

# Doporučení pro laboratorní diagnostiku dávivého kašle

## Guidelines for laboratory diagnosis of pertussis

Jana Zavadilová, Kateřina Fabiánová, Marina Maixnerová

### 1. Přímý průkaz – kultivace („zlatý standard“)

**Odběr (výtěr):** *Na počátku onemocnění, před zahájením ATB léčby, na lačno! nebo tři hodiny po jídle a pití, nekouřit!*

Výtěr se provádí tenkým ohebným tamponem (doporučuje se nepoužívat vatový nebo bavlněný tampon, který obsahuje mastné kyseliny, toxické pro *Bordetella pertussis*) ze zadní stěny nasopharyngu přes dutinu nosní z obou nosních průduchů.

**Technika odběru:** Tampon jemně zasunout přes nosní průduch až k zadní stěně nasopharyngu. Zde ponechat několik sekund za současného otáčení tak, aby co nejvíce nasákl slizničním sekretem. Opatrně vyjmout. Odběr se provádí dvěma tampony – na každý nosní průduch jeden tampon.

**Uchovávání a transport materiálu:** Při použití tamponu s transportním médiem – AMIES s aktivním uhlím po výtěru ihned zanořit do transportního média. Do transportu materiál v transportním médiu uchovávat při pokojové teplotě. Doba od odběru do následného vyočkování by měla být co nejkratší a neměla by přesáhnout 24 hodin.

Při použití tamponu bez transportního média nejspíše do hodiny přímo vyočkovat na kultivační plotnu. **Bordetely jsou velmi citlivé na vyschnutí.**

**Kultivace:** Kultivace bordetel se provádí na speciálních kultivačních půdách:

- Bordet-Gengou (osvědčil se výrobce Difco),
- Charcoal agar,
- Regan-Lowe charcoal agar + cefalosporin.

Půda na kultivační plotně by měla být dostatečně vysoko vyliťá, aby nedocházelo k zhoršování kultivačních podmínek během růstu bakterií.

Plotny inkubovat při 35–36 °C po 7 dní. Denně odečítat plotny.

*B. pertussis* vyrůstá za 48–72 hod. v drobných stříbřitých polokulovitých koloniích, při doteku kličkou se nepohybují, ale rozetřou se. Po 3–4 dnech inkubace jsou kolonie větší, až 2 mm v průměru, jsou lesklé, šedobílé, navahlité – „kapky rosy“.

*B. parapertussis* vyrůstá někdy již za 24 hodin, za 48 hodin je již dobře viditelná. Kolonie jsou větší, šedostříbrné. Při delší inkubaci jsou kolonie jakoby trochu vpadlé do půdy, dorůstají velikosti až 3 mm. Po izolaci čisté kultury (ne starší než 48 hodin) se pro ověření používá sklíčková aglutinace s diagnostickými séry anti *B. pertussis* a anti *B. parapertussis* (osvědčily se od firmy Remel, dodává OXOID CZ s.r.o.). Kultivační vyšetření se má provádět vždy při podezření na onemocnění! Optimální je provádět průkaz agens kultivačně, sérologicky, případně metodou PCR.

Izolované kmeny *B. pertussis* a *B. parapertussis* mají být posílány do NRL pro pertusi a difterii!

### 2. Nepřímý průkaz – sérologická diagnostika

**A. Vyšetření protilátek proti pertusi v séru aglutinační metodou:** *Lze použít jak k průkazu akutního onemocnění, tak k průkazu přetrvávání protilátek po očkování celobuněčnou vakcínou proti pertusi.*

K diagnostice onemocnění jsou vyžadovány vždy dva vzorky sér. První vzorek krve se odebere **co nejdříve** po vyslovení podezření na onemocnění, druhý vzorek nejdříve za 2–4 týdny (tento interval nejlépe ukáže signifikantní, tj. čtyřnásobný vzestup/pokles protilátek). **Séra se vždy vyšetřují současně, v téže laboratoři!**

Ke správnému hodnocení sérologického vyšetření je nutné mít:

- vždy dva vzorky séra + datum odběru,
- znát údaje o očkování pacienta,
- datum narození pacienta.

V současné situaci nejsou k dispozici dříve vyráběné aglutinogeny, na trhu jsou dostupné aglutinogeny na *B.pertussis* dodávané firmou GALI s.r.o., diagnostika na *B.parapertussis* v současné době nejsou k dispozici.

**B.** V současné době narůstá počet dětí primárně očkovaných a přeočkovaných acelulární očkovací látkou proti pertusi. U takto očkovaných dětí vyšetření aglutinační metodou není vhodné pro stanovení postvakcinační imunity, doporučuje se proto použít **vyšetření IgG protilátek proti pertusovému toxinu metodou ELISA**. V případě onemocnění je též vyžadováno vyšetření dvou vzorků sér, protože není známa průměrná hodnota protilátek proti pertusovému toxinu v populaci.

Protilátky ve třídě IgA se netvoří po očkování, pouze u probíhající infekce (v časně fázi infekce). Vzhledem k tomu lze toto vyšetření použít k rozlišení „přirozené infekce“ od postvakcinační reakce. Kojenci do 3 měsíců věku nevytvářejí protilátky IgA. U dětí mladších 6 let jsou pro včasnou diagnostiku akutní infekce vhodné protilátky IgM. Protilátky IgG jsou přítomny jak po sérokonverzi u infekce, tak i po vakcinaci. Bezprostředně po vakcinaci se tvoří protilátky IgM a IgG.

Je třeba zároveň upozornit na možnost zkřížené reakce *B.pertussis* s *Bordetelou parapertussis* při použití kombinovaných setů (pertusový toxin + filamentózní hemaglutinin) protože *B.parapertussis* obsahuje rovněž filamentózní hemaglutinin. Filamentózní hemaglutinin rovněž způsobuje zkříženou reaktivitu s *H. influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae* a *Chlamydia pneumoniae*. **Při podezření na zkříženou reaktivitu je potřeba vyšetřit protilátky IgG proti pertusovému toxinu.**

Zavádí se rovněž **metoda PCR**, která se doposud rutinně nepoužívá (náročná technika odběru a zpracování). Je to rychlá metoda, dávající pozitivní výsledky i při léčbě antibiotiky, která by však vždy měla být následně potvrzena dalším vyšetřením.

*Mgr. Jana Zavadilová*  
*NRL pro pertusi a difterii*  
*Centrum laboratorních činností/OML*  
*Státní zdravotní ústav*  
*Šrobárova 48, 100 42 Praha 10*  
*MUDr. Kateřina Fabiánová*  
*Odbor Epidemiologie infekčních nemocí*  
*Státní zdravotní ústav*  
*MUDr. Marina Maixnerová, CSc.*  
*Ústav epidemiologie*  
*3. Lékařská fakulta UK*