



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/5-3/2023 (EHK 1357)

Bakteriologická diagnostika

Praha, listopad 2023

Obsah

1	Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2.	Způsob přípravy vzorků	3-4
3.	Charakteristika materiálu	4
4.	Způsob hodnocení	4
5.	Vyhodnocení	5-11
6.	Závěr	11
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/5-3/2023 byl zaměřen na bakteriologickou diagnostiku. Návrh a realizace PT#M/5-3/2023 byly prováděny podle standardního operačního postupu koordinátora programu 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. Renáta Šafránková, Ph.D., prof. MUDr. Helena Žemličková, Ph.D., RNDr. Petr Petráš, CSc, RNDr. Vladislav Jakubů, Ph.D.

Zprávu autorizoval:

RNDr. Renáta Šafránková, Ph.D.

Dne: 23. 11. 2023

Pracoviště 2 ESPT

ehk@szu.cz

<https://szu.cz/sluzby/zkouseni-zpusobilosti/zkouseni-zpusobilosti-pro-lekarskou-mikrobiologii/>

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT#M/5-3/2023

Identifikace cyklu:	EHK 1357
Název PT:	Bakteriologická diagnostika
Koordinátor:	RNDr. Renáta Šafránková, Ph.D.
Podstata a účel PT:	Identifikace bakteriálních patogenů a stanovení citlivosti k antimikrobním preparátům
Kritéria pro účast na PT:	Dodržení správné laboratorní praxe
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3 závěrečné zprávy
Hodnocené ukazatele:	Identifikace bakteriálních patogenů
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Počet účastníků:	118
Termín distribuce vzorků:	4. 9. 2023
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky:	25. 9. 2023
Označení vzorkovnic:	EHK-1357/1-5/2023
Zabezpečení jakosti vzorku včetně testu homogenity a stability:	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4 závěrečné zprávy
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Výsledky dosažené v NRL
Určení maximální směrodatné odchylky:	Aritmetický průměr všech hodnocených laboratoří minus 2 směrodatné odchylky. Laboratoř úspěšně absolvuje kolo EHK, pokud dosáhne bodového limitu, který se vypočítává podle vzorce: Limit = aritmetický průměr výsledků všech hodnocených laboratoří minus dvě směrodatné odchylky. Pokud se v hodnocené skupině vyskytne pracoviště s extrémně nízkým bodovým ziskem (<50 % maximálního bodového zisku), je vyloučeno z výpočtu limitu. Takové pracoviště je automaticky hodnoceno jako neúspěšné.
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	3. 10. 2023
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 18. 12. 2023

2. Způsob přípravy vzorku

2.1 Typ a uskladnění výchozího materiálu

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků jsou bakteriální kultury získané z České národní sbírky typových kultur, případně z klinického materiálu na pracovištích LCEM SZÚ.

Výchozí materiál je dlouhodobě uskladněn v lyofilizované formě při pokojové teplotě nebo hluboce zamražen při -80°C.

2.2 Zpracování výchozího materiálu

Kultury bakterií jsou před použitím rozmrazeny, lyofilizované kultury rehydratovány živným bujónem a poté naočkovány na živná média a inkubovány v termostatu při

teplotě 36°C. Médium se označí datem očkování a identifikací mikroorganismu. Dle druhu mikroorganismu jsou naočkovány 2 – 4 živné půdy. Kmeny jsou inkubovány v termostatu při 35-36°C ve vhodné atmosféře 24h, pomalu rostoucí mikroorganismy 48h. Po inkubaci je vizuálně hodnocen růst a čistota kultury. Kontaminované misky jsou před lyofilizací vyřazeny.

Narostlé kultury mikroorganismů jsou setřeny sterilním vatovým tamponem z povrchu agaru a resuspendovány ve 4 ml fyziologického roztoku. Denzita výsledného zákalu musí odpovídat McFarlandově standardě 6 (přibližně $1,8 \times 10^9$ org. ml⁻¹). Dle požadované výsledné koncentrace bakterií je případně připraveno ředění zákalu ve stupni 10⁻¹ - snadná izolace, 10⁻² - středně obtížná izolace až 10⁻³ - obtížná izolace. Ředění se připraví napipetováním 1ml suspenze bakterií o hustotě McFarland 6 do 9ml fyz. roztoku (ředění 10⁻¹); přenesením 1ml z ředění 10⁻¹ do 9ml fyz. roztoku se připraví ředění 10⁻², přenesením 1ml z ředění 10⁻² do 9ml fyz. roztoku ředění 10⁻³. Automatickou pipetou je napipetováno 0,7 ml vzniklé suspenze nebo požadovaného ředění do 70 ml lyofilního média. Suspenze je homogenizována a rozplněna do jednotlivých lahviček (vzorků) o objemu min. 0,5 ml. Vzorky jsou označeny pořadovým číslem 1-5, číslem EHK a datem rozeslání. Před plněním se lahvička vždy sterilizuje nad plamenem. Lahvičky se uzavřou gumovým uzávěrem pomocí pinzety tak, aby byl ponechán prostor pro odpaření. Rozplněné lahvičky jsou umístěny na kovovou snímatelnou plošinu lyofilizátoru rovnoměrně po celé její ploše. Po rozplnění lahviček je 1 kapka ze zbylé suspenze inokulována na živný agar a inkubována pro kontrolu sterility. Kovová plošina s lahvičkami se vloží do mrazicího boxu na -80°C. Po 3 hodinách se plošina s lahvičkami vloží do lyofilizačního přístroje, kde probíhá vlastní lyofilizace (SOP-NRL/CNCTC-03, SOP-NRL/CNCTC-09).

Po kontrole lyofilizátů jsou lahvičky opatřeny pertlí pomocí pertlovacích kleští a označeny nálepkou pro identifikaci lyofilizátu. Takto označené a zapertlované lahvičky jsou vloženy do plastového obalu a skladovány při teplotě 4 – 8°C.

Stabilita výchozího materiálu je zabezpečena lyofilizací kultur.

Homogenita je zajištěna promícháním vzorků před zahájením alikvotování do vzorkovnic.

3. Charakteristika materiálu

Simulované klinické vzorky obsahující:

1. *Stenotrophomonas maltophilia*
2. *Legionella pneumophila*
3. *Campylobacter coli*
4. *Staphylococcus warneri*
5. *Proteus mirabilis*

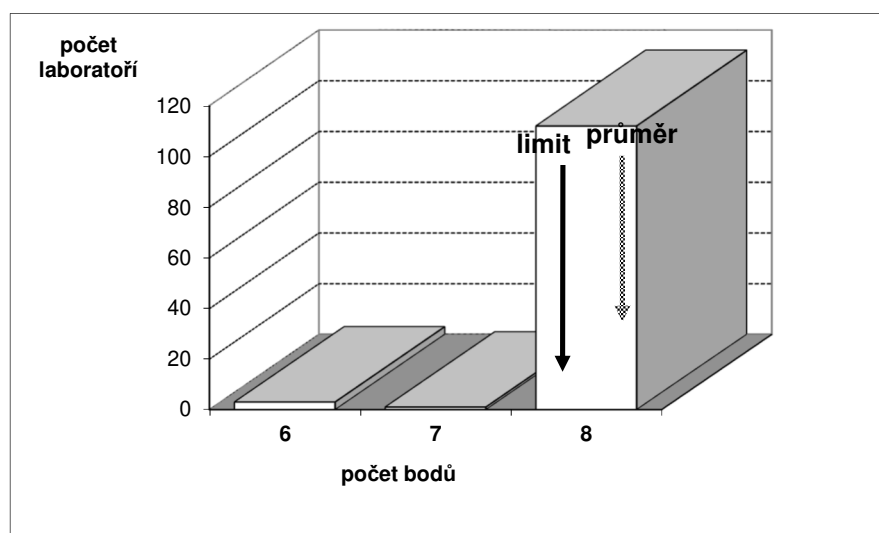
4. Způsob hodnocení

Kvalitativní; dosažení bodového limitu za identifikaci signifikantních patogenů pro danou sérii se vypočítává dle vzorce; u vzorků 1-4 max 2 body za 1 vzorek; limit = aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky.

5. Vyhodnocení

Za identifikaci signifikantního patogena ve 4 vzorcích mohly laboratoře získat maximálně 8 bodů. Bodování pro identifikaci bylo provedeno ve stupnici 2, 1 a 0 bodů. Hodnocení (resp. bodování) vyšetření citlivosti k antibiotikům se z technických důvodů již neprovádí, k dispozici jsou komentované výsledky (vzorek 4 a 5).

Graf 1: **Počet bodů za správnou identifikaci.**



Maximálního počtu bodů při identifikaci dosáhlo 112 laboratoří, tj. 96,6%. Limit pro úspěšné absolvování byl 7,278 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj. $7,940 - (2 \times 0,331) = 7,278$). Tohoto limitu dosáhlo 112 laboratoří, 4 laboratoře tento limit nesplnily.

Výsledky zúčastněných laboratoří

VZOREK 1: Izolát z krve od pacienta s neutropenií.

ODPOVĚď: ***Stenotrophomonas maltophilia***

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	116	2	100%
Celkem	116		100%

Z 20 laboratoří s nejvyšším dosaženým počtem bodů za minulý rok uvedlo správný výsledek 20 laboratoří. Vzorek je možno hodnotit.

Identifikace signifikantního patogena ve vzorku 1 nečinila obtíže a všechny zúčastněné laboratoře získaly po dvou bodech.

VZOREK 2: Sputum od 60letého pacienta - etylika s progredující respirační insuficiencí a stavem zmatenosti.

ODPOVĚĎ: ***Legionella pneumophila***

Vzorek dále obsahoval: *Streptococcus mutans*

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Legionella pneumophila</i>	114	2	98,3%
<i>Legionella</i> spp.	2	2	1,7%
Celkem	116		100%

Z 20 laboratoří s nejvyšším dosaženým počtem bodů za minulý rok uvedlo správný výsledek 20 laboratoří. Vzorek je možno hodnotit.

Všechny laboratoře správně identifikovaly signifikantního patogena a získaly po 2 bodech. Několik laboratoří mělo zpočátku problémy s kultivací, nicméně na půdě Legionella BCYE Medium od firmy Thermo Scientific™ vyrostl zaslaný kmen po 5 dnech v CO₂ zcela bez problémů.

Druhá identifikace legionel bývá obtížná, pro bližší identifikaci (i pro epidemiologické došetření případné legionelózy) je vhodné zaslat kmen do NRL pro legionely. S ohledem na aktuální epidemiologickou situaci, jak u nás tak i za hranicemi, je potěšující, že s identifikací tohoto patogena si všechny laboratoře bez problémů poradily.

VZOREK 3: Stolicе od 39leté pacientky s akutním průjmem vzniklým po konzumaci směsi vepřového a kuřecího masa.

ODPOVĚĎ: ***Campylobacter coli***

Vzorek dále obsahoval: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Campylobacter coli</i>	107	2	92,2%
<i>Campylobacter</i> spp.	5	2	4,3%
<i>Campylobacter jejuni</i>	1	1	0,9%
Signifikantni bakt. patogen nepřítomen	3	0	2,6%
Celkem	116		100%

Z 20 laboratoří s nejvyšším dosaženým počtem bodů za minulý rok uvedlo správný výsledek 20 laboratoří. Vzorek je možno hodnotit.

Signifikantního patogena správně určilo 112 laboratoří (96,5%), k získání plného počtu bodů postačovalo rodové jméno.

Biochemické testy na rozlišení *C. jejuni* a *C. coli* nejsou vždy spolehlivé, např. test hydrolýzy hippurátu (některé kmeny *C. jejuni* hippurát nehydrolyzují).

V poslední době je již relativně dostupnou metodou na spolehlivé rozlišení obou druhů hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF, případně PCR [1].

Campylobacter coli spolu s *C. jejuni* a několika dalšími druhy patří do jedné fylogenetické skupiny (termotolerantní) rodu *Campylobacter* [2].

Hlavním hostitelem *C. coli* jsou prasata, ale běžně se tento druh vyskytuje také u ptáků a dalších živočišných druhů [3].

Literatura

- [1] Kolínská R, Dřevínek M, Jakubů V, Žemličková H: Species identification of *Campylobacter jejuni* ssp. *jejuni* and *C. coli* by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and PCR. *Folia Microbiol.* 2008; 53:403-411.
- [2] Costa D, Iraola G. Pathogenomics of Emerging *Campylobacter* Species. *Clin Microbiol Rev.* 2019 Jul 3;32(4):e00072-18.
- [3] Vandenberg O, Skirrow MB, Butzler JP. *Campylobacter* and *Arcobacter*. In Borriello SP, Murray PR, Funke G. (eds): *Topley & Wilsons Bacteriology*, Volume 2, 10th edition, ASM Press, Washington, DC, 2005.

VZOREK 4: Izolát z hemokultury od intravenózního narkomana s infekční endokarditidou.

ODPOVĚď: ***Staphylococcus warneri***

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Staphylococcus warneri</i>	116	2	100%
Celkem	116		100%

Z 20 laboratoří s nejvyšším dosaženým počtem bodů za minulý rok uvedlo správný výsledek 20 laboratoří. Vzorek je možno hodnotit.

Požadavek byl určit signifikantního patogena a vyšetřit jeho citlivost k oxacilinu a k linezolidu. Izolát *Staphylococcus warneri* je podle výsledku cefoxitinu k oxacilinu citlivý (C) a je citlivý (C) i k linezolidu.

Staphylococcus warneri byl mezi prvními koaguláza negativními stafylokoky (KNS), které byly popsány již v roce 1975. Je součástí normální kožní mikrobioty člověka i zvířat, ale je i podmíněným patogenem, který může u imunitně oslabených pacientů vyvolat infekci. U onemocnění srdce, zvláště kdy byly implantovány umělé chlopně, patří KNS k nejčastějším příčinám infekčních endokarditid.

Podle výsledků NRL pro stafylokoky patří kmeny *S. warneri* do desítky nejčteněji izolovaných KNS z humánního klinického materiálu, u kmenů z hemokultur se pohybuje

okolo šestého místa. Jeho nejbližším fylogeneticky příbuzným je *S. pasteurii*, od kterého jde těžko fenotypově oddělit (u *S. pasteurii* se uvádí žlutý pigment, pozitivní sorbitol a rezistence k lysostaphinu). Dobře jej identifikuje MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie.

Všech 116 zúčastněných laboratoří identifikovalo správně vzorek do druhu a bezchybně interpretovalo oxacilin i linezolid jako citlivé.

Pro detekci rezistence k met icilinu je doporučováno použít disk cefoxitinu, který je lepším prediktorem než MIC cefoxitinu i než disk oxacilinu. Tabulka 1 obsahuje breakpointy průměrů inhibičních zón a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) oxacilinu/cef oxitinu a linezolidu naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Tabulka 1. Výsledky vyšetření citlivosti¹ kmene 4 *Staphylococcus warneri*.

Antibiotikum	Obsah disku	Průměry IZ (mm)			MIC (mg/l)			Výsledky laboratoří			
								Kategorie ² / absolutní počet laboratoří ³			správný výsledek
		breakpoint		rozmezí hodnot naměřených v NRL*	breakpoint		rozmezí hodnot naměřených v NRL**	C	I	R	%
		C ≥	R <		C ≤	R >					
oxacilin					0,25	0,25	0,25	116	0	0	100
cef oxitin	30 µg	22	22	32 - 33				116	0	0	100
linezolid	10 µg	21	21	27 - 29	4	4	2 - 4	116	0	0	100

¹ IZ - průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace. EUCAST v13

² kategorie C: citlivý při standardním dávkování; I: citlivý při zvýšené expozici; R: rezistentní

³ očekávané výsledky jsou zvýrazněny

* pět měření diskovou difuzní metodou; ** pět měření diluční mikrometodou;

VZOREK 5: *Proteus mirabilis*

Požadavek byl vyšetřit citlivost k meropenemu (MER) a ciprofloxacinu (CIP).

Celkové výsledky vyšetření citlivosti izolátu 5 jsou v tabulce 2, která obsahuje breakpointy inhibičních zón (IZ) a MIC pro meropenem a ciprofloxacin, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Tabulka 2. Výsledky vyšetření citlivosti¹ kmene 5 *Proteus mirabilis*.

Antibiotikum	Obsah disku	Průměry IZ (mm)			MIC (mg/l)			Výsledky laboratoří			
								Kategorie ³ / absolutní počet laboratoří ⁴			správný výsledek
		breakpoint ²		rozmezí hodnot naměřených v NRL*	breakpoint ²		rozmezí hodnot naměřených v NRL**	C	I	R	%
		C ≥	R <		C ≤	R >					
meropenem	10 µg	22	22 (16)	24 - 26	2	8 (2)	1 - 2	44	50	22	38
ciprofloxacin	5 µg	25	22	42 - 43	0,25 (0,125)	0,5 (0,125)	0,06 – 0,06	116	0	0	100

¹ IZ - průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace. EUCAST v13

² hodnoty v závorkách platí pro interpretace u meningitidy

³ kategorie C: citlivý při standardním dávkování; I: citlivý při zvýšené expozici; R: rezistentní

⁴ očekávané výsledky jsou zvýrazněny

* pět měření diskovou difúzní metodou; ** pět měření diluční mikrometodou;

Kmen *Proteus mirabilis*, který je producentem karbapenemázy NDM, je citlivý k meropenemu i k ciprofloxacinu.

Diskuse

Pro hodnocení výsledku vyšetření citlivosti je zásadní účel testování. Je třeba nesměšovat aspekt epidemiologický (detekce mechanismu rezistence) a klinický (efekt antibiotické léčby). Epidemiologický předěl (mikrobiologická rezistence) rozděluje populaci dle přítomnosti získaného mechanismu rezistence na původní „wild-type“ a rezistentní „non-wild-type“. Tato hodnota je stabilní a její výhodou je vysoká senzitivita i diskrétních získaných změn původního citlivostního profilu u konkrétního bakteriálního druhu. Klinický breakpoint pak určuje pravděpodobnost úspěšnosti či selhání antibiotické léčby, který je nastaven v souladu s doporučeným dávkovacím schématem dle typu infekce, viz eucast.org. **Detekce mechanismů rezistence je tedy zcela relevantní pro epidemiologické účely, nicméně není nezbytná pro účely klinické.**

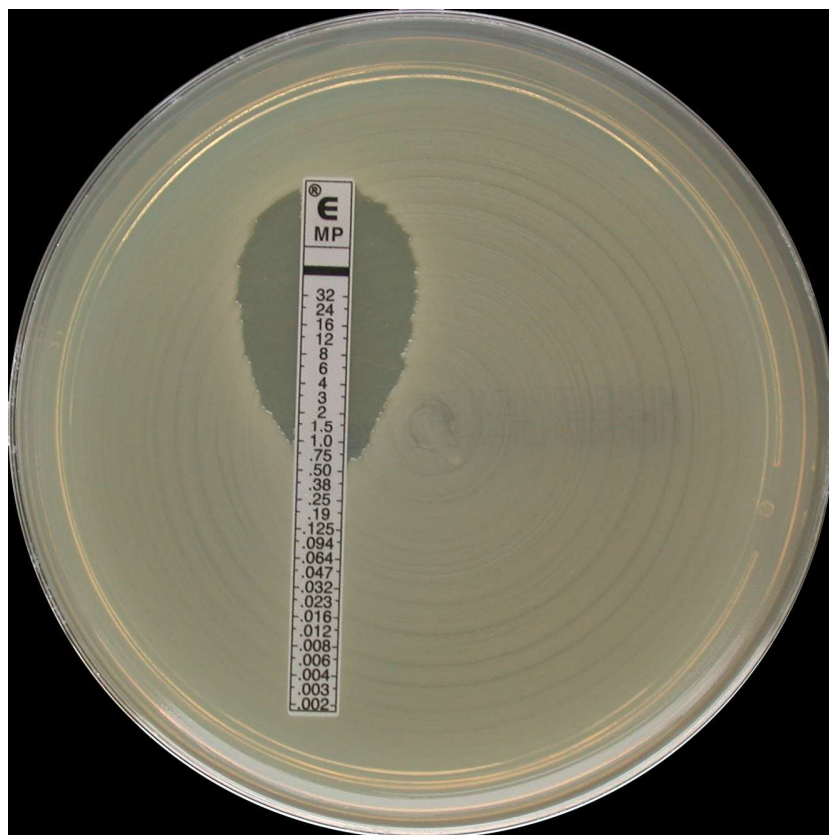
Zaměňování těchto aspektů je zdrojem diskuzí ohledně interpretace výsledků testování citlivosti při zjištění produkce některých betalaktamáz, včetně karbapenemáz. EUCAST ve svých dokumentech uvádí, že průkaz přítomnosti některých mechanismů rezistence, zejména širokospektrých betalaktamáz a karbapenemáz, sám o sobě nevede u gram negativních mikroorganismů k jejich klasifikaci jako klinicky rezistentní [1, 2]. Změna klinické interpretace výsledku testování citlivosti je nestandardním krokem a není v souladu s doporučením EUCAST. Klinické dopady antibiotické léčby producentů karbapenemáz hodnotí řada studií. Přes variabilitu použitých schémat existuje shoda na individuálním přístupu k antibiotické terapii. Účinnost kombinované terapie zahrnující karbapenemy byla potvrzena [3, 4]. Riziko terapeutického selhání roste při monoterapii karbapenemy u izolátů s vyšší MIC, naopak u producentů karbapenemázy měla kombinovaná terapie (≥ 2 antibiotika, ke kterým je izolát citlivý) obsahující karbapenem nejnižší procento selhání (8,3 %) v porovnání s dalšími kombinacemi bez použití karbapenemu či monoterapií (kolistin, aminoglykosidy, karbapenem, tigecyklin) [4]. Existující doporučení připouští jejich použití, pokud kmen nevykazuje na daný

karbapenem *in vitro* rezistenci [3]. Pro léčbu invazivních infekcí vyvolaných producenty karbapenemázy by ale měly být preferovány nové betalaktamy nebo nové kombinace betalaktamů s inhibitory karbapenemáz [3].

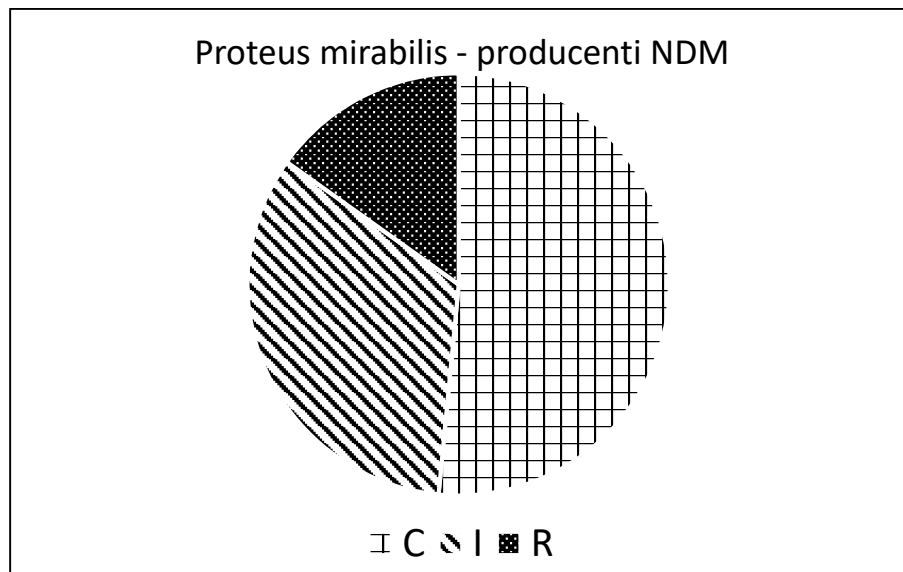
Cílem hodnocení kvality testování citlivosti vůči antibiotikům je dosažení shody výsledků testované laboratoře a zadavatele v **kategorizaci citlivosti** na základě laboratorního vyšetření a interpretace výsledků dle platných standardizovaných klinických breakpointů.

Klinické breakpointy EUCAST pro meropenem rozlišují interpretaci pro izoláty z meningitidy a ostatních indikací. Hodnota MIC meropenemu se u testovaného kmene pohybovala v rozmezí 1-2 mg/l, klinická interpretace je v obou případech stejná. Stejně nastavení interpretace se týká i ciprofloxacinu, u kterého byla naměřena hodnota MIC 0,06 mg/l. Kategorizace ciprofloxacinu nečinila laboratořím žádné problémy, avšak pouze 38 % laboratoří označilo meropenem správně jako citlivý. Příčinou může být chyba vlastního testování (obvykle vyšší koncentrace inokula) nebo interpretace výsledku. Obrázek 1 ilustruje růst o koncentraci 0,5 McFarlanda na MH agaru (Oxoid), s použitým gradientovým testem (E-test, Biomerieux) a s výslednou hodnotou MIC meropenemu 1 mg/l.

Nižší hodnota MIC meropenemu není u kmenů *P. mirabilis* produkujících karbapenemázu nijak vzácná. Do NRL pro antibiotika bylo od roku 2018 zasláno 66 kmenů *Proteus mirabilis* produkující karbapenemázu NDM. U 52 % kmenů byla naměřena MIC meropenemu v citlivé oblasti (viz graf č. 1).



Obrázek 1. Růst kmene *Proteus mirabilis* o koncentraci 0,5 McFarlanda na MH agaru (Oxoid), s použitým gradientovým testem (E-test, Biomerieux) a hodnotou MIC meropenemu 1 mg/l.



Graf 2. Rozložení interpretací Citlivý (C), Rezistentní (R) a Citlivý při zvýšené expozici (I) u producentů NDM kmenů *Proteus mirabilis* testovaných v NRL pro antibiotika v období 2018 – 2023.

Literatura

- [1] EUCAST. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 13.1, valid from 2023-06-29 [on-line]. Dostupný z WWW: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
- [2] EUCAST. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanism_s/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf
- [3] Stephen Hughes, Mark Gilchrist, Katie Heard, Ryan Hamilton, Jacqueline Sneddon, Treating infections caused by carbapenemase-producing Enterobacterales (CPE): a pragmatic approach to antimicrobial stewardship on behalf of the UKCPA Pharmacy Infection Network (PIN), *JAC-Antimicrobial Resistance*, Volume 2, Issue 3, September 2020, dlaa075, <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlaa075>
- [4] Inigo M, Del Pozo JL. Treatment of infections caused by carbapenemase-producing *Enterobacterales*. *Rev Esp Quimioter* 2022; 35(Suppl 3): 46–50. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov.ezproxy.is.cuni.cz/pmc/articles/PMC9717464/>

6. Závěr

Celkem byly vzorky rozeslány 118 laboratořím, 116 laboratoří odeslalo výsledek k vyhodnocení. Uspělo 112 laboratoří.

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

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY