



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/30/2024 (EHK 1416)**

**Mikroskopická diagnostika tropických  
tkáňových parazitóz**

**Praha, prosinec 2024**

**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/30/2024 byl zaměřen na mikroskopickou diagnostiku tropických tkáňových parazitóz. Návrh a realizace PT#M/30/2024 byly prováděny podle standardního operačního postupu koordinátora programu EHK 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 zprávy, tj. ohodnocený výsledkový protokol, je pro každou zúčastněnou laboratoř k dispozici ve webové aplikaci SZÚ v odkazu: <http://ehk.szu.cz/EHK10/> po přihlášení kódem laboratoře a heslem.

**Zprávu vypracoval:**

RNDr. & M.Res. Lenka Richterová Ph.D. (Oddělení klinické mikrobiologie -Parazitologie, FNB)  
e-mail: lenka.richterova@bulovka.cz

**Zprávu autorizoval:**

RNDr. & M.Res. Lenka Richterová Ph.D.  
Tel. 266 084 304

**Dne:** 16.12.2024

**Pracoviště 2 ESPT**

<https://szu.cz/sluzby/zkouseni-zpusobilosti/zkouseni-zpusobilosti-pro-lekarskou-mikrobiologii/>  
e - mail: ehk@szu.cz

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/30/2024**

Identifikace kola/cyklu:	<b>EHK 1416</b>
Název:	<b>Mikroskopická diagnostika tropických tkáňových parazitóz</b>
Koordinátor:	RNDr.& M.Res. Lenka Richterová Ph.D.
Podstata a účel PT/EHK:	Nalézt a identifikovat původce tropických tkáňových parazitóz, zejména malárie a leishmáníóz, 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
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3 závěrečné zprávy
Hodnocené ukazatele:	Nález a identifikace původce tropických tkáňových parazitóz
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 dřeň, vzorky představují barvený roztěr.
Počet účastníků:	17
Termín distribuce:	3. 9. 2024
Informace účastníkům:	Viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky:	24. 9. 2024
Označení vzorkovnic:	EHK 1416, PT # M/30, č.1-5, 3. 9. 2024
Zabezpečení jakosti vzorku včetně testu homogeneity a stability:	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.
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4 závěrečné zprávy
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Za vztažnou hodnotu je považován výsledek získaný FNB – OKM - Parazitologie
Určení maximální směrodatné odchylky:	Aritmetický průměr výsledků účastníků +/-2 směrodatné odchylky od průměru celkově získaných bodů
Termín uveřejnění očekávaných výsledků	8. 10. 2024
Termín uveřejnění závěrečné zprávy	Do 17. 12. 2024

## 2. Způsob přípravy vzorků

### 2.1 Postup přípravy výchozího materiálu

Vzorky byly připraveny na pracovišti Oddělení klinické mikrobiologie - Parazitologie, FNB, Budínova 67/2, 180 81, Praha 8, RNDr. & M.Res. Lenka Richterová Ph.D.

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.

### 2.2 Zabezpečení kvality výchozího materiálu, homogenita a stabilita

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.

### 2.3 Rozplnění výchozího materiálu

Vzorky (podložní skla s mikroskopickými preparáty) byly označeny a uloženy do přepravní krabice a pracovníky OKM FNB přepraveny z OKM FNB 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. Charakteristika materiálu

9 mikroskopických preparátů (5 vzorků)

Každý vzorek tvoří vždy 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 vivax*
- 4) negativní
- 5) *Plasmodium falciparum*

## 4. Způsob hodnocení

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

**Maximálně dosažitelný počet bodů: 15**

## 5. Vyhodnocení

### Vzorek A: *Plasmodium falciparum*

Parazitémie: **0,05%**

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 A/ výsledky	<i>P. falciparum</i>	<i>P. malariae</i>	Negativní
Počet laboratoří	14	1	2

### Vzorek B: *Negativní*

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za každý falešně pozitivní nález.

Vzorek B/ výsledky	Negativní	<i>Leishmania sp.</i>
Počet laboratoří	16	1

### Vzorek C: *Plasmodium vivax*

Parazitémie: **0,04%**

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 C/výsledky	<i>P. vivax</i>	Negativní	<i>P. ovale</i>
Počet laboratoří	12	4	1

### Vzorek D: *Negativní*

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za každý falešně pozitivní nález.

Vzorek D/ výsledky	Negativní	<i>P. vivax</i>
Počet laboratoří	16	1

**Vzorek E: *Plasmodium falciparum***Parazitémie: **11,5%**

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 E/výsledky	<i>P. falciparum</i>
Počet laboratoří	17

**Parazitémie u vzorků pozitivních na malárii:**

Vzorek	A	C	E
Parazitémie (%)	<b>0,05</b>	<b>0,04</b>	<b>11,5</b>
Rozptyl správných výsledků (%)	0,025-0,1	0,02-0,08	5,75-23
Chybné výsledky (%)	0,01;0,02;0,015;0,001	0,1;0,01;0,131;2;0,15;0,09	3

**KOMENTÁŘ**

Tři vzorky v této sérii byly od pacientů s malárií, jeden od pacienta s podezřením na viscerální leishmaniózu a jeden od pacienta 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 A**

14 laboratoří správně určilo tento vzorek jako *P. falciparum*. 9 laboratoří navíc správně určilo parazitémii v širokém limitu tolerance.

26letý pacient přijat k terapii primoinfekce tropické malárie, pozitivní rychlost na *P. falciparum*.

Vstupně lehká leukopenie, trombocytopenie, iontogram, renální a jaterní parametry v normě, lehká bilirubinémie, vstupně parazitémie 0,05%. V kontrolní laboratoři ještě prohloubení leukopenia, trombocytopenie, elevace CRP, třetí den na terapii Riametem nulová parazitémie. Na zavedené terapii pacient klinicky zlepšen, ústup teplot a bolestí hlavy, v kontrolních náběrech postupně úprava leukopenie a trombocytopenie, neutropenie stacionární CRP s poklesem. Pacient po 5 dnech hospitalizace propuštěn do domácí péče.

Terapie: Riamet, Ibalgin, Paralen, infuse krystaloidů.

**Vzorek B**

16 laboratoří tento vzorek určilo správně jako negativní. Jedna laboratoř vyhodnotila vzorek chybně jako pozitivní na *Leishmania sp.*

Tento pacient byl na viscerální leishmaniosu negativní. Splňoval však všechna kritéria pro vyslovení suspekce na VL. Jenda třetina takovýchto pacientů je však například právě ve Španělsku, kde je viscerální leishmaniosa endemická, následně diagnostikována jako případ VL, dvě třetiny pak jako jiné onemocnění.

**Vzorek C**

12 laboratoří určilo správně tento vzorek jako *Plasmodium vivax*, 4 jako negativní a 1 jako *P. ovale*. Pouze 2 laboratoře navíc správně určily parazitémii v širokém limitu tolerance.

30letý interně zdravý pacient byl přijat na naši kliniku cestou akutní ambulance pro bolesti hlavy, únavu a horečnatý stav po návratu z Etiopie. Laboratorně byla potvrzená malárie, původce *P. vivax*, a zahájena antimalarická léčba přípravkem artemether/lumefantrin s efektem. V kontrolní laboratoři klesá parazitémie, poslední den hospitalizace negativní. taktéž dochází k úpravě vstupní

trombocytémie, pacient je po celou dobu bez krvácivých projevů. Hepatopatie - v.s. na vrub malárie, po přechodné progresi, nyní v regresi poklesu, nicméně v rámci dif.dg. odebrána i sérologie infekčních hepatitid, výsledky t.č. nejsou k dispozici. Klinicky je pacient po celou dobu pobytu kardiopulmonálně stabilní, normotenzní, klinicky dominují bolesti hlavy, únava, a občasné subfebrilie a zimnice, které následně ustupují. Pacienta propouštíme v klinicky a laboratorním stavu, následující protirelapsová léčba primachinem bude zahájena po stanovení aktivity G6PDH při brzké kontrole v naší ambulanci, kde budou taktéž nadále sledování laboratorní parametry do normalizace.

#### Vzorek D

16 laboratoří tento vzorek určilo správně jako *negativní*. Jedna laboratoř chybně jako *Plasmodium vivax*.

Tato pacientka malárii prokázanou neměla. Suspekce byla však odůvodněná, ač Cestovní kanceláře propagují Zanzibar jako místo bez rizika malárie, není to pravda a pacienti s malárií ze Zanzibaru nejsou výjimeční ani mezi našimi cestovateli.

#### Vzorek E

17 laboratoří správně určilo tento vzorek jako *Plasmodium falciparum*. 16 laboratoří správně určilo parazitémii v širokém limitu tolerance.

Tento pacient měl na příjmu pozitivní rychlotest na *P. falciparum*, vstupní parazitémie 11,5%, dale v odběrech trombocytopenie 43, celkový bilirubin 32 umol/l, mírná elevace aminotransferáz, LD 8,3 ukat/l, CRP 329 mg/l. Nasazena dvojkombinační antiparazitární terapie Riamet (artemeter/lumefantrin), s dobrým efektem. 4. Den hospitalizace parazitémie již nulová. Dále nasazena I vzhledem k elevaci CRP antibiotika. V kontrolních odběrech s úpravou sledovaných markerů. Hospitalizace prolongována na celkových 8 dní pro udávanou cefaleu. Propouštěn ve stabilizovaném stavu.

Vzorek	Druh parazita	Vývojové stádium	Parazitémie
A	<i>Plasmodium falciparum</i>	C	0,05
B	<i>Negativní</i>		
C	<i>Plasmodium vivax</i>	C, D, E	0,04
D	<i>Negativní</i>		
E	<i>Plasmodium falciparum</i>	C	11,5

## 6. Závěr

Do EHK 1416 se přihlásilo 17 laboratoří, výsledky vrátilo 17 laboratoří. Limit pro úspěšnou účast nesplnily 2 laboratoře.

Laboratoře, které neuspěly, si mohou objednat edukativní vzorky prostřednictvím webové aplikace SZÚ, a to do 30 dnů po obdržení svých výsledků. Výsledky edukativních vzorků nebudou mít vliv na opravu předchozího neúspěšného výsledku v rámci EHK a slouží pouze jako podklad pro vyřešení případné neshodné práce v laboratoři.

Edukativní vzorky laboratoř obdrží obvyklou cestou v co nejkratším termínu po objednání.

Počet bodů	14	13	12	10	9	6
Počet laboratoří	7	4	3	1	1	1

Průměr = 12,8

Směrodatná odchylka = 1,5

V případě reklamací vyhodnocení série postupujte prosím dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamace použijte také webovou aplikaci SZÚ.

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