



STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV

Informace o průkazu DNA *Bordetella pertussis* a *Bordetella parapertussis* v klinickém materiálu metodou Real-Time PCR.

NRL přijímá materiál - nasofaryngeální výtěr k primovyšetření nebo **izolovanou DNA** ke confirmaci nebo **k vyšetření - detekce PtxA-pr** v pracovní dny lépe po předchozí telefonické dohodě (příprava na vyšetření tak již může začít v průběhu transportu vzorku).

1. 1. Odběr (nasofaryngeální výtěr) a transport vzorků

Podmínky odběru: Co nejdříve po vyslovení podezření na pertusi/parapertusi, ráno nalačno, vyšetřovaná osoba nesmí před odběrem pít, jíst, kouřit, čistit si zuby, žvýkat žvýkačku. DNA lze v nasofaryngeálním výtěru prokázat i po zahájení antibiotické léčby.

Odběrová souprava: Nylonový tampón na flexibilní plastové tyčince (bez transportního média) nebo odběrová souprava pro průkaz respiračních virů (s médiem). Pro poskytnutí odběrové soupravy kontaktujte spolupracující mikrobiologickou laboratoř nebo NRL.

Postup odběru (*obrázek viz. Informace o odběru na kultivační vyšetření- průkaz *Bordetella pertussis/parapertussis**): Před odběrem je vhodné se pacienta dotázat na pocit ucpaného nosu, odebírat z nosního průduchu, který pacient vnímá jako lépe průchodný. Tampón jemně zasouváme přes nosní průduch těsně podél nosní přepážky a po spodní stěně nosní dutiny až k zadní stěně nasofaryngu (přibližně 10 cm v závislosti na věku pacienta, pokud dojde k říhání, byl tampón zasunut příliš hluboko). Několikrát jemně pootočíme a tampón vytáhneme. U dětí je nutná fixace, odběr je velmi nepříjemný (postup podle Laboratory Manual for the Diagnosis of Whooping Cough caused by *Bordetella pertussis/Bordetella parapertussis*, update 2014; WHO/IVB/14.03; www.who.int/iris/.../1/WHO_IVB_14.03_eng.pdf)

Uchovávání a transport vzorků: Nylonový tampon bez transportního média se uchovává a transportuje při pokojové teplotě, pokud je dopraven do laboratoře v den odběru nebo při -20°C pokud je nutné jej před transportem skladovat. Skladuje se zmrazený při -20°C. Zpracovat ihned po dodání nebo zmrazit (-20°C).

Odběrová souprava pro průkaz respiračních virů s transportním médiem - se uchovává a transportuje při teplotě 2 - 8°C, pokud je dopraven do laboratoře v den odběru nebo při -20°C pokud je nutné jej před transportem skladovat. Skladuje se zmrazený při -20°C. Zpracovat ihned po dodání nebo zmrazit (-20°C).

Izolovaná DNA se transportuje při teplotě 2 - 8°C nebo při -20°C. **Pro další zpracování jsou nutné údaje o způsobu izolace a době a způsobu skladování.**

1. 2. Detekované sekvence pro druhy *Bordetella pertussis* a *Bordetella parapertussis*:

V klinických vzorcích, pro které je požadována PCR diagnostika pertuse, vždy **detekujeme nejprve IS481, v případě positivity doplníme PtxA-pr**.



- IS481 - je inzertní sekvence přítomná v genomu bordetel v mnoha kopiích, je tedy detekována s vyšší senzitivitou než PtxA-pr. Vyskytuje se pravidelně v genomu druhů *Bordetella pertussis* a *Bordetella holmesii*, variabilně pak i v genomu *Bordetella bronchiseptica* a *Bordetella parapertussis* v různém počtu kopií, **není tedy specifická pro druh *Bordetella pertussis*.**
- PtxA-pr - promotor genu kódujícího A podjednotku pertusového toxinu, **sekvence je specifická pro druh *Bordetella pertussis***, vyskytuje se v 1 kopii proto je **detekována s nižší senzitivitou než IS481.**

V případě negativity IS481 přikročíme k detekci PtxA-pr vždy, jde-li o pacienty v kojeneckém věku, selektivně pak i u starších pacientů dle klinických a epidemiologických okolností.

- IS1001 detekujeme ve vzorcích, pro které je požadována PCR diagnostika parapertuse.

Interpretace výsledků:

Rodová a druhová identifikace infekčních agens na základě výsledků testování:

- IS481 negativní - Ve vyšetřovaném materiálu neprokázána DNA *Bordetella pertussis*. (V závažných případech: kojenci, nebo kontakt s neočkovanými dětmi vždy nutno testovat i PtxA-pr!)
- IS481 negativní, PtxA-pr negativní - Ve vyšetřovaném materiálu neprokázána DNA *Bordetella pertussis*.
- IS481 pozitivní, PtxA-pr negativní - Ve vyšetřovaném materiálu prokázána DNA *Bordetella* sp.
- IS481 negativní, PtxA-pr pozitivní - Nejednoznačný výsledek. Pokud bude totožný při opakovaném testování, interpretujeme jako "Možná přítomnost DNA kmene *Bordetella pertussis* s netypickými genotypovými vlastnostmi".
- IS481 pozitivní, PtxA-pr pozitivní - Ve vyšetřovaném materiálu prokázána DNA *Bordetella pertussis*.
- IS1001 pozitivní - infekce pravděpodobně způsobená *B. parapertussis*, pokud odpovídají klinická kritéria.