



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/5-2/2026 (EHK 1563)
Bakteriologická diagnostika

Praha, červenec 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/5-2/2026 byl zaměřen na bakteriologickou diagnostiku. Návrh a realizace PT#M/5-2/2026 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: 17. 7. 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/5-2/2026

Identifikace cyklu:	EHK 1563
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:	112
Termín distribuce vzorků:	4. 5. 2026
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky:	25. 5. 2026
Označení vzorkovnic:	EHK-1563/1-5/2026
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 vztažné hodnoty:	Výsledky dosažené v NRL
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	3. 6. 2026
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 17. 8. 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 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. *Bordetella paraptussis*
2. *Klebsiella oxytoca*
3. *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139
4. *Staphylococcus aureus*
5. *Escherichia coli*

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 108 laboratoří, tj. 96,4%. Limit pro úspěšné absolvování byl 6,4 bodu (tj. 7 bodů). Tohoto limitu dosáhlo 111 zúčastněných laboratoří, jedna laboratoř tento limit nesplnila.

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, 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, 496, 529, 536, 539, 550, 552, 554, 566, 584, 595, 614, 633, 634, 641, 656, 702, 725, 737, 757, 760, 763, 782, 786, 787, 817, 821
7	055, 492, 792
4	557

Výsledky zúčastněných laboratoří

VZOREK 1: Výtěr z nosohltanu od 4 letého dítěte s dlouhotrvajícím kašlem.
ODPOVĚď: <i>Bordetella parapertussis</i> Vzorek dále obsahoval: <i>Streptococcus oralis</i>

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Bordetella parapertussis</i>	111	2	99,1%
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1	1	0,9%
Celkem	112		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 uvedla do výsledku identifikace jiný druh a byl jí odebrán jeden bod.

VZOREK 2: Izolát z moči od pacientky s cystitidou.

ODPOVĚĎ: ***Klebsiella oxytoca***

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Klebsiella oxytoca</i>	112	2	100%
Celkem	112		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: Stolice od pacienta (45 let) s vodnatým průjmem vzniklým po návratu z Keni.

ODPOVĚĎ: ***Vibrio cholerae non-O1/non-O139***

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

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Vibrio cholerae</i>	109	2	97,3%
<i>Vibrio mimicus</i>	1	1	0,9%
<i>Vibrio sp./parahaemolyticus</i>	1	1	0,9%
žádný výsledek	1	0	0,9%
Celkem	112		100%

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

Vibrio cholerae je fakultativně anaerobní gramnegativní tyčka způsobující škálu klinických příznaků od vodnatého průjmu, bolesti břicha, křeče. Je etiologickým agens cholery - podléhající Vyhlášce o systému epidemiologické bdělosti pro vybraná infekční onemocnění 389/2023 Sb. (příloha č. 51).

Cholera je akutní gastrointestinální onemocnění charakterizované profuzními průjmy (stolice vzhledu rýžového odvaru), velkými ztrátami vody a elektrolytů; bez léčby umírá

až 50 % pacientů. Je endemická v zemích s nižším hygienickým standardem (oblasti jihovýchodní Asie, Afriky, střední a jižní Ameriky), v zemích středního pásma se jedná převážně o importované nákazy. Zdrojem infekce je člověk, přenáší se fekálně kontaminovanou vodou a potravinami [1], infekční dávka je 10^6 bakterií. Laboratorním kritériem cholery je přítomnost genu kódujícího cholery toxin (*ctx*) a přítomnost antigenu O1 nebo O139 u izolátu *V. cholerae*. Poslední případ (importované) cholery byl v ČR zaznamenán v roce 2017 [2].

Netoxinogenní kmeny *Vibrio cholerae* jsou spojovány s lehčími formami gastroenteritid a extraintestinálními infekcemi (sepsy, otitis media, infekce ran) [1].

Na základě Vyhlášky o systému epidemiologické bdělosti jsou všechny izoláty *V. cholerae* zasílány ke confirmaci/dourčení a uchování do NRL pro *E. coli* a shigely SZÚ.

V. cholerae je dobře identifikovatelné do druhu metodou MALDI-TOF MS s využitím „vojenské“ databáze (= SRL/Security relevant library) obsahující spektra vysoce rizikových agens. V běžně dostupné databázi *V. cholerae* obsaženo není a takový taxon je přiřazován spektru *Vibrio albensis**. Druhovou identifikaci *V. cholerae* lze confirmovat pomocí komerčních biochemických testů. K sérotypizaci a průkazu cholery toxinu je v NRL pro *E. coli* a shigely využívána PCR detekce genů kódující antigeny O1 (gen *O1rfb*), O139 (gen *O139 rfb*) a cholera-toxin (gen *ctx*).

Vibria dobře rostou na běžných neselektivních půdách pro střevní bakterie, selektivní půdou je TCŽS (thiosíran-citrát-žluč-sacharóza), kde *V. cholerae* roste ve žlutých (sacharóza-pozitivních) koloniích. *V. cholerae* lze prokázat základními testy (oxidáza +, laktóza –, sirovodík –, glukóza + bez plynu; pozitivní stringtest, gramnegativní jemně zahnuté tyčinky).

K selektivnímu pomnožení *V. cholerae* se používá alkalická peptonová voda.

Do EHK byl vybrán netoxinogenní kmen *V. cholerae* non O1/non O139.

Celkem 109 ze 112 laboratoří správně určilo jako patogen *V. cholerae*.

Jedna laboratoř ve webovém formuláři nesprávně přiřadila (správný) výsledek identifikace vzorku 3 k vzorku 4, nicméně zápis výsledku musí být jako postanalytická fáze testování zapsán správně. Dobře vyšetřený vzorek, který je špatně zapsán, může vést k poškození pacienta. Laboratoři proto byly dva body odebrány.

*Pozn. *Vibrio albensis* (někdy se uvádí jako biovar *V. cholerae*) je světélkující bakterie, která se nalézá v řekách, ale i ve stolici a v žluči. Byla popsána jako patogen pro morčata a holuby, ale není uváděna mezi humánními patogeny.

Literatura

[1] Poh CJ, Greig DR, Rodwell EV, Jenkins C. Public health surveillance of *Vibrio cholerae* in travellers returning to the United Kingdom. J Med Microbiol. 2026 Feb;75(2):002121. doi: 10.1099/jmm.0.002121. PMID: 41649857; PMCID: PMC12881997.

[2] Marejková M, Špačková M, Jágrová Z, Saganová T, Macková B a Petráš P. Riziko pro občany EU/EEA spojené s výskytem cholery na Africkém rohu (Somálský poloostrov) a v Adenském zálivu– importovaný případ cholery do ČR. Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2017; 26(4): 147–150.

VZOREK 4: Izolát ze stěru od pacienta s impetigem.

ODPOVĚĎ: ***Staphylococcus aureus***

identifikace	frekvence	body	procento
<i>Staphylococcus aureus</i>	111	2	99,1%
<i>Vibrio cholerae</i>	1	0	0,9%
Celkem	112		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: oxacilin (OXA) a kotrimoxazol (SXT).

Kmen je rezistentní k oxacilinu (R) a citlivý ke kotrimoxazolu (C) [1].

Všechny laboratoře kromě jedné (viz komentář u vzorku 3) identifikovaly signifikantní patogen správně a získaly po dvou bodech.

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

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 >					%
oxacilin					2	2	>8	0	0	112	100
cefoxitin	30 µg	22	22	6							
kotrimoxazol	25 µg	20	20	38-40	0,5	0,5	≤ 0,125	112	0	0	100

¹ IZ - průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace. EUCAST v16

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

³ očekávané výsledky jsou zvýrazněny

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

VZOREK 5: *Escherichia coli* (indikace: URO infekce)

Požadavek byl vyšetřit citlivost k těmto antibiotikům: ampicilin (AMP), kotrimoxazol (SXT).

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 *Escherichia coli*.

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 >					
ampicilin	10 µg	14	14	6	8	8	>32	0	0	112	100
kotrimoxazol	25 µg	15	15	6	0,5	0,5	>8	1	0	111	99,1

¹ IZ - průměr inhibiční zóny; MIC - minimální inhibiční koncentrace. EUCAST v16

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 rezistentní k ampicilinu i ke kotrimoxazolu.

Diskuse

Velká většina účastníků interpretovala výsledky vyšetření citlivosti správně pro obě antibiotika u obou kmenů, detailní výsledky viz Tabulka 1,2.

Literatura

[1] EUCAST. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 16, valid from 2026-01-01 [on-line]. Dostupný z WWW: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/

6. Závěr

Celkem byly vzorky rozeslány 112 laboratořím, 112 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