



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/30/2022 (EHK 1286)**

**Mikroskopická diagnostika tropických  
tkáňových parazitóz**

**Praha, prosinec 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	7-8
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/30/2022 byl zaměřen na mikroskopickou diagnostiku tropických tkáňových parazitóz. Návrh a realizace PT#M/30/2022 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 zkoušení 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: <https://ehk.szu.cz/EHK10/> po přihlášení kódem laboratoře a heslem.

**Zprávu vypracoval:**

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

**Zprávu autorizoval:**

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

**Dne:** 19. 12. 2022

**Pracoviště 2 ESPT**

<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>  
e-mail: ehk@szu.cz

**1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/30/2022**

Identifikace kola/cyklu:	<b>EHK 1286</b>
Název:	<b>Mikroskopická diagnostika tropických tkáňových parazitóz</b>
Koordinátor:	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 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
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, vzorky představují barvený roztěr.
Množství připravovaného test. materiálu:	pro 25 laboratoří
Označení vzorkovnic:	EHK 1286,PT # M/30, č.1-5, 6. 9. 2022
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.
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:	6. 9. 2022
Způsob distribuce:	Rozvoz přepravní službou
Předání výsledků:	V elektronické podobě za použití webové aplikace EHK 10
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Aritmetický průměr výsledků účastníků +/-2 směrodatné odchylky od průměru celkově získaných bodů
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Za vztažnou hodnotu je považován výsledek získaný NNB – OKM - Parazitologie
Termín uveřejnění očekávaných výsledků	5. 10. 2022
Termín uveřejnění závěrečné zprávy	Do 20. 12. 2022

## 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 17 laboratoří, výsledky odevzdalo 17 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

8 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) negativní
- 4) negativní
- 5) *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*

## 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: **13,82%**

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>
Počet laboratoří	17

### 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	17

### Vzorek č. 3: *Negativní*

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za každý falešně pozitivní nález.

Vzorek č.3/výsledky	<i>Negativní</i>	<i>P. vivax</i>
Počet laboratoří	16	1

### Vzorek č. 4: *Negativní*

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za každý falešně pozitivní nález.

Vzorek č.4/ výsledky	<b>Negativní</b>
Počet laboratoří	17

**Vzorek č. 5:** *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*parazitémie: **1,58% P.f.**, *ojediněle P.m.*

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

(V tomto vzorku nebylo nenalezení *P. malariae* pro jeho ojedinělost

hodnoceno odebráním bodů.)

Vzorek č.5/výsledky	<i>P. falciparum</i>	<i>P. falciparum</i> + <i>P. malariae</i>
Počet laboratoří	16	1

**Parazitémie u vzorků pozitivních na malárii:**

Vzorek č.	<b>1</b>	<b>5</b>
Parazitémie (%)	<b>13,82</b>	<b>1,58</b>
Rozptyl správných výsledků (%)	9 – 19	0,5 – 2
Chybné výsledky (%)	3,41; 3,8; 36	0,15; 0,43

**KOMENTÁŘ**

Dva vzorky v této sérii byly od pacientů s malárií, jeden od pacienta s podezřením na viscerální leishmaniózu a dva od pacientů s vyloučeným podezřením na malárii. Všechny vzorky byly před zařazením do série EHK určeny mikroskopicky a potvrzeny za pomoci PCR. Tímto kolem neprošli tři zúčastněné laboratoře.

**Vzorek č. 1**

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

Šlo o 42letého pacienta americké národnosti přijatého na JIP pro malárii, etiologie *Plasmodium falciparum*, vstupní parazitémie 11,89%. Recentně pobyt v subsaharské Africe, bez antimalarické profylaxe. Obtíže 4 dny - horečky, horní dyspeptický syndrom, cefalea. Ve vstupní laboratoři dominuje trombocytopenie, elevace prokalcitoninu a CRP. Dále hraniční jaterní léze s elevací bilirubinu, renální léze při subhydrataci, elevace DDimerů. Zahájena kombinovaná terapie chininem a klindamycinem parenterálně, rehydratace a další symptomatická terapie. Časná kontrolní parazitémie ještě se vzestupem na 13,82%, posléze postupně dochází k poklesu parazitémie, zánětlivých parametrů a normalizaci renálních i hepatálních markerů. Nadále trvají febrilie, s intermitentními poklesy saturace O<sub>2</sub> vyžadující nízkoprůtokovou oxygenoterapii. Převeden na chinin per os v nižší dávce pro tinnitus (zvažován cinchonismus), klindamycin ponechán i.v. pro lepší GIT toleranci. Pacient přeložen po 5ti dnech na standardní oddělení, kde pokračováno v zavedené terapii s dobrou klinickou i laboratorní odezvou. Pacient od 6. dne afebrilní, nadále tlakově a oběhově stabilní, parazitémie od 7. dne nedetekovatelná. Pacient propuštěn v klinicky stabilizovaném stavu do ambulantní péče, v plánu časný návrat do Etiopie, kde pacientem údajně zajištěna kontrola disp. lékařkou.

**Vzorek č. 2**

Všech 17 laboratoří tento vzorek určilo správně jako negativní na leishmáníi.

Tento 61letý pacient s diabetem byl přijatý pro protrahované febrilie a noční pocení. Ve vstupní lab. elevace CRP, lehce i PCT, mikrocytární anémie, dále výrazná elevace ferritinu a LDH, pro podezření na hematolog. onem. provedena sternální punkce, která bez průkazu malignity včetně průtokové cytometrie. Vyšetření na leishmaniosu bylo doplňkové.

**Vzorek č. 3**

16 laboratoří určilo správně tento vzorek jako *negativní*, 1 laboratoř pak zaznamenala vzorek jako pozitivní na *Plasmodium vivax*.

30letý pacient, přichází po návratu z Vietnamu dne 30.6.(před devíti dny). Byl tam 3 týdny. Noc před odletem se téměř nevyspal. Během letu měl zimnici, cefalgie, bez artralgií, myalgií. Po návratu do ČR náhle zimnice, třesavky, hodně močil. Výrazné cefalgie, mírné škrábaní v krku. Druhý den zlepšení stavu, dával si antipyretika. Pak se mu výrazně ulevilo (4.-5.7.). Posléze měl 6.7. znovu teploty. Antimalarika nebral. Včera se objevil vodnatý průjem - málo objemné vodnaté stolice s tuhou příměsí, hnědé až zelené barvy. O malárii nešlo, pacient byl předán k dovyšetření.

**Vzorek č. 4**

Všech 17 laboratoří tento vzorek určilo správně jako negativní na malárii.

54letá pacientka přichází k vyšetření pro teploty, zimnici, třesavky a bolesti kloubů po návratě ze Senegal. Tam měla několik kousnutí komárem. Od 14dní, se objevilo zarudnutí a kožní defekt na PDK kotník, nyní vel. asi 3cm, svědí a bolí. Průjem, bolesti hlava či zvracení nejuje. O malárii se nejednalo.

**Vzorek č. 5**

17 laboratoří správně určilo tento vzorek jako *Plasmodium falciparum*. Pouze 1 laboratoř našla i *Plasmodium malariae*. V tomto vzorku nebylo nalezeno *P. malariae* pro jeho ojedinělost hodnoceno odebráním bodů. 15 laboratoří navíc správně určilo parazitémii v širokém limitu tolerance.

Tato pacientka byla 56letá žena, hypertonička, přijata pro návratu z afriky (Tanzanie, Zanzibar) pro febrilní stav a celkové zhoršení stavu. Ještě na ambulanci pozitivita rychlotestu na malárii. Z kapky potvrzena infekce způsobená *Plasmodium falciparum* a *Plasmodium malariae* se vstupní parazitémií 1,58% - nekomplikovaná malárie. Ve vstupním krevním obrazu trombocytopenie, středně zvýšené CRP a lehká jaterní léze. Zahájena léčba arthemeter/lumefantrinem.

Číslo vzorku	Druh parazita	Vývojové stádium	Parazitémie
1	<i>Plasmodium falciparum</i>	C	13,82
2	<i>Negativní</i>		
3	<i>Negativní</i>		
4	<i>Negativní</i>		
5	<i>Plasmodium falciparum</i> , <i>Plasmodium malariae</i>	C D, E	1,58

**6. Závěr**

Do EHK 1286 se přihlásilo 19 laboratoří, výsledky vrátilo 17 laboratoří. Limit pro úspěšnou účast nespĺnili 3 laboratoře. Tyto laboratoře si mohou po obdržení výsledku EHK požádat o opravnou sérii, a to cestou Koordinačního pracoviště ESPT 2 (mailem, telefonicky).

Počet bodů	15	14	13	12
Počet laboratoří	13	1	2	1

Průměr = 14,53

Standardní odchylka = 0,94

V případě reklamací vyhodnocení série postupujte prosím dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamace použijte webovou aplikaci SZÚ: <http://ehk.szu.cz/EHK10/>

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