



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/30/2018 (č. 1031)**

**Mikroskopická diagnostika tropických  
tkáňových parazitóz**

**Praha, leden 2019**

## 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/30/2018 byl zaměřen na mikroskopickou diagnostiku tropických tkáňových parazitóz. Návrh a realizace PT#M/30/2018 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 zkoušení 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. ohodnocený výsledkový protokol, je rozesílána poštou.

Za správnost výsledků ručí koordinátor příslušného cyklu EHK.

**Koordinátor:**

MUDr. Barbora Macková  
ESPT SZÚ Praha

**Zprávu vypracoval:**

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

**Zprávu schválil:** MUDr. Barbora Macková

Dne: 8. 1. 2019

**Pracoviště 2 ESPT (AP CEM - Akreditační pracoviště Centra epidemiologie a mikrobiologie):**

www.szu.cz/espt  
email: [apcem@szu.cz](mailto:apcem@szu.cz)

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/30/2018**

|  |  |
|--|--|
| Identifikace kola/cyklus:                | <b>PT#M/30/2018</b>  |
| Název:                                   | <b>Mikroskopická diagnostika tropických tkáňových parazitóz</b>  |
| Poskytovatel:                            | SZÚ - ESPT<br>Šrobárova 48, Praha 10, 100 42   |
| Vedoucí ESPT                             | Ing. Věra Vrbíková   |
| Koordinátor:                             | MUDr. Barbora Macková  |
| Subdodavatel:                            | Oddělení klinické mikrobiologie - Parazitologie, NNB, Budínova 67/2,<br>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 parazitóz, zejména malárie a leishmáníózy, 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, vzorek představuje barvený roztěr.   |
| Množství připravovaného test. materiálu: | pro 25 laboratoří  |
| Označení vzorkovnic:                     | EHK 1031, PT # M/30, č. 1 – 8, 4. 9. 2018  |
| 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:                       | 4. 9. 2018   |
| Způsob distribuce:                       | Rozvoz přepravní službou<br>Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům   |
| Předání výsledků:                        | písemně do 28. 9. 2018 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 zveřejnění 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.

Každý vzorek tvoří vždy 1-2 podložní skla (jeden fixovaný a barvený tenký nátěr z 5  $\mu$ l 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.

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 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: *Plasmodium vivax***

parazitémie: **0,46%**

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.1/ výsledky | <i>P.vivax</i> | <i>P. malariae</i> | <i>P. vivax</i> + <i>P. falciparum</i> |
|----------------------|----------------|--------------------|--|
| Počet laboratoří     | 11             | 7                  | 1                                      |

**Vzorek č. 2: NEGATIVNÍ**

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za každý falešně pozitivní nález

|                      |           |                 |
|----------------------|-----------|-----------------|
| Vzorek č.2/ výsledky | NEGATIVNÍ | <i>P. vivax</i> |
| Počet laboratoří     | 17        | 2               |

**Vzorek č. 3: *Plasmodium falciparum***parazitémie: **0,67%**

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 falciparum*, gametocyty**

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. falciparum</i> | NEGATIVNÍ |
| 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 | <i>Leishmania sp.</i> | <i>Leishmania infantum</i> |
| Počet laboratoří    | 17        | 1                     | 1                          |

**Parazitémie u vzorků pozitivních na malárii:**

|                                |                  |             |
|--------------------------------|------------------|-------------|
| Vzorek č.                      | <b>1</b>         | <b>3</b>    |
| Parazitémie (%)                | <b>0,46</b>      | <b>0,67</b> |
| Rozptyl správných výsledků (%) | 0,23 – 0,92      | 0,34 – 1,34 |
| Chybné výsledky (%)            | 0,1-0,15 a 1-1,5 | 1,44-3,5    |

## KOMENTÁŘ

Tři vzorky v této sérii byly od pacientů s malárií, jeden od pacienta s křovinným tyfem a jeden z kontrolního odběru od pacienta s prodělanou viscerální leishmaniózou. Všechny vzorky byly před zařazením do série EHK určeny mikroskopicky a konfirmovány za pomoci PCR. Tímto kolem neprošly dvě zúčastněné laboratoře.

### Vzorek č. 1

Všechny zúčastněné laboratoře u pacienta prokázaly malárii, pouze 11 laboratoří správně určilo původce *Plasmodium vivax*, jedna laboratoř vyhodnotila vzorek jako směsnou infekci *P. vivax* a *P. falciparum* a 7 laboratoří určilo vzorek nesprávně jako *Plasmodium malariae*. 10 z 19 laboratoří správně určilo parazitémii v širokém limitu tolerance.

Jednalo se o pacienta po návratu z Mexika a Peru s malárií způsobenou *P. vivax*, vstupní parazitémie 0,46%. Ve vstupním laboratorním vyšetření byl přítomný typický vzestup CRP a trombocytopenie. Pacient byl léčen perorálně Riametem (artemeter/lumefantrin). Od druhého dne hospitalizace afebrilní. Antirelapsové zajištění primachin proběhlo posléze v domovské Austrálii.

### Vzorek č. 2

17 z 19 laboratoří tento vzorek určilo správně jako negativní, 2 laboratoře jako pozitivní na *P. vivax*. Jednalo se o pacienta, u kterého byl po návratu z pracovního pobytu v Laosu diagnostikován křovinný tyfus (*Orientia tsutsugamushi*). Jde o prvního pacienta s touto, laboratorně potvrzenou, diagnózou na našem území. Příznaky zahrnovaly horečky se zimnicemi a třesavkou, nejdříve nepravidelné, posléze každodenní, noční poty makulopapulózní exantém, lymfadenopatii, bolesti kostí, svalů a kloubů. Po zajištění doxycyklinem 200 mg/24 hod se stav rychle zlepšil. Neléčený křovinný tyfus má 4-40% smrtnost.

### Vzorek č. 3

Všech 19 laboratoří správně určilo tento vzorek jako *P. falciparum*. 14 z 19 laboratoří navíc i správně určilo parazitémii v širokém limitu tolerance. Jednalo se o pacienta s tropickou malárií po pobytu na Zanzibaru. Tři týdny po návratu ze Zanzibaru přišel pro jeden den trvající bolesti hlavy, afebrilní. Na ambulanci proveden RDT pozitivní na *P. falciparum*. Mikroskopicky potvrzena malárie původce *P. falciparum* se vstupní parazitémií 0,67%. Při příjmu CRP 46 a PLT v normě. Léčba Riametem, v průběhu hospitalizace laboratorně mírný stupeň anémie, trombocytopenie, hepatopatie. Ačkoli je Zanzibar vnímán jako destinace s malým rizikem oproti pevninské Tanzánii, je nutné si uvědomit, že nejde o oblast bez transmise malárie, jak některá očkovací centra tvrdí!

### Vzorek č. 4

V tomto případě 17 laboratoří správně našlo gametocyty *P. falciparum*. Dvě laboratoře tento vzorek označily za negativní. Tak zvaná gametocytémie se dá stanovit (jak některé laboratoře správně ukázaly), nicméně rutinně se pro diagnostické účely neprovádí. Jednalo se o 5i letého chlapce původem z Afriky (Benin) s anamnesticky opakovaně prodělanou malárií. Tento vzorek byl připraven z kontrolního odběru po terapii recentně prodělané malárie. Klinický obraz při příjmu byly febrilie se zimnicí a třesavkou, zvracení, hematurie. Jelikož se jednalo o suspektní rekrudescenci, terapie byla z Riametu (artemeter/lumefantrin) změněna na Malarone (atovaquone /proguanil). Pacient terapii dobře toleroval. V endemických oblastech jsou právě děti ve věku cca 5-8let s vysokou gametocytémií rezervoárem malárie v komunitě.

### Vzorek č. 5

Tento vzorek byl od pacienta po prodělané leishmanióze původcem *L. infantum*. Nyní byl však materiál negativní, jak správně určilo 17 z 19 laboratoří. Falešně pozitivní odečet viscerální leishmaniózy je obzvláště závažná chyba, která by mohla vést k nasazení pro pacienta extrémně zatěžující a nákladné léčbě.

| Číslo vzorku | Druh parazita                | Vývojové stádium | Parazitémie |
|--------------|------------------------------|------------------|-------------|
| 1            | <i>Plasmodium vivax</i>      | C, D, E          | 0,46%       |
| 2            | NEGATIVNÍ                    |                  |             |
| 3            | <i>Plasmodium falciparum</i> | C                | 0,67%       |
| 4            | <i>Plasmodium falciparum</i> | E                | 0,065%      |
| 5            | NEGATIVNÍ                    |                  |             |

## PŘEDBĚŽNÉ VÝSLEDKY HODNOCENÍ 19 ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

**Limit nesplnily dvě laboratoře.**

|                  |    |    |    |    |    |   |   |
|------------------|----|----|----|----|----|---|---|
| Počet bodů       | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 7 | 6 |
| Počet laboratoří | 5  | 4  | 4  | 1  | 3  | 1 | 1 |

Průměr = 12,68

Standardní odchylka = 5,16

*Důležité upozornění !!!*

V případě reklamací vyhodnocení série postupujte dle reklamačního řádu. Pokud je některá laboratoř přesvědčena a může doložit, že byla hodnocením poškozena, může adresovat svou žádost o revizi výsledku písemně AP CEM SZÚ nejpozději 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 2019 nezávislými externími konzultanty.