



STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV

Detekce DNA *Streptococcus pneumoniae* a PCR sérotypizace v klinickém materiálu, NRL pro streptokokové nákazy

Detekce DNA *Streptococcus pneumoniae* se provádí metodou real-time PCR, cílová sekvence *lytA* je součástí genu kódujícího autolyzin, pro druh *S. pneumoniae* je vysoce specifická. Metoda je v současné době spolehlivě validována pro nesrážlivou krev a mozkomíšni mok, jiné primárně sterilní materiály laboratoř přijímá a vyšetřuje, z důvodu nízké dostupnosti však nemohlo být otestováno dostatečné množství vzorků. Takové vzorky se vyšetřují ve zkušebním režimu.

Sérotypizace *Streptococcus pneumoniae* v kultivačně negativním klinickém materiálu se provádí metodou multiplex PCR. Celý test zahrnuje 5 PCR multiplexů obsahujících primery hybridizující se sekvencemi obsaženými v genomu 25 sérotypů, které se jako původci IPO vyskytují nejčastěji (podle dat surveillance IPO 2011 - 2013, NRL/STR, pokrývá 91% původců IPO v uvedeném období). Test obsahuje sérotypově specifické primery (typy 3, 1, 14, 4, 19A, 8, 10A, 23F, 19F, 23A, 17F ve výsledkovém protokolu se uvádí sérotyp označení, např. sérotyp 3), další primery mohou být specifické pro séroskupinu (6, 18, 24, ve výsledkovém protokolu se uvádí séroskupina číslo, např. séroskupina 24) nebo zkříženě hybridizují se sekvencemi obsaženými v genomu více než jednoho sérotypu (7F/7A, 9N/9L, 9V/9A, 22F/22A, 11A/11D, 6C/6D, 15A/15F, 12A/12F/44/46, 35F/47F, ve výsledkovém protokolu se uvádí výčet možných sérotypů oddělených lomítkem, první uvedený sérotyp je vždy ten nejčastěji zastoupený a tedy nejpravděpodobnější). Pokud není sérotyp touto metodou určen a je detekována DNA *S. pneumoniae*, může se jednat o sérotyp, který není obsažen v žádném z multiplexů, ale také o netyповatelný kmen, případně může být ve vzorku obsažena koncentrace DNA, která nedosahuje limitu detekce.

Při sérotypizaci izolátů *S. pneumoniae* se stále používá Quellung test k úplnému dourčení sérotypu, pokud však není izolát k dispozici, není přesné dourčení sérotypu vždy možné.