligní terciánou). Vzorek č. 4 byl negativní. Tímto kolem prošly všechny zúčastněné laboratoře.

Vzorek č. 1

Kromě jedné, všechny zúčastněné laboratoře u pacienta prokázaly malárii. Správně *P. vivax* určilo 20 laboratoří, jedna laboratoř určila jako původce *Plasmodium falciparum*, jedna laboratoř druh neurčila a jedna laboratoř vydala negativní výsledek. Vzhledem k návodné legendě, která jasně uvádí, že pacient prodělal po návratu z poslední cesty malárii a, aniž by opět vycestoval, přichází s podezřením na malárii, které se potvrdilo, je nákaza *P. falciparum* extrémně nepravděpodobná resp. čistě teoretická (úvaha o tom, v jakém případě by se teoreticky mohlo o tropickou malárii jednat, není účelem EHK). V tomto případě navíc, i když jde o nízkou parazitémii, jsou v TK jasně identifikovatelná „velká“ stádia druhu *P. vivax* se zřetelnými hemozoinovými krystaly. Proto nemůže jít ani o původce kvartány, který v poznámce zvažovala jiná laboratoř: *P. malariae* takto velká stádia netvoří. Laboratoř, která neurčila druh, v poznámce správně předpokládala, že jde o *P. vivax*, ale poznámka se nehodnotí; navíc není správně, že v oblasti Papua N. Guinea je výskyt *P. vivax* minoritní, naopak tento druh je v dané oblasti častý, dokonce se sklonem k rezistenci na Lariam a se sníženou citlivostí k Primachinu. Pokud se týká parazitémie, výpočet se u tohoto vzorku pohyboval v rozmezí od 0,001 do 0,03%. V rámci tolerovatelné chyby parazitémii určily všechny laboratoře.

Vzorek č. 2

Vzorek č. 2 pocházel z nákazy *Plasmodium falciparum* se střední parazitémií. Tropickou malárii u pacienta prokázalo všech 23 laboratoří. Parazitémie u tohoto vzorku se pohybovala v rozmezí 0,05 - 1,6%. Dvě laboratoře uvedly hodnoty vyšší než 1,5%, což naznačuje, že do výpočtu zahrnovaly i útvary, které nebyly stádii plasmodií. Tyto laboratoře za výpočet parazitémie ztratily 1 bod.

Vzorek č. 3

Nákazu *Plasmodium vivax* v tomto vzorku správně prokázaly rovněž všechny laboratoře. Parazitémie se v případě tohoto vzorku pohybovala mezi 0,1 – 0,5%. Jedna laboratoř uvedla hodnotu 1,5%, což opět poukazuje na chybně započítané neparazitární útvary, a tedy chybnou determinaci plasmodií.

Vzorek č. 4

Tento vzorek byl negativní, což správně určily všechny laboratoře.

Vzorek č. 5

Tento vzorek byl opět od pacienta s nákazou *Plasmodium falciparum* a i zde všechny zúčastněné laboratoře vydaly správný výsledek. Rozptyl výpočtu parazitémie byl mezi 0,06 – 1,45%. Vzhledem k parazitémii, která ve skutečnosti je přibližně 1%, je zřejmé, že laboratoř, která vypočetla 0,06% parazitémii, nemá velkou jistotu v identifikaci stádií *P. falciparum*.

Číslo vzorku	Druh parazita	Vývojové stádium	Parazitémie
1	<i>Plasmodium vivax</i>	C, D, E	0,008%
2	<i>Plasmodium falciparum</i>	C	0,26%
3	<i>Plasmodium vivax</i>	C, D, E	0,25%
4	NEGATIVNÍ		
5	<i>Plasmodium falciparum</i>	C	0,8%

PŘEDBĚŽNÉ VÝSLEDKY HODNOCENÍ 23 ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

Počet bodů	11	12	13	14	15
Počet laboratoří	1	1	1	2	18

Průměr = 14,52

Standardní odchylka = 3,42

Limit splnily všechny laboratoře.*Důležité upozornění !!!*

Pokud je některá laboratoř přesvědčena a může doložit, že byla hodnocením poškozena, může adresovat svou žádost o revizi výsledku písemně AP CEM SZÚ nejpozději do 15.1.2017. Na žádosti, označené pouze kódem laboratoře, nikoliv jménem či adresou pracoviště, stručně uveďte podstatu vašeho problému. Případy, kdy bude nutno mikroskopicky konzultovat sporné vzorky, budou jednotlivě řešeny během ledna 2017 nezávislými externími konzultanty.

Vypracovala: RNDr. Eva Nohýnková, Ph.D.