

Informace NRL pro streptokokové nákazy a NRL pro stafylokoky k detekci toxinů u virulentních kmenů

Information from the National Reference Laboratory (NRL) for Streptococcal Infections and the NRL for Staphylococci on the detection of toxins in virulent strains

Jana Kozáková, Renata Veselá, Michaela Šimková, Petr Petráš

Streptococcus pyogenes (Group A *Streptococcus*, GAS) je agens způsobující především hnisavé infekce faryngu a kůže, může však vyvolat i systémové infekční onemocnění, která mohou být doprovázena streptokokovým syndromem toxického šoku (STSS). STSS je charakterizován místem počátku infekce, převážně dolní cesty dýchací a poranění kůže, u většiny pacientů se vyskytuje bakteriémie, četnost úmrtí u STSS je až 30%. Vážnost infekce *S. pyogenes* je ovlivněna kombinací řady faktorů, např. zdravotním stavem hostitele, předchozím poraněním, hladinou expozice k *S. pyogenes*, genetickými faktory hostitele a specifickou virulencí kmene.

Streptokokové superantigeny (SAg) se považují za významné faktory virulence, i když jejich propojení s konkrétními klinickými projevy je však stále nejasné a statisticky se nepodařilo prokázat ani jejich přímou spojitost s invazivitou. V současné době je známo 13 SAg. Geny kódující SAg jsou převážně nesené na profázích nebo na jiných mobilních elementech. Podstatnou protilátkovou odezvu k bakteriálním SAg je možné zjistit u zdravých jedinců, což naznačuje, že k expozici SAg může dojít i u neinvazivní infekce nebo asymptomatické kolonizace.

V současnosti se v NRL pro streptokokové nákazy u *S. pyogenes* rutinně provádí emm typizace, což je stanovení genu *emm*, který kóduje M protein – faktor virulence vázaný na povrchu bakterie. Dále u vytypovaných kmenů invazivních GAS je možné metodou PCR v reálném čase stanovit přítomnost genů streptokokových superantigenů. Přítomnost genů těchto superantigenů však neprokazuje jejich produkci. Produkci streptokokových SAg v NRL pro streptokokové nákazy stejně jako ve většině NRL laboratoří ve světě nestanovujeme. Komerčně není dostupná souprava s protilátkami specifickými pro jednotlivé streptokokové SAg.

V NRL pro streptokokové nákazy v reakci na zvýšený výskyt invazivních onemocnění spojených s kmeny *S. pyogenes* zavádíme metodu celogenomové sekvenace (WGS), zvláště izolátů z invazivních GAS onemocnění.

Staphylococcus aureus patří k „nejúspěšnějším“ lidským patogenům s velkým spektrem různorodých infekcí. Je to dáno i značným počtem jeho faktorů virulence. Vedle nejznámější plasmakoagulázy, hemolyzinů, leukocidinů jsou v zájmu pozornosti toxin syndromu toxického šoku

(TSST-1) a stafylokokové enterotoxiny (SE). Kmeny s jejich produkcí jsou příčinou syndromu toxického šoku, stafylokokové enterotoxikózy, enterokolitidy, vaginitidy, chronické rinosinusitidy a řady dalších infekcí. Informace o schopnosti produkovat tyto toxiny je důležitá indicie pro klinického lékaře ke stanovení správné diagnózy a tedy i adekvátní terapie. Zjištění stafylokokové toxinové etiologie je potřebné zvláště u syndromu toxického šoku, kdy vzhledem k pestrému výčtu příznaků může být klinická diagnostika obtížná. Toto onemocnění je charakterizováno 4 hlavními příznaky: vysokou teplotou, nějakou formou kožní vyrážky, rapidním snížením krevního tlaku a olupováním vrchních vrstev epidermis, které s objevuje asi 2 týdny po příznacích. Kromě těchto bývají přítomny další zdravotní postižení, např. gastrointestinálního traktu, svalstva, sliznic, ledvin, jater, krevního oběhu, poruchy CNS ad.

Společně s pyrogenními exotoxiny *S. pyogenes* patří TSST-1 a SE do skupiny bakteriálních superantigenů, což jsou antigeny, které nevyžadují pro svou interakci s imunitním systémem zpracování antigen prezentujícími buňkami, ale přímo se váží na receptory T lymfocytů a aktivují imunitní systém v podstatě nekontrolovatelnou reakcí.

V současnosti zjišťujeme v NRL pro stafylokoky rutinně metodou PCR přítomnost genů v DNA zaslaných kmenů kódujících TSST-1 a klasické enterotoxiny SEA, SEB, SEC, SED. V indikovaných případech přidáváme další SE (v současnosti je známo 20 antigenních typů SE a dalších 7 tzv. enterotoxin/like). Oproti situaci u streptokoků můžeme v případě nejasných výsledků použít latexové testy japonské firmy Denka Seiken TST-RPLA a SET-RPLA (dodává ThermoFisher Scientific – Oxoid). Metodou reverzní pasivní latexové aglutinace je možné u inkriminovaného kmene prokázat přímo produkci uvedených toxinů. Citlivost této metody je vysoká (1 ng toxinu/ml), ale nevýhodou je – kromě dalšího – minimálně o 24 hodin delší doba potřebná k odečtení výsledku.

MUDr. Jana Kozáková, ing. Renata Veselá
NRL pro streptokokové nákazy, CEM SZÚ
MUDr. Petr Petráš, CSc., ing. Michaela Šimková
NRL pro stafylokoky, CEM SZÚ