

Sledování genů kódujících Pantonův-Valentinův leukocidin u kmenů *Staphylococcus aureus*

Machová I., Petráš P., Blažková E., Kňapová L.

Státní zdravotní ústav, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Národní referenční laboratoř pro stafylokoky, Praha

Souhrn

Cíl práce: U izolátů *S. aureus* z klinického materiálu zjistit přítomnost genů kódujících důležitý faktor virulence, Pantonův-Valentinův leukocidin.

Materiál a metodiky: Kmeny *S. aureus*, zaslané v období 2004–2006 z mikrobiologických laboratoří ČR z klinického materiálu pacientů, především s kožním onemocněním. Kmeny byly diagnostikovány konvenčními metodami fenotypizace i molekulárně-biologickými postupy, především metodou polymerázové řetězové reakce.

Výsledky: V souboru 1336 kmenů *S. aureus* bylo zjištěno 108 kmenů (tj. 8,1 %), které měly v DNA geny kódující Pantonův-Valentinův leukocidin. Pouze 11 z nich byly kmeny MRSA.

Závěr: Kmeny *S. aureus* s produkcí Pantonova-Valentinova leukocidinu hrají podstatnou roli v závažných, především kožních infekcích. V NRL pro stafylokoky SZÚ-CEM jsme schopni zjistit produkci tohoto toxinu v optimálních podmínkách do dvou dnů.

Klíčová slova: *Staphylococcus aureus* – Pantonův-Valentinův leukocidin – CA-MRSA.

Summary

Machová I., Petráš P., Blažková E., Kňapová L.: Monitoring Genes Encoding Panton-Valentine Leukocidin in *Staphylococcus Aureus* Strains

Study objectives: To detect the genes encoding an important virulence factor, Panton-Valentine leukocidin, in *S. aureus* isolates from clinical specimens.

Material and Methods: *S. aureus* strains from clinical specimens, mainly from patients with skin diseases, referred by microbiological laboratories of the Czech Republic. The strains were identified by both conventional phenotyping methods and molecular biological procedures, in particular polymerase chain reaction.

Results: Altogether 108 (8.1 %) of 1336 *S. aureus* strains had the genes encoding Panton-Valentine leukocidin in DNA. Only 11 of these strains were MRSA.

Conclusions: *S. aureus* strains producing Panton-Valentine leukocidin play an important role in serious infections, particularly of the skin. NRL for Staphylococci, National Institute of Public Health, Centre of Epidemiology and Microbiology, is able to detect the production of this toxin, under optimal conditions, within two days.

Key words: *Staphylococcus aureus* – Panton-Valentine leukocidin – CA-MRSA.

Staphylococcus aureus patří k nejúspěšnějším lidským patogenům. Přitom asi třetina lidí jej nosí bez jakýchkoliv příznaků na kůži, či sliznicích. Při poruše přirozené odolnosti se z něj stává velice patogenní bakterie s rozsáhlým spektrem onemocnění od banálních kožních zánětů přes závažné infekce vnitřních orgánů až po smrtelně probíhající sepsy. Kmeny *S. aureus* jsou i příčinou nejobvyklejší alimentární intoxikace – stafylokokové enterotoxikózy [18].

Kmeny *S. aureus* produkují celou řadu extracelulárních enzymů a toxinů, které jsou významnými faktory virulence. Do skupiny enzymů se řadí např. koaguláza, kataláza, termolabilní a termostabilní nukleázy (DNÁza a TNÁza), hyaluronidáza, různé lipázy, proteázy, fibrinolysin a penicilináza.

Do skupiny toxinů patří hemolyziny (cytolyziny): alfa, beta, delta a gama, skupina stafylokokových superantigenů (enterotoxiny, toxin syndromu toxického šoku a exfoliatiny) a leukocidiny. V tomto člán-

ku se zabýváme Pantonovým-Valentinovým leukocidinem (PVL, v literatuře se též používá zkratka Luk-PV – zřejmě jako zkratka z **leukocidin**). Existuje i bovinní leukocidin R a leukocidin produkují i některé kmeny *S. intermedius*. PVL se jmenuje podle pánů P.N. Pantona a F.C.O. Valentina, kteří jej v roce 1932 poprvé popsali [14].

PVL je dvousložkový toxin - podobně jako stafylokokový gama-hemolyzin a bovinní leukocidin. Často se označují jako skupina „gama-hemolysin-like toxins“. PVL se skládá ze složky rychlé (F - fast) a pomalé (S - slow), označených podle relativní rychlosti při jejich chromatografickém dělení. Separované složky samotné (používá se označení LukS-PV a LukF-PV) nemají žádnou biologickou aktivitu, avšak při společném účinku se synergicky doplňují. Obě komponenty jsou polypeptidy s relativní molekulovou hmotností 32 000, resp. 34 000 [2]. (Pro srovnání, stafylokokový alfa-hemolyzin má hmotnost přibližně stejnou tj. 34 000, stejně jako enterotoxiny, toxin TSST-1 je menší: 22 000.)

PVL je cytotoxin, který způsobuje destrukci leukocytů a nekrózu tkání. V anglosaské literatuře má synonymum „pore-forming toxin“: v membráně leukocytů vytváří póry. Silně narušuje jejich permeabilitu, iontovou výměnu a integritu buněčné membrány humánních (i králičích) polymorfonukleárů, monocytů a makrofágů. Leukocyty tak ničí a chrání stafylokokové buňky před fagocytózou.

PVL se uplatňuje při infekcích kůže, jako jsou furunkly, kožní abscesy a nekrotické procesy a dále při pneumoniích [7]. V literatuře se uvádí, že asi 2 % kmenů *S. aureus* produkují tento toxin [2], u kmenů MRSA se uvádí asi 5%. Toto číslo však podstatně stoupá, jedná-li se o kmeny, které byly izolovány v souvislosti s furunkulózou, resp. s nekrotickou hemoragickou pneumonií. V práci francouzských autorů, která popisuje vlastnosti 172 izolátů *S. aureus*, zachycených v souvislosti s těmito infekcemi, byly geny kódující produkci PVL zjištěny u 93% kmenů [7]. Většinou to byla onemocnění získaná komunitně. Naproti tomu kmeny z případů nozokomiálních pneumonií, nebo z infekčních endokarditid, enterokolitid či močových infekcí, PVL neprodukovaly.

Komunitním kmenům oxacilin-rezistentních stafylokoků (CA-MRSA) je v současnosti věnována velká pozornost, právě i vzhledem k produkci PVL. Vyšla řada publikací, popisujících případy onemocnění, vyvolaných kmeny CA-MRSA s produkcí PVL, např. ve Francii [3], v Holandsku [19] (tam zjistili 10% pozitivních kmenů mezi MRSA), v Belgii [1], ale i v Kanadě [13], v USA [12], v Uruguayi [9] a třeba i ve vzdáleném v Japonsku [20].



Cílem práce bylo zjistit u izolátů *S. aureus* z klinického materiálu přítomnost genů kódujících důležitý faktor virulence, Pantonův-Valentinův leukocidin. Toto by měla být jedna ze zásadních informací pro ošetřujícího lékaře ke stanovení přesné diagnózy kožních infekcí, vyvolaných stafylokoky.

Materiál a metody

Kmeny *S. aureus*

Do konce r. 2006 jsme v naší laboratoři vyšetřili 1366 kmenů *S. aureus*, které nám byly zaslány z mikrobiologických laboratoří ze všech krajů naší republiky v letech 2004 - 2006. Především se jednalo o izoláty kožních abscesů, z ranných infekcí a flegmón. Několik kmenů pocházelo i z nekrotických pneumonií. Soubor 263 komunitních kmenů od pacientů s kožními infekcemi nám byl cíleně zaslán k vyšetření na PVL z Oddělení klinické mikrobiologie Lékařských laboratoří v Praze 8. Dalším velkým souborem bylo 276 kmenů *S. aureus* z mikrobiologické laboratoře v Hořovicích. Zbýlých 827 kmenů nám bylo zasláno na vyšetření toxigenity z dalších šedesáti laboratoří z České republiky. Z těch bylo i 83 kmenů *S. aureus*, etiologických agens případů syndromu toxického šoku, které máme v NRL pro stafylokoky evidovány od roku 1983.

Kontrolní kmen *S. aureus* ATCC 49775, který je producentem PVL, a který používáme jako pozitivní kontrolu, jsme dostali od francouzských kolegů [Dr. Michél Bess, Lyon; cit. 7].

Genotypizace kmenů *S. aureus*

Metodika průkazu genů Pantanova - Valentinova leukocidinu u kmenů *S. aureus*

V NRL pro stafylokoky zjišťujeme přítomnost genů *lukS-PV* a *lukF-PV*, které jsou zodpovědné za produkci obou komponent PVL, metodou polymerázové řetězové reakce podle metodiky francouzských autorů [7].

Kmeny *S.aureus* byly kultivovány 18 hodin na krevním agaru. Genomová DNA byla izolována pomocí činidla Chelex (firma BIO-RAD), které váže produkty bakteriální lýzy, jež by mohly interferovat PCR reakci. Do reakce byly použity primery pro detekci genů *lukS-PV* a *lukF-PV*. Oligonukleotidové primery byly navrženy podle publikované sekvence PVL genů, aby zahrnovaly koamplifikaci *lukS-PV* a *lukF-PV* [7].

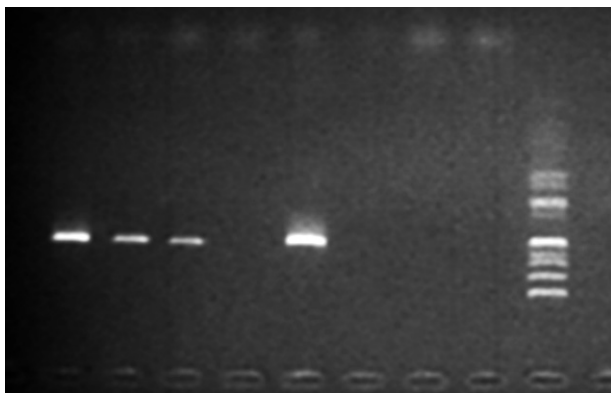
Amplifikace proběhla ve třiceti cyklech: 30 sec denaturace při 94 °C, 30 sec annealing při 55 °C a 1 min extenze při 72 °C.

Po amplifikaci byl výsledný produkt analyzován elektroforézou ve 2% agarózovém gelu s přidavkem etidium bromidu. Elektroforéza probíhala 70 minut při 110 V. Vizualizace byla provedena prosvícením gelu UV lampou (obr.1).

Přítomnost genů pro enterotoxiny, exfoliatiny a TSST-1

Metodou multiplex PCR byly zjišťovány geny kódující produkci enterotoxinů A, B, C, D, E, G, H, I a J, toxinu syndromu toxického šoku (TSST-1) [11, 8] a exfoliativních toxinů A a B [6]. Pro snadnější odečet výsledků probíhá detekce genů ve třech oddělených reakcích.

V první reakci jsou sledovány geny *sea*, *seb-sec*, *sec*, *seh*, *sei* a *16S rRNA*, ve druhé reakci geny *sed*, *see*, *seg*, *sei* a *tst*. V samostatné reakci probíhá detekce genů *eta* a *etb*, kódujících produkci exfoliatinů.



Obr. 1. Detekce produktů polymerázové řetězové reakce při zjišťování genů kódujících produkci PVL u kmenů *S. aureus*, elektroforézou ve 2% agarózovém gelu

Vysvětlivky:

ATCC 49775 - *S. aureus* - pozitivní kontrola na produkci PVL (*lukS-PV+* a *lukF-PV+*)

04/485, 04/488, 92/904 - terénní kmeny s produkcí PVL

ostatní kmeny negativní

433 bp - velikost amplifikovaného produktu

Fig. 1. Detection of polymerase chain reaction products in the study of genes encoding Pantone-Valentine leukocidin in *Staphylococcus aureus* strains by electrophoresis on 2% agarose gel

Figure legend:

ATCC 49775 - *S. aureus* – positive control for PVL production (*lukS-PV+* and *lukF-PV+*)

04/485, 04/488, 92/904 – field strains producing PVL

other strains were PVL negative

433 bp – amplified product size

Přítomnost genu *mecA*

Gen *mecA*, kódující rezistenci k methicillinu, jsme zjišťovali metodou multiplex PCR. Byly použity dvě sady primerů pro geny *mecA* a *16S rRNA* [5].

SCCmec typizace

Podrobná genotypová analýza šesti kmenů MRSA, pozitivních na PVL, byla provedena na Katedře genetiky a molekulární biologie PřF MU v Brně.

Fenotypizace kmenů *S. aureus*

Produkce stafylokokových superantigenů (TSST-1, enterotoxinů A (E), B, C, D a exfoliatinů A a B) byla zjišťována metodou reverzní pasivní latexové aglutinace komerčními kity (Kity TST-RPLA, SET-RPLA, EXT-RPLA, Denka Seiken a Oxoid).

Produkce hemolyzinů alfa, beta a delta byla zjišťována pomocí synergie/antagonismu s beta-hemolyzinem standardního kmene *S. intermedius* (CNCTC 6718) na krevním agaru v mikroaerofilním prostředí. Produkce beta-hemolyzinu byla potvrzena CAMP testem se standardním kmenem *Streptococcus agalactiae* (CNCTC 6590).

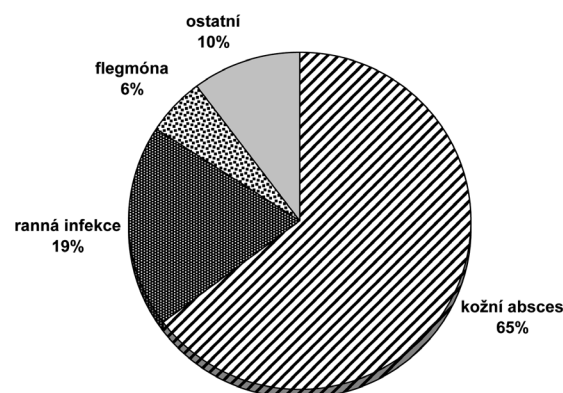
Fagotypizace kmenů *S. aureus* byla prováděna standardní metodou s použitím mezinárodní sady fágů (PHLS Colindale, Londýn) podle metodiky popsané v Manual of Routine Phage Typing of *S. aureus* [10].

Rezistence k oxacilinu a dalším antibiotikům byla vyšetřena diskovou metodou (Oxoid disky, Muller-Hinton) podle doporučených postupů NRL pro antibiotika [16, 17]. Byla použita tato antibiotika: oxacilin (1 µg), cefoxitin (30 µg), erythromycin (15 µg), ko-trimoxazol (25 µg), chloramfenikol (30 µg), tetracyklin (30 µg), klindamycin (2 µg), gentamicin (10 µg), amoxicilin/klavulanová kyselina (20/10 µg), teikoplanin (30 µg), vankomycin (30 µg), ciprofloxacín (5 µg), rifampicin (5 µg).

Konfirmace kmenů MRSA, byla provedena v NRL pro antibiotika SZÚ-CEM zjištěním minimálních inhibičních koncentrací (MIC) mikrodiluční metodou [16].

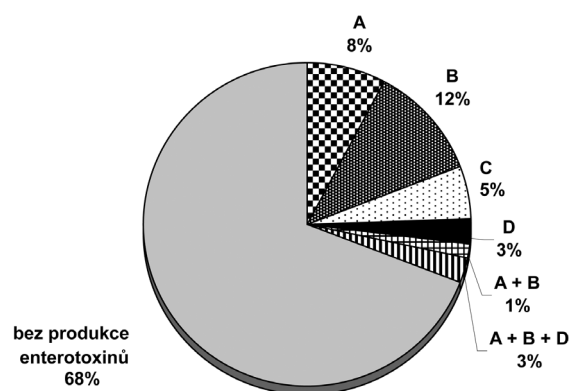
Výsledky

Přítomnost genů *lukS-PV* a *lukF-PV* byla do konce roku 2006 prokázána u 108 kmenů *S. aureus*, tj. 8,1 % z celku 1336 sledovaných kmenů. Z těchto



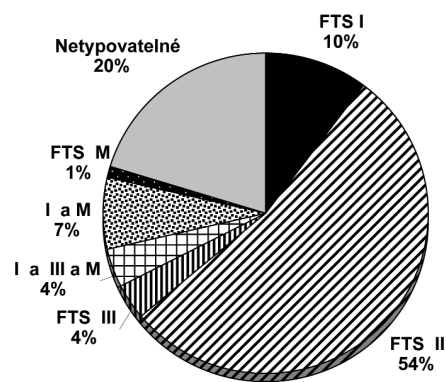
Graf 1. Klinický původ 108 kmenů *S. aureus* pozitivních na PVL

Graph 1. Clinical origin of 108 PVL positive *S. aureus* strains



Graf 2. Produkce enterotoxinů A až D u 108 PVL-pozitivních kmenů *S. aureus*

Graph 2. Production of enterotoxins A to D in 108 PVL positive *S. aureus* strains



Graf 3. Fagotypizace 108 PVL-pozitivních kmenů *S. aureus*
Vysvětlivky: FTS = fagotypovatelná skupina I., II., III., a M [dle lit. 16]

Graph 3. Phage typing of 108 PVL positive *S. aureus* strains

Tab. 1. Charakteristiky 11 PVL-pozitivních kmenů MRSA

Table 1: Characteristics of 11 PVL positive MRSA strains

Č.	č. NRL	Datum izolace	Lokali-ta	Mate-riál	Fagotyp	Geny pro super-anti-geny	mecA gen	Rezistence k antibiotikům (podle MIC **)										
								OXA	ERY	COT	CMP	CLI	GEN	TEI	VAN	CIP	RIF	
1	04/754	XI. 2004	Ústi n.L.	absces	NT	-	+	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
2	04/787	XI. 2004	Opava	rána - hnis	NT	sea	+	R	R	C	C	R	C	C	C	C	C	C
3	05/246	IV. 2005	Kladno	rána - hnis	NT	sed, sej	+	R	R	C	C	R	C	C	C	R	C	C
4	05/670	IX. 2005	Hořovice	rána - hnis	79,80,83A, 84, 85, 95	-	+	R	R	C	C	R	C	C	C	R	C	C
5	05/832	XI. 2005	Praha 8	absces	52A,79,53, 83A,84,85, 95	-	+	R	R	C	C	R	C	C	C	R	C	C
6	05/895	XII. 2005	Praha 8	absces	NT	-	+	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
7	06/477	V. 2006	Hořovice	absces	NT	seg	+	R	R	C	C	C	C	C	C	R	C	C
8	06/622	VIII. 2006	Praha 5	absces	NT	-	+	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
9	06/768	X. 2006	Kladno	absces	42E,47,75	sea, seb, sed	+	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
10	06/791	X. 2006	Praha 8	absces	52,52A,84	-	+	R	R	C	C	C	C	C	C	C	C	C
11	06/1001	XII. 2006	Praha 8	absces	NT	sed	+	R	C	C	R	C	C	C	C	C	C	C

Vysvětlivky: *) geny pro: enterotoxiny A - E, G - J; TSST-1, exfoliatiny A a B

**) rezistence stanovena podle minimálních inhibičních koncentrací (NRL pro ATB SZÚ-CEM)

Table legend: *) genes for: enterotoxins A - E, G - J; TSST-1, exfoliatins A and B

**) resistance was tested by determination of minimum inhibitory concentrations (NRL for Antibiotics, Centre for Epidemiology and Microbiology, National Institute of Public Health)

108 PVL-pozitivních kmenů pocházelo 65 % z kožních abscesů (dg. L02), 19 % izolátů z ranných infekcí, 6 % z flegmón (dg. L03) (graf 1). V souboru 263 cíleně zaslaných izolátů z Lékařských laboratoří v Praze 8, které byly izolovány většinou z kožních abscesů, bylo PVL-pozitivních 60, tj. 22,8 %.

Ze 108 PVL pozitivních kmenů produkovalo 83 % **alfa-hemolyzin** (s delta-hemolyzinem), výjimečné byly 4 kmeny se samotnou produkcí delta-hemolyzinu a 3 kmeny produkující stafylokokový beta-hemolyzin. Asi 10 % kmenů neprodukovalo žádný ze zjišťovaných 3 typů hemolyzinů.

Jeden ze 4 „starých“ typů **enterotoxinů** (tj. A, B, C, D) produkovalo 25 PVL-pozitivních kmenů, a to buď samostatně nebo v kombinacích (graf 2). U poloviny se jednalo o hyperproducenty. Genotypizací byla potvrzena přítomnost příslušných genů (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*), navíc byly zjištěny geny kódující další typy enterotoxinů (G, H, I a J), nejčastěji v kombinaci *seg* + *sei* (20 kmenů).

Tři kmeny ze souboru PVL-pozitivních byly hyperproducenty **TSST-1**, jeden kmen produkoval (kromě PVL) **exfoliatin typu A**.

Většina PVL-pozitivních kmenů byla **fagotypovatelná** (86 kmenů, tj. 80 %) a patřily převážně do II. fagotypové skupiny (58 kmenů, tj. 54 % - viz graf 3). Netyповatelných zůstalo 20 %.

ATB rezistence. Necelá polovina z PVL-pozitivních kmenů byla rezistentní k erytromycinu (46 %), 29 % kmenů k amoxicilinu s klavulanovou kyselinou a 16 % kmenů bylo rezistentních ke klindamycinu. U ostatních sledovaných antibiotik byla nalezena rezistence pod 10 % četnosti. V celém souboru 108 PVL-pozitivních kmenů bylo 11 kmenů **MRSA**, u všech byla potvrzena přítomnost genu *mecA*. U těchto kmenů byly v NRL pro antibiotika SZÚ-CEM zjištěny minimální inhibiční koncentrace. Charakteristiky PVL-pozitivních kmenů MRSA jsou prezentovány v tabulce 1.

SCCmec typizace. Dosud bylo prvních šest našich PVL-pozitivních kmenů MRSA podrobeno na PřF MU v Brně k další genotypizaci. Bylo zjištěno, že izoláty lze zařadit do IV typu SCCmec typizace (podle stafylokokového kazetového chromozomu kazety meticylinové rezistence SCCmec) [15].

Diskuse

Ve světové literatuře jsou PVL-pozitivní kmeny popisovány především mezi CA-MRSA. V našem souboru 108 PVL producentů bylo CA-MRSA nalezeno 11. Šest z nich, které byly dosud zkoumány na PřF MU v Brně podrobnou genotypovou analýzou, se zařadilo do SCCmec typu IV, který je po celém světě mezi PVL CA-MRSA běžný [12, 15].

Kmeny ke sledování PVL-pozitivity byly vybrány s ohledem na souvislost s klinickými příznaky u pacienta, z jehož materiálu byly izolovány. Očekávali jsme tedy vyšší podíl kmenů s geny pro PVL. Podle našich výsledků se nám jeví, že schopnost produkovat Pantonův-Valentinův toxin není vzácná i u kmenů k oxacilinu citlivých, viz 22 % pozitivních izolátů v souboru z Lékařských laboratorí v Praze 8. Roli bude možná hrát fakt, že

v řadě západních států je celkově vyšší podíl kmenů MRSA (např. v roce 2005 bylo ve Spojeném království hlášeno do systému EARSS 44 % kmenů MRSA, oproti 13 % českých invazivních izolátů MRSA [4]. Zvláště kmeny CA-MRSA jsou středem pozornosti, právě i z hlediska jejich toxigenity.

Produkce superantigenů (enterotoxinů A – D, TSST-1 a exfoliatinů A a B) byla nižší než u běžného souboru kmenů (např. 24 % pozitivních na enterotoxiny oproti 55 % pozitivních, které dlouhodobě nacházíme u všech kmenů *S. aureus*). Jedná se ale o malé počty a nelze z toho nic závažnějšího zřejmě usuzovat.

Zajímavým se nám ale zdá častá fagotypovatelnost PVL-pozitivních kmenů fágy II. fagotypové skupiny, tzn. 3A, 3C, 55 a 71. Podle našich dlouhodobých zkušeností patří do II. fagotypové skupiny asi 13 % kmenů ze všech, které testujeme. V souboru PVL-pozitivních byla tato četnost 54 %. Zřejmě to souvisí s tím, že geny kódující produkci PVL jsou umístěny na profágu a studované kmeny mohou nést podobné typy profágů.

Závěr

Kmeny *S. aureus* s produkcí Pantonova-Valentinova leukocidinu hrají podstatnou roli v dlouhodobých, obtížně se hojících kožních zánětech a v dalších těžkých onemocněních, např. nekrotizujících pneumoniích. Schopnost kmene *S. aureus* produkovat PVL je zásadní informací pro ošetřujícího lékaře. V případě zájmu o vyšetření kmenů *Staphylococcus aureus* na přítomnost genů kódujících produkci Pantonova-Valentinova leukocidinu pošlete tyto kmeny do naší laboratoře, kde jsme za optimálních okolností schopni do dvou dnů tuto vlastnost zjistit.

Poděkování

Poděkování patří bakteriologům z mikrobiologických laboratorí v celé České republice, především dr. Háskové z Hořovic a dr. Ouertani z Lékařských laboratorí v Praze 8 za zaslání kmenů S. aureus, jakož i dr. Michél Bes z Lyonu za předání kmene referenčního.

Dr. Urbáškové a jejímu kolektivu v NRL pro antibiotika SZÚ-CEM děkujeme za zjištění MIC u MRSA kmenů a dr. Pantůčkovi a jeho kolegům z Katedry genetiky a molekulární biologie PřF MU v Brně za podrobnou genotypizaci PVL-pozitivních kmenů MRSA.

Literatura

1. Denis, O., Malaviolle X., Titeca G. et al. Emergency of Panton-Valentine leukocidin positive community-acquired MRSA infections in Belgium. *Eurosurveillance Weekly* 2004, 8(24), 10/06/2004. web: <http://www.eurosurveillance.org/ew/2004/040610.asp>
2. Dinges, M. M., Orwin, P. M., Schlievert, P. M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Reviews* 2000, 13(1), 16–34.
3. Duffor, P., Gillet, Z., Bes, M. et al. Community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in France: emergence of single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. *Clin Infect Dis* 2002, 35, 819–824.
4. EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System); web: http://www.rivm.nl/earss/result/Monitoring_reports/Annual_reports.jsp.
5. Geha, D., Uhl, J., Gustafarro, C., Persing, D. Multiplex PCR for identification of methicillin-resistant Staphylococci in the clinical laboratory. *Journal of Clinical Microbiology* 1994, 32(7), 1768–1772.
6. Johnson, W., Tyler, S., Ewan, E. Detection of genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology* 1990, 29(3), 426–430.
7. Lina, G., Piemont, Y., Godail-Gamot, F. et al. Involvement of Panton-Valentine Leukocidin-Producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Inf Diseases* 1999, 29, 1128–1132.
8. Lovseth, A., Loncarevic, S., Berdal, K.G. Modified multiplex PCR method for detection of pyrogenic exotoxin genes in staphylococcal isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 2004, 42(8), 3689–3872.
9. Ma, X. X., Galiana, A., Pedreira, W. et al. Community-acquired Methicillin-resistant *S. aureus*, Uruguay. *Emerg Inf Dis* 2005, 11 (6), 973–976.
10. Manual of Routine Phage Typing of *Staphylococcus aureus* [1989]. *Staphylococcus Reference Unit, Central Public Health Laboratory, London – Colindale, UK*
11. Monday, S., Bohach, G. A. Use of multiplex PCR to detect classical and newly described pyrogenic toxin genes in staphylococcal isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 1999, 37(10), 3411–3414.
12. Moran, G. J., Krishnadasan, A., Gorwity, R. J. et al. Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. *N Engl J Med* 2006, 355(7), 666–674.
13. Mulvez, M. R., Dougal, L. M., Cholin, B. et al. Community-associated Methicillin-resistant *S. aureus*, Canada. *Emerg Inf Dis* 2005, 11(6), 844–850.
14. Panton, P. N., Valentine, F. C. O. Staphylococcal toxin. *Lancet* 1932, 222, 506–508.
15. Petras, P., Machova, I., Pantucek, R., Marejkova, M., Ruzickova, V., Doskar, J. Panton-Valentine leukocidin positive *Staphylococcus aureus* strains isolated in the Czech Republic in 2004–2006. Abstract book: 12nd ISSSI, Maastricht, The Netherlands, 3.–5. 9. 2006, p. 225, poster 199.
16. Urbášková, P. Rezistence bakterií k antibiotikům. Vybrané metody. Praha; Trios 1998.
17. Urbášková, P., Macková, B., Melter, O. Disk s cefoxitinem – spolehlivá metoda pro vyhledávání kmenů stafylokoků rezistentních k oxacilinu. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2004, 13(7), 296–297.
18. Votava, M. Rod *Staphylococcus* in: *Lékařská mikrobiologie speciální* (Votava, M. a kol. eds.) Brno, Neptun 2003, s. 99–106.
19. Wannet, W. Virulent MRSA strains containing the Panton Valentine leukocidin gene in the Netherlands. *Eurosurveillance Weekly* 2003, 7(10), 06/03/2003, web: <http://www.eurosurveillance.org/ew/2003/030306.asp>
20. Yamamoto, T. Panton-Valentine leukocidin positive community-acquired MRSA infection in Japan. *Eurosurveillance Weekly* 2004, 8(27), 01/07/2004, web: <http://www.eurosurveillance.org/ew/2004/040701.asp>

Do redakce došlo 17. 1. 2007

Ing. Ivana Machová
NRL pro stafylokokoky SZÚ–CEM
Šrobárova 48
100 42 Praha 10
e-mail: machova@szu.cz

TESTY

TEST Z EPIDEMIOLOGIE

1. Mezi sérotypy *Listeria monocytogenes* převažoval v ČR v r. 2006 sérotyp
 - a) 1/2b
 - b) C
 - c) G1P[8]
2. Počet podchycených onemocnění nvCJD ve světě je zhruba
 - a) 20
 - b) 200
 - c) 2000
3. Shigelóza je do ČR nejčastěji importována z
 - a) Egypta
 - b) Turecka
 - c) Indie
4. Nemoc modrého jazyka (bluetongue disease)
 - a) postihuje hlavně kozy
 - b) je přenosná na člověka
 - c) se vyskytuje v Evropě
5. Genotypy viru příušnic v ČR
 - a) se nesledují
 - b) se dlouhodobě nemění
 - c) jsou zastoupeny genotypem 3

Správné odpovědi: 1a, 2b, 3a, 4c, 5a