



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/30/2023 (EHK 1362)

**Mikroskopická diagnostika tropických
tkáňových parazitóz**

Praha, prosinec 2023

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	8
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/30/2023 byl zaměřen na mikroskopickou diagnostiku tropických tkáňových parazitóz. Návrh a realizace PT#M/30/2023 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, NNB)
e-mail: lenka.richterova@bulovka.cz

Zprávu autorizoval:

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

Dne: 11.12.2023

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/30/2023

Identifikace kola/cyklu:	EHK 1362
Název:	Mikroskopická diagnostika tropických tkáňových parazitóz
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.
Hodnocené ukazatele:	
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:	5. 9. 2023
Informace účastníkům:	Viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky:	26. 9. 2023
Označení vzorkovnic:	EHK 1362, PT # M/30, č.1-5, 5. 9. 2023
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.
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Za vztažnou hodnotu je považován výsledek získaný NNB – OKM - Parazitologie
Určení maximální směrodatné odchylky:	Aritmetický průměr výsledků účastníků +/-2 směrodatné odchylky od průměru celkově získaných bodů
Termín uveřejnění očekávaných výsledků	4. 10. 2023
Termín uveřejnění závěrečné zprávy	Do 19. 12. 2023

2. Způsob přípravy vzorků

2.1 Postup přípravy výchozího materiálu

Vzorky byly připraveny na pracovišti Oddělení klinické mikrobiologie - Parazitologie, NNB, 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 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

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

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: *Negativní*

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za každý falešně pozitivní nález.

Vzorek A/ výsledky	<i>Negativní</i>
Počet laboratoří	17

Vzorek B: *Negativní*

maximální počet bodů = 3

odečítají se: 3 body za každý falešně pozitivní nález.

Vzorek B/ výsledky	<i>Negativní</i>	<i>P. falciparum</i>	<i>P. ovale</i>
Počet laboratoří	15	1	1

Vzorek C: *Plasmodium falciparum*

Parazitémie: **3,8%**

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. falciparum</i>
Počet laboratoří	17

Vzorek D: *Plasmodium falciparum*

Parazitémie: **0,46%**

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 D/ výsledky	<i>P. falciparum</i>	<i>P. ovale</i>
Počet laboratoří	16	1

Vzorek E: *Plasmodium vivax*Parazitémie: **2,77%**

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. vivax</i>	<i>P. vivax</i> + <i>P. falciparum</i>
Počet laboratoří	13	4

Parazitémie u vzorků pozitivních na malárii:

Vzorek	C	D	E
Parazitémie (%)	3,8	0,46	2,77
Rozptyl správných výsledků (%)	1,9-7,6	0,2-0,92	1,3-5,54
Chybné výsledky (%)	10,2;8	0,15; 0,43	1,5;1,8

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

17 laboratoří správně určilo tento vzorek jako *negativní*.

Šlo o 52 letou pacientku a její kontrolní odběr 2 roky po proděláním viscerální Leishmaniosy při suspektních příznacích na relaps.

Vzorek B

15 laboratoří tento vzorek určilo správně jako negativní na malárii. Jedna laboratoř chybně popsala nález *P. falciparum* a jedna *P. ovale*.

Pacientka sledovaná v hematologické ambulanci pro vrozenou hemolytickou anémii (deficit pyruvátkinázy), anémie korigována pomocí transfuzních přípravků + chelace, st.p. splenektomie. Dále vrozený trombofilní stav (elevace FVIII).

Morfologie erytrocytů: poikilocytóza, terčovitě erytrocyty, sférocyty, bazofilní tečkování, Howell-Jollyho tělíka, Pappenheimerova tělíka, anizochromie, polychromázie, anizocytóza, makrocyty, sférocyty, místy echinocyty a akantocyty.

Tento vzorek byl zařazen pro pestrost vad krevní řady této pacientky, kde je třeba si uvědomit, že krom malárie se v erytrocitech mohou nalézat barvící se inkluze různého původu, které je třeba od malarických plasmodií rozeznat.

Vzorek C

17 laboratoří určilo správně tento vzorek jako *Plasmodium falciparum*. 15 laboratoří navíc správně určilo parazitémii v širokém limitu tolerance.

60letý pacient přijat na kliniku k léčbě tropické malárie po návratu ze Súdánu. Vstupní parazitémie *P. falciparum* byla 3,8%. V krevním obraze se rozvinula závažná trombocytopenie (26tis), elevace CRP (254 mg/l) i prokalcitoninu (2,01 ug/l), u pacienta klinicky dominovala cefalea a únava, hraniční hypotenze (sysTK 85-90, diaTK 65-70 mmHg). Zahájena perorální antimalarická léčba dvoukombinací artemether/lumefantrin s následnými denními kontrolami parazitémie, zánětlivých, renálních i jaterních parametrů a krevního obrazu. Od druhé dávky antimalarické léčby dochází u pacienta postupně k úpravě všech lab. hodnot - poklesu zánětl. parametrů, vzestupu trombocytů, úpravě iontogramu,

restituce ren. poruchy. Elevace zánětlivých parametrů jde na vrub těžšímu průběhu malárie, bakteriální superinfekce neprokázána. Na terapii se celkový stav pacienta rychle vylepšil, od druhého dne již s postupným ústupem cefalei, afebrilní, diuréza zachována, bez dyspeptických obtíží, bolesti břicha odezněly. Pro tendenci k hypotenzii vysazena antihypertenzní terapie, stejně tak antidiabetická terapie za monitorace glykémie. Po ukončení standardní léčby (6 dávek antimalarika) byla parazitémie 0,16%, proto byla prodloužena léčbu o další 2 dávky. Pacient byl propouštěn v dobrém klinickém i laboratorním stavu do ambulantní péče, v den propuštění parazitémie 0,04%, s ambulantní kontrolou následující den po propuštění.

Vzorek D

16 laboratoří tento vzorek určilo správně jako *Plasmodium falciparum*. Jedna laboratoř chybně jako *Plasmodium ovale*. 15 laboratoří navíc správně určilo parazitémii v širokém limitu tolerance. Jde o pacientku 42 let, která opakovaně pobývá v Keni a to bez antimalarické profilaxe. Malárii již v minulosti prodělala několikrát, tentokrát šlo o nákazu *Plasmodium falciparum* zachycenou v počátku (vstupní parazitémie 0,46%). Antimalarika p.o.: Riamet 20/120mg tbl, 4tbl (80/480mg) jako jednotlivá dávka dle schématu (0+8+24+36+48+60). Pacientka propuštěna v dobrém stavu 4. den od hospitalizace.

Vzorek E

17 laboratoří správně určilo tento vzorek jako *Plasmodium vivax*. Čtyři laboratoře však vzorek chybně označily za koinfekci s *P. falciparum*. 15 laboratoří správně určilo parazitémii v širokém limitu tolerance.

65letý pacient byl přijat pro febrilie po návratu z Etiopie. Laboratorně vysoké zánětlivé a renální parametry, trombocytopenie, krevní nátěry pozitivní na *Plasmodium vivax*, vstupní parazitémie 2,77%. Pro zmatenost a trombocytopenii hospitalizován na intermediálním oddělení. Zahájena antimalarická terapie i.v. chininem a klindamycinem, rehydratace. Na této terapii dochází k poklesu parazitémie a zánětlivých parametrů, pacient se klinicky lepší. Od 6. dne hospitalizace již malárie mikroskopicky negativní. Vyšetřena aktivita glukózo-6-fosfohydrogenasy, která je v normě. Proto byla zahájena antirelapsová léčba primachinemem.

Pacient přeložen 7. den na standardní oddělení, kde již bez obtíží, extrahován PMK. Pacient obtížně nastavitelný na warfarin, proto po domluvě s internistou změněna antikoagulační terapie na NOAK. Kontrolní mikroskopie na malárii dvakrát negativní. Pacienta afebrilního, kardiopulmonálně stabilního propouštíme do péče praktického lékaře a dispenzarizujících specialistů 10. den od počátku hospitalizace.

Vzorek	Druh parazita	Vývojové stádium	Parazitémie
A	Negativní		
B	Negativní		
C	<i>Plasmodium falciparum</i>	C	3,8
D	<i>Plasmodium falciparum</i>	C	0,46
E	<i>Plasmodium vivax</i>	C, D, E	2,77

6. Závěr

Do EHK 1362 se přihlásilo 17 laboratoří, výsledky vrátilo 17 laboratoří. Limit pro úspěšnou účast nesplnila 1 laboratoř.

Laboratoř, která neuspěla, si může 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	15	14	13	12	10
Počet laboratoří	7	7	1	1	1

Průměr = 14

Standardní odchylka = 1, 32

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

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

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY