

Zpráva o činnosti NRL pro pertusi a difterii za rok 2011

2011 Report of the National Reference Laboratory for Pertussis and Diphtheria

Jana Zavadilová, Daniela Lžičařová, Hana Klemová, Bohumír Kríž

Souhrn • Summary

Článek informuje o metodách používaných v Národní referenční laboratoři pro pertusi a difterii (NRL/DIPE) o počtech vyšetření provedených v roce 2011; upozorňuje na případy záchytu netoxigenních kmenů *Corynebacterium diphtheriae* z klinického materiálu a podává upřesňující informace týkající se zasílání kmenů *Bordetella pertussis*, *B. parapertussis*, *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* a *C. pseudotuberculosis* do NRL.

The article presents the methods used by the National Reference Laboratory (NRL) for Pertussis and Diphtheria, indicates the numbers of analyses performed in 2011, points out the detection of non-toxinogenic strains of C. diphtheriae from clinical specimens, and provides detailed information on the referral of B. pertussis, B. parapertussis, C. diphtheriae, C. ulcerans, and C. pseudotuberculosis strains to the NRL for Pertussis and Diphtheria.

Zprávy EM (SZÚ, Praha) 2012; 21(6–7): 243–244.

Klíčová slova: *Corynebacterium diphtheriae*, *Bordetella pertussis*, *B. parapertussis*, NRL pro pertusi a difterii
Keywords: *Corynebacterium diphtheriae*, *Bordetella pertussis*, *B. parapertussis*, NRL for Pertussis and Diphtheria

PERTUSE

Původce dávného kašle (*Bordetella pertussis* a *Bordetella parapertussis*) diagnostikuje NRL/DIPE metodou kultivace a PCR v klinických vzorcích (nasofaryngeální výtěr) odebraných v odběrové místnosti v areálu SZÚ nebo zaslaných z terénu. Informace o odběrech v SZÚ je na webových stránkách NRL/DIPE na odskoku Doporučené postupy a na dalším odskoku Odběry na kultivační a PCR vyšetření pertuse v SZÚ (<http://www.szu.cz/metody-nrl-pro-pertusi-a-difterii>).

Pokyny k transportu vzorků jsou uvedeny na webových stránkách SZÚ v Příručce pro odběr primárních vzorků Laboratoří CEM (http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/Akreditace/Prirucka_odber_primarnich_vzorku.pdf) a na webových stránkách NRL/DIPE na odskoku Doporučené postupy a na dalším odskoku Informace o odběru na kultivační vyšetření – průkaz *Bordetella pertussis/parapertussis* (<http://www.szu.cz/informace-o-odberu-na-kultivačni-vyse-treni-prukaz-bordetella>).

Kultivační vyšetření bylo v roce 2011 provedeno u 111 vzorků nasofaryngeálních výtěrů. V žádném z těchto vzorků nebyla kultivačně potvrzena přítomnost *B. pertussis* nebo *B. parapertussis*. Metodou Real-time PCR bylo vyšetřeno 14 vzorků nasofaryngeálních výtěrů, z toho 2 byly pozitivní s nálezem *B. pertussis*, 3 byly pozitivní s nálezem *B. parapertussis* a 4 vzorky byly pozitivní jak pro *B. pertussis*, tak i pro *B. parapertussis*. Zbylých 5 vyšetření nepotvrdilo přítomnost *B. pertussis* ani *B. parapertussis*.

NRL provádí identifikaci kmenů *B. pertussis* a *B. parapertussis* zaslaných ke confirmaci z laboratoří klinické mikrobiologie. V roce 2011 však nebyl do NRL poslán ke confirmaci ani jeden kmen *B. pertussis* či *B. parapertussis*, přestože epidemiologická data ukazují kultivační potvrzení

u 13 případů onemocnění pertuse [Fabiánová K, Zavadilová J., Beneš Č, Kríž B., Pertuse a parapertuse v České republice v roce 2011, Zprávy CEM (SZÚ Praha) 2012; 21(3): 97–102]. (http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/Cla-nek_CEM.pdf). V této souvislosti připomínáme vyhlášku Ministerstva zdravotnictví ČR č. 473/2008 Sb., o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce ve znění pozdějších předpisů, přílohu č. 3 „Systém epidemiologické bdělosti dávného kašle“, článek 2 „Laboratorní diagnostika“, bod 7, ze kterého vyplývá pro laboratoře povinnost každý izolovaný kmen *B. pertussis* a *B. parapertussis* zaslat do NRL pro pertusi a difterii.

Prosíme kolegy z bakteriologických laboratoří o zasílání izolátů *B. pertussis* a *B. parapertussis* do naší NRL.

Sérologický průkaz pertuse se v NRL provádí metodou ELISA z párových vzorků sér, hodnotí se dynamika koncentrace IgG protilátek proti pertusovému toxinu, průkaz parapertuse pak metodou aglutinace, hodnotí se dynamika titru protilátek proti antigenům *Bordetella parapertussis*. Doporučený postup pro sérologickou diagnostiku a interpretaci výsledků je uveden na webových stránkách NRL/DIPE na odskoku Doporučené postupy a na dalším odskoku Sérologický průkaz pertuse a parapertuse (<http://www.szu.cz/serologicky-prukaz-pertuse-a-parapertuse>). Laboratoř vyšetřuje jak vzorky odeslané laboratořemi ke confirmaci, tak vzorky zaslané k primárnímu vyšetření.

Sérologicky bylo v roce 2011 celkem vyšetřeno 187 vzorků sér. Pertuse byla prokázána v 9 případech, parapertuse v 1 případě. Ve 3 případech byla prokázána pertuse i parapertuse. Vybraná séra byla zařazena do sbírky NRL.

DIFTERIE

Do laboratoře bylo v roce 2011 zasláno 5 kmenů *Corynebacterium diphtheriae* k typizaci a stanovení produkce difterického toxinu (tabulka 1). Kmeny byly identifikovány pomocí biochemických testů, produkce toxinu byla stanovena metabolicko-inhibičním kolorimetrickým testem na tkáňových kulturách. Žádný z těchto kmenů neprodukoval difterický toxin.

Koncentrace difterických antitoxických protilátek v lidském séru se stanovuje metabolicko-inhibičním kolorimet-

Tabulka 1: KMENY *CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE* ZASLANÉ DO NRL V ROCE 2011

č.	biotyp	produkce toxinu	klinický materiál
1	<i>C. diphtheriae gravis</i>	ne	stěr z rány
2	<i>C. diphtheriae gravis</i>	ne	stěr z rány
3	<i>C. diphtheriae mitis</i>	ne	hemokultura
4	<i>C. diphtheriae mitis</i>	ne	stěr z kožní léze
5	<i>C. diphtheriae mitis</i>	ne	hemokultura

rickým testem na tkáňových kulturách. V roce 2011 bylo v NRL vyšetřeno 117 vzorků sér imunokompromitovaných osob, dětí imigrantů či jiných osob zájímajících se o stav protilátek proti difterii.

V současnosti probíhá v Evropské Komisi schvalování Rozhodnutí EC, které doplňuje Rozhodnutí 2002/253/EC definic případů vybraných infekčních onemocnění pro hlášení přenosných onemocnění do sítě EU (ECDC). To se týká mj. i hlášení onemocnění záškrtem. Hlášení podléhají případy onemocnění vyvolané toxigenními kmeny *Corynebacterium diphtheriae*, *C. ulcerans* a *C. pseudotuberculosis*. Připomínáme tedy, že i izolace kmenů *C. ulcerans* a *C. pseudotuberculosis* z klinicky manifestních případů lidských onemocnění je třeba posílat do NRL na ověření toxigenicity.

Upozorňujeme, že v loňském i letošním roce bylo několik kmenů *C. diphtheriae* izolováno z hemokultur. I když se jednalo ve všech případech o netoxigenní kmeny, jsme toho názoru, že okolnost, že byly izolovány z krevního oběhu, zasluhuje pozornosti a doporučujeme příslušným odborným pracovníkům zpracovávat kazuistiky těchto případů a jednotlivě či hromadně je publikovat v odborných časopisech. [Džupová O, Beneš J, Kříž B, Horová B, Olexová A., Neobvyklý průběh invazivní infekce netoxigenním kmenem *Corynebacterium diphtheriae*, *Klin Mikrobiol Infekc Lek.* 2005; Dec; 11(6): 222–225].

Kožní forma záškrtu byla v minulosti i přítomnosti opakovaně diagnostikována v Evropě u osob navracejících se z Afriky, kde se endemicky vyskytuje. Typickým klinickým obrazem této formy v Africe je kožní vřed sahající až ke svalu nebo fascii, jako by byl vyseknut v kůži průbojníkem. V evropských podmínkách může mít jinou podobu. [E. Lindhusen-Lindhé, L. Dotevall, M. Berglund., Imported Laryngeal and Cutaneous Diphtheria in Tourists Returning From Western Africa To Sweden, March 2012, *Eurosurveillance*, Volume 17, Issue 23, 07 June 2012 (<http://eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20189>).

Toxigenní formy *C. diphtheriae* již od osmdesátých let v naší populaci necirkulují. Netoxigenní varianty se diagnostikují vzácně. Nicméně to znamená, že jejich cirkulace se nedá vyloučit. V případě, že by došlo k importu toxigenního kmene a jeho náhodnému setkání s našimi kmeny, mohl by jim předat gen kódující produkci toxinu. To bylo v minulosti opakovaně prokázáno. Je tedy třeba věnovat těmto nálezům pozornost a zejména u kožních postižení pátrat po možném zdroji, což znamená minimálně zjišťovat cestovatelskou anamnézu či osobní styk s cizinci, pátrat po možných onemocněních kontaktů a zajistit jejich případnou léčbu. Je třeba si uvědomit, že průkaz toxigenicity kmene na tkáňových kulturách trvá nejméně týden, což je třeba brát v úvahu při plánování případného epidemiologického zásahu.

Od listopadu 2011 je NRL pro pertusi a difterii akreditovaná ČIA podle ČSN EN ISO/IEC 17025 jako zkušební laboratoř a podle ČSN EN ISO 15189 jako zdravotnická laboratoř.

Děkujeme všem spolupracujícím laboratořím, které nám posílají materiál ke konfirmaci a kmeny k dalšímu zpracování.

*Mgr. Jana Zavadilová, MUDr. Daniela Lžičařová
Hana Klemová*

Národní referenční laboratoř pro pertusi a difterii

Doc. MUDr. Bohumír Kříž, CSc.

Oddělení epidemiologie infekčních nemocí

Státní zdravotní ústav, Praha