



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001 akreditovaný ČIA
podle ČSN EN ISO/IEC 17043: 2023
Šrobárova 49/48, 100 00, Praha 10



Závěrečná zpráva

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii
(Externí hodnocení kvality)

PT#M/5-2/2025 (EHK 1482)
Bakteriologická diagnostika

Praha, srpen 2025

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	5-10
6.	Závěr	11
	Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/5-2/2025 byl zaměřen na bakteriologickou diagnostiku. Návrh a realizace PT#M/5-2/2025 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., Mgr. Ondřej Daniel, RNDr. Petr Petráš, CSc., RNDr. Vladislav Jakubů, Ph.D.

Zprávu autorizoval:

RNDr. Renáta Šafránková, Ph.D.
Dne: 4. 8. 2025

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/5-2/2025

Identifikace cyklu:	EHK 1482
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:	111
Termín distribuce vzorků:	5. 5. 2025
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky:	26. 5. 2025
Označení vzorkovnic:	EHK-1482/1-5/2025
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:	2. 6. 2025
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 18. 8. 2025

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 agarů 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.

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. *Staphylococcus lugdunensis*
2. *Neisseria gonorrhoeae*
3. *Salmonella* Enteritidis
4. *Enterobacter hormaechei* (*Enterobacter cloacae* komplex)
5. *Pseudomonas tohonis*

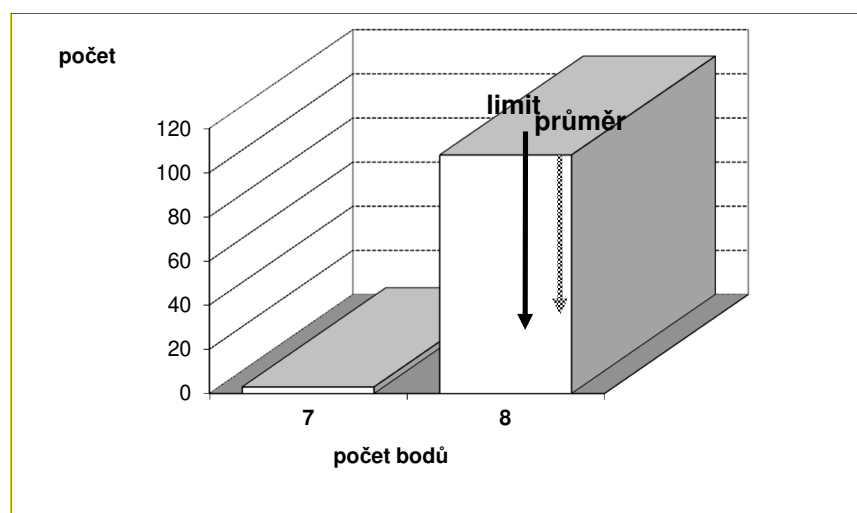
4. Způsob hodnocení

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 108 laboratoří, tj. 97,3%. Limit pro úspěšné absolvování byl 7,647 bodů, (aritmetický průměr minus dvě směrodatné odchylky, tj. $7,973 - (2 \times 0,163) = 7,647$). Tohoto limitu dosáhlo 108 laboratoří, 3 laboratoře tento limit nesplnily.

Výsledky zúčastněných laboratoří

VZOREK 1: Izolát z krve od pacienta s podezřením na endokarditidu.

ODPOVĚď: ***Staphylococcus lugdunensis***

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	111	2	100%
Celkem	111		100%

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

Staphylococcus lugdunensis je typickým podmíněným patogenem z koaguláza negativních stafylokoků, který může u imunitně oslabených osob vyvolat vážná onemocnění. Je uváděn i jako příčina infekcí krevního řečiště u nemocí spojených s lékařskou péčí. Podle výsledků NRL pro stafylokoky je jeho výskyt poměrně častý. [1].

Kmeny *S. lugdunensis* mívají velice často pozitivní test na clumping faktor, který je v laboratořích používán ke skriningové identifikaci kmenů *S. aureus*. Tato latexová reakce může být tedy zavádějící. Jednoduchým testem, který druh snadno potvrdí, je pozitivní reakce na ornitin-dekarboxylázu, kterou produkují kmeny *S. lugdunensis* (s výjimkou asi 10 % kmenů *S. epidermidis*) jako jediný druh stafylokoka. Spolehlivě ho umí identifikovat hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF.

Všechny laboratoře oznámily správný výsledek.

Literatura

[1] Petráš P, Měřínská T, Hutníková R. Identifikace koaguláza negativních stafylokoků z klinického materiálu v NRL pro stafylokoky v letech 2000–2020. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)*. 2021; 30(2): 61–67

VZOREK 2: Výtěr z cervixu od 20leté pacientky s podezřením na cervicitidu.

ODPOVĚĎ: ***Neisseria gonorrhoeae***

Vzorek dále obsahoval: *Lactobacillus acidophilus*

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	111	2	100%
Celkem	111		100%

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

Všechny zúčastněné laboratoře identifikovali signifikantního patogena správně a získaly po 2 bodech.

Výskyt kapavky v ČR i ve světě, vývoj rezistence k antibiotikům a případné možnosti vakcinace proti kapavce shrnuje přehledně článek ve Zprávách CEM z roku 2023. [1].

Literatura

[1] Zákoucká H. Pokroky v oblasti primární prevence sexuálně přenosných infekcí vakcinací. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)*. 2023; 32(12): 454-458

VZOREK 3: Stolicе od 3letého dítěte s horečkou, zvracením a bolestí břicha.
ODPOVĚď: <i>Salmonella</i> Enteritidis Vzorek dále obsahoval: <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Salmonella</i> Enteritidis	107	2	96,4%
<i>Salmonella</i> sk. O:9, susp. <i>S.</i> Enteritidis	1	2	0,9%
<i>Salmonella</i> sk. O:9	2	1	1,8%
<i>Salmonella</i> spp.	1	1	0,9%
Celkem	111		100%

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

Jako vzorek byl rozeslán kmen *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérovar Enteritidis antigenní struktury 9,12 : g,m : -, (dále jen *S.* Enteritidis).

Plnou sérotypizaci zaslaného kmene, *Salmonella* Enteritidis dokázalo určit 107 laboratoří z celkového počtu 111, což je více než 96 % zúčastněných laboratoří.

Tři laboratoře (tj. 2,7 % ze všech zúčastněných) určily pouze somatický antigen a vyhodnotily kmen salmonely jako zástupce skupiny O:9, z toho jedna laboratoř uvedla *S.* Enteritidis suspektně.

Jediná z laboratoří jako hlavní výsledek uvedla identifikaci do druhu (tj. *Salmonella* spp.).

Dále uvádíme přehled nejčastěji hlášených sérovarů za rok 2024. *Salmonella* Enteritidis byla v roce 2024 jednoznačně nejčastěji hlášeným sérovarem na území ČR. Z celkového počtu hlášených případů salmonelóz představovala 79,8 %, což odpovídá 5 623 případům. Tento sérovar tak výrazně dominuje nad ostatními – druhá nejčastější byla *Salmonella* Typhimurium (6,1 %), následovaná *S.* Typhimurium monofázická (1,3 %), *S.* Coeln (1,3 %) a *S.* Infantis (1,2 %). Pět nejčastějších sérovarů včetně *S.* Enteritidis tvořilo celkem 89,8 % všech hlášených infekcí.

Tabulka 1. Zastoupení sérovarů hlášených v roce 2024 na území ČR (data k 24. 03. 2025, zdroj ISIN).

pořadí	sérovar	počet	zastoupení z celkového počtu hlášených salmonel
1.	<i>S. Enteritidis</i>	5623	79,8 %
2.	<i>S. Typhimurium</i>	432	6,1 %
3.	<i>S. Typhimurium</i> monofázická	94	1,3 %
4.	<i>S. Coeln</i>	90	1,3 %
5.	<i>S. Infantis</i>	87	1,2 %
	celkem tyto sérotypy	6326	89,8 %

Tento domácí trend odpovídá i evropským údajům. Podle poslední dostupné zprávy (EFSA & ECDC, 2024) [1] byla *S. Enteritidis* v roce 2023 nejčastěji hlášeným sérovarem salmonelózy v EU/EEA a zároveň nejčastějším původcem ohnisek. Největší počet ohnisek i případů byl spojen s kombinací *S. Enteritidis* a potravinových produktů z vajec, která byla označena za nejvýznamnější „agent/food pair“ a vedla k druhému nejvyššímu počtu hospitalizací (EFSA & ECDC, 2024) [1].

Vedle tradičních vajec se však v roce 2023 zvýšilo riziko přenosu *S. Enteritidis* prostřednictvím kuřecího masa. Společné rychlé hodnocení ohniska nákazy EFSA/ECDC popsala tři přeshraniční ohniska nákazy sekvenčního typu ST11 spojená s kuřecím masem a kuřecími kebaby. Od 1. ledna do 24. října 2023 bylo hlášeno 335 laboratorně potvrzených případů ve 14 zemích EU/EEA, Spojeném království a USA; devět pacientů bylo hospitalizováno a v Rakousku bylo zaznamenáno jedno úmrtí (ECDC & EFSA, 2023). [2]

Tyto údaje potvrzují trvale vysoký význam *S. Enteritidis* pro veřejné zdraví v ČR i v EU a ukazují, že monitoring a kontrola musí kromě vajec nově zahrnovat také drůbeží maso a výrobky z něj.

Literatura

[1] European Food Safety Authority (EFSA), & European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2024). The European Union One Health 2023 Zoonoses report (EFSA Journal 2024;22(12):9106). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.9106>

[2] European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), & European Food Safety Authority (EFSA). (2023). Multi-country outbreak of *Salmonella* Enteritidis sequence type (ST)11 infections potentially linked to chicken meat and chicken kebab in EU/EEA and the United Kingdom – 24 October 2023 (Joint ECDC–EFSA Rapid Outbreak Assessment). <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/salmonella-enteritidis-st11-outbreak-linked-chicken-kebab>

VZOREK 4: Izolát z moče od pacientky s akutní cystitidou (signifikantní bakteriurie).

ODPOVĚď: ***Enterobacter hormaechei* (E. cloacae komplex)**

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Enterobacter hormaechei</i>	65	2	58,6%
<i>Enterobacter cloacae</i> komplex	29	2	26,1%
<i>Enterobacter cloacae</i>	17	2	15,3%
Celkem	111		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 citlivost k těmto antibiotikům: piperacilin-tazobactam (TZP) a kotrimoxazol (SXT).

Izolát *Enterobacter hormaechei* je rezistentní k piperacilinu-tazobaktamu a citlivý ke kotrimoxazolu [1].

Všechny laboratoře identifikovaly signifikantního patogena správně a získaly po dvou bodech.

Citlivost k oběma antibiotikům správně interpretovaly všechny laboratoře.

Tabulka 2 obsahuje breakpointy (BP) průměrů inhibičních zón a minimálních inhibičních koncentrací (MIC) naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Tabulka 2. Výsledky vyšetření citlivosti¹ kmene 4 *Enterobacter hormaechei*.

Antibiotikum	Obsah disku	Průměry IZ (mm) ¹			MIC (mg/l) ¹			Výsledky laboratoří			
								Kategorie ² / absolutní počet laboratoří ³			správný výsledek
		Breakpoint ⁴		rozmezí hodnot naměřených v NRL*	Breakpoint ⁴		rozmezí hodnot naměřených v NRL**	C	I	R	
		C ≥	R <		C ≤	R >					%
piperacilin-tazobactam	36 µg	20	20	13-14	8	8	32-32	0	0	111	100
kotrimoxazol	25 µg	14	11	26-27	2	4	0,125-0,125	111	0	0	100

¹ IZ - průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace. EUCAST v14

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

³ očekávané výsledky jsou zvýrazněny

⁴ hodnoty mezi C a R jsou I

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

VZOREK 5: *Pseudomonas tohonis*

Požadavek byl vyšetřit citlivost k těmto antibiotikům: meropenem (MER), ciprofloxacin (CIP).

Celkové výsledky vyšetření citlivosti izolátu 5 jsou v tabulce 3, která obsahuje BP inhibičních zón (IZ) a MIC, hodnoty naměřené v NRL pro antibiotika a výsledky laboratoří.

Tabulka 3. Výsledky vyšetření citlivosti¹ kmene 5 *Pseudomonas tohonis*.

Antibiotikum	Obsah disku	Průměry IZ (mm) ¹			MIC (mg/l) ¹			Výsledky laboratoří			
								Kategorie ² / absolutní počet laboratoří ³		správný výsledek	
		breakpoint ⁴		rozmezí hodnot naměřených v NRL [*]	breakpoint ⁴		rozmezí hodnot naměřených v NRL ^{**}	C	I	R	%
		C ≥	R <		C ≤	R >					
meropenem ⁵	10 µg	20	14	11-13	2	8	16-16	0	0	111	100
ciprofloxacin	5 µg	50	26	38-40	0,001	0,5	0,06-0,06	5	106	0	95,5

¹ IZ - průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace. EUCAST v14

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

³ očekávané výsledky jsou zvýrazněny

⁴ hodnoty mezi C a R jsou I

⁵ uvedeny breakpointy pro infekce jiné než meningitida

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

Kmen je rezistentní k meropenemu (R) a při zvýšené expozici citlivý k ciprofloxacinu (I) [1].

Diskuse

Pět laboratoří interpretovalo ciprofloxacin jako citlivý, přestože EUCAST u této kombinace kategorii „Citlivý“ nepřipouští. Tuto poznámku uvádíme snad u každého kola EHK a stále se tato interpretace objevuje u antibiotik, u kterých není v EUCAST uvedena. Jinak vyšetření citlivosti nečilo u vzorků 4 a 5 žádné potíže. Kmen *P. tohonis* byl jako vzorek 5 zařazen z edukačních důvodů. Tento celkem neznámý druh byl izolován i od českých pacientů, ale především byl na chromozomu tohoto kmene detekován specifický a neobvyklý gen *bla_{PAM-2}*, kódující metalo-beta-laktamázu s aktivitou proti beta-laktamům/karbapenemům [2].

Literatura

- [1] EUCAST. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 15, valid from 2025-01-01 [on-line]. Dostupný z WWW: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
- [2] Jakubů V. et al. Záchyt *Pseudomonas tohonis* s produkcí neobvyklé metalo-beta-laktamázy z kožního defektu u dvou pacientů v České republice. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)*. 2024; 33(11-12): 419-421

6. Závěr

Celkem byly vzorky rozeslány 111 laboratořím, 111 laboratoří odeslalo výsledek k vyhodnocení. Uspělo 108 laboratoří.

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

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY