proLékaře.cz | 29.11.2026

Molekulární charakteristika izolátů *Streptococcus pneumoniae* zachycených při selhání vakcinace proti pneumokokovým infekcím u dětí pod 5 let věku v ČR 2012–2014

Okonji Z., Kozáková J.

Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha

SOUHRN

Cíl práce: Práce se zaměřila na molekulární charakteristiku izolátů *Streptococcus pneumoniae* v České republice od pacientů, kteří byli očkováni konjugovanou pneumokokovou vakcínou, a přesto v letech 2012–2014 onemocněli invazivním pneumokokovým onemocněním (IPO), způsobeným sérotypem *S. pneumoniae* obsaženým v aplikované vakcíně. Cílovou skupinou byly děti pod pět let věku.
Materiál a metody: Kmeny *S. pneumoniae* jsou zasílány do Národní referenční laboratoře pro streptokokové nákazy (NRL) z celé České republiky. Selhání vakcinace proti pneumokokovým infekcím bylo v souladu s mezinárodní definicí. V NRL běžně probíhá identifikace a typizace izolátů klasickými i molekulárními metodami. K charakterizaci osmi izolátů od pacientů se selháním vakcinace byla použita i detailnější multilokusová sekvenační typizace (MLST).
Výsledky: V letech 2012–2014 bylo v České republice identifikováno osm kmenů *S. pneumoniae* při selhání vakcinace u dětí pod pět let věku. Jednalo se o sérotypy 1 (n = 4), 14 (n = 2) a 3 (n = 2). U sérotypu 1 byl nalezen pouze jeden sekvenační typ ST306, typický sekvenační typ sérotypu 1. Stejně tak byl u sérotypu 14 zachycen pouze sekvenační typ ST124, který je v ČR často spojen se sérotypem 14, i když v jiných geografických lokalitách jsou častěji nalézány i jiné ST. Sérotyp 3 je velice heterogenní, což se projevuje i v nalézaných ST. Identifikovali jsme klonální komplex ST505 a ST124. ST124 je celosvětově první nález u *S. pneumoniae* sérotypu 3.
Závěr: Jsou prezentovány výsledky pilotního projektu v České republice molekulární charakterizace kmenů *S. pneumoniae* zachycených při selhání vakcinace u dětí pod pět let věku. Získaná data vedou ke zkvalitnění surveillance invazivních pneumokokových onemocnění v České republice.

KLÍČOVÁ SLOVA

***Streptococcus pneumoniae* – selhání vakcinace – molekulární surveillance – MLST**

ABSTRACT

Okonji Z., Kozáková J.: Molecular characterization of *Streptococcus pneumoniae* isolates recovered from cases of pneumococcal vaccine failure in children under five years of age in the Czech Republic in 2012–2014
Objective: Molecular characterization of *Streptococcus pneumoniae* isolates recovered in the Czech Republic from previously vaccinated patients diagnosed with invasive pneumococcal disease caused by vaccine serotypes in 2012–2014. The target group were children under five years of age.
Material and methods: *S. pneumoniae* strains are referred to the National Reference Laboratory for Streptococcal Infections (NRL) from all over the Czech Republic. Pneumococcal vaccine failure was identified based on the international definition. The NRL routinely performs identification and typing of isolates using both conventional and molecular methods. To characterize in more detail eight isolates from cases of pneumococcal vaccine failure, multilocus sequence typing (MLST) was used.
Results: In 2012–2014, eight *S. pneumoniae* strains were recovered from children under five years of age diagnosed with vaccine failure. The strains were assigned to serotypes 1 (n = 4), 14 (n = 2), and 3 (n = 2). Serotype 1 isolates were of one sequence type, ST306, which is typical for serotype 1. Similarly, serotype 14 was exclusively of ST124, which is often linked to serotype 14 in the Czech Republic, although in other geographical areas, other STs are often found. Serotype 3 is highly heterogeneous, which is also reflected in multiple STs found in it. We identified a clonal complex comprising ST505 and ST124. ST124 is for the first time reported in *S. pneumoniae* of serotype 3 in the world.
Conclusion: Results are presented of a pilot project conducted in the Czech Republic and focused on molecular characterization of *S. pneumoniae* strains recovered from cases of pneumococcal vaccine failure in children under five years of age. The data obtained are helpful in improving the surveillance of IPD in the Czech Republic.

KEYWORDS

***Streptococcus pneumoniae* – vaccine failure – molecular surveillance – MLST**

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 67, 2018, č. 3, s. 99–103

proLékaře.cz | 29.11.2026

ÚVOD

Streptococcus pneumoniae, neboli pneumokok, představuje běžného komenzála horních cest dýchacích u dětí i dospělých osob. Je však schopen vyvolat celou škálu klinicky odlišných infekčních onemocnění, od lehkých (sinusitida, otitida) až po obávaná invazivní pneumokoková onemocnění (IPO): pneumonie, meningitida, sepse. Nejvíce ohroženy závažnými formami jsou malé děti, senioři a pacienti s defektem imunity. Dnes je popsáno na 40 séroskupin a identifikováno 94 sérotypů pneumokoků, jejichž distribuce se liší podle mnoha faktorů, např. podle geografické polohy, času či věku.

V roce 2007 byl v ČR spuštěn pilotní projekt systému monitorování IPO a od roku 2008 funguje celorepublikový systém surveillance, který v budoucnu bude zkvalitněn o molekulární charakterizaci izolátů z IPO.

Nejúčinnější prevencí IPO je vakcinace. První konjugovaná vakcína zaměřená na pneumokoky byla vyvinuta již v roce 2000. Od ledna 2010 zdravotní pojišťovny v České republice hradí očkování proti pneumokokovým infekcím všem kojencům ve schématu doporučeného hrazeného očkování. Vakcinace je kromě dětí doporučována i seniorům a rizikovým skupinám. Vakcinační strategie byla pro kojence zvolena především podle epidemiologické situace tak, že desetivalentní vakcína (PCV10) je hrazena plně a třináctivalentní (PCV13) s doplatkem. Bylo zvoleno schéma 3 + 1, nově od 1. 1. 2018 je možné využít i schéma 2 + 1. V ČR jsou v současné době registrovány dvě konjugované vakcíny proti *S. pneumoniae* s rozdílným složením sérotypů: Prevenar 13 (PCV13: 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F, 1, 5, 7F, 3, 6A, 19A) a Synflorix (PCV10: 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F, 1, 5, 7F).

Podle složení vakcín je nutné vnímat rozdíl mezi selháním vakcinace a nepokrytím sérotypu vakcínou. K rozlišení je nutná kvalitní laboratorní diagnostika a surveillance IPO.

Dopad vakcinačního programu v ČR lze hodnotit jako jednoznačně pozitivní. Pokles incidence IPO po zavedení hrazeného očkování je přirozeně největší v nejmladší věkové skupině 0–11 měsíců. Nicméně téměř každoročně jsou zaznamenány případy IPO u řádně očkovaných dětí všemi dávkami očkovací látky ve schématu podle platných SPC, jedná se o selhání vakcinace. Tato studie se zabývala selháními vakcinace u dětí pod pět let věku v letech 2012–2014.

MATERIÁL A METODY

Kmeny

Pro molekulární analýzy byly vybrány kmeny ze sbírky Národní referenční laboratoře pro streptokokové nákazy (NRL/STR), Oddělení bakteriálních vzdušných nákaz CEM SZÚ v Praze. Testování bylo zaměřeno na kmeny *Streptococcus pneumoniae* izolované při selhání vakcinace u dětí pod 5 let věku v letech 2012–2014. Celkově bylo identifikováno a studováno 8 kmenů.

Identifikace *Streptococcus pneumoniae*

Pro identifikaci species se používá několik klasických mikrobiologických testů. Po získání čisté kultury bakteriálního kmene na krevním agaru Columbia s optochino-

Tabulka 1. Kmeny *Streptococcus pneumoniae*, selhání vakcinace u dětí pod 5 let věku, 2012–2014, ČR
Table 1. *Streptococcus pneumoniae* strains, vaccine failure in children under five years of age, 2012–2014, Czech Republic

Označení izolátu	Sérotyp	Typ vakcíny / očkovací schéma	Datum poslední vakcinace / dávka	Věk dítěte	Datum odběru klinického materiálu	Klinický materiál	Primární diagnóza	MLST								
								aroE	gdh	gki	recP	spi	xpt	ddl	sekvenační typ (ST)	klonální komplex (cc)
311/12	14	PCV10 / 3+0	20.2.2012 / 3.d	9 m	18.4.2012	krev	pneumonie	7	5	1	8	14	11	14	124	
117/13	14	PCV10 / 2+1	20.4.2010 / 3.d	4 r	11.2.2013	krev	pneumonie	7	5	1	8	14	11	14	124	
459/13	3	PCV13 / 3+0	26.7.2012 / 3.d	1 r	10.7.2013	krev	pneumonie	7	5	1	8	14	11	14	124	
522/13	1	PCV10 / 3+1	3.1.2010 / 4.d	4 r	20.9.2013	krev	pneumonie	12	8	13	5	16	4	20	306	18
584/13	1	PCV10 / 3+1	11.11.2010 / 4.d	3 r	12.10.2013	krev	meningitida	12	8	13	5	16	4	20	306	18
145/14	3	PCV13 / 3+1	15.8.2013 / 4.d	1 r	7.2.2014	krev	pneumonie	46	8	2	10	6	1	22	505	
465/14	1	PCV13 / 3+1	15.12.2011 / 4.d	3 r	10.6.2014	krev	pneumonie	12	8	13	5	16	4	20	306	18
551/14	1	PCV10 / 3+1	9.8.2011 / 4.d	4 r	29.7.2014	krev	sepse	12	8	13	5	16	4	20	306	18

proLékaře.cz | 29.11.2026

vým diskem, je hodnocena morfologie kolonií a citlivost k optochinu. Následně se používá Test rozpustnosti ve žluči. Kombinací těchto metod dochází k identifikaci *S. pneumoniae*. V případě nejasností lze využít ještě další identifikační metody, jakými jsou např. latexaglutinace, reakce s pneumokokovým OMNI sérem, biochemická identifikace, mikroskopie či katalázový test. Druhou kategorií testů tvoří molekulární metody. Jedná se především o polymerázovou řetězovou reakci v různém uspořádání (PCR), klasickou end-point PCR či real-time PCR [1].

Typizace *Streptococcus pneumoniae*

Určení sérotypů či séroskupin *S. pneumoniae* se rutinně provádí pomocí Quellung reakce v kombinaci s end-point multiplexPCR (mPCR) [2]. K detailnější charakterizaci lze použít multilokusovou sekvenační typizaci (MLST) [3, 4]. MLST poskytuje data o alelických variantách house-keeping genů *S. pneumoniae* aroE (shikimate dehydrogenase), *gdh* (glucose-6-phosphate dehydrogenase), *gki* (glucose kinase), *recP* (transketolase), *spi* (signal peptidase I), *xpt* (xanthine phosphoribosyltransferase), *ddl* (D-alanine-D--alanine ligase), na jejichž podkladu se určují sekvenační typy (ST), popřípadě i klonální komplexy (cc). Díky sekvenačním datům lze charakterizovat izoláty z pohledu příbuznosti či virulence, některé častěji způsobují invazivní onemocnění a jiné jsou nalézány spíše u nosičů. K hodnocení MLST dat byly použity programy DNASTAR Lasergene 12 Core Suite. Dendrogramy jsou vytvořeny na podkladě MLST dat z databáze PubMLST [4] pomocí programů SplitsTree 4 (version 4.14.5) a Inscape 0.92.

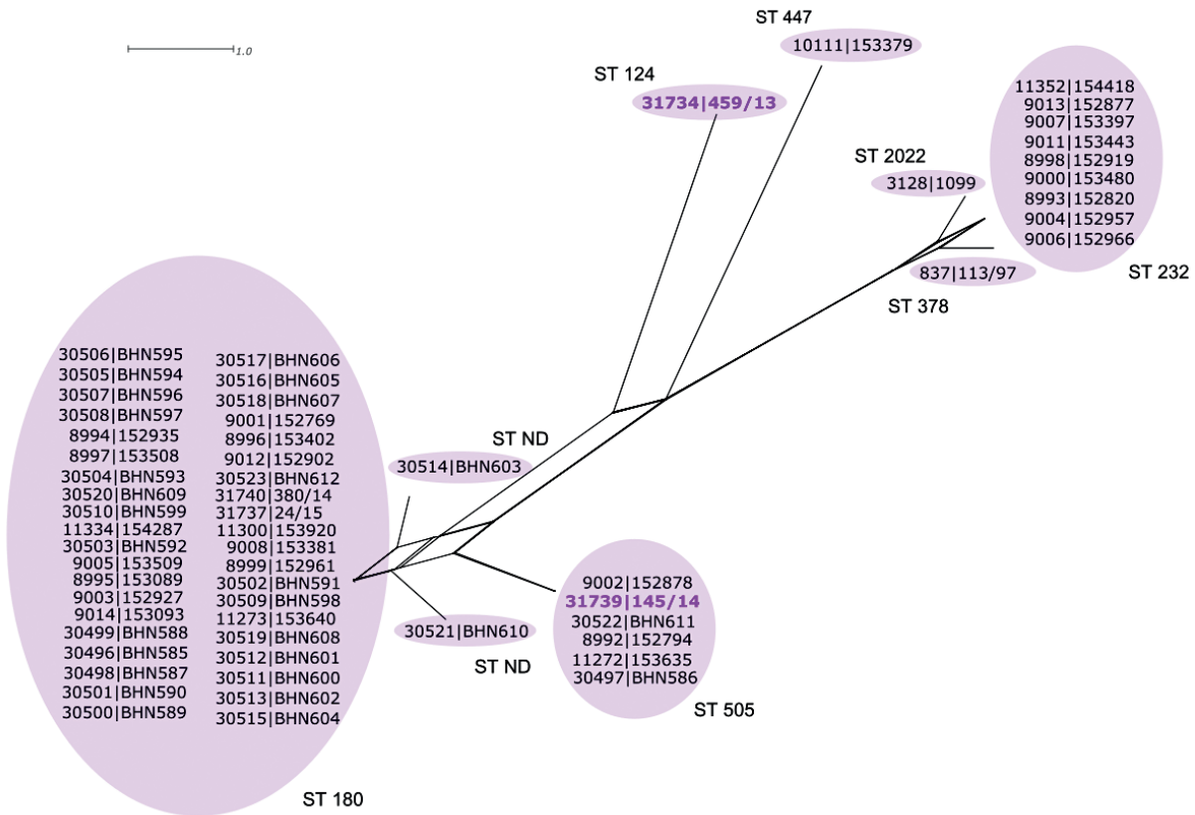
Mezinárodní definice selhání vakcinace proti pneumokokovým infekcím

Selhání vakcinace proti pneumokokovým infekcím bylo v této studii v souladu s mezinárodní definicí [14]. Jako selhání vakcinace se označuje IPO způsobené sérotypem *S. pneumoniae* obsaženým v pneumokokové konjugované vakcíně (PCV) u dítěte, které splňuje jedno z následujících kritérií:

- dítě ve věku < 12 měsíců při začátku IPO a začalo být nemocné nejméně 14 dnů po 2. dávce PCV;
- dítě ve věku ≥ 12 měsíců při začátku IPO po jedné dávce PCV (bez ohledu na počet předchozích dávek).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Každoročně zaznamenáváme v ČR invazivní pneumokoková onemocnění napříč věkovými skupinami včetně nejmladších dětí. Celkově bylo roku 2012 v ČR zařazeno



Barevně odlišeny izoláty *Streptococcus pneumoniae* zachycené při selhání vakcinace u dětí pod pět let věku, CR, 2012–2014 (n = 2). PubMLST databáze k 9. 11. 2017, (n = 61)
Highlighted are *Streptococcus pneumoniae* isolates recovered from cases of vaccine failure in children under five years of age, Czech Republic, 2012–2014 (n = 2).
PubMLST database by 9 November 2017, (n = 61)

Obr. 1. Dendrogram *Streptococcus pneumoniae* sérotypu 3 na podkladě MLST charakteristik, ČR, 1995–2014
Figure 1. Dendrogram of *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 based on MLST characteristics, Czech Republic, 1995–2014

proLékaře.cz | 29.11.2026

do surveillance databáze 335 případů IPO, z nich 15 ve věkové skupině dětí pod pět let věku. Roku 2013 to bylo 28 onemocnění pod pět let věku z celkového množství 424 IPO. V roce 2014 bylo těchto případů u dětí pod pět let věku 25 z 337 IPO.

V letech 2012–2014 bylo v ČR zjištěno osm případů selhání pneumokokové vakcinace u dětí pod pět let věku. Molekulární analýze bylo proto podrobeno všech identifikovaných osm kmenů *S. pneumoniae* z let 2012 (n = 1), 2013 (n = 4) a 2014 (n = 3). Vzhledem k více očkovacím látkám o různém sérotypovém složení na trhu je třeba u případů IPO vždy provádět identifikaci *S. pneumoniae*, minimálně na úroveň sérotypů, k rozlišení mezi selháním vakcinace či nepokrytí vakcínou. Všech osm případů splnilo mezinárodní kritéria selhání vakcinace proti pneumokokovým infekcím.

Z výsledků sérotypových analýz vyplývá, že izoláty *S. pneumoniae* náležely do tří sérotypů: 1 (n = 4), 14 (n = 2) a 3 (n=2) – tabulka 1. Sérotyp 3 je dlouhodobě nejpočetnější sérotyp způsobující IPO v ČR a sérotypy 14 i 1 jsou také každoročně nalézány v četných případech [5, 6]. Tyto sérotypy jsou taktéž zaznamenávány v ČR u zdravých nosičů [7]. Celosvětově se sérotypová distribuce *S. pneumoniae* mírně liší, nicméně všechny identifikované sérotypy cirkulují ve velkém množství. Což podporují nálezy u IPO i zdravých nosičů [8] či například dánský záchyt sérotypů 1 a 3 u ještě nevakcinovaných kojenců [9].

Podle multilokusové sekvenační typizace byly všechny čtyři izoláty sérotypu 1 charakterizovány jako ST306, který představuje dominantní sekvenační typ tohoto sérotypu v ČR i celosvětově [7, 9, 10, 11, 12]. Taktéž oba izoláty sérotypu 14 náležely do stejného ST124, který je velice častým u *S. pneumoniae* sérotypu 14 jak v ČR, tak v jiných lokalitách, jako například v Anglii [7, 13]. Nicméně sérotyp 14 je různorodý a distribuce ST se liší, například ve Španělsku je spojen častěji s ST156 [11, 12]. Variabilita byla pozorována u sérotypu 3, jeden izolát náležel do ST505 a jeden izolát do ST124. ST505 je u sérotypu 3 běžně nalézán, i když častější jsou ST180, ST260 či ST232 [7, 11, 13]. Nejzajímavější je izolát sérotypu 3 ST124, jelikož nebylo toto spojení sérotypu a sekvenačního typu doposud prokázáno. Celosvětově jde o první případ hlášený do PubMLST databáze. Výskyt a příbuznost sekvenačních typů hlášených v ČR u *S. pneumoniae* sérotypu 3 do mezinárodní databáze PubMLST ilustruje dendrogram – obrázek 1. Vidíme zde relativně velkou heterogenitu izolátů s převahou ST232, ST505 a maximem výskytu ST180. Barevně jsou vyznačeny naše dva izoláty zachycené při selhání vakcinace u dětí do pěti let věku.

ZÁVĚR

V letech 2012–2014 bylo v České republice identifikováno osm kmenů *S. pneumoniae* zachycených při selhání vakcinace u dětí pod pět let věku. Všechny případy splnily mezinárodní kritéria selhání vakcinace proti pneumokokovým infekcím. Jen kvalitní laboratorní diagnostika *S. pneumoniae*, minimálně na úroveň sérotypů a surveillance invazivních pneumokokových onemocnění, umožní odlišit selhání vakcinace od nepokrytí sérotypu vakcínou. Izoláty byly podrobeny molekulárním analýzám. Jednalo se o *S. pneumoniae* sérotypu 1 (n = 4) ST306, 14 (n = 2) ST124 a 3 (n = 2) ST505, ST124. ST306 je typický sekvenační typ sérotypu 1. ST124 je v ČR často spojen se sérotypem 14, i když v jiných geografických lokalitách jsou častěji nalézány i jiné ST. Sérotyp 3 je velice heterogenní, což se projevuje i v nalézaných ST. Identifikovali jsme u něho ST505 a ST124. ST124 je celosvětově první nález u *S. pneumoniae* sérotypu 3. Jedná se o výsledky pilotního projektu v České republice na téma molekulární charakterizace kmenů *S. pneumoniae* zachycených při selhání vakcinace. Získaná data vedou ke zkvalitnění surveillance IPO v České republice.

LITERATURA

1. Vacková Z, Lžičařová D, Stock NK, Kozáková J. Real-time PCR detection of Neisseria meningitidis, Haemophilus influenzae, and *Streptococcus pneumoniae* DNA in clinical specimens. Epidemiol Mikrobiol Imunol, 2015;64(4):222–230.
2. Vacková Z, Klímová M, Kozáková J. Nová metoda a schéma typizace *Streptococcus pneumoniae*. Epidemiol Mikrobiol Imunol, 2013;62(2):10–18.
3. Mark C. Enright and Brian G. Spratt. A multilocus sequence typing scheme for *Streptococcus pneumoniae*: identification of clones associated with serious invasive disease. Microbiology, 1998;144: 3049–3060.
4. https://pubmlst.org/spneumoniae/
5. Kozáková J, Vacková Z, Šebestová H, Křížová P. Invazivní pneumokokové onemocnění v České republice v roce 2016. Zprávy CEM (SZÚ, Praha), 2017;26(1):21–28.
6. Žemličková H, Urbášková P, Jakubů V, Motlová J, Musílek M, Procházka B. Clonal Distribution of Invasive Pneumococci, Czech Republic, 1996–2003. Emerging Infectious Diseases, 2010;16(2):287–289. doi:10.3201/eid1602.080535.
7. Žemličková H, Jakubů V, Urbášková P, Motlová J, Musílek M, Adámková V. Serotype-specific invasive disease potential of *Streptococcus pneumoniae* in Czech children. Journal of Medical Microbiology, 2010;59:1079–1083. doi: 10.1017/S09502688-06006157.
8. Zhou H, Guo J, Qin T, Ren H, Xu Y, Wang C, Xu X. Serotype and MLST-based inference of population structure of clinical *Streptococcus pneumoniae* from invasive and noninvasive pneumococcal disease. Infection Genetics and Evolution, 2017;55:104–111. doi: 10.1016/j.meegid.2017.08.034.
9. Slotved HC, Dalby T, Hoffmann S. Multilocus sequence types of invasive pneumococcal isolates from Danish infants (0–90 days) 2003–2013. BMC Res Notes, 2015;8:563. doi: 10.1186/s13104-015-1540-y.
10. Guldemir D, Acar S, Otgun SN, Unaldi O, Gozalan A, Ertek M, Durmaz R. Invasive Pneumococcal Diseases Study Group. High-Level Genetic Diversity among Invasive *Streptococcus pneumoniae* Isolates in Turkey. Jpn J Infect Dis, 2016;69(3):207–212. doi: 10.7883/yoken.JJID.2015.062.
11. Muñoz-Almagro C, Ciruela P, Esteva C, Marco F, Navarro M, Bartolome R, Sauca G, Gallés C, Morta M, Ballester F, Raga X, Selva L. Catalan study group of invasive pneumococcal disease. Serotypes and clones causing invasive pneumococcal disease before the use of new conjugate vaccines in Catalonia, Spain. J Infect, 2011;63(2):151–162. doi: 10.1016/j.jinf.2011.06.002.
12. Del Amo E, Esteva C, Hernandez-Bou S, Galles C, Navarro M, Sauca G, Diaz A, Gassiot P, Marti C, Larrosa N, Ciruela P, Jane M, Sá-Leão R, Muñoz-Almagro C. Catalan Study Group of Invasive Pneumococcal Disease. Serotypes and Clonal Diversity of *Streptococcus pneumoniae* Causing Invasive Disease in the Era of PCV13 in Catalonia, Spain. PLoS One, 2016,11(3):e0151125. doi: 10.1371/journal.pone.0151125.

proLékaře.cz | 29.11.2026

13. Jefferies JM, Smith A, Clarke SC, Dowson C, Mitchell TJ. Genetic Analysis of Diverse Disease-Causing Pneumococci Indicates High Levels of Diversity within Serotypes and Capsule Switching. J Clin Microbiol, 2004;42(12):5681–5688. doi: 10.1128/JCM.42.12.5681-5688.2004.
14. Ladhani SN, Slack MP, Andrews NJ, Waight PA, Borrow R, Miller E. Invasive pneumococcal disease after routine pneumococcal conjugate vaccination in children, England and Wales. Emerg Infect Dis, 2013;19(1):61–68. doi: 10.3201/eid1901.120741.

Poděkování
Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 17-29256A a MZ ČR–RVO („Státní zdravotní ústav – SZU, 75010330“). Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.

Do redakce došlo dne 27. 11. 2017.

Adresa pro korespondenci:

Mgr. Zuzana Okonji
Státní zdravotní ústav
Šrobárova 48
100 42 Praha 10
e-mail: zuzana.okonji@szu.cz