



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/30/2020 (EHK 1142)

**Mikroskopická diagnostika tropických
tkáňových parazitóz**

Praha, leden 2021

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/30/2020 byl zaměřen na mikroskopickou diagnostiku tropických tkáňových parazitóz. Návrh a realizace PT#M/30/2020 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.

Nedílnou součástí závěrečné zprávy je výsledkový protokol jednotlivé laboratoře.

Za správnost výsledků ručí koordinátor příslušného cyklu EHK.

Zprávu vypracoval:

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

Zprávu schválil:

MUDr. Barbora Macková, vedoucí ESPT 2
Tel:267 082 101



Dne 26. 1. 2021

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

E-mail: ehk@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/30/2020

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1142
Název:	Mikroskopická diagnostika tropických tkáňových parazitůz
Poskytovatel:	SZÚ - ESPT Šrobárova 49/48, Praha 10, 100 00
Vedoucí ESPT	Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor:	MUDr. Barbora Macková
Subdodavatel:	Oddělení klinické mikrobiologie - Parazitologie, NNB, Budínova 67/2, 180 81 Praha 8, RNDr.& M.Res. Lenka Richterová Ph.D.
Charakteristika materiálu:	7 mikroskopických preparátů (5 vzorků)
Podstata a účel PT/EHK:	Nalézt a identifikovat původce tropických tkáňových parazitůz, 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 parazitůz 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 dřeň a biopsie kůže, vzorky představují barvený roztěr a řez tkání HE.
Množství připravovaného test. materiálu:	pro 25 laboratoří
Označení vzorkovnic:	EHK 1142, PT # M/30, 1 – 5, 8. 9. 2020
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:	8. 9. 2020
Způsob distribuce:	Rozvoz přepravní službou Přílohy: formulář pro zápis výsledků a pokyny účastníkům
Předání výsledků:	písemně do 29. 9. 2020 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 rozeslání zprávy účastníkům:	Do 12 týdnů po obdržení výsledků 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 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 otiskového preparátu z léze z kůže.

Každý vzorek tvoří vždy 1-2 podložní skla (jeden fixovaný a barvený tenký nátěr z 5 μ l žilní krve a jedna nefixovaná a barvená tlustá kapka). V případě vzorku kostní dřene na leishmánie jde o jedno podložní sklo s barveným tenkým nátěrem. U vzorku kožní biopsie na leishmánie jde o tenký řez barvený HE, u otiskového preparátu jde o jedno sklo barvené roztokem Giemsa-Romanowski. 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. Hodnocení

Maximálně dosažitelný počet bodů: 15

Vzorek č. 1: *Plasmodium vivax*

parazitémie: **0,15%**

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>Plasmodium vivax</i>	<i>Plasmodium malariae</i>
Počet laboratoří	17	1

Vzorek č. 2: *Leishmania sp.*

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za každý falešně negativní nález, nebo nález jiného

parazita, 1 bod za určení druhu, které není mikroskopicky možné.

Vzorek č.1/ výsledky	<i>Leishmania sp.</i>	<i>Babesia spp</i>
Počet laboratoří	17	1

Vzorek č. 3: *Plasmodium falciparum*

parazitémie: **21%**

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	18

Vzorek č. 4: *Plasmodium falciparum*

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>
Počet laboratoří	18

Vzorek č. 5: NEGATIVNÍ

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za každý falešně pozitivní nález

Vzorek č.5/výsledky	NEGATIVNÍ
Počet laboratoří	18

Parazitémie u vzorků pozitivních na malárii:

Vzorek č.	1	3
Parazitémie (%)	0,15	21
Rozptyl správných výsledků (%)	0,3 – 0,05	10 – 42
Chybné výsledky (%)	0,03 a 0,04	1,6 – 5,17

KOMENTÁŘ

Tři vzorky v této sérii byly od pacientů s malárií, jeden od pacienta s kožní leishmaniózou, jeden od pacientky po prodělané malárii. Všechny vzorky byly před zařazením do série EHK určeny mikroskopicky a potvrzeny za pomoci PCR. Tímto kolem neprošly dvě zúčastněné laboratoře.

Vzorek č. 1

17 laboratoří správně určilo tento vzorek jako *Plasmodium vivax*. 16 z 18 laboratoří navíc správně určilo parazitémii v širokém limitu tolerance.

Jednalo se o 39letého muže, základně zdravého, přijatého pro několik dní se zhoršující stav, zvracení, febrilie. Pacient po návratu z Papuy- Nové Guiney. V krevním obraze byla vstupně trombocytopenie, zvýšený bilirubin, středně elevované CRP. Z parazitárního vyšetření krve byla zjištěna infekce *Plasmodium vivax* s parazitémií 0,15%. U pacienta byla zahájena léčba Malaronem s postupným poklesem parazitémie. V krevním obraze se vyskytl přechodně pokles leukocytů i trombocytů. Klinický stav pacienta se poté upravil. Vzhledem k nutnosti nasazení antirelapsové léčby byl vyšetřen enzym 6GPD, který byl negativní. Propuštěn byl po ukončení terapie Malaronem v dobrém celkovém stavu do ambulantní péče k dalšímu doléčení a dispenzarizaci.

Vzorek č. 2

17 laboratoří tento vzorek správně určilo jako *Leishmania sp.*, jedna laboratoř jako *Babesia spp.* Jednalo se o 78letého pacienta odeslaného z kožní kliniky nejmenované nemocnice pro konziliární vyšetření léze na pravém lokti. Kožní leishmanióza byla potvrzená histologicky i otiskovými preparáty, etiologie *Leishmania infantum*, v.s. po pobytech v Itálii. Po 3měsíční perorální terapii Prokonazolem došlo ke kompletnímu vyhojení léze.



Vzorek č. 3

Všech 18 laboratoří správně určilo tento vzorek jako *P. falciparum*. 15 z 18 laboratoří navíc i správně určilo parazitémii v širokém limitu tolerance.

Šlo o 66ti letého pacient s běžnými interními komorbiditami. Byl přijat na intermediální oddělení pro maligní malárii (*Plasmodium falciparum*), externě prokázaná vstupní parazitémie 17%. Odběr použitý pro účely EHK dosahoval parazitémie 21%. Pacient při přijetí při vědomí, kardiopulmonálně kompenzovaný, vstupně mírná elevace renálních parametrů a těžká trombocytopenie, červená řada krevního obrazu v normě. Byla zahájena terapie chininem dle protokolu v kombinaci s klindamycinem. Druhý den došlo k výraznému nárůstu parazitémie až 40,1%, v dalších kontrolách již s poklesem, parazitémie negativní od 5.2.2020. Krátce po přijetí došlo ke zhoršení stavu, rozvoji oběhové nestability s nutností katecholaminové podpory, poklesu diuresy, která byla řešena forsírovanou diuresou diuretiky, zpočátku s efektem. Vzhledem k narůstající dušnosti byl pacient druhý den po přijetí přeložen na RES JIP, 31.1. byla pro progredující respirační selhání zahájena UPV. Vzhledem k nelepšícímu se stavu, vysokým zánětlivým parametrům a možnému podílu aspirace byl do terapie přidán Ceftriaxon a Metronidazol. Poté došlo k progresi oběhové nestability s nutností vysoké dávky katecholaminové podpory a rozvoji anurie nereagující na diuretika. Proto pod clonou trombonáplav 1.2. zaveden dialyzační katetr a zahájena CVVHD. I přesto nadále progredovala oběhová nestabilita, katecholaminová podpora byla dále navyšována až na dávku 12 mg noradrenalinu/ hod. 2.2. v ranních hodinách došlo k rozvoji fibrilace síní s rychlým převodem na komory se salvami komorové tachykardie, proto podán bolus amiodaronu s následnou kontinuální infusí, vzhledem k progredujícímu šokovému stavu podán hydrocortison. Pro výrazný nárůst zánětlivých parametrů a závažnost stavu empiricky změněna ATB terapie 2.2. na meropenem. Poté došlo k vymizení salv komorové tachykardie, po cca 6 hodinách proběhla verze na sinusový rytmus, katecholaminová podpora promptně snižována až 4.2. zcela vysazena. Stav postupně stabilizován, nicméně 5.2. došlo k výraznému nárůstu cholestatické léze, dle SONO břicha obstrukce neprokázána. V dalším průběhu se cholestatická léze pomalu upravovala. 10.2. provedena tracheostomie, zahájen weaning, pacient definitivně odpojen od UPV 18.2.2020, úspěšná dekanylace 24.2.2020. CVVHD plánovaně ukončeno 9.2., od té doby prováděna intermitentní hemodialýza, postupně obnovena diuresa, renální insuficience postupně v regresii. Poslední IHD proveden 24.2.2020. Od 9.2. nárůst zánětlivých parametrů, z konce ČŽK zjištěn koaguláza negativní *Staphylococcus*, proto od 12.2. změna ATB za tigecyklin. Pro ucpání dialyzačního katetru provedena 12.2. výměna, konec sterilní. Poté zánětlivé parametry s poklesem, ATB terapie ukončena 25.2.2020, od té doby pacient bez ATB terapie. Stav komplikován po provedené tracheostomii difusním krvácením při normální trombocytose, postupně progredující koagulopatie s progresí především INR, po podání Kanavitu s efektem. Po vysazení katecholaminové podpory rozvoj hypertenze obtížně reagující na antihypertensiva, v.s. s podílem psychogenní složky. Během hospitalizace intenzivní rehabilitace, přetrvává výrazná sarkopenie, především na HKK, výživové parametry se od 27.2.2020 postupně zlepšují. Pacient v dobrém stavu přeložen na standardní lůžko, kde pokračováno v rehabilitaci. Odstraněn PMK, pacient močí spontánně. CRP nadále s poklesem, renální parametry nadále s poklesem, bilance začínají být vyrovnané. Upravena znovu výživa stran nutnosti nabrání svalové hmoty. V kontrole nárůst kalemie po přidání ACEI, proto tento lék vysazen. Pacient v dobrém, KP kompenzovaném stavu přeložen na lůžko následné rehabilitační péče. Šlo o jednu z nejtěžších maligních malárií z posledních let, proto uvádím i celý průběh hospitalizace. Pacient přes všechny komplikace přežil a zotavuje se v domácí péči.

Vzorek č. 4

V tomto případě všech 18 laboratoří správně našlo gametocyty *Plasmodium falciparum*. Jednalo se o 49letou pacientku původem z Pobřeží Slonoviny, byla přijata pro podezření na malárii. V nátěru byly prokázány pouze gametocyty *P. falciparum*, stav po spontánní úzdavě. Přesto dle platných guidelines byla pro jistotu zahájena antimalarická terapie Riametem, kterou pacientka tolerovala dobře. Pacientka byla po celou dobu afebrilní. V laboratorních výsledcích byl zaznamenán mírný pokles Hb, CRP bylo trvale nízké, bez trombocytopenie. Pacientka byla v dobrém stavu propuštěna do ambulantní péče.

Vzorek č. 5

Tento vzorek na malárii negativní určilo správně všech 18 laboratoří. Jednalo se o pacientku z kazuistiky číslo 4 avšak později po prodělané malárii, kdy se v krvi již nevyskytovaly ani gametocyty.

Číslo vzorku	Druh parazita	Vývojové stádium	Parazitémie
1	<i>Plasmodium vivax</i>	CDE	0,15%
2	<i>Leishmania sp.</i>	A	
3	<i>Plasmodium falciparum</i>	C	21%
4	<i>Plasmodium falciparum</i>	E	
5	NEGATIVNÍ		

PŘEDBĚŽNÉ VÝSLEDKY HODNOCENÍ 19 ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

Limit nesplnila jedna laboratoř.

Počet bodů	15	14	11	10
Počet laboratoří	13	3	1	1

Průměr = 14,33

Standardní odchylka = 1,45

V případě reklamací vyhodnocení série prosím postupujte dle reklamačního řádu.