



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/30/2019 (č. 1086)

**Mikroskopická diagnostika tropických
tkáňových parazitóz**

Praha, prosinec 2019

Obsah

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

Program zkoušení způsobilosti PT#M/30/2019 byl zaměřen na mikroskopickou diagnostiku tropických tkáňových parazitóz. Návrh a realizace PT#M/30/2019 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.

Příloha závěrečné zpráva, tj. výsledkový protokol, je rozesílána poštou.

Za správnost výsledků ručí koordinátor příslušného cyklu EHK.

Koordinátor: MUDr. Barbora Macková

Tel. 267 082 101



Zprávu vypracoval:

RNDr. & M.Res. Lenka Richterová Ph.D. (Oddělení klinické mikrobiologie -Parazitologie, NNB)
Tel: 266 084 303

Zprávu schválil: MUDr. Barbora Macková

Dne: 23. 12. 2019

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/30/2019

Identifikace kola/cyklu:	PT#M/30/2019, EHK 1086
Název:	Mikroskopická diagnostika tropických tkáňových parazitůz
Poskytovatel:	SZÚ - ESPT Šrobárova 48, Praha 10, 100 42
Vedoucí ESPT	Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor:	MUDr. Barbora Macková
Subdodavatel:	Oddělení klinické mikrobiologie - Parazitologie, NNB, Budínova 67/2, 180 81 Praha 8, RNDr.& M.Res. Lenka Richterová Ph.D.
Charakteristika materiálu:	8 mikroskopických preparátů (5 vzorků)
Podstata a účel PT/EHK:	Nalézt a identifikovat původce tropických tkáňových parazitůz, zejména malárie a leishmáníoz, 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 parazitůz 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). Výchozím materiálem u leishmánie je kostní dřev a biopsie kůže, vzorky představují barvený roztěr a řez tkání HE.
Množství připravovaného test. materiálu:	pro 25 laboratoří
Označení vzorkovnic:	EHK 1086, PT # M/30, č. 1 – 5, 3. 9. 2019
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:	19 laboratoří
Termín distribuce:	3. 9. 2019
Způsob distribuce:	Rozvoz přepravní službou Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	písemně do 24. 9. 2019 na předepsaných formulářích
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Za vztažnou hodnotu je považován výsledek získaný NNB – OKM - Parazitologie
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 uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 12 týdnů po obdržení výsledků k hodnocení

2. Příprava vzorků

Vzorky byly připraveny na pracovišti subdodavatele - Oddělení klinické mikrobiologie - Parazitologie, NNB, Budínova 67/2, 180 81 Praha 8, RNDr. & M.Res. Lenka Richterová Ph.D. Vzorky jsou připravovány průběžně dle SOP M/30. Vzorky byly rozeslány do 19 laboratoří, výsledky odevzdalo 19 laboratoří.

Simulované klinické vzorky malárie 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. Simulované klinické vzorky leishmánie pro EHK byly připraveny z punktátu kostní dřeně a z biopsie kůže.

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). V případě vzorku kostní dřeně na leishmánie jde o jedno podložní sklo s barveným tenkým nátěrem. U vzorku kožní biopsie na leishmánie jde o tenký řez barvený HE.

Kromě tlusté kapky byly po zaschnutí všechny krevní preparáty fixovány metanolem (5 minut). Všechny krevní 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 OKM NNB přepraveny z OKM NNB do SZÚ.

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: NEGATIVNÍ

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za každý falešně pozitivní nález

Vzorek č.1/ výsledky	NEGATIVNÍ	<i>Leishmania</i>	<i>Pneumocystis carinii</i>
Počet laboratoří	15	3	1

Vzorek č. 2: *Leishmania sp.*

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za každý falešně negativní nález, 1 bod za určení druhu, které není mikroskopicky možné.

Vzorek č.1/ výsledky	<i>Leishmania sp.</i>	<i>L. infantum</i>	negativní
Počet laboratoří	14	1	4

Vzorek č. 3: *Plasmodium falciparum*

parazitémie: **0,29%**

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, 1 bod za chybnou parazitémii

Vzorek č.3/výsledky	<i>P. falciparum</i>
Počet laboratoří	19

Vzorek č. 4: *Plasmodium vivax*

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.4/ výsledky	<i>P. vivax</i>	<i>P.malariae</i>
Počet laboratoří	17	2

Vzorek č. 5: NEGATIVNÍ

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za každý falešně pozitivní nález

Vzorek č.5/výsledky	NEGATIVNÍ
Počet laboratoří	19

Parazitémie u vzorků pozitivních na malárii:

Vzorek č.	3	4
Parazitémie (%)	0,29	1,62
Rozptyl správných výsledků (%)	0,1 – 0,6	0,7 – 1,31
Chybné výsledky (%)	0,02-0,04 a 2,8	0,04-0,68

KOMENTÁŘ

Dva vzorky v této sérii byly od pacientů s malárií, jeden od pacientky s kožní leishmaniózou, jeden od pacienta s listeriózou a jeden od pacienta s febrilním stavem po návratu ze Středoafričské republiky. Všechny vzorky byly před zařazením do série EHK určeny mikroskopicky a potvrzeny pomocí PCR. Tímto kolem neprošla jedna zúčastněná laboratoř.

Vzorek č. 1

15 laboratoří tento vzorek kostní dřevě správně určilo jako na parazity negativní. 3 laboratoře chybně v nátěru popsaly amastigoty leishmánie. Falešně pozitivní odečet viscerální leishmaniózy je obzvláště závažná chyba, která by mohla vést k nasazení pro pacienta extrémně zatěžující a nákladné léčbě. Jedna laboratoř dokonce v kostní dřevě popsala cysty *Pneumocystis carinii*.

Jednalo se o HIV+ pacienta, který se neléčil a toho času byl ve stádiu AIDS. Pro cestovatelskou anamnézu, ve které bylo Řecko, febrilie, anémie a trombocytopenie bylo indikováno vyšetření kostní dřevě na leishmánie. U pacienta byla leishmanióza vyloučena a ten zemřel o 6 týdnů později na následky listeriové sepsy.

Vzorek č. 2

14 laboratoří tento vzorek správně určilo jako *Leishmania sp.*, jedna laboratoř jako *Leishmania infantum*, kde určení druhu na základě mikroskopie je bráno jako chyba, jelikož není možné a 4 laboratoře amastigoty v tkáni nenašly.

Jednalo se o pacientku, která měla v cestovatelské anamnéze před 4 měsíci pobyt v Chorvatsku, kde byla poštipána hmyzem. Na ruku a hrudníku nyní pozorovala léze, ze kterých byla provedena biopsie. Materiál byl zpracován k histologickému vyšetření, kde byli potvrzeni masivně amastigoti leishmánie. Pro degradaci materiálu při fixaci bohužel již nebylo z parafinového bločku možno vyizolovat DNA v potřebné kvalitě pro sekvenční dourčení leishmanie do druhu. Při odběrech tkání pro diagnostiku leishmání proto vždy doporučujeme část materiálu nefixovat pro pozdější možnost molekulární diagnostiky.

Vzorek č. 3

Všech 19 laboratoří správně určilo tento vzorek jako *P. falciparum*. 16 z 19 laboratoří navíc i správně určilo parazitémii v širokém limitu tolerance.

Jednalo se o pacienta ze Sierra Leone, který se právě vrátil z pobytu v Sierra Leone. Pro zvracení, zimnice, horečky a třesavky byl přivezen RZS. Pacient je HIV+ a při pobytu v Africe nepoužíval antimalarickou profylaxi. Šlo o nákazu *P. falciparum* se vstupní parazitémií 0,29%, trombocytopenií a vstupní dehydratací a alterací renálních parametrů. Pacient byl po 5ti denní hospitalizaci na perorální

léčbě Riametem propuštěn do péče PL. Nepoužívání antimalarické profylaxe u pacientů z endemických oblastí při návštěvách rodiny je velice časté a tito pacienti tvoří nemalou část malarických pacientů v ČR.

Vzorek č. 4

V tomto případě 17 laboratoří správně našlo *P. vivax*, 2 laboratoře chybně určilo jako *P. malariae*. 11 laboratoří i správně určilo parazitémii v širokém rozsahu tolerance.

Jednalo se o pacientku po návratu z Íránu s bohatou cestovatelskou anamnézou (J Amerika, Afrika a Asie). Pacientka byla přijata pro febrilii, bolest hlavy, bolest kloubů a schvácenost. Diagnóza *P. vivax* se vstupní parazitémií 1,62%. Pacientka léčená perorálně Riametem s antirelapsovým zajištěním Primaquinem léčbu dobře tolerovala. U použití Primaquinu je vždy třeba nejdříve vyšetřit aktivitu glukóza-6-fosfát dehydrogenázy pro předejití hemolytických komplikací u pacientů se sníženou aktivitou tohoto enzymu.

Vzorek č. 5

Tento vzorek jakož na malárii negativní určilo správně všech 19 laboratoří.

Jednalo se o pacienta s febrilií po návratu ze Středoafričké republiky. Pro cestovatelskou anamnézu a trombocytopenii ve vstupních odběrech bylo indikováno vyšetření na malárii. U tohoto pacienta však šlo o symptomy spojené s probíhající gastroenteritidou.

Číslo vzorku	Druh parazita	Vývojové stádium	Parazitémie
1	NEGATIVNÍ		
2	<i>Leishmania sp.</i>	A	
3	<i>Plasmodium falciparum</i>	C	0,29%
4	<i>Plasmodium vivax</i>	CDE	1,62%
5	NEGATIVNÍ		

PŘEDBĚŽNÉ VÝSLEDKY HODNOCENÍ 19 ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

Limit nesplnila jedna laboratoř.

Počet bodů	15	14	13	12	10	9	8
Počet laboratoří	6	6	1	2	1	2	1

Průměr = 13

Standardní odchylka = 4,66

Důležité upozornění !!!

Pokud je některá laboratoř přesvědčena a může doložit, že byla hodnocením poškozena, může adresovat svou žádost o revizi výsledku písemně nebo telefonicky na AP CEM SZÚ do 14 dnů po obdržení výsledku. 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 2020 nezávislými externími konzultanty.

V případě reklamací vyhodnocení série prosím postupujte dle reklamačního řádu.