

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2007; 16(4): 174 – 178.

Dominantní činnost Národních referenčních laboratoří v roce 2006 – Laboratoře v Centru epidemiologie a mikrobiologie SZÚ

*Major activities of the National Reference Laboratories of the Centre of Epidemiology
and Microbiology in 2006*

Desetiřádková sdělení vypracovali vedoucí jednotlivých NRL, jako součást zpráv o činnosti za rok 2006.

NRL pro streptokoky a enterokoky

Výsledky genetické *emm* typizace kmenů *Streptococcus pyogenes* umožnily zásadní redukci sérologického postupu a cenové zvýhodnění postupu typizace. Pokračovalo sledování klonů a subklonů kmenů *S.pyogenes* pomocí MLST. V rámci zpřesnění identifikace kmenů *S.pneumoniae* a odlišení aberantních izolátů od dalších druhů viridujících streptokoků patřících k „Smit“ byla zavedena PCR technika pro průkaz genů virulence *Ply*, *PsaA* a *LytA*. Byla zahájena Národní surveillance invazivních pneumokokových onemocnění (IPO) jejíž výsledky budou souhrnem dat databází - laboratorní EPIDAT HS. Pokračovalo monitorování sérotypů kmenů *S.pneumoniae*. Nadále byly identifikovány druhy enterokoků a typovány kmeny pneumokoků zasílané i v rámci studie EARSS. Připraveno bylo celkem 673 vzorků pro EHK – ASO pro 160 do systému přihlášených laboratoří. Byly vypracovány podklady pro úhradu stanovení hladiny ASO a ADN pojišťovnou.

NRL pro chřipku

1. program virologické surveillance pro celou ČR
2. izolace, identifikace a antigenní charakteristiky izolovaných kmenů
3. vedení sbírky chřipkových kmenů
4. příprava standardních diagnostik
5. postvakcinační sérologie
6. spolupráce na přípravě pandemického plánu pro ČR
7. zajištění diagnostiky případných lidských případů ptací chřipky (H5, H7)
8. spolupráce s mezinárodní surveillance sítěmi (European Influenza Surveillance Scheme – ECDC, FLU-NET – WHO)
9. účast v mezinárodních programech externího hodnocení kvality
10. spolupráce na vakcinačních studiích
11. výuka atestantů
12. přednášková činnost pro praktické lékaře
13. publikační činnost

NRL pro nechřipkové respirační viry

1. Program virologické surveillance ARI v ČR a jeho zkvalitňování
2. Spoluúčast na týdenních zprávách aktuální situace na poli ARI
3. Přednášková činnost a laboratorní demonstrace pro atestanty z lékařské mikrobiologie (provedena inovace a doplnění textů a přednášek v power pointu „Přehled nechřipkových respiračních virů“)
4. Aktivní účast na konzultačním dnu pro spolupracovníky z terénu
5. Zkvalitnění sérologické diagnostiky *Mycoplasma pneumoniae*
6. Rozsáhlejší využití rychlé diagnostiky nechřipkových respiračních virů
7. Posuzování funkční způsobilosti in vitro diagnostik (*Mycoplasma pneumoniae*) a poskytování konzultačních hodin pro pracovníky z terénu.
8. NRL je zapojena do mezinárodní spolupráce evropského systému surveillance (EISS), kde je sledován a hlášen i výskyt RSV

NRL pro zarděnky, spalničky, parotitidu a parvovirus B19

Diagnostická činnost: průkaz protilátek proti zarděnkám, spalničkám a příušnicím, přímý a nepřímý průkaz infekce parvovirem B19. Referenční činnost: příprava a vyhodnocení EHK- sérologie ZSP. Mezinárodní projekty: „Eliminace nezavlečených spalniček do r. 2007“, „Certifikace eliminace spalniček do r. 2010“, „Snížení incidence příušnic do r. 2010“ a „Snížení incidence vrozených zarděnek do r. 2010“, spolupráce s Regional Office WHO for Europe a Regional Reference Laboratory WHO Berlín. Spolupráce na studii MeMuRu s f. GlaxoSmithKline (porovnání účinnosti vakcín Priorix GSK a Trivivac Sevapharma). Akreditována ČIA podle ČSN EN ISO/IEK 17025 a ČSN EN ISO 15189. Certifikována za účast v EHK Instand Düsseldorf. Prezentace a školící činnost: 1 poster - konference ESCV 2006 - Birmingham, aktiv.účast na setkání WHO NRL - Lucemburk, 3 přednášky, 1 seminář.

NRL pro chlamydie

Referenční činnost: příprava a vyhodnocení EHK – sérologie chlamydií. Diagnostika chlamydiových infekcí u pacientů s onemocněními DCD, očí, kloubů, močových cest. (sérologické a molekulárně-biologické metody). Výzkum: Grant IGA 1A8259-3/04: „Vývoj metody průkazu DNA *Chlamydia pneumoniae* a *C.trachomatis* pomocí real-time PCR“. Vypracování standardní metodiky pro diagnostiku *C. trachomatis*. Publikace: 5 článků v českých časopisech, 1 závěrečná zpráva za grant, 1 poster na evropské konferenci.

NRL pro toxoplasmózu

Každodenní náplň práce NRL pro toxoplasmózu je referenční činnost – ověřování, confirmace a interpretace výsledků u materiálu zaslaného diagnostickými pracovišti, provádění speciálních diagnostických testů (izolační pokus, komparativní Western blot, stanovení avidity IgG) jakož i konzultace a vyšetřování pro specializovaná pracoviště z oborů infekční lékařství, genetika, gynekolo oftalmologie a hematologie. V roce 2006 byla připravena a vyhodnocena 2 kola EHK Sérologie toxoplasmózy, kterých se zúčastnily 102 laboratoře. XII. Konzultační den „Problémy toxoplasmózy“ navštívilo přes 200 účastníků. Druhým rokem ve spolupráci s AIDS centrem na Bulovce pokračoval grantový projekt IGA MZ ČR „Toxoplasmóza u HIV pozitivních pacientů a rizika s ní spojená: kohortová studie 1988-2007“, pokračovala i spolupráce s katedrou parazitologie PřF UK při sledování latentní toxoplasmózy.

NRL pro enteroviry

1. program virologické surveillance pro ČR
2. izolace a identifikace enterovirů
3. surveillance akutních chabých paréz
4. surveillance enterovirů ve vnějším prostředí
5. vedení sbírky enterovirů
6. postvakcinační sérologie
7. spolupráce s kardiologií a neurologií při určování diagnózy
8. účast v mezinárodních programech externího hodnocení kvality
9. příprava externího hodnocení kvality pro laboratoře ČR
10. výuka atestantů

NRL pro antibiotika

Patřící k formování a prosazování antibiotické politiky v ČR. Vedení pracovní skupiny Surveillance antibiotické rezistence bakterií v ČR Národní organizace a koordinace projektu EARSS (European Surveillance Antimicrobial Resistance System), organizovaného EC, DG Sanco (<http://www.szu.cz/ce/hpcem.htm>)

Zavádění nových a inovovaných metod fenotypového a genotypového průkazu rezistence, epidemiologie rezistence.

Vypracování doporučených postupů pod garancí prezidia ČLS JEP pro diagnostiku a léčbu infekcí, a pro používání antibiotik (<http://www.cls.cz/projekty.htm>)

Výzkumné práce v rámci projektu 6 rámcového programu EC (PREVIS –LSHM-CT-2003- 503413).

NRL – Česká národní sbírka typových kultur (CNCTC)

Hlavní náplní CNCTC je poskytování kultur uvedených ve sbírkovém katalogu externím organizacím za úhradu. Byla vyvinuta databáze kmenů deponovaných v CNCTC, která slouží pro vnitřní potřebu NRL a je zároveň podkladem nově vytvořené webové prezentace (www.szu.cz/cnctc). Podařilo se shromáždit množství doplňujících informací pro kompletnější deskripci jednotlivých sbírkových kmenů. CNCTC se podílela na identifikaci a uchování kmenů patogenních mikroorganismů zasílaných z mikrobiologických pracovišť v ČR. CNCTC zabezpečila lyofilizaci kultur (bakterie, kvasinky, viry, séra) pro potřeby NRL v rámci SZÚ a rovněž tuto službu poskytla za úhradu externím pracovištím. CNCTC zajišťovala agendu EHK–Bakteriologická diagnostika (výběr kmenů, lyofilizace, hodnotící komentář - časopis Zprávy Centra epidemiologie a mikrobiologie).

NRL pro salmonely

Referenční činnost je zaměřena na diagnostiku a sérotypizaci terénních izolátů včetně aberantních a vzácně se vyskytujících kmenů a konfirmaci salmonel pro nehumánní laboratoře. Průběžně probíhá statistika cirkulujících sérovarů.

Výzkumná činnost spočívá v monitorování multirezistentních kmenů v rámci projektu zaměřeném na sledování fenotypových i genotypových vlastností salmonel.

V oblasti zlepšování kontroly kvality je laboratoř trvale zapojena ve dvou mezinárodních kontrolních systémech porovnávání mezilaboratorní způsobilosti pro země EU v projektu EnterNet. V rámci této spolupráce byl SZÚ organizátorem výročního workshopu v září v Praze. Periodicky je aktualizována databáze salmonel pro systém celostátního hlášení EPIDAT. Laboratoř udržuje sbírku vzácných izolátů humánního původu a spolupracuje s AP SZÚ-CEM při přípravě vzorků EHK.

NRL pro yersinie

NRL pro yersinie diagnostikovala klinické izoláty yersinií zaslané z mikrobiologických pracovišť ČR. Tyto kmeny byly vyšetřeny biochemickými a sérotypizačními metodami. Dále bylo diagnostikováno 43 patientských sér k stanovení titru protilátek proti *Yersinia enterocolitica*.

Vzhledem k nízké dostupnosti beraních erytrocytů nezbytných k hemaglutinaci pro průkaz protilátek hledáme nové možnosti diagnostiky protilátek proti *Y. enterocolitica*.

Protože požadavků pro diagnostiku yersinií ubývá, bylo by vhodné začlenit tuto problematiku do činnosti jiné referenční laboratoře se zaměřením na střevní patogeny.

NRL pro stafylokoky

V roce 2006 se naše NRL věnovala převážně referenční činnosti. Diagnostikovali jsme 1012 kmenů stafylokoků z pracovišť celé ČR. Z nich bylo i 851 kmenů *S. aureus*, u kterých jsme sledovali fagotyp a pomocí fenotypových a genotypových metod přítomnost základních faktorů virulence, především superantigenů a Pantanova-Valentinova leukocidinu. Potvrdili jsme dg. syndrom toxického šoku u 10 případů a pomohli jsme objasnit tři velké epidemie puchýřnatého onemocnění novorozenců, včetně jedné slovenské. U 28 případů vážných kožních onemocnění stafylokokové etiologie jsme prokázali příčinu, produkci Pantanova-Valentinova leukocidinu. Tradičně jsme se věnovali i diagnostice koagulázanegativních stafylokoků, především izolátům z hemokultur. Výsledky byly prezentovány na dvou mezinárodních sympoziích (ECCMID a ISSSI), několika českých konferencích a na tradičním konzultačním dnu. V NRL pracuje redakce časopisu Zprávy CEM.

NRL pro *E. coli* a shigely

NRL pro *E. coli* a shigely diagnostikovala celkem 273 izolátů zaslaných z klinických a mikrobiologických pracovišť. Z nich 107 kmenů jsme určili jako *E. coli* různých sérotypů. Poprvé jsme zavedli a akreditovali metodu PCR pro zjištění genů *stx1*, *stx2*, *eae* odpovědných za produkci Shiga toxinů a intiminu u kmenů *E. coli*. Genotypově i fenotypově byli potvrzeni dva kmeny shigatoxigeních *E. coli* izolované jako infekční agens ze závažného případu hemolyticko-uremického

syndromu. Opět jsme se zapojili do mezinárodního hodnocení okružních vzorků - Ring trial of sero- and virulence typing of verocytotoxin producing *E.coli* pořádaným evropskou sítí ENTER-NET. Dále jsme vyšetřili 18 kmenů shigel a 142 ostatních patogenů z čeledi *Enterobacteriaceae*. Taktéž jsme identifikovali 2 importované kmeny *Vibria alginolyticus* izolované ze zánětu středního ucha.

NRL pro mykobakterie

Zajišťování provozu Informačního systému bacilární tuberkulózy, publikování Výroční zprávy o mykobakteriologické diagnostice v ČR. Spolupráce s Národní jednotkou dohledu nad tuberkulózou a s ČPFS ČLS JEP: program EuroTB, extenzivní tuberkulóza s rezistencí na „second-line drugs“ (XDR TB), testy IGRA (interferon- γ release assay) v ČR, vypracování pokynů pro jejich použití před zahájením biologické anti-TNF α terapie. Ve funkci Supranacionální referenční laboratoře (SRL) WHO/IUATLD účast ve všech aktivitách sítě SRL (4 projekty, pracovní skupiny), účast v kontrolách kvality (QC) SRL. Monitorování multirezistentní (MDR) TB v ČR, vč. DNA analýzy MDR kmenů a poskytování restričních profilů (analýza genotypu) do mezinárodní databáze. Provádění testů citlivosti na další antibakteriální léky u rezistentních kmenů *M. tuberculosis* a podmíněně patogenních netuberkulózních mykobakterií. Identifikace mykobakterií, identifikace mykobakteriálních species uvnitř komplexu *M. tuberculosis*. Příprava společného projektu ÚMG AV ČR, MBÚ AV ČR, SZÚ a ÚJEP „Nanoimunosenzory pro detekci cytokinů“. Další běžná organizační, metodická, přednášková, publikační, diagnostická aj. činnost.

NRL pro virové hepatitidy

NRL-VH centrálně prováděla povinná konfirmační vyšetření HCV a HBV pro transfúzní službu a vyžádaná konfirmační vyšetření pro laboratoře vyšetřující markery virových hepatitid. NRL-VH připravila a vyhodnotila celkem 6 sérií kontrolních vzorků pro systém externího hodnocení kvality (EHK) pro sérologické markery HAV, HBV, HCV a HIV. Navíc NRL-VH nově zavedla do EHK systému série kontrolních vzorků na stanovení nukleových kyselin (2 série: HBV-DNA a HCV-RNA). NRL-VH provedla vyhodnocení kvality 3 EIA testů pro diagnostické stanovení IgM a IgG protilátek proti viru hepatitidy E. Byla zavedena metoda sekvenační analýzy HBV DNA pro detekci mutant a molekulární eoidemiologii HBV. NRL-VH úspěšně prošla mezinárodními kontrolami kvality pro sérologii virových hepatitid A-E (INSTAND, SRN) a stanovení nukleových kyselin NAT (EDQM, EU).

NRL pro meningokokové nákazy

Pokračování surveillance invazivních meningokokových onemocnění (IMO). Všechny izoláty z IMO a od kontaktních osob byly charakterizovány klasickými a molekulárními metodami. Metodou PCR byla prováděna detekce *N. meningitidis* (zde u PCR produktů byla provedena MLST), *H. influenzae* b a *S. pneumoniae* z klinického materiálu. Ve spolupráci s NRL pro ATB byl prováděn monitoring citlivosti. Byla doporučena aktuální vakcinační strategie a opatření v ohnisku IMO, byly aktualizovány podklady k provádění surveillance IMO. Spolupráce v EU projektech: EU-IBIS a EMGM, v němž proběhla mezinárodní kontrola kvality klasické a molekulární charakterizace izolátů *N. meningitidis* a klinického materiálu. Řešení projektu IGA, publikování získaných výsledků (3 zahraniční a 5 tuzemských publikací). Úspěšný audit ČIA, účast na EHK, účast na postgraduálním vzdělávání.

NRL pro Lymeskou borreliózu

Fenotypizací pomocí nové metody mikročipů (Experion) jsme rozlišili a kvantifikovali proteiny nových druhů *Borrelia myiamatoi*, *B. spielmanii* a *B. bissettii*, které jsme kromě běžných druhů v ČR (*B. garinii*, *B. afzelii*, *B. valaisiana*, *B. burgdorferi*), izolovali z klíšťat nebo z pacientů buď geneticky nebo kultivačně. Byl prokázán vliv různých druhů *Borrelia burgdorferi* s.l. a *Anaplasma phagocytophilum* v etiopatogenezi kožních změn a kardiologických projevů při řešení dvou grantů. Výsledky sekvenační analýzy povrchových genů a imunocytochemie jimi kodovaných proteinů u různých kmenů *Borrelia* sp. jsou zahrnuty v mezinárodní studii (BOVAC) pro vývoj vakciny. Ve spolupráci s WHO a NATO byly shromážděny nové poznatky o molekulární biologii spirochét.

NRL pro AIDS

Referenční činnost – konfirmační testy, identifikace nových případů HIV/AIDS v ČR, monitorování průběhu infekce a sledování rezistence na ART u HIV infikovaných osob.

Epidemiologická surveillance HIV, aplikace metod molekulární epidemiologie, monitoring výskytu HIV/AIDS v ČR. Metodická a kontrolní činnost – školení, semináře, přednášky, příprava a hodnocení systému EPJ, účast v mezinárodních systémech posuzování kvality. Výzkumná činnost – řešení grantu IGA MZ ČR reg.č. NR 7843-3, vývoj metod subtypizace a zjišťování rezistence izolovaných kmenů HIV-1 na ART. Publikační činnost – www stránky s aktuálními informacemi o výskytu HIV/AIDS v ČR, odborné a populárně naučné publikace. Pedagogická činnost pre a postgraduální. Mezinárodní spolupráce – řešení programu EU/WHO „EuroHIV“ a „Europe HIV Resistance“.

NRL pro analýzu epidemiologických dat

Pravidelné zpracovávání hlášení OOVZ do časopisu Zprávy CEM a na internetovské stránky SZÚ–CEM, vypracovávání týdenních a měsíčních zpráv o epidemiologické situaci v ČR, tvorba a údržba databáze aktuálních epidemiologických hlášení. Spolupráce s ECDC formou aktivit v pracovních skupinách formovaných pro problematiku Case definition, Annual report a další.

Participace na přepracování pandemického plánu. Spolupráce v surveillance sítích infekčních nemocí v rámci EU (ARI – Flunet, BSN=Basic Surveillance Network až do jejího zániku, Enternet – hlášení salmonelóz, kampylobakterií a VTEC O157, EFSA (European Food Safety Authority – analýza výskytu zoonóz) a WHO (polio, spalničky a další infekce v rámci HFA 21, CISID), monitoring zoonóz též pro potřeby veterinárních orgánů EU a WHO.

NRL pro dezinfekci a sterilizaci

NRL je zkušební laboratoř CEM č. L 1206.4 akreditovaná podle ČSN EN ISO/IEC 17025.

Obdržela Osvědčení o účasti v externím hodnocení kvality č. 365/2006 a Certifikát správné diagnostiky č. 365/2006 zaměřený na kvalitu sterilizačních procesů, platné jsou do 31.12.2007.

Koordinovala autorizaci laboratoří setů E1 až E6.

Připravila odborné posudky a stanoviska pro MZ ČR a jiné organizace. Formou placených expertíz hodnotila účinnost dezinfekčních přípravků a účinnost sterilizátorů. Hodnotila odolnost materiálů k dezinfekčním přípravkům a citlivost mikroorganismů k dezinfekčním roztokům. Metodicky vede hygienickou službu a pracovníky provádějící dezinfekci a sterilizaci v rámci pregraduální, postgraduální výchovy a rekvalifikací. Spolupracuje při zavádění novinek z oboru do laboratoře a praxe. Spolupracuje se Společností pro sterilizaci, ČNI, IPVZ Praha, NCO NZO Brno, Sdružení DDD, byl uspořádán Konzultační den v DDD. Rozsáhlá je konzultační a publikační činnost.

NRL pro dezinsekcii a deratizaci

NRL formou placených expertíz, ověřovala účinnost přípravků pro ochrannou dezinsekcii a deratizaci, které byly schvalovány pro Českou republiku podle zákona č. 120/2002 Sb. o podmínkách uvádění biocidů na trh. Formou placené expertízy se podílela na klinických testech účinnosti nového odlišovacího přípravku, ve smyslu zákona 129/2003 Sb.

o léčivech. Podílela se na metodickém vedení a zajišťování odborné způsobilosti pro výkon v ochranné DDD, podle zákona č. 258/2000 Sb. Redakčně se podílí se vydávání časopisu Dezinfekce, dezinsekcce, deratizace. Podílela se na vzdělávání pracovníků hygienické služby a státní správy v dezinsekcii a deratizaci, spolupracovala s orgány státní správy při snižování zdravotních rizik vyplývajících z výskytu epidemiologicky a hygienicky významných živočichů. Podílela se na přípravě Konzultační den DDD 2006.

NRL pro přímou diagnostiku bakterií, virů a cizorodých buněk v klinickém materiálu pomocí elektronové mikroskopie

Přímá účast v EQA-EM, a EM-Erregerdiagnostik der DGE, Robert Koch-Institute, Berlin a v EUROTOM 7th programu nás opravňuje k diagnostice virů a bakterií v mezinárodním měřítku např. jsme se podíleli na diagnóze pacientů z USA a Kanady. Rozlišení rotavirů u kojenců a *Picornaviridae* v mozkomíšním moku prokázalo příčiny úmrtí a nebezpečí Polyomaviru-BK po transplantaci ledvin. Studium tkání srdce, jater, kůže a placenty přineslo nové poznatky o možných

původcích karditidy, erytému, sklerodermii a o nebezpečí klíšťaty přenášených bakterií pro těhotné.

NRL pro leptospiry

Činnost NRL spočívá hlavně v přípravě a výrobě živých antigenů pro diagnostické účely vlastní a pro potřeby sérologické diagnostiky leptospirózy hygienické a veterinární služby v ČR. V NRL je udržován genofond Národní sbírky leptospirových kultur v ČR. Zde vyrobená hyperimunní séra jsou využívána k externímu hodnocení kvality (EHK AP SZÚ) a úrovně rutinní diagnostiky v terénních laboratořích ZÚ i pro diagnostiku a confirmaci klinického materiálu z léč. prev. složky v NRL. V rámci sledování přírodní ohniskovosti leptospirózy jsou ve spolupráci s lokálními ZÚ vyšetřovány rezervoáry (drobní savci) z oblasti záplav a epizootií. Další spolupráce se týká přípravy a výroby zvířecích vakcín a kultivačních médií (Sevapharma, Bioveta, Test Line, SVÚ). Kromě metodické a konzultační spolupráce s pracovišti ZÚ a klinickými lékaři provádí NRL přednáškovou, doškolovací, konziliární a publikační činnost v dané problematice a celorepublikový monitoring této nákazy.

NRL pro herpetické viry

Referenční činnost: příprava a vyhodnocení EHK – sérologie EBV, HSV, VZV, identifikace virů. Expertízy – posouzení diagnostické účinnosti souprav EIA-VIDITEST anti EBNA1 EBV IgG (Vidia).

Výzkumná činnost: Porovnání séroprevalence HSV2 v české populaci v letech 1989 a 2001.

Diagnostická činnost: Přímý a nepřímý průkaz infekce HSV, VZV, CMV, EBV, HHV6 a HHV8 u imunodeficientních, neurologických, a hematologických pacientů. Publikace: 2 v cizojazyčném časopise, 3 články v českých časopisech, 3 poster na evropské a 2 na celosvětové konferenci.

NRL pro hemofilové nákazy

- 1) Monitorování vlastností kmenů izolovaných v mikrobiologických laboratořích (ověřování výsledků terénních laboratoří, biotypizace a sérotypizace u *Haemophilus influenzae*).
- 2) Spolupráce při zajištění surveillance programu invazivních onemocnění způsobených *Haemophilus influenzae b* v České republice.
- 3) Stanovení hladiny protilátek vůči *Haemophilus influenzae b* metodou ELISA.
- 4) Účast na postgraduální výchově (stáže a přednášky).
- 5) Spolupráce se zahraničním ústavem Centre for Infections, Haemophilus Reference Laboratory, London, UK (projekt EU-IBIS).

Podle zpráv o činnosti jednotlivých NRL sestavili

*RNDr. V. Rupeš, CSc.
CEM-SZÚ*

*Ing. M. Juskanin
Oddělení biostatistiky a informatiky, SZÚ*