



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/5-1/2026 (EHK 1545)
Bakteriologická diagnostika

Praha, květen 2026

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 | 5-9 |
| 6. | Závěr | 9 |
| | Příloha – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře | |

Program zkoušení způsobilosti PT#M/5-1/2026 byl zaměřen na bakteriologickou diagnostiku. Návrh a realizace PT#M/5-1/2026 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., Ing. Monika Havlíčková, Ph.D., RNDr. Vladislav Jakubů, Ph.D., prof. MUDr. Helena Žemličková, Ph.D.

Zprávu autorizoval:

RNDr. Renáta Šafránková, Ph.D.
Dne: 13. 5. 2026

Pracoviště 2 ESPT

ehk@szu.gov.cz

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

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT#M/5-1/2026

| | |
|---|---|
| Identifikace cyklu: | EHK 1545 |
| 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: | 16. 2. 2026 |
| Informace účastníkům: | viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky |
| Termín pro odeslání výsledků účastníky: | 9. 3. 2026 |
| Označení vzorkovnic: | EHK-1545/1-5/2026 |
| 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 vztažené hodnoty: | Výsledky dosažené v NRL |
| Termín uveřejnění předběžných výsledků: | 16. 3. 2026 |
| Termín uveřejnění závěrečné zprávy: | Do 1. 6. 2026 |

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.

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. *Arcanobacterium haemolyticum*
2. *Enterococcus casseliflavus*
3. *Yersinia enterocolitica*
4. *Kingella kingae*
5. *Enterococcus faecium*

4. Způsob hodnocení

Hranice úspěšnosti pro jednotlivý cyklus EHK Bakteriologická diagnostika je stanovena na 80 % z celkového možného počtu bodů. Účastník úspěšně absolvuje cyklus EHK, pokud jeho celkový součet bodů dosáhne alespoň 80 % z celkového možného počtu bodů v daném cyklu.

5. Vyhodnocení

Za identifikaci signifikantního patogenu 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).

Maximálního počtu bodů při identifikaci dosáhlo 109 laboratoří, tj. 98,2%. Limit pro úspěšné absolvování byl 6,4 bodu (tj. 7 bodů). Tohoto limitu dosáhlo všech 111 zúčastněných laboratoří.

| Body | Kód laboratoře |
|------|---|
| 8 | 001, 002, 005, 009, 011, 016, 017, 018, 023, 026, 028, 029, 031, 032, 033, 034, 035, 037, 039, 040, 047, 048, 050, 051, 053, 055, 056, 058, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 070, 071, 072, 077, 088, 089, 118, 156, 184, 192, 207, 208, 211, 214, 227, 228, 287, 289, 290, 299, 302, 312, 313, 317, 324, 332, 333, 341, 350, 353, 354, 365, 369, 370, 371, 373, 379, 384, 388, 406, 407, 423, 438, 443, 456, 460, 465, 469, 478, 529, 536, 539, 550, 552, 554, 566, 584, 595, 614, 633, 634, 641, 656, 702, 725, 737, 757, 760, 763, 782, 786, 787, 792, 817, 821 |
| 7 | 496, 557 |

Výsledky zúčastněných laboratoří

| |
|---|
| VZOREK 1: Výtěr z krku od 17 letého pacienta s bolestí v krku a horečkou. |
| ODPOVĚď: <i>Arcanobacterium haemolyticum</i> Vzorek dále obsahoval: <i>Streptococcus oralis</i> |

| identifikace | frekvence | body | procento |
|---|-----------|------|----------|
| <i>Arcanobacterium haemolyticum</i> | 110 | 2 | 99,1% |
| <i>Arcanobacterium haemolyticum</i> + <i>Streptococcus mitis</i> | 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.

Všechny zúčastněné laboratoře kromě jedné správně identifikovaly signifikantní patogen a získaly po 2 bodech. Jedna laboratoř do výsledku identifikace připsala i komenzála (navíc nesprávně určeného) a byl jí odebrán jeden bod (viz „Nabídka programů zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii EHK 2026“ bod 13.5: Problematika uvádění komenzálních bakterií ve výsledcích).

VZOREK 2: Izolát z hemokultury od pacienta s hemoblastózou.

ODPOVĚĎ: ***Enterococcus casseliflavus***

| identifikace | frekvence | body | procento |
|-----------------------------------|-----------|------|----------|
| <i>Enterococcus casseliflavus</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.

Identifikace signifikantního patogenu ve vzorku 2 nečinila obtíže a všechny zúčastněné laboratoře získaly po dvou bodech.

VZOREK 3: Stolica od dospělého muže (45 let) s podezřením na apendicitidu.

ODPOVĚĎ: ***Yersinia enterocolitica***

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

| identifikace | frekvence | body | procento |
|--|-----------|------|----------|
| <i>Yersinia enterocolitica</i> | 110 | 2 | 99,1% |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> + <i>Escherichia coli</i> | 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.

Yersinia enterocolitica je zoonotický patogen, vyskytuje se v trávicím traktu zvířat, zejména prasat. Byla popsána také u hlodavců, zajíců, psů nebo koček. K přenosu nákazy dochází primárně fekálně-orální cestou, vehikulem může být kontaminované vepřové maso.

Klinické formy onemocnění *Y. enterocolitica* zahrnují gastroenteritidu, terminální ileitidu a mezenteriální lymfadenitidu [1].

Y. enterocolitica roste dobře na většině běžných kultivačních médií pro enterobakterie při teplotách 25–30 °C (24–48 hodin). Vhodným selektivním kultivačním médiem je CIN agar. U pacientů s terminální ileitidou nebo postinfekční artritidou se doporučuje chladové pomnožení v PBS (phosphate buffered saline; pH 7,4) po dobu 3 týdnů při teplotě 4 °C s vyočkováním po každém týdnu. *Y. enterocolitica* je dobře

identifikovatelná do druhu jak s použitím MALDI TOF MS, tak pomocí komerčních biochemických sestav [1].

V rámci Case definice enteritidy vyvolané *Y. enterocolitica* je laboratorním kritériem 1) izolace humánního patogenu *Y. enterocolitica* z klinického vzorku nebo 2) detekce genů virulence *Y. enterocolitica* v klinickém vzorku [2]. K dourčení do séroskupiny (pro epidemiologické účely) se využívá sklíčkové aglutinace a/nebo PCR detekce genů kódujících O antigeny, kterou lze kombinovat s detekcí markerů virulence [3].

Yersiniózy vyvolané *Y. enterocolitica* a *Y. pseudotuberculosis* podléhají Vyhlášece o systému epidemiologické bdělosti č. 389/2023 Sb. a jsou hlášeny do evropského surveillance systému (TESSy, EpiPulse), kde patří k prioritám programu *Food-and-waterborne diseases*.

V roce 2023 bylo v Evropské unii evidováno přes 8000 potvrzených případů *Y. enterocolitica*, přičemž Česká republika je zemí s druhou nejvyšší incidencí s celkem 611 hlášenými případy. Nejvyšší incidenci vykazuje Dánsko s počtem bezmála 1200 případů ročně [4].

Zaslaný kmen správně zařadilo do druhu 110 laboratoří, 1 laboratoř připsala do výsledku identifikace i komenzální bakterii *E. coli* (bez upřesňujícího komentáře) a byl jí odebrán 1 bod (viz „Nabídka programů zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii EHK 2026“ bod 13.5: Problematika uvádění komenzálních bakterií ve výsledcích).

24 laboratoří správně dourčilo kmen do séroskupiny O5.

Literatura

[1] Jorgensen JH, Carroll KC, Funke G, Pfaller MA, Landry ML, Richter SS, Warnock DW. Manual of clinical microbiology 11th Edition. ASM press, Washington, DC 2015. doi:10.1128/9781555817381.

[2] Prováděcí rozhodnutí komise (EU) 2018/945

[3] Garzetti D, Susen R, Fruth A, Tietze E, Heesemann J, Rakin A. A molecular scheme for *Yersinia enterocolitica* patho-serotyping derived from genome-wide analysis. *Int.J. of Medical Microbiol.* 2014; 304:275-283.

[4] Surveillance Atlas of Infectious Diseases, ECDC

VZOREK 4: Izolát z krve od pacienta s podezřením na endokarditidu.

ODPOVĚĎ: ***Kingella kingae***

| identifikace | frekvence | body | procento |
|------------------------|-----------|------|----------|
| <i>Kingella kingae</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.

Požadavek byl určit signifikantní patogen a vyšetřit citlivost k těmto antibiotikům: penicilin (PEN) a erytromycin (ERY).

Kmen je citlivý (C) k penicilinu i k erytromycinu [1].

Všechny laboratoře identifikovaly signifikantní patogen správně a získaly po dvou bodech. Dvě laboratoře chybovaly při interpretaci u penicilinu, interpretaci u erytromycinu měly všechny laboratoře správně.

Tabulka 1. Výsledky vyšetření citlivosti¹ kmene 4 *Kingella kingae*.

| Antibiotikum | Obsah disku | Průměry IZ (mm) ¹ | | | MIC (mg/l) ¹ | | | 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 > | | | | | |
| penicilin | 1 J | 25 | 25 | 34-34 | 0,03 | 0,03 | 0,016-0,03 | 109 | 0 | 2 | 98,2 |
| erytromycin | 15 µg | 20 | 20 | 24-26 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 111 | 0 | 0 | 100 |

¹ IZ - průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace. EUCAST v15

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: *Enterococcus faecium*

Požadavek byl vyšetřit citlivost k těmto antibiotikům: linezolid (LNZ), vankomycin (VAN).

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

Tabulka 2. Výsledky vyšetření citlivosti¹ kmene 5 *Enterococcus faecium*.

| Antibiotikum | Obsah disku | Průměry IZ (mm) ¹ | | | MIC (mg/l) ¹ | | | Výsledky laboratoří | | | |
|--------------|-------------|------------------------------|-----|--|-------------------------|-----|--------------------------------|--|---|-----|---------------------|
| | | | | | | | | Kategorie ² / absolutní počet laboratoří ³ | | | správný výsledek |
| | | breakpoint | | rozmezí hodnot naměřených v NRL* | breakpoint | | hodnoty naměřené v NRL** | C | I | R | % |
| | | C ≥ | R < | | C ≤ | R > | | | | | |
| linezolid | 10 µg | 20 | 20 | 24-25 | 4 | 4 | 2 | 110 | 0 | 1 | 99,1 |
| vankomycin | 5 µg | 12 | 12 | 6 | 4 | 4 | >32 | 1 | 0 | 110 | 99,1 |

¹ IZ - průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace. EUCAST v15

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

Kmen je citlivý (C) k linezolidu a rezistentní k vankomycinu
Velká většina účastníků interpretovala výsledek vyšetření citlivosti správně pro obě antibiotika, detailní výsledky viz Tabulka 2.

Diskuse

Při vyšetření citlivosti k antibiotikům byly identifikovány dvě závažné chyby spočívající v tom, že dvě laboratoře nesprávně interpretovaly jasně citlivý kmen *Kingella kingae* jako rezistentní k penicilinu, a dále jedna velmi závažná chyba, kdy byl jednou laboratoří mylně hodnocen kmen *Enterococcus faecium* jako citlivý k vankomycinu.

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/

6. Závěr

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

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

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY