

**MIKROSKOPICKÁ DIAGNOSTIKA STŘEVNÍCH PARAZITÓZ**

AP OML SZÚ

NRL pro diagnostiku střevních parazitóz

**KONEČNÉ HODNOCENÍ**

Maximální dosažitelný počet bodů: stolice: 8, roztěry: 8

Způsob hodnocení výsledků: /vypracovala RNDr. Z. Hůzová., NRL pro diagnostiku stř. parazitóz/

**Stolice:** rozesílány dva fixované preparáty

A. vajíčka *Trichuris trichiura* četnost C

vajíčka *Ascaris lumbricoides* četnost A

vajíčka a larvy *Necator americanus* /*ancylostoma duodenale* četnost B

B. negativní

maximální počet bodů za správný výsledek = 8 bodů

odečítají se: -2 body za nenalezený druh, -2 body za každý falešně pozitivní nález

**Roztěry:** rozesílány tři preparáty barvené modifikovaným hematoxylinem nebo Gomori trichromem

C. cysty *Entamoeba histolytica/dispar* četnost B

*Entamoeba hartmanni* četnost B-C

D. cysty *Endolimax nana* četnost A

E. negativní

maximální počet bodů za správný výsledek = 8 bodů

odečítají se: -2 body za nenalezený druh, -2 body za každý falešně pozitivní nález, -1 bod za neúplnou identifikaci (*Entamoeba histolytica/dispar*)

**Tabulka správných výsledků**

Druh materiálu	Kód vzorku	Druh (rod) parazita	stádium	rozměry v $\mu\text{m}$	četnost	
Stolice	A	<i>Trichuris trichiura</i>	A	55x25 $\mu\text{m}$	C	
		<i>Ascaris lumbricoides</i>	A	70x45/84x45 $\mu\text{m}$	A	
		<i>oplozené/neoplozené</i>				
		<i>Necator americanus</i> / <i>ancylostoma duodenale</i>	A,D	60x40 $\mu\text{m}$ /230 $\mu\text{m}$	B	
		<i>Entamoeba coli</i>	E	16 $\mu\text{m}$	B	
	B	Negativní				
Roztěry	C	<i>Entamoeba</i>	E	12,5 $\mu\text{m}$	B	

		<i>histolytica/dispar</i> <i>Entamoeba hartmanni</i>	E	10 μm	B-C
	D	<i>Endolimax nana</i> <i>Entamoeba hartmanni</i>	E E	7 μm 7 μm	A (C)
	E	Negativní			

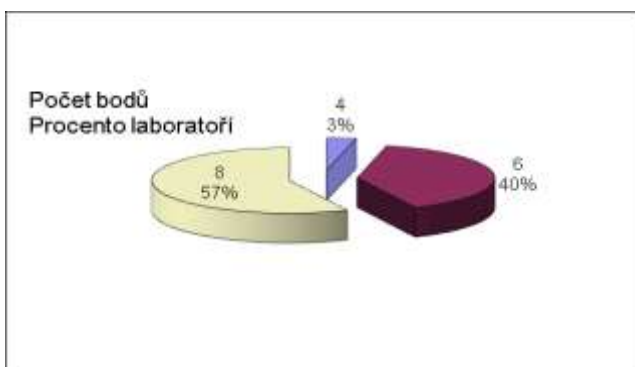
### VÝSLEDKY HODNOCENÍ 58 ZÚČASTNĚNÝCH LABORATOŘÍ

STOLICE	limit 4,81		
Počet bodů	4	6	8
Počet laboratoří	2	23	33

Průměr = 7,07 bodu, směrodatná odchylka = 1,13

průměr minus 2x sm. odchylka = **limit 4,81**

V této části uspěly všechny laboratoře, které získaly více než **4 body**.

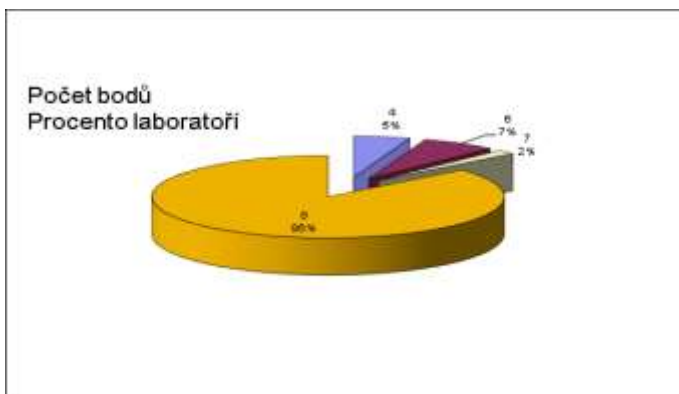


ROZTĚRY	limit 5,65			
Počet bodů	4	6	7	8
Počet laboratoří	3	4	1	50

Průměr = 7,64 bodu, směrodatná odchylka = 0,99

průměr minus 2x sm. odchylka = **limit 5,65**

V této části uspěly všechny laboratoře, které získaly více než **4 body**.



## KOMENTÁŘ K VÝSLEDKŮM

### Fixované vzorky stolic:

**VZOREK A:** vajíčka *Trichuris trichiura* četnost C

vajíčka *Ascaris lumbricoides* četnost A

vajíčka a larvy *Necator americanus* /*ancylostoma duodenale* četnost B

37 (64%) laboratoří výsledek určilo zcela správně, 21 (36%) laboratoře uvedlo navíc nález larev *Strongyloides stercoralis*. Jedna laboratoř (2%) k tomu ještě navíc vůbec neuvedla nález *Ancylostoma/necator*. Díky těmto chybám celkem 2 laboratoře (jedna v kombinaci s chybou ve vzorku B) nesplnily limit první části kola 1194.

PS: Identifikace (rhabditoidních) larev z **fixovaného** vzorku není vždy zcela možná a jednoznačná, každopádně ani nebyla cílem tohoto kola. Pokud se nedaří najít filariformní larvu *Strongyloides stercoralis* s typickým poměrem esophagus/střevo 1:1, snadno může dojít ve fixovaném vzorku k záměně rhabditoidních larev. Každopádně přítomnost vajec *Ancylostoma/Necator* (molekulárně potvrzen *Necator americanus*) je v tomto materiálu klíčovým vodítkem, naznačujícím, že se velmi pravděpodobně jedná larvy z nich vylíhlé. Pokud byla jen vyslovena úvaha o možné přítomnosti *Strongyloides stercoralis* s nutností dourčení, (v reálu by byl k dispozici nefixovaný vzorek, v kterém by i ve Faustově flotační metodě zůstaly v koncentrovaném ZnSO<sub>4</sub> živé larvy s typickým „snake-like“ pohybem, byla by již identifikace jednoznačná) byl tento výsledek uznán.

Přikládám materiál z Ash Orihel's Human Parasitology:



**Obrázek 1:** Ash Orihel's Human Parasitology

Hookworm first-stage (rhabditoid) larva. These larvae may be confused with *Strongyloides* rhabditoid larvae that are normally passed in feces. As seen in Image 1, the hookworm larva has a long, tubular, buccal canal (inset), and the genital primordium cannot be seen.



**Obrázek 2:** Ash Orihel 's Human Parasitology

*Strongyloides stercoralis*, first-stage (rhabditoid) larva. The rhabditoid larvae of *Strongyloides* are approximately the same size as that of hookworm first-stage larvae; however, as seen in Image 2, the former has a short, tubular, buccal canal (inset), and the genital primordium is prominent and easily seen lying between the midpoint of the intestine and the ventral body wall (arrow). Note: *Strongyloides* first-stage larvae are the diagnostic stage for this infection, whereas hookworm larvae will be seen in feces only when left at room temperature for one or more days.



**Obrázek 3:** Ash Orihel's Human Parasitology

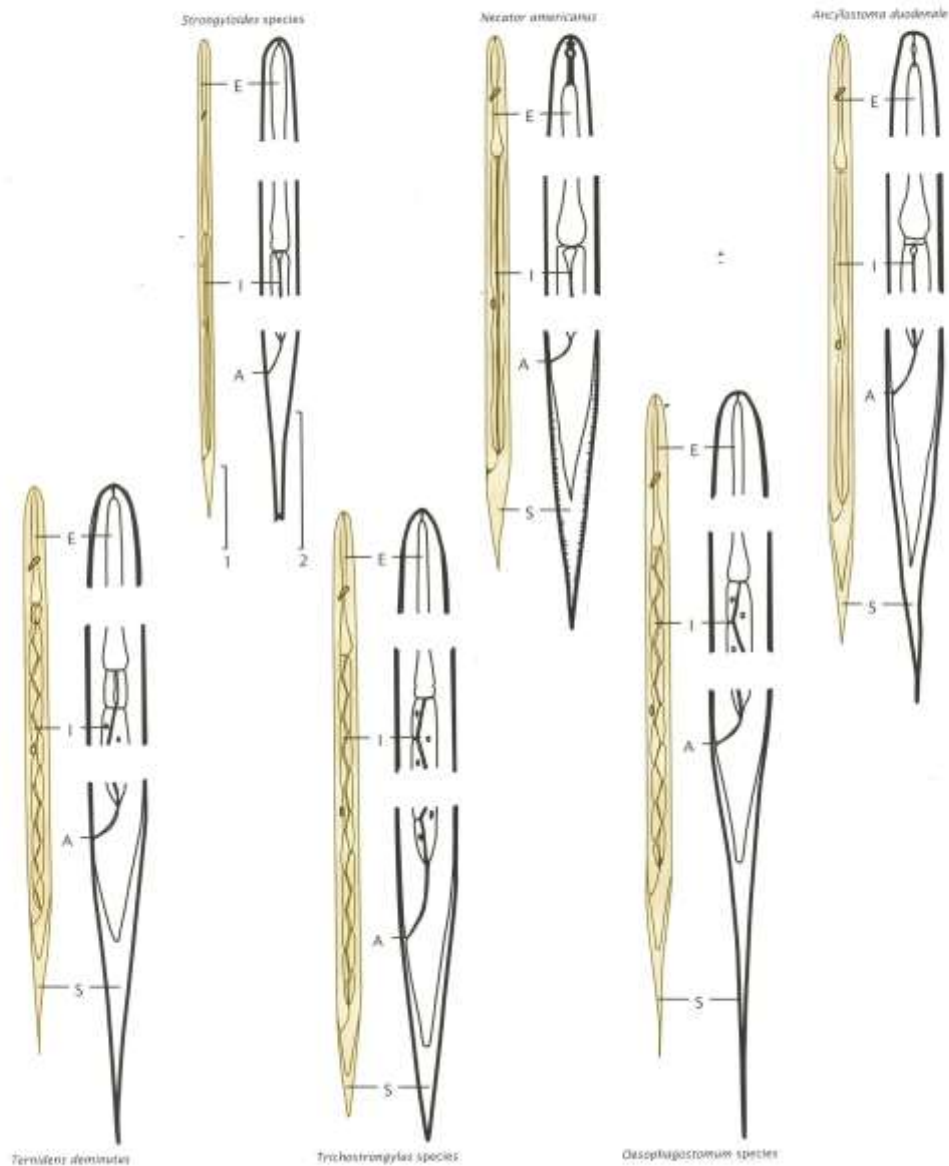
The third-stage, filariform (infective) larvae of hookworms normally are never found in feces, only in the soil; however, hookworm eggs in feces may be cultured in charcoal or in Harada-Mori tubes in the laboratory to obtain infective larvae. These larvae are much longer and more slender than rhabditoid larvae; they have a short esophagus, long intestine, and sharply pointed tail (inset). The iodine stain used here demonstrates the relative lengths of the esophagus and intestine, a ratio of approximately 1:4 in hookworm larvae. The molting cuticle is frequently seen as a sheath around the larvae. It is possible to differentiate species of the genera *Necator* and *Ancylostoma* based on the morphology of the third-stage larvae.



**Obrázek 4:** Ash Orihel's Human Parasitology

The third-stage, filariform (infective) larvae of *S. stercoralis* may be found, in certain circumstances, in feces, sputum, and other tissues and body fluids; however, they may also be cultured from feces in charcoal, Harada-Mori, and agar plate cultures. These larvae are longer and more slender than rhabditoid larvae. With iodine stain, the features that distinguish these larvae from those of hookworms include the esophagus length being equal to the length of the intestine (1:1 ratio), and the attenuated, blunt tail being notched at its end (inset).

**Figure 8.** Diagnostic features of filariform nematode larvae found in human fecal cultures. Scales are 100  $\mu\text{m}$ : 1 for whole larvae, 2 for parts of larvae. Abbreviations: A = anus, E = esophagus, I = intestine, S = sheath. (Adapted with permission from Little MD: Differentiation of nematode larvae in coprocultures: Guidelines for routine practice in medical laboratories. WHO Technical Report Series No. 666, Intestinal Protozoan and Helminthic Infections.)



**Obrázek 5:** Ash Orihel's Human Parasitology

**VZOREK B:** negativní

54 (93%) laboratoří výsledek určilo správně. 4 (6,8%) laboratoře chybovaly díky uvedení larev *Strongyloides stercoralis* nebo vajíček *Ascaris lumbricoides*.

**ZÁVĚR:**

V této části testu pracovalo bezchybně 33 (56,9 %) laboratoří a získalo tak plný počet 8 bodů. 2 laboratoře nesplnily limit první části kola 1194.

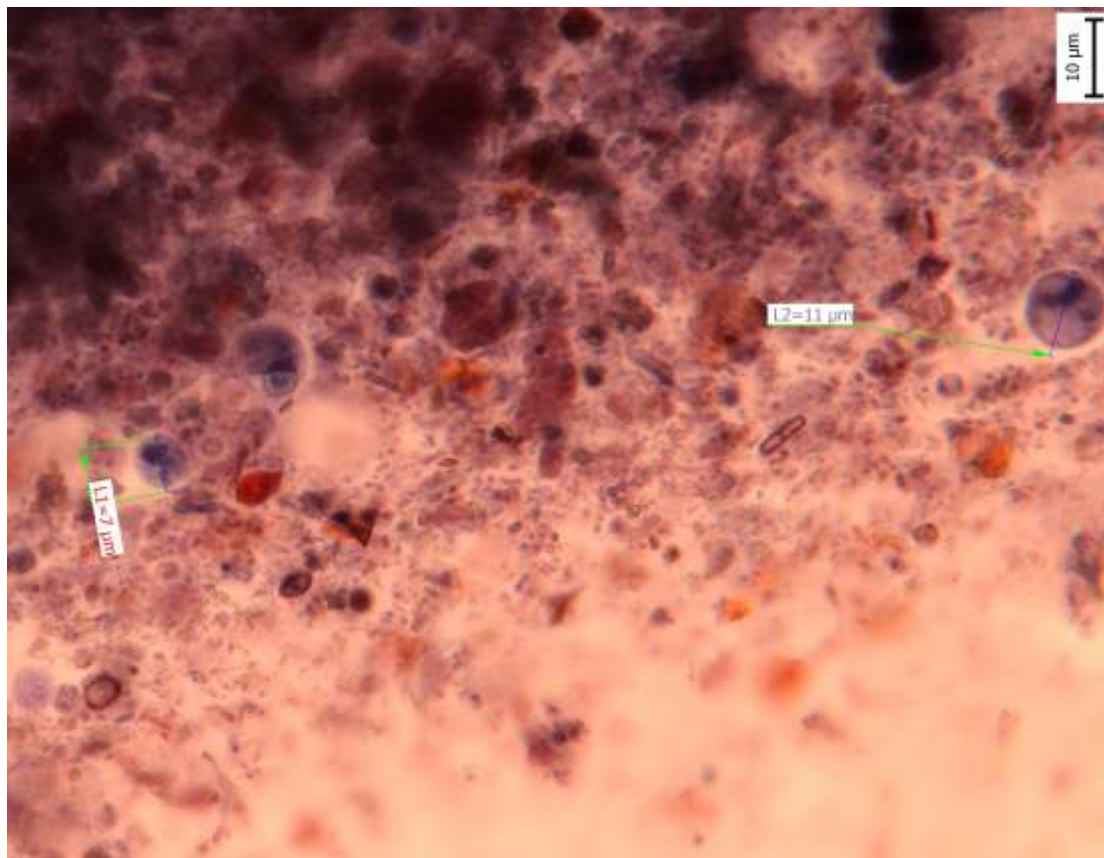


## Barvené roztěry:

VZOREK C: cysty *Entamoeba histolytica/dispar* četnost B

*Entamoeba hartmanni* četnost B-C

Z 58 laboratoří 52 (90%) výsledek určilo správně. Tři laboratoře neuvedly přítomnost cyst *Endolimax nana*. Dvě neuvedly cysty *Entamoeba hartmanni*, dvě navíc uvedly *Jodamoeba buetschli*, jedna laboratoř neúplně identifikovala cysty *Entamoeba histolytica/dispar*, za což jí byl stržen jeden bod.

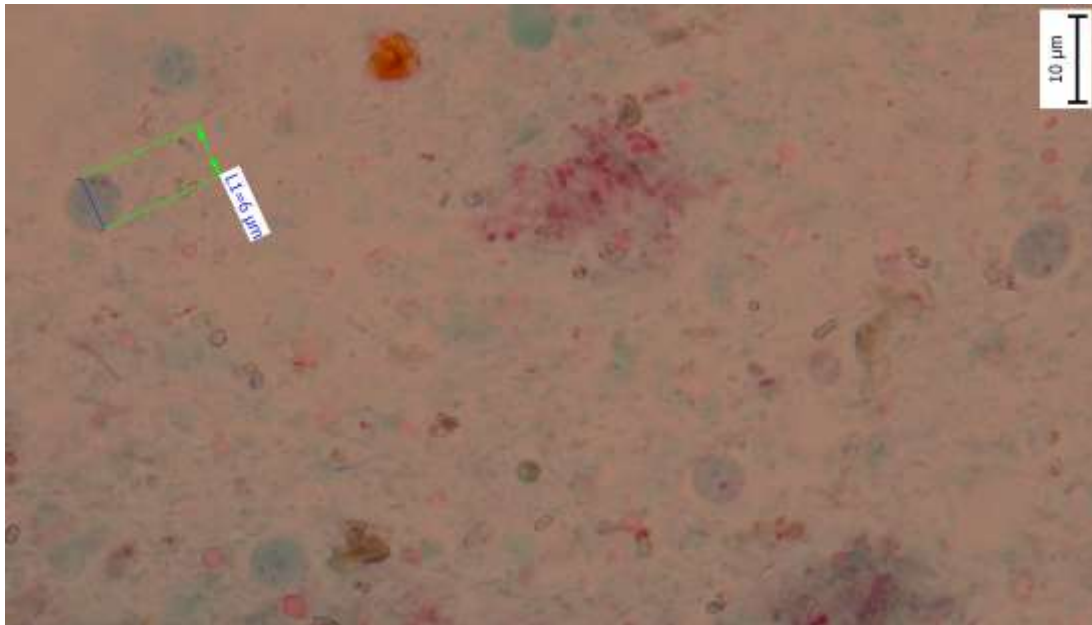


**Obrázek 6:** : cysty *Entamoeba histolytica/dispar* četnost B

*Entamoeba hartmanni*

**VZOREK D:** cysty *Endolimax nana* četnost A

Tento vzorek identifikovaly všechny laboratoře správně, některé dokonce nelezly zcela ojedinele se vyskytující *Entamoeba hartmanni*, což bylo v reklamačním řízení doloženo a následně uznáno.



**Obrázek 7:** : cysty *Endolimax nana*

**VZOREK E:** negativní

Všechny laboratoře identifikovaly tento negativní vzorek správně.

### **ZÁVĚR**

Maximálního zisku 8 bodů v této části dosáhlo 52 (90%) pracovišť. Limit této části kola nesplnily tři laboratoře.

Vypracoval: 7.6.2021

RNDr. Zuzana Hůzová  
NRL pro diagnostiku střevních parazitóz