



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/30/2021 (EHK 1211)**

**Mikroskopická diagnostika tropických  
tkáňových parazitóz**

**Praha, leden 2022**

## 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	5-7
6.	Závěr	7
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/30/2021 byl zaměřen na mikroskopickou diagnostiku tropických tkáňových parazitóz. Návrh a realizace PT#M/30/2021 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.

Za správnost výsledků ručí koordinátor příslušného cyklu EHK.

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

**Zprávu vypracoval:**

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

**Zprávu autorizoval:**

MUDr. Jana Kozáková (vedoucí pracoviště 2 ESPT)  
Tel. 267 082 260

**Dne:** 28.12.2021

**Pracoviště 2 ESPT**

ehk@szu.cz

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

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/30/2021**

Identifikace kola/cyklu:	<b>EHK 1211</b>
Název:	<b>Mikroskopická diagnostika tropických tkáňových parazitóz</b>
Koordinátor:	MUDr. Jana Kozáková
Subdodavatel:	Oddělení klinické mikrobiologie - Parazitologie, NNB, Budínova 67/2, 180 81 Praha 8, RNDr.& M.Res. Lenka Richterová Ph.D.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3.
Podstata a účel PT/EHK:	Nalézt a identifikovat původce tropických tkáňových parazitóz, 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 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). Výchozím materiálem u leishmáníe je kostní dřev, vzorky představují barvený roztěr.
Množství připravovaného test. materiálu:	pro 25 laboratoří
Označení vzorkovnic:	EHK 1211, PT # M/30, č.1-5, 7.9.2021
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 rozeseřané v dané sérii jsou mikroskopicky zkontrolovány, zda obsahují cílový marker a zda je identifikovatelný v odpovídající kvalitě.
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.
Návaznost metody:	klinický materiál
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe
Počet účastníků:	19 laboratoří
Termín distribuce:	7. 9. 2021
Způsob distribuce:	Rozvoz přepravní službou Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	písemně do 28. 9. 2021 na předepsaných formulářích
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Aritmetický průměr výsledků účastníků +/-2 směrodatné odchylky od průměru celkově získaných bodů
Určení přijaté vztahné hodnoty:	Za vztahnou hodnotu je považován výsledek získaný NNB – OKM - Parazitologie
Termín uveřejnění očekávaných výsledků	8.10.2021
Termín uveřejnění závěrečné zprávy	Do 21.12.2021

## 2. Způsob přípravy 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 18 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 nátěru kostní dřeně.

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. Charakteristika materiálu

7 mikroskopických preparátů (5 vzorků)

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.

Vzorky:

- 1) *Plasmodium falciparum*
- 2) negativní
- 3) *Plasmodium malariae*
- 4) *Plasmodium vivax*
- 5) negativní

## 4. Způsob hodnocení

Bodování pro identifikaci je provedeno ve stupnici 3, 2, 1 a 0 bodů.

**Maximálně dosažitelný počet bodů: 15**

## 5. Vyhodnocení

### Vzorek č. 1: *Plasmodium falciparum*

parazitémie: **0,3%**

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za nenalezení plasmodií; 1 bod 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.1/ výsledky	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>
Počet laboratoří	18	1

### Vzorek č. 2: *Negativní*

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za každý falešně pozitivní nález.

Vzorek č.1/ výsledky	<i>Negativní</i>
Počet laboratoří	19

### Vzorek č. 3: *Plasmodium malariae*

parazitémie: **0,12%**

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za nenalezení plasmodií; 1 bod 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. malariae</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. falciparum</i>
Počet laboratoří	14	3	2

### Vzorek č. 4: *Plasmodium vivax*

parazitémie: **0,11%**

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za nenalezení plasmodií; 1 bod 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.4/ výsledky	<i>P. vivax</i>	<i>P. falciparum</i>
Počet laboratoří	18	1

**Vzorek č. 5: Negativní**

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za každý falešně pozitivní nález

Vzorek č.5/výsledky	<i>Negativní</i>	<i>Leishmania</i>
Počet laboratoří	16	3

**Parazitémie u vzorků pozitivních na malárii:**

Vzorek č.	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
Parazitémie (%)	<b>0,3</b>	<b>0,12</b>	<b>0,11</b>
Rozptyl správných výsledků (%)	0,61 – 0,1	0,06 – 0,25	0,04 – 0,21
Chybné výsledky (%)	4,8	0,01-0,03 a 0,33	0,002

**KOMENTÁŘ**

Tři vzorky v této sérii byly od pacientů s malárií, jeden od pacienta po prodělané viscerální leishmanióze, jeden od pacientky s vyloučeným podezřením na malárii. Všechny vzorky byly před zařazením do série EHK určeny mikroskopicky a konfirmovány za pomoci PCR. Tímto kolem neprošla jedna zúčastněná laboratoř.

**Vzorek č. 1**

18 laboratoří správně určilo tento vzorek jako *Plasmodium falciparum*. 18 laboratoří navíc správně určilo parazitémii v širokém limitu tolerance.

Šlo o 39letého pacient s bohatou cestovatelskou anamnézou přijatého pro antigenním testem diagnostikovanou malárii *P. falciparum*. Pacient recentně pobýval v Kongu. Léčba byla zahájena Riametem. Ve vstupní laboratoři měl krevní obraz i biochemii v normě (pouze několik hodin obtíží). Mikroskopicky byla prokázána nákaza *Plasmodium falciparum* se vstupní parazitémií 0,3%, v následujících 2 dnech již byla parazitémie negativní. Další 48 hodin přetrvávaly horečky, které dále ustupovaly, stejně tak myalgie a artralgie. Za hospitalizace se jednorázově objevila ataka/pocit dušnosti (vs muskuloskeletální) - troponin v normě, EKG v normě. Laboratorně se objevil postupný rozvoj trombocytopenie, která patří do obrazu onemocnění a přechodné zvýšení CRP a PCT. Po ukončení terapie byl pacient propuštěn domů v dobrém, kardio-pulmonárně kompenzovaném stavu.

**Vzorek č. 2**

Všech 19 laboratoří tento vzorek určilo správně jako negativní na malárii.

Tato 59ti letá pacientka byla vyšetřena na malárii pro několik týdnů se opakující teploty (max 39°C, 1-2x týdně) V posledních 14 dnech byla bez horeček, ale objevila se nevolnost, bolesti kloubů, kostí, svalů, musí ležet. Od roku 2010 do roku 2015 pobývala každoročně 3-4 měsíce v Tanzánii, malarickou profylaxi neužívala. Od 2015 v tropech nepobývala.

**Vzorek č. 3**

14 laboratoří určilo správně tento vzorek jako *Plasmodium malariae*, 16 laboratoří pak určilo správnou parazitémii v širokém rozmezí tolerance.

Jde o pacienta z první kazuistiky po prodělané malárii *P. falciparum*. Přichá ke kontrolním odběrům po 14 dnech od první hospitalizace. Přes den se cítí docela dobře, večer je to horší, má zimnice, horečky, celkovou slabost, ale zvládl cestu autem z Kutné Hory k nám bez větších problémů. Preferuje ambulantní postup. Mikroskopicky potvrzujeme malárii *Plasmodium malariae* se vstupní parazitémií 0,12% po pobytu v Kongu. K terapii byl zvolen Malarone podávaný mimo hospitalizaci v terapeutické dávce 4tbl. /á 24h / po 3 dny.

**Vzorek č. 4**

18 laboratoří správně určilo tento vzorek jako *Plasmodium vivax*, tyto laboratoře pak určily i správnou parazitémii v širokém rozsahu tolerance.

Šlo o 28letého pacienta pocházejícího z Indie, odkud se pře 4 měsíce přistěhoval, přijatého pro rekurentní teploty. Na akutní ambulanci byl proveden antigenní rychlotest na malárii, který byl pozitivní pro Aldolázu, mikroskopicky dourčeno *Plasmodium vivax* se vstupní parazitémií 0,11%. Pacient byl přijat na lůžko a byla zahájena terapie atovachonem/proguanilem (Malarone). Laboratorně byla vstupně pouze mírná elevace bilirubínu, hemoglobin bez výraznějšího poklesu, trombocyty stacionární. Terapii antimalariky pacient toleroval dobře. Po ukončení terapie Malarone bylo doplněno dovyšetření glukóza-6-fosfátdehydrogenázy – kde byla stanovena hladina v normě. Byl tedy nasazen Primaquine jako prevence relapsů (podepsán souhlas s použitím neregistrovaného léčivého přípravku, nahlášeno SÚKLu). Vzhledem k epidemiologické anamnéze ve vyšším dávkování. Pacient byl jako afebrilní, tlakově a oběhově stabilní dimitován a předán do péče praktického lékaře. Primaquine 15mg - 2tbl denně po dobu 13 dní.

**Vzorek č. 5**

Tento vzorek určilo 16 laboratoří správně jako negativní kostní dřev na přítomnost Leishmanií. 2 laboratoře špatně jako pozitivní a jedna dokonce s určením do druhu *L. infantum*, což je mikroskopicky nemožné.

Šlo o pacienta po prodělané viscerální leishmanióze a šlo o jeho kontrolní PCR negativní odběr.

Číslo vzorku	Druh parazita	Vývojové stádium	Parazitémie
1	<i>Plasmodium falciparum</i>	C	0,3%
2	Negativní		
3	<i>Plasmodium malariae</i>	CDE	0,12%
4	<i>Plasmodium vivax</i>	CDE	0,11%
5	Negativní		

**6. Závěr**

Do EHK 1211 se přihlásilo 19 laboratoří, výsledky vrátilo 19 laboratoří. Limit pro úspěšnou účast nespĺnila 1 laboratoř. Tato laboratoř si může po obdržení výsledku EHK požádat o opravnou sérii, a to cestou Koordinačního pracoviště ESPT 2 (mailem, telefonicky).

Počet bodů	15	14	12	11	10
Počet laboratoří	10	5	1	2	1

Průměr = 13,89

Standardní odchylka = 1,63

V případě reklamací vyhodnocení série postupujte prosím dle reklamačního řádu.

Preparáty v originální krabičce označené pouze kódem pracoviště zašlete na adresu Koordinačního pracoviště ESPT 2 (tel. 267 082 258, e-mail: [ehk@szu.cz](mailto:ehk@szu.cz) )

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY