



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/40/2026 (EHK 1562)

Testování citlivosti na antimykotika

Praha, červenec 2026

Obsah

1.	Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2.	Způsob přípravy vzorků	4
3.	Charakteristika materiálu	5
4.	Způsob hodnocení	6
5.	Vyhodnocení	6
6.	Závěr	8
	Příloha 1 – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/40/2026 je zaměřen na ověření laboratoře správně otestovat a interpretovat výsledek testování citlivosti antifungálních látek u mykotických původců infekcí.

Návrh a realizace PT#M/40/2026 byly prováděny podle standardního operačního postupu koordinátora programu EHK 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: <http://ehk.szu.cz/EHK10/> po přihlášení kódem laboratoře a heslem.

Zprávu vypracoval: RNDr. Pavlína Lysková PhD., NRL pro antimykotika, ZÚ Ústí nad Labem

Zprávu autorizoval: RNDr. Pavlína Lysková PhD.
Tel. 234 118 506

Dne: 30. 07. 2026

Pracoviště 2 ESPT

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

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/40/2026

Identifikace cyklu:	EHK 1562
Název PT:	Testování citlivosti na antimykotika
Koordinátor:	RNDr. Pavlína Lysková, PhD., ZÚ se sídlem v Praze, Sokolská 60, 186 00 Praha 8
Podstata a účel PT:	Stanovení citlivosti mykotických organismů k antifungálním látkám vč. interpretace výsledků
Kritéria pro účast na PT:	Požadavky na laboratoře: zajištění správné laboratorní praxe
Charakteristika materiálu:	kmeny kvasinek
Hodnocené ukazatele:	Testovaná antimykotika: anidulafungin, amfotericin B, flukonazol a vorikonazol. Hodnocení: Citlivý; Rezistentní; Intermediárně citlivý nebo SDD (Susceptible Dose Dependent); WT (wild type); non-WT (non wild type)
Způsob přípravy:	Jednotlivé vzorky představují charakterizované sbírkové kmeny kvasinek např. izoláty z EHK NEQAS, které jsou evidovány v LIS a jsou uchovávány zamražené (-80°C) ve sbírce laboratoře (přehled je uveden v excelovské tabulce „Sbírka_kryobanka_kvasinky“).
Počet účastníků	39
Termín distribuce vzorků:	28. 4. 2026
Informace účastníkům:	Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky v den distribuce a zveřejněné na webu SZÚ
Termín odeslání výsledků účastníky:	Do 19. 5. 2026
Označení vzorkovnic:	EHK 1562, PT # M/40, č. 1-2, 28.4.2026
Zabezpečení jakosti vzorku: (včetně testu homogenity a stability)	Zabezpečení kvality výchozího materiálu je zajištěno manipulací za aseptických podmínek. Po lyofilizaci je výchozí materiál testován na přítomnost sledovaných kultur a je znovu otestována citlivost. Ze série lyofilizace jsou náhodně vybrány jeden popř. dva lyofilizáty od každého vzorku. Stabilita výchozího materiálu je zabezpečena lyofilizací kultur a vhodným skladováním (při +5°C). Stabilita vzorků je ověřena po ukončení série EHK.
Možné zdroje analytických chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe, nesprávné vyhodnocení testů, chybný zápis do elektronického formuláře
Způsob vyhodnocení výsledků:	Bodové hodnocení účastníků vychází z očekávaných výsledků získaných opakovaným vyšetřením vzorků na pracovišti koordinátora a je nastaveno tak, že u identifikace je správný výsledek rodového a druhového určení ohodnocen 2 body. Pokud je uveden pouze rod např. <i>Candida</i> sp., je udělen jeden bod a v případě nesprávné druhové identifikace nula bodů. U interpretace citlivosti je jedním bodem hodnocena úplná shoda s očekávaným výsledkem (správná interpretace výsledku) a bez bodového ohodnocení jsou výsledky, které se s očekávaným výsledkem neshodují (např. „citlivý“ místo „rezistentní“) nebo nejsou uvedeny (s výjimkou případů, kde interpretační kritéria nejsou dána). Volba metody pro testování vzorků závisí na rutinní praxi účastníka. Za správné hodnocení 2 kmenů kvasinek a čtyř antimykotik je možno získat maximálně 12 bodů. Laborať úspěšně absolvuje kolo EHK, pokud dosáhne 80% z maxima bodů.

Určení přijaté vztažné hodnoty:	Vztažnou hodnotou jsou výsledky NRL, které byly získané trojitým opakovaným testováním vzorků.
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	Do 20. 5. 2026
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 11. 8. 2026

2. Způsob přípravy vzorků

2.1 Postup přípravy výchozího materiálu

Klinické vzorky jsou zpracovány standardním způsobem používaným v laboratoři mykologie, čisté kultury jsou izolovány, identifikovány a je u nich stanovena citlivost k ATM (dle příslušných SOP). Získané izoláty mykotických organismů jsou pomnoženy, je provedena kontrola čistoty kultur, kontrola správnosti identifikace a kontrola citlivosti k ATM dle příslušných SOP. Výchozí materiál je vyočkován na plotny se Sabouraudovým agarem, které jsou ovinuté parafilmem, označeny a uloženy do přepravní krabice a doručeny kurýrem popř. osobně předány pracovníkovi SZÚ Praha. V případě osobního předání je o tomto úkonu veden záznam.

V SZÚ Praha v Národní referenční laboratoři/Česká národní sbírka typových kultur (CNCTC) je pak na základě dohody u zaslaných kmenů provedena lyofilizace.

Kultury mykotických organismů z NRL/ATM jsou naočkovány na vhodná kultivační média, dle druhu mikroorganismu jsou naočkovány na 2 – 4 Petriho misky. 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 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). Automatickou pipetou je napipetováno 0,2 ml vzniklé suspenze do 20 ml lyofilního média. Homogenizovaná suspenze je rozplněna do jednotlivých lahviček (vzorků) v objemu 0,5 ml/ 1 lahvička. Lahvičky se uzavřou gumovým uzávěrem pomocí pinzety tak, aby byl ponechán prostor pro odpaření. Po rozplnění lahviček je 1 kapka ze zbylé suspenze inokulována na živný agar a inkubována pro kontrolu sterility. Rozplněné lahvičky jsou umístěny na kovovou snímatelnou plošinu lyofilizátoru rovnoměrně po celé její ploše. 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 lyofilizaci následuje kontrola životnosti vzorků. Po jejím provedení jsou lahvičky opatřeny štítkem s pořadovým číslem vzorku, číslem EHK a datem rozeslání. Následně se lahvičky zapertlují pomocí speciálních pertlovacích kleští a jsou vloženy do plastového obalu. Uskladnění do předání vzorků probíhá v lednici při teplotě 4 – 8°C.

Připravené vzorky jsou předány koordinačnímu pracovišti ESPT 2.

Přeprava vzorků je zajišťována přepravcem se službou přeprava nebezpečného zboží dle regulí ADR pro silniční přepravu.

2.2 Zabezpečení kvality výchozího materiálu, homogenita a stabilita

Zabezpečení kvality: Zabezpečení kvality výchozího materiálu je zajištěno manipulací za aseptických podmínek. Po lyofilizaci je výchozí materiál testován na přítomnost sledovaných kultur a je znovu otestována citlivost. Ze série lyofilizace jsou náhodně vybrány dva lyofilizáty od každého vzorku. Lahvička se zbaví pertle a pomocí sterilní pinzety se opatrně vyjme gumový uzávěr. Do lahvičky se nakape několik kapek fyziologického roztoku. Pomocí Pasteurovy pipety je homogenizován obsah lahvičky a následně vyočkován na připravená media. Izoláty mykotických organismů jsou

vykultivovány a provedena kontrola identifikace a citlivosti v termínu před rozesláním nebo v termínu rozeslání vzorků zákazníkům.

Stabilita vzorků je zabezpečena lyofilizací kultur

Homogenita je zajištěna promícháním vzorků před zahájením alikvotování do vzorkovnic.

3. Charakteristika materiálu

Výchozím materiálem pro přípravu vzorků jsou charakterizované kmeny kvasinek popř. vláknitých hub, izolované z klinického materiálu, dodaného do laboratoře koordinátora nebo sbírkové kmeny uchovávané podle předepsaného návodu nebo skladované zamražené v hlubokomrazícím boxu (-80 °C).

Název programu EHK	Počet vzorků v sérii	vzorky jsou určeny k testování těchto cílových markerů
Testování citlivosti na antimykotika	2	Vybrané izoláty kvasinek určené k identifikaci a k otestování vybraných antimykotik <i>in vitro</i> (amfotericin B, anidulafungin, flukonazol, vorikonazol)

Jednotlivé vzorky představují simulovaný humánní klinický materiál s obsahem cílových druhů mikromycetů.

č. vzorku	kmen	poznámka
1.	<u>Candida glabrata (Nakaseomyces glabratus; CAGL)</u> Amfotericin B (AMB) - citlivý Anidulafungin (AND) – citlivý Flukonazol (FLU) – intermediární/citlivý, zvýšená expozice Vorikonazol (VOR) – WT (wild type) nebo citlivý	
2.	<u>Candida parapsilosis (CAPA)</u> Amfotericin B (AMB) - citlivý Anidulafungin (AND) – citlivý Flukonazol (FLU) – rezistentní Vorikonazol (VOR) – rezistentní nebo intermediární/citlivý, zvýšená expozice	

Očekávané výsledky (mg/l)

Druh/ATM	AMB	AND	FLU	VOR
<i>C. glabrata (N. glabratus)</i>	0,5	0,032	4	0,25
<i>C. parapsilosis</i>	0,5	0,25	16	0,25

4. Způsob hodnocení

Vztažnou hodnotou jsou výsledky získané v NRL pro antimykotika (viz tabulka očekávané výsledky).

Bodové hodnocení účastníků vychází z očekávaných výsledků získaných opakovaným vyšetřením vzorků na pracovišti koordinátora a je nastaveno tak, že jedním bodem je hodnocena úplná shoda s očekávaným výsledkem (správná interpretace výsledku) a bez bodového ohodnocení jsou výsledky, které se s očekávaným výsledkem neshodují (např. „citlivý“ místo „rezistentní“) nebo nejsou uvedeny (s výjimkou případů, kde interpretační kritéria nejsou dána). Volba metody pro testování vzorků závisí na rutinní praxi účastníka.

Za správnou identifikaci je možné získat celkem 4 body a za správné hodnocení čtyř antimykotik u 2 kmenů je možno získat maximálně 8 bodů, tzn. celkově maximálně 12 bodů.

Postupně bude možno přidat také vzorek edukační, který nebude hodnocen body.

Laboratoř úspěšně absolvuje kolo EHK, pokud dosáhne 80% z maxima bodů.

Koordinátor si vyhrazuje právo při vysokém výskytu atypických výsledků vyřadit z hodnocení celý vzorek. Koordinátor je oprávněn v případě potřeby jmenovat odbornou poradní skupinu pro řešení konkrétního kola dané série.

5. Vyhodnocení

Tabulka č. 1: Úspěšnost laboratoří v EHK 1562

Za správné hodnocení výsledků bylo možno získat celkem maximálně 12 bodů.

Dosažené body	4	9	10	11	12
Počet laboratoří	1	1	2	8	26
Procento	2,6 %	2,6 %	5,3 %	21 %	68,4 %

Maximálního počtu 12 bodů dosáhlo 26 laboratoří ze 38 zúčastněných.

Limit 80 % (10-12 bodů) splnilo 36 laboratoří (94,7 %). Jedna laboratoř výsledky neodevzdala. Dvě laboratoře neuspěly (5,2 %). Jedna omylem prohodila výsledky, i když jinak by byly správně. Výsledky bohužel nebylo možné uznat.

Tabulka č. 2: Bodové hodnocení výsledků jednotlivých laboratoří (n=38)

číslo lab.	vzorek č. 1 (CAGL)					vzorek č. 2 (CAPA)					součet
	ID	AMB	AND	FLU	VOR	ID	AMB	AND	FLU	VOR	
17	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
18	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
26	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12

28	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
31	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
32	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
35	2	1	1	1	0	2	1	1	1	1	11
37	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
39	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
40	2	1	1	1	0	2	1	1	1	1	11
48	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
50	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
51	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
58	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
64	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
71	2	1	1	0	1	2	1	1	1	1	11
77	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
89	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
156	2	1	1	1	1	2	1	0	0	0	9
207	2	1	1	1	1	2	1	1	0	0	10
211	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	4
228	2	1	1	1	0	2	1	1	1	1	11
283	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
289	2	1	1	0	1	2	1	1	1	1	11
299	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
350	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
369	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
370	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
373	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
443	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
456	2	1	1	0	1	2	1	1	1	1	11
465	2	1	1	1	0	2	1	1	1	1	11
467	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
539	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
554	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
595	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	12
641	2	1	1	1	0	2	1	0	1	1	10
702	2	1	1	0	1	2	1	1	1	1	11

Plný počet bodů (12) získalo 26 laboratoří (68,4 %). Osm laboratoří získalo 11 bodů (21 %), dvě získaly 10 bodů (20,5 %), jedna 9 (2,6 %) a jedna 4 body (2,6 %).

Izolát *C. glabrata* (*N. glabratus*; *CAGL*) vykazoval WT fenotyp, tzn., byl „citlivý“ (popř. „intermediárně citlivý“) ke všem testovaným antimykotikům (ATM). Kmen *C. parapsilosis* (CAAL) byl rezistentní k flukonazolu, vykazoval zvýšené hodnoty MIC k vorikonazolu a ke zbylým testovaným preparátům byl citlivý.

Téměř všechny laboratoře bez problémů správně identifikovaly oba druhy kvasinek. Testování a vyhodnocení citlivosti u obou kvasinek mělo také vysokou úspěšnost. Většina laboratoří stanovovala

MIC (mikrodiluční, Etesty, VITEK popř. kombinaci metod). Je velmi potěšující, že většina laboratoří správně odhalila rezistenci k FLU a VOR u *C. parapsilosis*. U této kvasinky byl dvěma laboratořemi nesprávně vyhodnocen AND a FLU a v jednom případě VOR. U druhu *C. glabrata* byl ve čtyřech případech nesprávně vyhodnocen FLU a v pěti VOR. Byla použita různá diagnostika [VITEK, Sensititre YeastOne (Thermo Scientific), Etest (BioMérieux) a MIC Test Strip (MTS, Liofilchem), disky (ITEST)].

6. Závěr

EHK 1562 – Testování citlivosti na antimykotika se zúčastnilo 39 laboratoří, jedna laboratoř nevrátila výsledky k hodnocení.

Uspělo 36 laboratoří, neuspěly 2 laboratoře.

Pro vyzkoušení způsobilosti laboratoří v ČR provádět a interpretovat výsledky testování citlivosti kvasinek *in vitro* byly vybrány dva druhy, které se v klinickém materiálu vyskytují poměrně často: *C. glabrata* (*N. glabratus*) a *C. parapsilosis*. *C. glabrata* přirozeně vykazuje tzv. heterorezistenci k flukonazolu, proto hodnoty MIC u tohoto druhu/ATM nejsou interpretovány jako citlivé, ale jako „I - citlivý, zvýšená expozice“ (pokud se nejedná o kmen se získanou rezistencí). *C. parapsilosis* obvykle generuje vyšší hodnoty MIC k echinokandinům a může být k těmto ATM „hůře“ citlivá, což je dáno přirozenou alterací genu *Fks1p*. K ostatním k testovaným antimykotikům bývá *C. parapsilosis* obvykle dobře citlivá, avšak v posledních letech se v klinickém materiálu zvyšuje podíl kmenů se získanou rezistencí k flukonazolu (popř. jiným azolům), proto byl vybrán kmen rezistentní k flukonazolu a se zvýšenou hodnotou MIC k vorikonazolu. Kmeny CAPA nesoucí mutace v genu *Erg11* (typicky mutaci Y132F) zodpovědné za rezistenci k FLU se mohou navíc chovat jako nozokomiální patogeny. Mohou přežívat a prospívat v nemocničním prostředí a dále se přenášet mezi pacienty, proto je velmi důležité tyto kmeny monitorovat a u klinicky významných izolátů testovat citlivost. Podíl FLU-R *C. parapsilosis* v klinickém materiálu např. v hemokulturách, které ve spolupráci s laboratořemi v ČR sledujeme, narůstá, a proto je nezbytné umět rezistenci odhalit.

EUCAST hodnotí pro CAGL jako citlivé hodnoty MIC $AMB \leq 1$ mg/l; $AND \leq 0,06$. FLU ≤ 16 hodnotí jako I - citlivý, zvýšená expozice a pro VOR nemá stanovena interpretační kritéria.

CLSI hodnotí pro CAGL jako citlivé hodnoty MIC pro AND $C \leq 0,125$ a I - citlivý, zvýšená expozice pro FLU ≤ 32 . AMB a VOR nemá stanovena interpretační kritéria.

EUCAST hodnotí pro CAPA jako citlivé hodnoty MIC $AMB \leq 1$; $AND \leq 4$; FLU ≤ 2 a VOR $\leq 0,125$ mg/l.

CLSI hodnotí jako citlivé $AND \leq 2$; FLU ≤ 2 ; VOR $\leq 0,125$ a nemá stanovena interpretační kritéria pro hodnocení AMB.

Výběr testovaných ATM zůstane s největší pravděpodobností stejný i v příštím kole.

Laboratoře, které neuspěly, si mohou objednat edukativní vzorky prostřednictvím webové aplikace SZÚ, a to do 30 dnů po obdržení svých výsledků. Výsledky edukativních vzorků nebudou mít vliv na opravu předchozího neúspěšného výsledku v rámci EHK a slouží pouze jako podklad pro vyřešení případné neshodné práce v laboratoři.

Edukativní vzorky laboratoř obdrží obvyklou cestou v co nejkratším termínu po objednání.

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

Konec závěrečné zprávy