

Význam PCR v časně diagnostice infekce *Burkholderia cepacia* komplex u pacientů s cystickou fibrózou



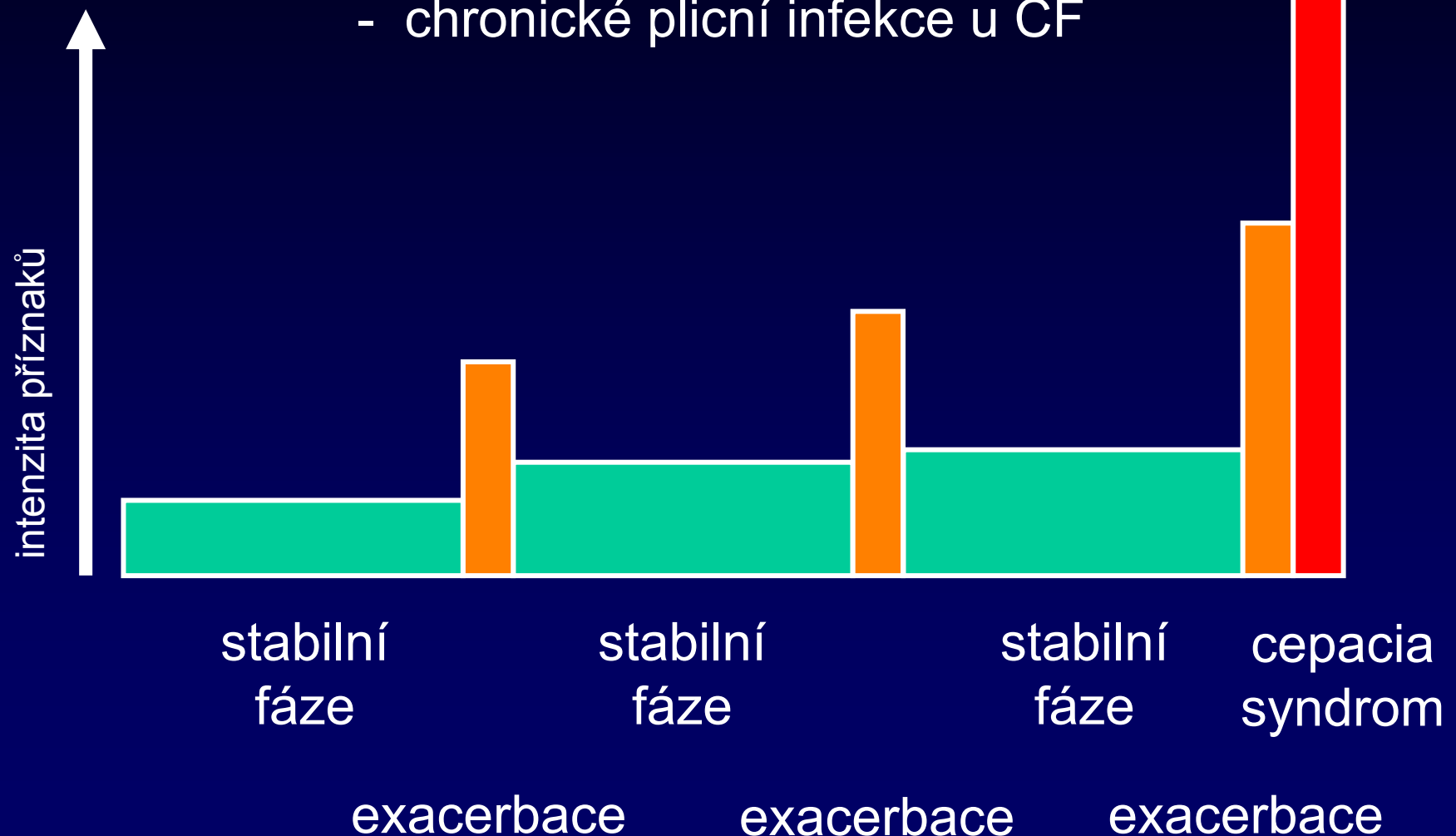
Pavel Dřevínek, Klára Dědečková,
Oto Melter, Otakar Nyč, Ondřej Cinek



Pediatrická klinika a Ústav lékařské
mikrobiologie, 2. lékařská fakulta UK

Komplex *Burkholderia cepacia* (Bcc):

- skupina 17 bakteriálních druhů
- chronické plicní infekce u CF



-hrozba vzniku cepaciového syndromu

- hrozba epidemického rozsevu
(český epidemický kmen ST-32)



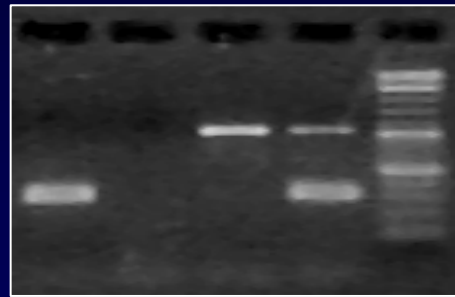
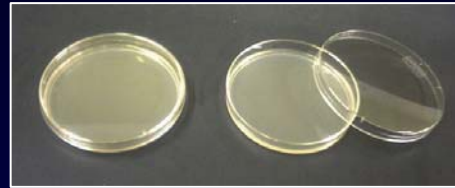
Požadavek časně detekce Bcc

- k zahájení časně léčby
- k zabránění šíření infekce (časnou izolací pozitivních pacientů)

Zpracování klinického materiálu v CF centru v Praze:



kultivace
PCR



Nested PCR:

- 2 kola PCR
- detekční limit: 10^3 CFU/mL
- zahájeno v roce 2001

Cíl práce

Stanovit účelnost používání PCR metody

Pacienti a metody

- Období sledování: květen 2001 - prosinec 2009
- 424 vyšetřených CF pacientů (ve věku 0 až 47 let)
- 6,449 vyšetřených vzorků

Pozitivita Bcc definována jako:

≥ 2 pozitivní vzorky určené pomocí PCR a/nebo kultivace

Pacientů s nálezem Bcc: 107

Před květnem 2001
(bez PCR dg.)

59

Po květnu 2001
(PCR dg. k dispozici)

48

Bcc detekována poprvé metodou

PCR + kultivace

31

pouze PCR

17

pouze kultivace

0

Kultivační pozitivita později

ANO

10

NE

7

Pacientů s nálezem Bcc: 107

Před květnem 2001
(bez PCR dg.)

59

Po květnu 2001
(PCR dg. k dispozici)

48

Bcc detekována poprvé metodou

PCR + kultivace

31

pouze PCR

17

pouze kultivace

0

Kultivační pozitivita později

ANO

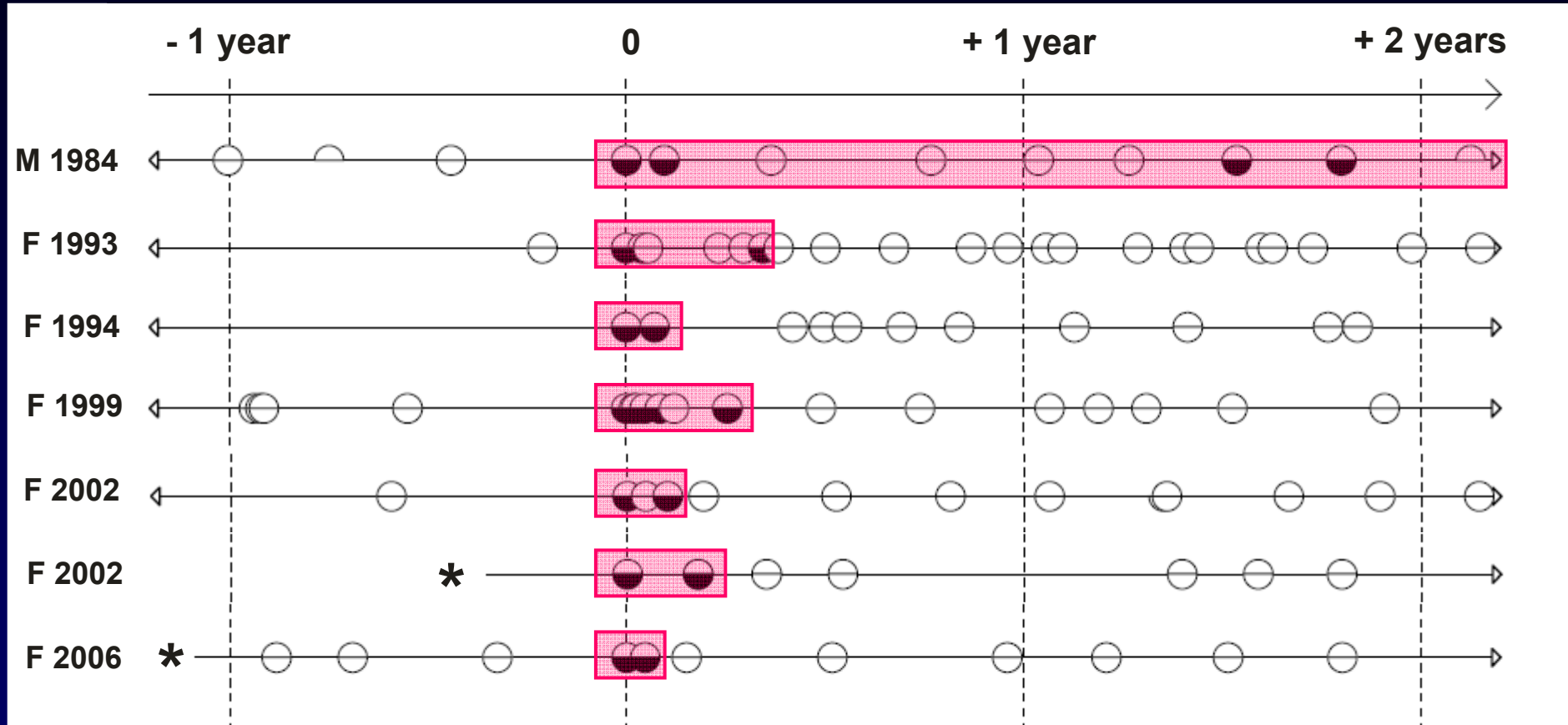
10

NE

7

PCR pozitivita, která nikdy nepřešla do kulturační positivity

Celková doba trvání infekce



Před květnem 2001
(bez PCR dg.)

Po květnu 2001
(PCR dg. k dispozici)

59

48

Bcc dekována poprvé metodou

PCR + kultivace

pouze PCR

pouze kultivace

31

17

0

kultivační pozitivita později

ANO

NE

10

7

Zpět do úplné negativity

0

9

2

6

**Délka
infekce**

≤ 3 měsíce	8
4 – 24	7
25 – 45	2

druh Bcc

<i>B. multivorans</i>	2 / 6
<i>B. cenocepacia</i>	5 / 24
<i>B. stabilis</i>	4 / 9
<i>B. contaminans</i>	6 / 9

33%

21%

44%

67%

Závěry

- U **35 %** pacientů s infekcí Bcc byla infekce poprvé detekována **pouze metodou PCR**, nikoli kultivací
 - 59 % z nich později vykázalo i kulturační pozitivitu



PCR je schopné detekovat infekci dříve než kultivace

- **16 %** pacientů s infekcí Bcc **se této infekce zbavilo** (po období kolonizace od 1 do 45 měsíců)



úspěšná eradikace antibiotiky ?
příliš nízká bakteriální nálož ?
“hodné” / “zlé” druhy Bcc ?
laboratorní kontaminace vzorků ?