



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001 akreditovaný ČIA
podle ČSN EN ISO/IEC 17043: 2010
Šrobárova 49/48, 100 00, Praha 10



Závěrečná zpráva

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii
(Externí hodnocení kvality)

PT#M/19-2/2021 (EHK 1222)

Parazitologie střevní

Praha, prosinec 2021

Obsah

1.	Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2.	Způsob přípravy vzorků	4
3.	Charakteristika materiálu	4
4.	Způsob hodnocení	4
5.	Vyhodnocení	4
6.	Závěr	9
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/19-2/2021 byl zaměřen na mikroskopickou diagnostiku střevních parazitóz. Návrh a realizace PT#M/19-2/2021 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/19 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 zkoušení způsobilosti č. 7001.

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

Za správnost výsledků ručí koordinátor příslušného cyklu EHK.

Příloha závěrečné zprávy, tj. ohodnocený výsledkový protokol, je rozesílána poštou.

Zprávu vypracoval:

RNDr. Zuzana Hůzová (NRL pro diagnostiku střevních parazitóz)

Zprávu autorizoval:

MUDr. Jana Kozáková (vedoucí pracoviště 2 ESPT)

Tel. 267 082 260

Dne: 10.12.2021

Pracoviště 2 ESPT

ehk@szu.cz

<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>

Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT#M/19-1/2021

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1222
Název:	Parazitologie střevní
Koordinátor:	MUDr. Jana Kozáková
Subdodavatel:	NRL pro diagnostiku střevních parazitóz, Zdravotní ústav se sídlem v Praze – oddělení parazitologie, mykologie a mykobakteriologie, Sokolovská 60, 186 00 Praha 8 – Karlín, vedoucí RNDr. Zuzana Hůzová.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3.
Podstata a účel PT/EHK:	Ověřit schopnost účastníků nalézt a identifikovat původce střevních parazitóz, zejména střevních helmintů a protozoí, v mikroskopických preparátech a vzorcích fixovaných formalínem zhotovených z klinického materiálu a interpretovat výsledek.
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Znalost a technické vybavení pro identifikaci původců střevních parazitóz
Způsob přípravy:	Vzorky obsahující vývojová stádia střevních helmintů byly předčištěny, zkoncentrovány a fixovány 4% formalinem. Před použitím byla koncentrace parazitárních agens ve vzorku upravena na požadovanou hodnotu. Ze vzorků, které obsahují vývojová stádia střevních prvoků byly zhotoveny sady preparátů určených k detekci střevních prvoků
Množství připravovaného test. materiálu:	cca pro 70 laboratoří
Označení vzorkovnic:	EHK 1222, PT # M/19-2, č. 1 – 5, 26. 10. 2021
Zabezpečení kvality vzorku:	je zajištěna okamžitými manipulacemi za sterilních podmínek, vhodnou fixací preparátů a vzorků
Testu homogenity a stability:	Náhodně vybrané preparáty a vzorky před distribucí vzorků a po termínu jednotného zahájení testování všemi účastníky
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	přeprava a krátkodobé uchování při pokojové teplotě chránit před světlem
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe
Počet účastníků:	59 laboratoří
Termín distribuce:	26. 10. 2021
Způsob distribuce:	Rozvoz přepravní službou Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	písemně do 16. 11. 2021 na předepsaných formulářích
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Směrodatná odchylka je rovna odmocnině z rozptylu: $\sigma = \sqrt{\text{Var}(X)}$
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Za vztažnou hodnotu je považován výsledek získaný v NRL.
Termín uveřejnění očekávaných výsledků:	26.11.2021
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 8.2.2021

2. Způsob přípravy vzorků

Vzorky byly připraveny na pracovišti subdodavatele – v Národní referenční laboratoři pro diagnostiku střevních parazitóz, Zdravotní ústav se sídlem v Praze, Oddělení parazitologie, mykologie a mykobakteriologie Praha, Sokolovská 60, 186 00 Praha 8 – Karlín, vedoucí RNDr. Zuzana Hůzová v termínu od 1. 8. 2021 do 1. 10. 2021 dle SOP M/19.

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků byly vzorky stolic pacientů, které obsahovaly vývojová stádia střevních helmintů nebo protozoí.

Vzorky obsahující vývojová stádia střevních helmintů byly předčištěny, zkoncentrovány a fixovány 4% formalinem. Před použitím byla koncentrace parazitárních agens ve vzorku upravena na požadovanou hodnotu. Vzorky byly rozplněny do zkumavek typu eppendorf po 0,5 ml.

Ze vzorků, které obsahují vývojová stádia střevních prvoků, byly zhotoveny sady obarvených preparátů připravených k detekci střevních prvoků.

Stabilita vzorků s vývojovými stádii helmintů byla zajištěna fixací ve formalinu.

Stabilita vzorků s vývojovými stádii prvoků byla zajištěna zhotovením suchých nátěrů.

Kvalita vzorků byla zaručena okamžitým zpracováním klinického materiálu. Výchozí materiál i oba dva druhy vzorků byly před použitím testovány na přítomnost cílových markerů. Byla kontrolována jejich četnost a přítomnost základních diagnostických morfologických znaků i po termínu distribuce účastníkům.

Vzorky byly označeny a uloženy do přepravní krabice a dopravní službou přepraveny z NRL pro diagnostiku střevních parazitóz do SZÚ. Zde byly uskladněny při pokojové teplotě až do distribuce účastníkům EHK následující den.

Před distribucí byly vzorky označeny pořadovým číslem 1 – 5, číslem EHK, datem rozeslání a balení vzorků obsahovalo tři vrstvy. Ke vzorkům byl přiložen průvodní dopis s pokyny od subdodavatele a výsledkový protokol. Přeprava vzorků byla zajištěna přepravním dle regulí ADR pro silniční přepravu.

3. Charakteristika materiálu

2 fixované vzorky k detekci střevních helmintů, 2 preparáty k obarvení na oocysty kokcií, 1 preparát obarvený Gomori trichromem nebo modifikovaným hematoxylinem

4. Způsob hodnocení

Bodování pro identifikaci je provedeno ve stupnici 2, 1 a 0 bodů. Laboratoř úspěšně absolvuje cyklus EHK, pokud dosáhne bodového limitu za identifikaci všech přítomných patogenních i nepatogenních agens pro daný cyklus, který se vypočítává dle vzorce (Limit = aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky).

Maximální dosažitelný počet bodů:

První část (stolice): 4 body

Druhá část (roztěry): 8 bodů

5. Vyhodnocení

Stolice: rozesílány dva vzorky fixované ve formalinu

A. vajíčka *Clonoschis sinensis*/*Opistorchis* četnost B

B. vajíčka *Taenia* sp. četnost B

maximální počet bodů za správný výsledek = 4 body

odečítají se: -2 body za nenalezený druh, -2 body za každý falešně pozitivní nález

Roztěry: rozesílány dva nefixované roztěry k obarvení na oocysty kokcií a 1 trvalý preparát k identifikaci jednobuněčných organismů připravený z roztěrů stolic barvených Gomori trichromem nebo hematoxylinem podle Dobella.

C. cysty *Entamoeba histolytica/dispar* četnost C

cysty *Chilomastix mesnili* četnost A

cysty *Entamoeba coli* četnost ((C)) - nehodnoceno

D. oocysty *Cryptosporidium* sp četnost A

E. negativní

maximální počet bodů za správný výsledek = 8 bodů

odečítají se: -2 body za nenalezený druh, -2 body za každý falešně pozitivní nález, -1 bod za neúplnou identifikaci (*Entamoeba histolytica/dispar*)

Tabulka správných výsledků

Druh materiálu	Kód vzorku	Druh (rod) parazita	stádium	rozměry v μm	četnost
Stolice	A	<i>Clonorchis sinensis</i>	A	30x12 μm	B
	B	<i>Taenia</i> sp.	A	31 μm	B
Roztěry	C	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	E	12,5 μm	C
		<i>Chilomastix mesnili</i>	E	10x5 μm	A
		<i>Entamoeba coli</i>	E	15 μm	((C))
	D	<i>Cryptosporidium</i> sp.	G	5 μm	A
	E	Negativní			

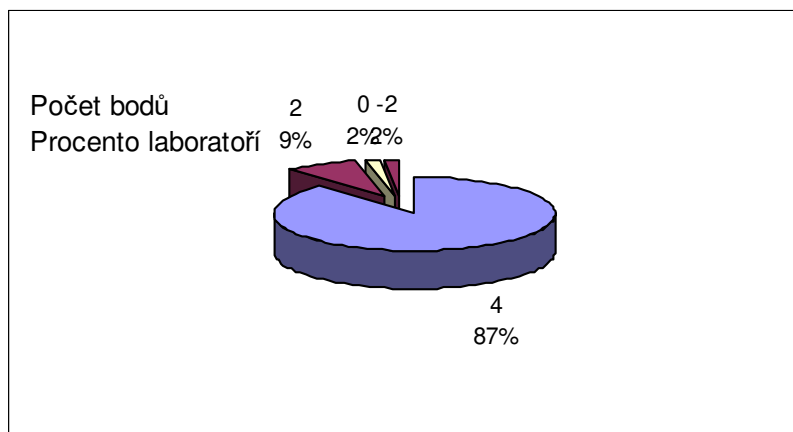
VÝSLEDKY HODNOCENÍ 58 ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

STOLICE	limit 1,54 (max 4)			
Počet bodů	4	2	0	-2
Počet laboratoří	51	5	1	1

Průměr = 3,66 bodu, směrodatná odchylka = 1,06

průměr minus 2x sm. odchylka = **limit 1,54**

V první části EHK 1222 uspěly všechny laboratoře, které získaly více než **1 bod**.

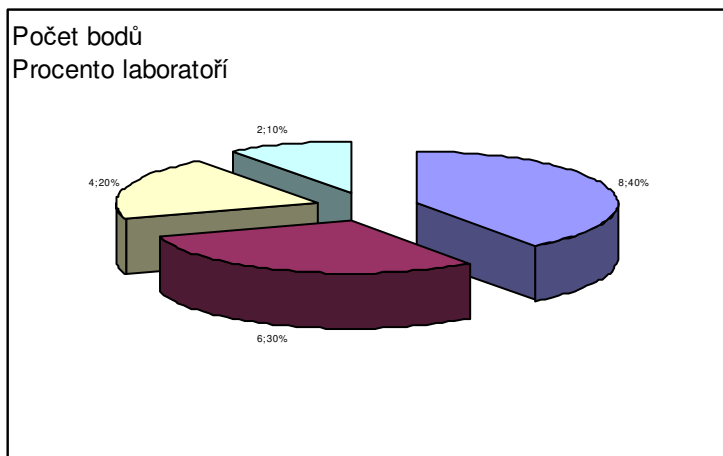


ROZTĚRY	limit 4,2 (max 8)			
Počet bodů	8	6	4	2
Počet laboratoří	46	7	2	3

Průměr = 7,3bodu, směrodatná odchylka = 1,56

průměr minus 2x sm. odchylka = **limit 4,2**

V druhé části EHK 1222 uspěly všechny laboratoře, které získaly více než **4 body**.

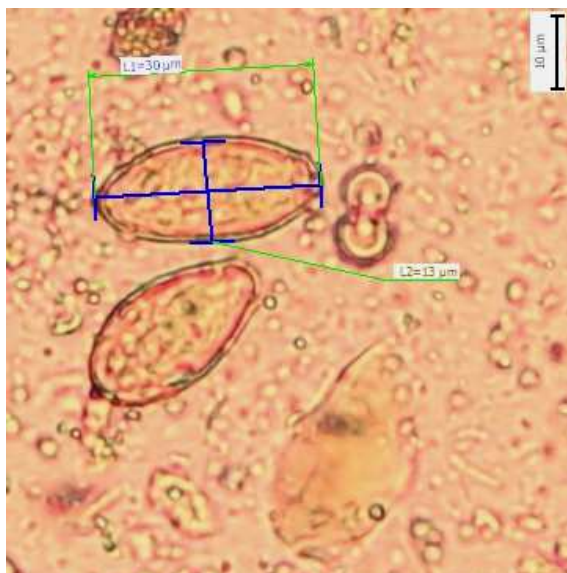


KOMENTÁŘ K VÝSLEDKŮM

Fixované vzorky stolic:

VZOREK A: vajíčka *Clonorchis sinensis* četnost B

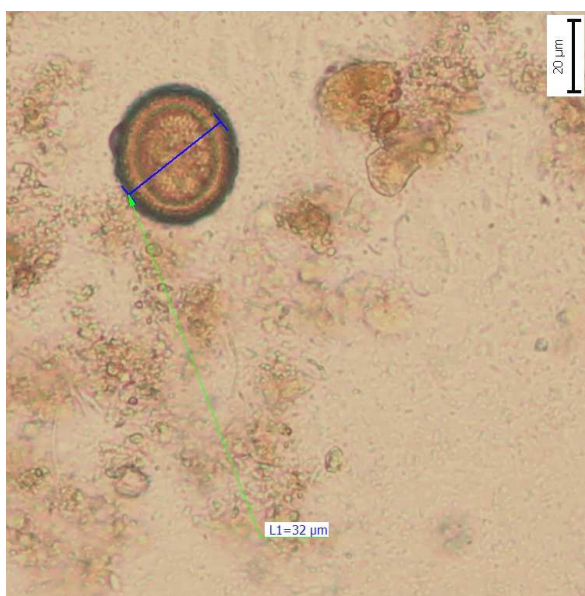
51 (88%) laboratoří výsledek určilo zcela správně, 6 (10%) laboratoří nenalezlo vajíčka *Clonorchis sinensis*, jedna laboratoř chybně uvedla vajíčka *Ascaris lumbricoides*.



Obrázek 1: vajíčka *Clonorchis sinensis*

VZOREK B: B. vajíčka *Taenia* sp. četnost B

56 (96%) laboratoří výsledek určilo správně. 2 (3,4%) laboratoře chybovaly v tomto vzorku (díky uvedení vajíček *Ascaris lumbricoides*, vajíček *Clonorchis sinensis* či/a neuvedení vajíček *Taenia* sp.) a v kombinaci s chybou ve vzorku A je to stále velkou bodovou ztrátou a neúspěch v této části EHK 1222.



Obrázek 2: vajíčka *Taenia* sp.

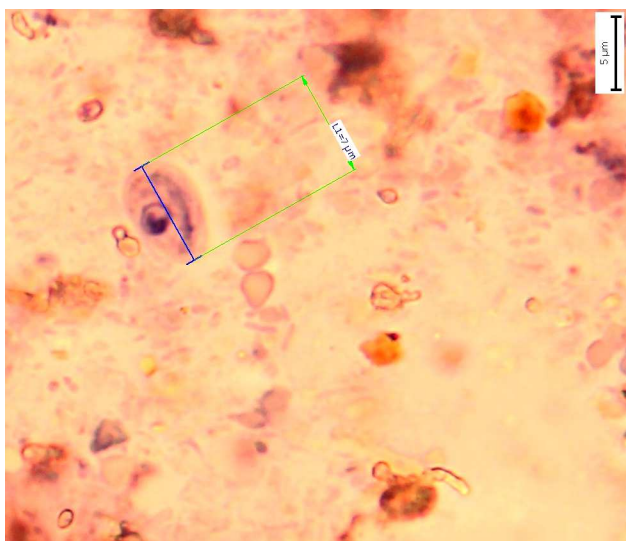
Závěr první části EHK 1222:

V této části pracovalo bezchybně 51 (88%) laboratoří a získalo tak plný počet 4 bodů. 2 laboratoře nesplnily limit první části EHK 1222.

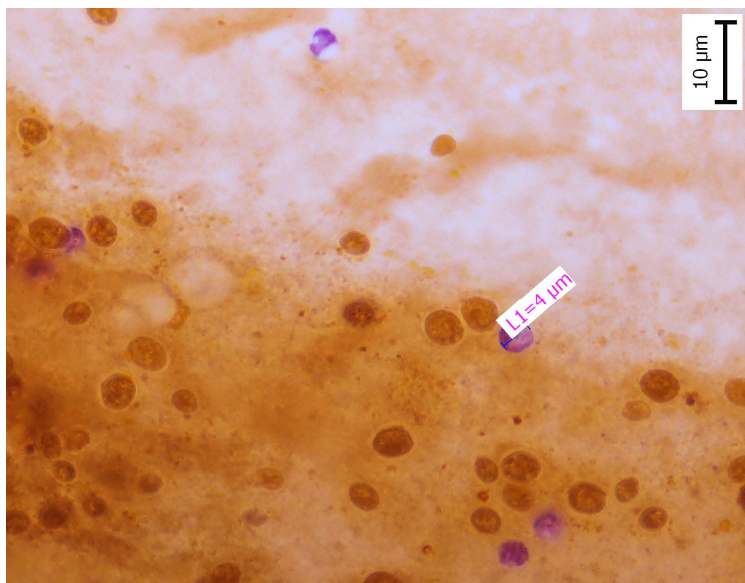
V této části EHK 1222 jsme zaznamenali nebývale velkou chybovost, laboratoře by měly zřejmě více počítat s přítomností objektů kolem 30 μm, jako v těchto dvou vzorcích.

Barvené roztěry:**VZOREK C:** cysty *Entamoeba histolytica/dispar* četnost Ccysty *Chilomastix mesnili* četnost Acysty *Entamoeba coli* četnost ((C)) – nehodnoceno

Z 58 laboratoří 48 (82%) výsledek určilo správně. Nejčastější chybou u tohoto vzorku bylo neuvedení málo četných, ale diagnosticky významných cyst *Entamoeba histolytica/dispar*. Tuto chybu udělalo celkem 6 laboratoří (10%). Stejný počet laboratoří uvedlo přítomnost cyst *Entamoeba coli*, která se však velmi ojediněle ve vzorku vyskytuje, tím pádem není hodnocena. 3 laboratoře (5%) navíc chybně uvedly přítomnost cyst *Endolimax nana* (záměna s kvasinkami či *Blastocystis hominis*?). Ojediněle byly chybně hlášeny nálezy cyst *Entamoeba hartmanni* a *Jodamoeba buetschli*.

**Obrázek 3:** cysty *Chilomastix mesnili***VZOREK D:** oocysty *Cryptosporidium* sp. četnost A

Z 58 laboratoří 53 (91%) výsledek určilo správně. Ostatní laboratoře oocysty vůbec nenalezly nebo je chybně identifikovaly.

**Obrázek 4:** oocysty *Cryptosporidium* sp

VZOREK E: negativní

Z 58 laboratoří 57 (98%) výsledek určilo správně. Jedna laboratoř nejspíše zaměnila vzorky D a E.

Závěr druhé části EHK 1222:

Maximálního zisku 8 bodů v této části dosáhlo 46 (79%) pracovišť. Limit druhé části EHK 1222 kombinací různých chyb (nejčastěji u vzorku C) nesplnilo pět laboratoří.

6. Závěr

Do EHK 1222 se přihlásilo 59 laboratoří, výsledky vrátilo 58 laboratoří (jedna laboratoř objednala vzorky omylem).

Limit první části EHK 1222 nesplnily 2 laboratoře.

Limit druhé části EHK 1222 nesplnilo 5 laboratoří.

V případě reklamací vyhodnocení série postupujte prosím dle reklamačního řádu.

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY