

## **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 konfirmaci 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. 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, bez násilí zasouváme přes nosní průduch těsně podél nosní přepážky a po spodní stěně nosní dutiny až k zadní stěně nasofaryngu (pro představu – délka zasunuté části drátku přibližně odpovídá vzdálenosti nosní křídlo – tragus). Několikrát jemně pootočíme a tampón vytáhneme, pokud je součástí soupravy nádobka s transportním médiem, vložíme do média. U dětí je nutná fixace, odběr je velmi nepříjemný.

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 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.**

## 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.