

# Invazivní meningokokové onemocnění - možnosti přesné rychlé diagnostiky a prevence očkováním

Pavla Křížová

NRL pro meningokokové nákazy  
Centrum epidemiologie a mikrobiologie  
Státní zdravotní ústav  
Praha

<http://www.szu.cz/narodni-referencni-laborator-pro-meningokokove-nakazy>



37. regionální dny klinické biochemie, Karlova Studánka, 2018

# meningitida

- **Bakteriální meningitida**

- Meningokok
- Pneumokok
- Hemofilus b, non-b
- Streptokok B
- Listerie
- E. coli

- **Virová meningitida**

- **Invazivní meningokokové onemocnění (IMO)**

- meningitida
- sepse
- Waterhouse-Friderichsen sy
- lokalizované
  - endokarditida
  - periarditida
  - artritida

**Evropská definice IMO:**

**laboratorní průkaz meningokoka v materiálu normálně sterilním**

## více než 200 let historie

**1805:** první hlášený hromadný výskyt v Ženevě

**1840:** první hlášené epidemie v Africe

**1887:** Weichselbaum identifikoval *diplococcus intracellularis meningitidis*

**Cartwright, 1995:**  
**Invasive meningococcal disease**  
**is one of the most aggressive of the infectious diseases**  
**of humans caused by bacteria.**

## Zdravý nosič *N. meningitidis*

- 10% ve zdravé populaci
- tvorba přirozené imunity
- promořování - kolektivní imunita

Nosičství je normální vztah  
hostitele a meningokoka

## Invazivní meningokokové onemocnění

- meningokoková meningitida
- Waterhouse-Friderichsenův syndrom
- meningokokcémie/sepse
- lokalisované meningokokové onemocnění

?

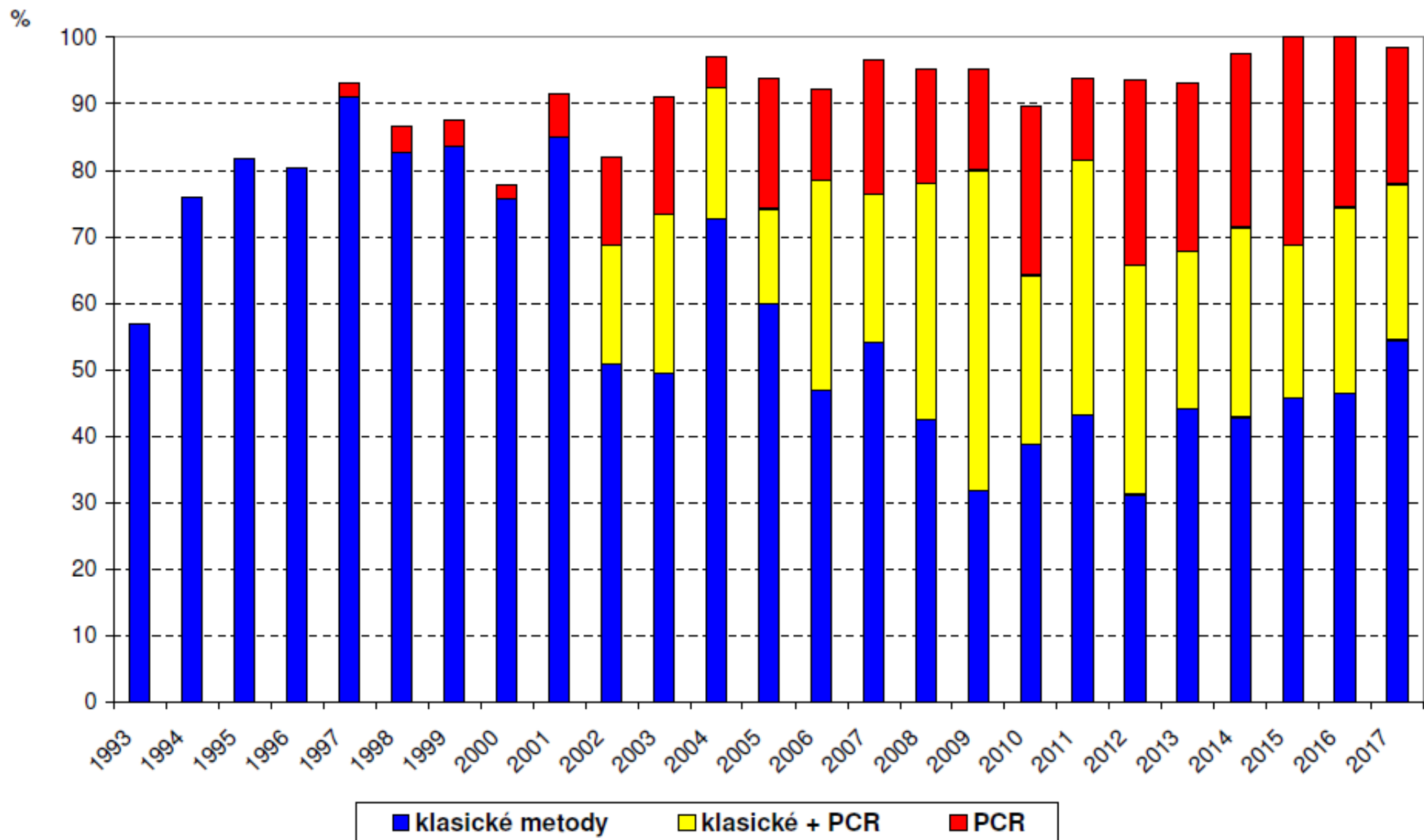
uzdravení  
následky  
komplikace  
úmrtí

- endokarditida
- perikarditida
- pneumonie
- apendicitida

# Laboratorní diagnostika invazivního meningokokového onemocnění

- mikroskopické metody
- biochemické metody
- **kultivační metody**
- **bez kultivační metody**
- serologické metody
- **likvor**
- **krev / sérum**
- **výtěr nasopharyngu**
- **jiný materiál**

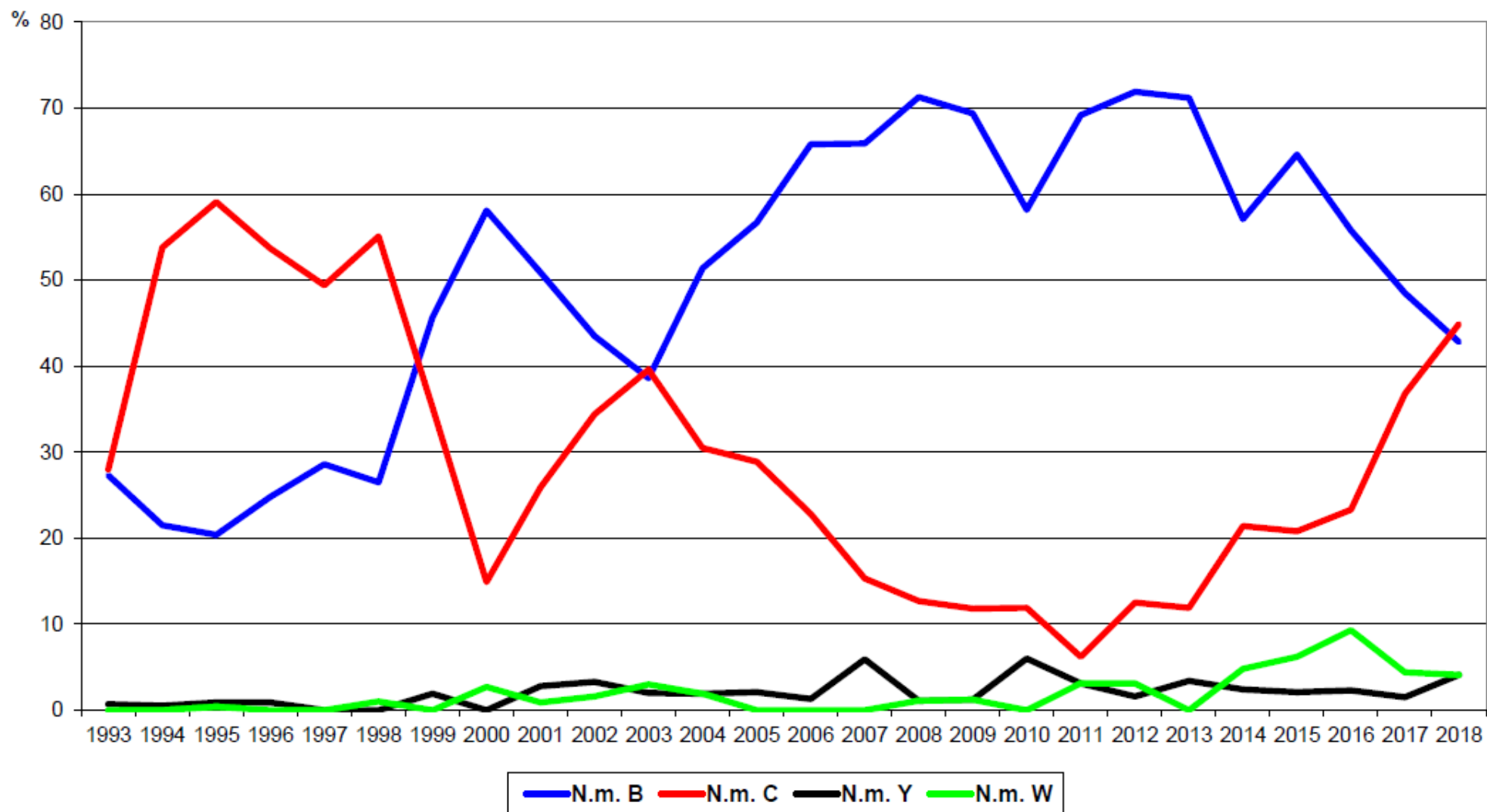
# Laboratorně potvrzené invazivní meningokokové onemocnění Česká republika, 1993 - 2017



# Charakterizace *N. meningitidis*

- Séroskupiny – kapsulární antigeny – polysacharidy :  
**A, B, C, X, Y, Z, W, 29E**
- Sérotypy/subtypy – nekapsulární antigeny – proteiny,  
lipooligosacharidy
- Sekvenční typy (ST), klonální komplexy (cc)
- Sekvenace genomu – WGS, NGS
- MenB antigeny
- Citlivost na ATB a chemoterapeutika

# IMO - séroskupiny - ČR, 1993 - 2018 (28.11.)





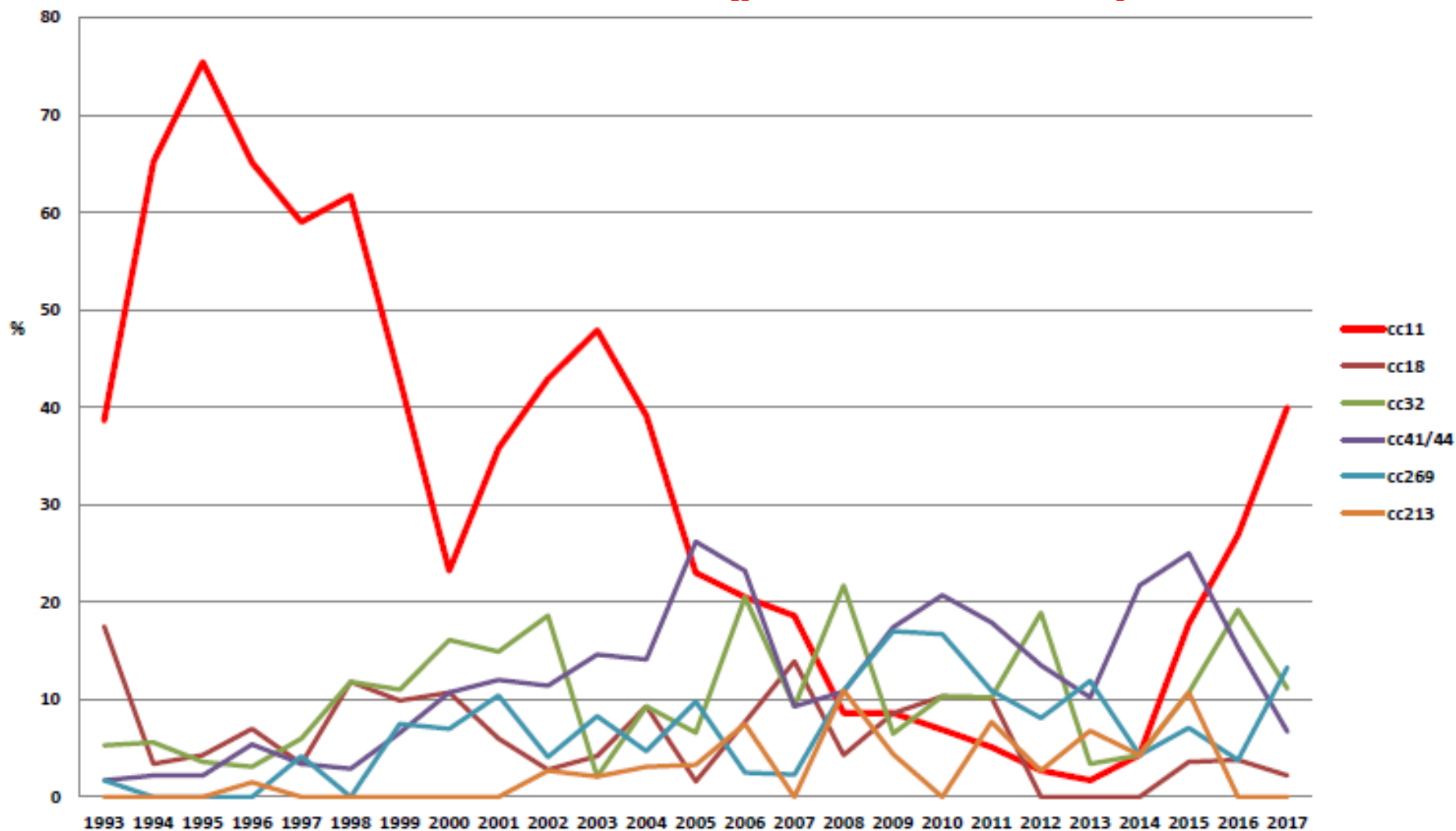
# **Molekulární metody v diagnostice a epidemiologii invazivních meningokokových onemocnění**

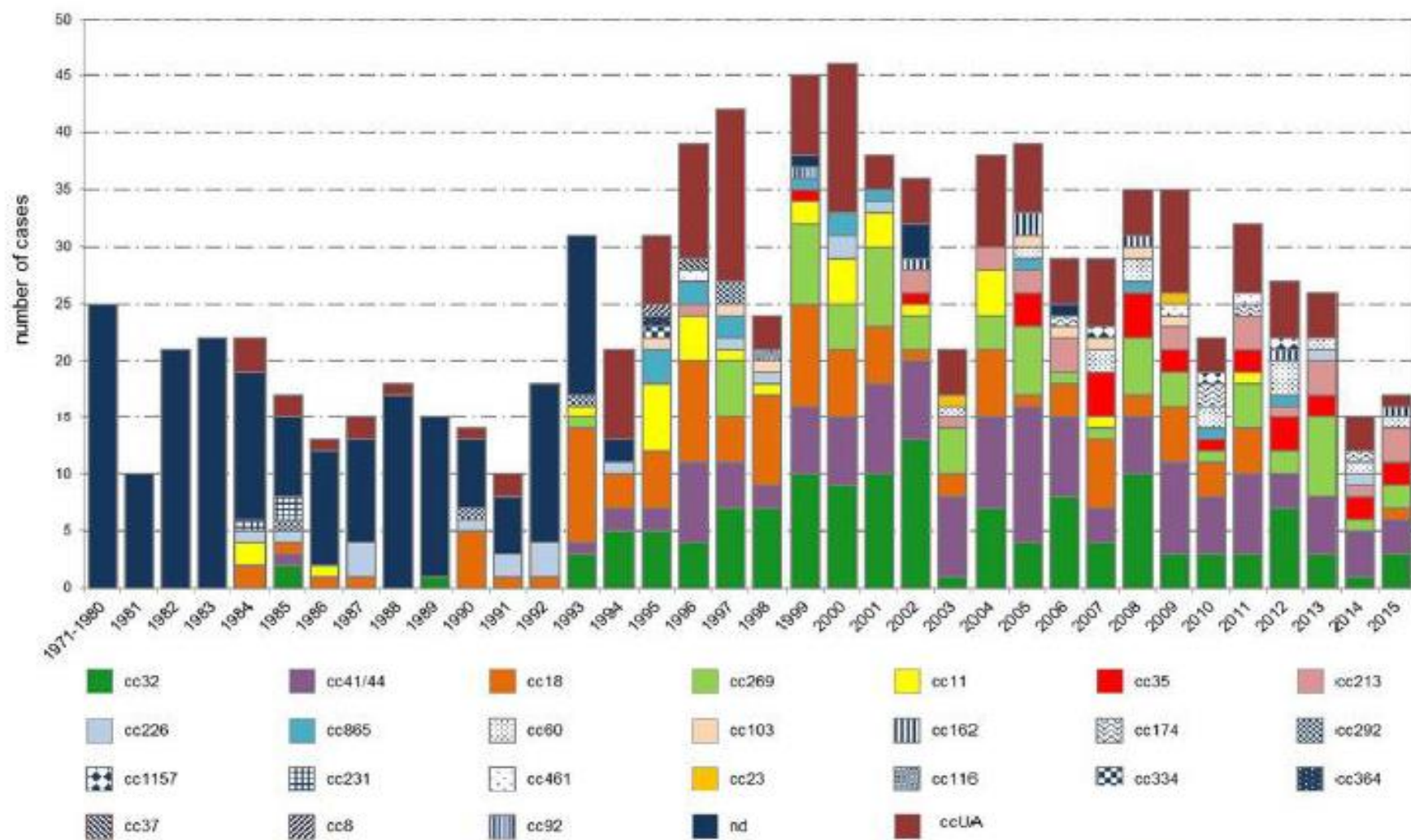
- **diagnostika onemocnění - PCR**
- **molekulární charakterizace agens**
  - epidemiologické markery
  - klonální analýza
  - ATB citlivost
  - faktory virulence
- **vývoj vakcín – reverzní vakcinologie – MenB vakcíny**

# Molekulární charakterizace *N. meningitidis*

- **PFGE** (elektroforéza v pulsním poli)    **lokální epidemiologie**
- **MLEE** (multilokusová elektroforéza)
- **RAPD** (elektroforéza náhodně vybraných lokusů)
- **RFLP** (elektroforéza náhodně vybraných lokusů)
- ***PilA* & *PilD* polymorfismus** (heterogenita genů)
- ***PorB*** (sérotyp)
- ***PorA*** (subtyp)
- ***FetA*** (gen virulence)
- ***PenA*** (gen citlivosti na PNC)    **globální epidemiologie**
- **MLST** (multilokusová sekvenční typizace)
- **WGS** (sekvenace celého genomu)
- **NGS** (sekvenace příští generace)

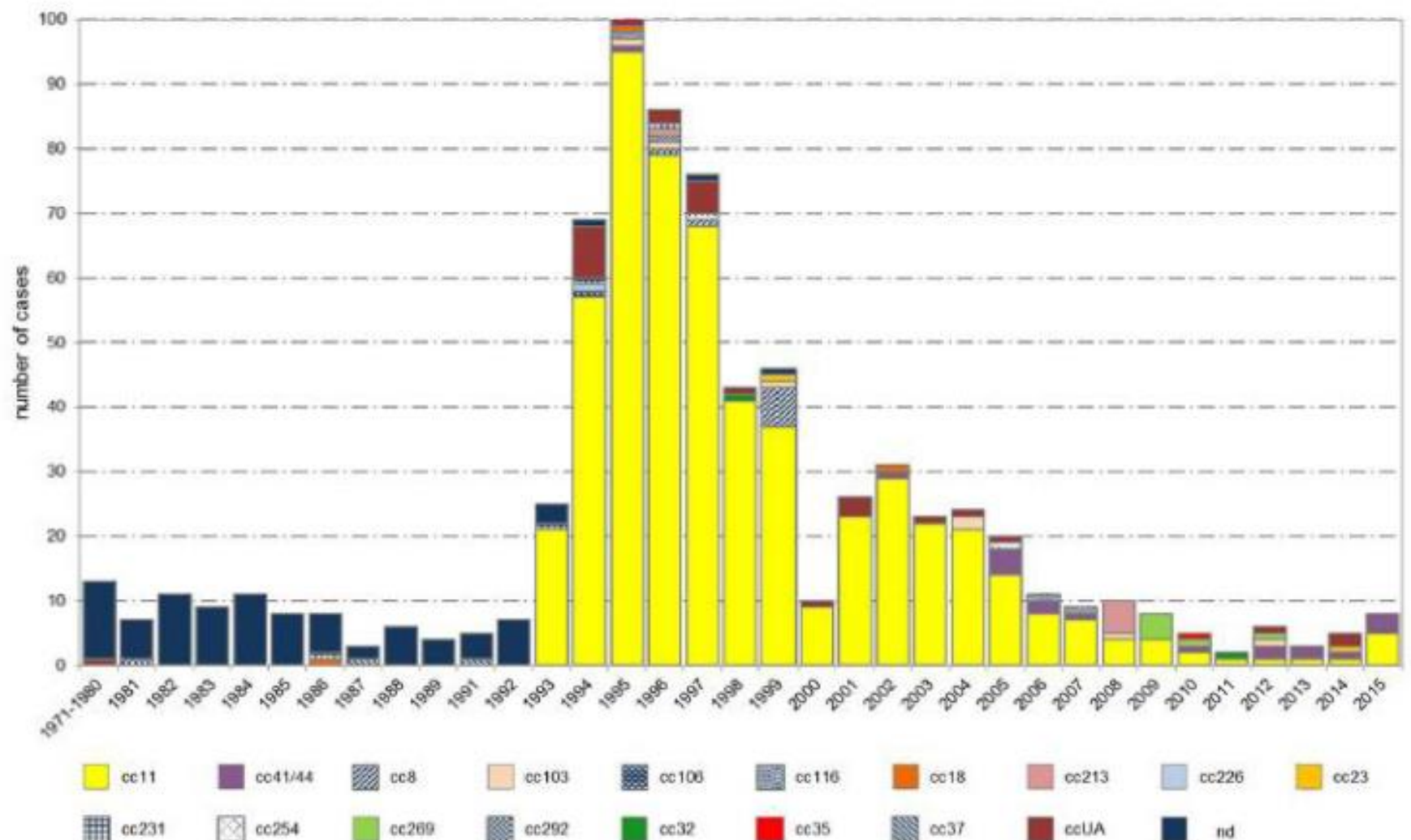
# Hlavní hypervirulentní klonální komplexy působící IMO v ČR 1993-2018 (předběžná data)





**Fig 5. Annual distribution of major clonal complexes of *N. meningitidis* B from invasive meningococcal disease, Czech Republic, 1971–2015, n = 938 (cc = clonal complex, ccUA = unassigned clonal complex, nd = not defined).**

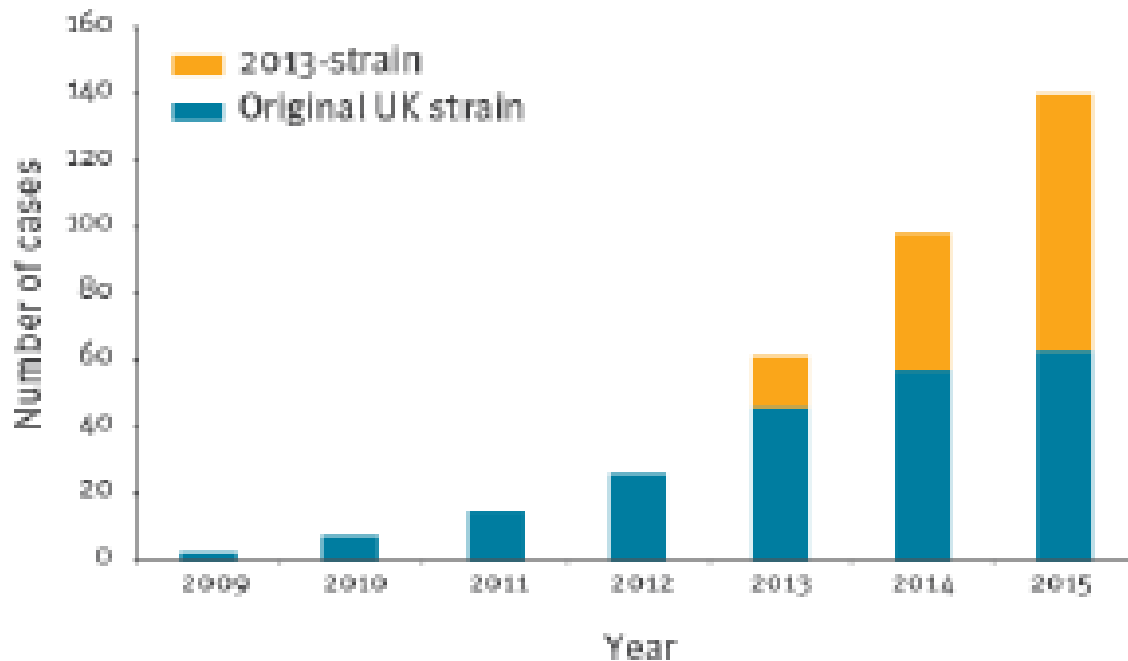
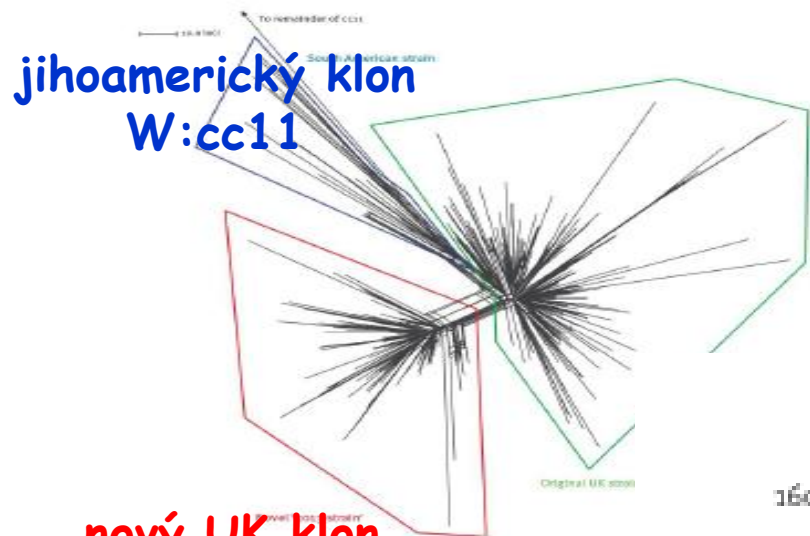




**Fig 6. Annual distribution of major clonal complexes of *N. meningitidis* C from invasive meningococcal disease, Czech Republic, 1971–2015, n = 741 (cc = clonal complex, ccUA = unassigned clonal complex, nd = not defined).**

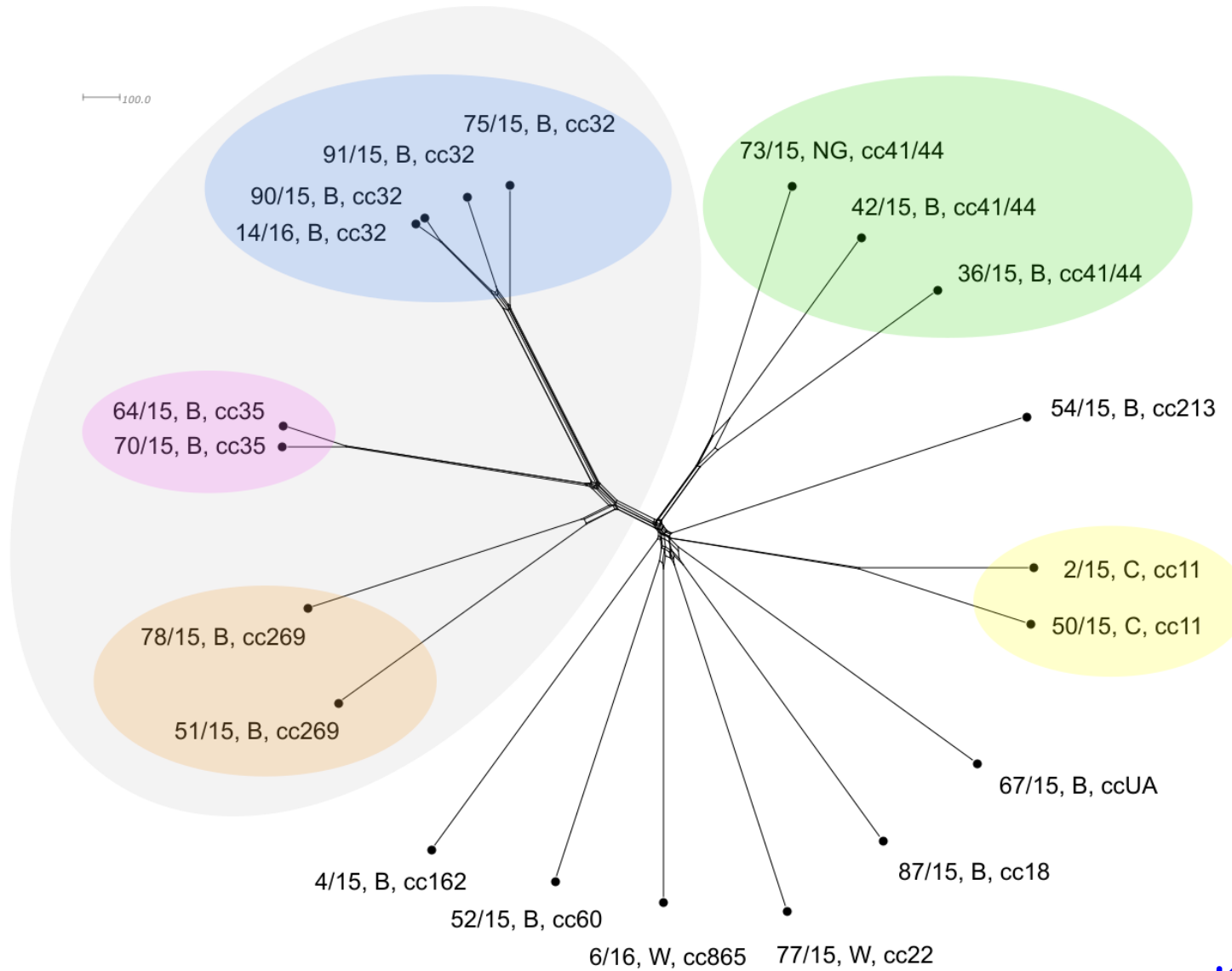
původní W:cc11

# Nové klony komplexu W:cc11 - WGS analýzy



Lucidarme J. et al., 2016

# IMO 2015 - klonální komplexy



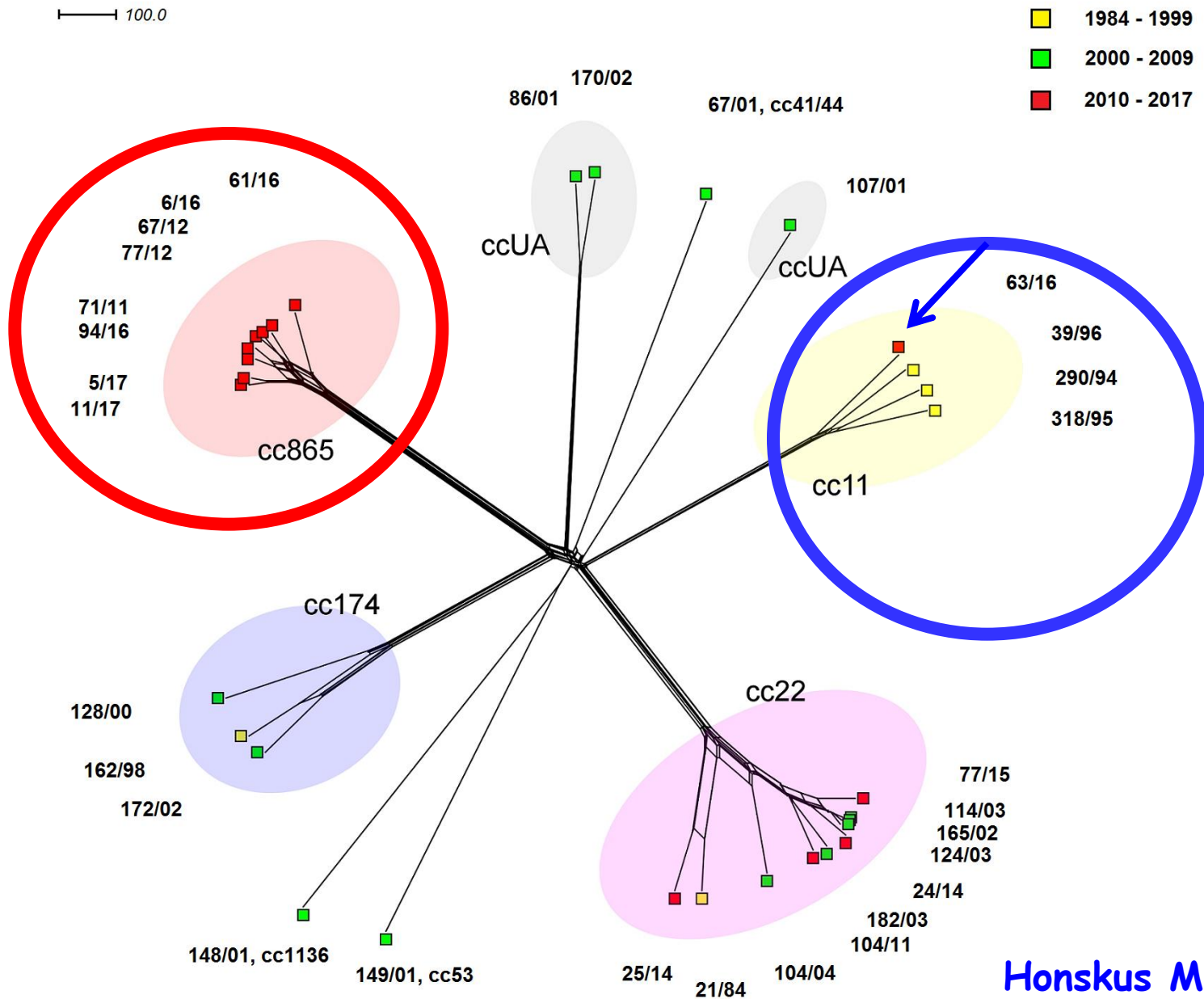
Křížová P. a kol., 2018

## IMO 2015 - antigeny Men B vakcín

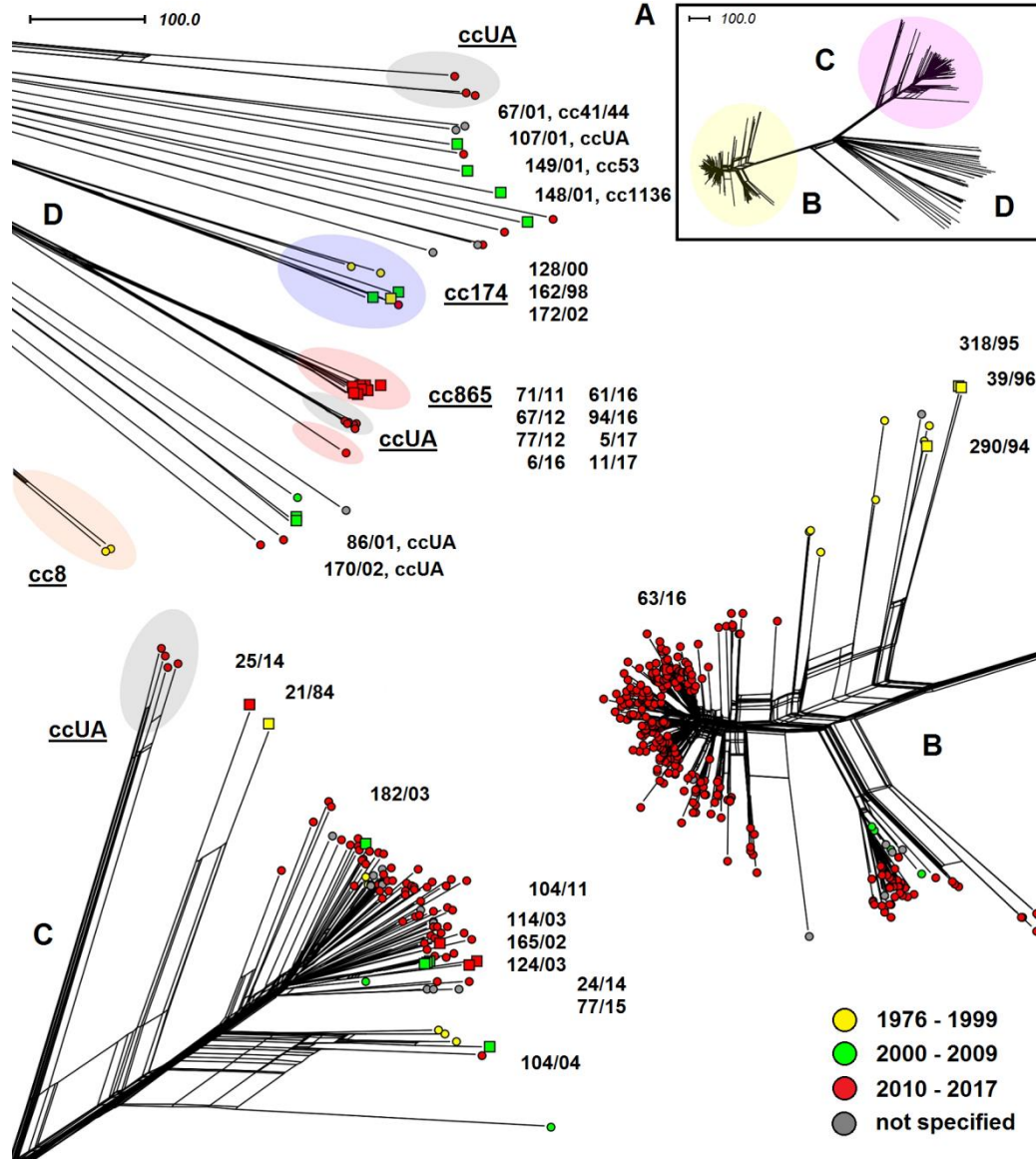
Číslo izolátu, séroskopina, klonální komplex	Sekvenační typ	<i>por A VR1 por A VR2</i>		NHBA peptid	NadA peptid	NadA peptidová varianta	fHbp peptid	fHbp peptidová varianta		BAST typ
75/15, B, cc32	33	19	15	3	1	NadA-1	1	1	B	5
90/15, B, cc32	4948	7	16	3	1	NadA-1	1	1	B	4
91/15, B, cc32	32	7	16-20	5	1	NadA-1	1	1	B	79
14/16, B, cc32	4948	7	16	3	1	NadA-1	1	1	B	4
36/15, B, cc41/44	1194	18-1	3	2	0	0	4	1	B	239
42/15, B, cc41/44	110	19	15	2	0	0	19	2	A	644
73/15, NG, cc41/44	1790	7	30	2	0	0	22	2	A	2554
2/15, C, cc11	11	5	2	20	0	0	NAF			ND
50/15, C, cc11	5752	5	2	29	127	NadA-2/3	22	2	A	38
64/15, B, cc35	35	22-1	14	21	0	0	16	2	A	257
70/15, B, cc35	35	22-1	14	21	0	0	16	2	A	257
51/15, B, cc269	11363	22	14-6	NAF	0	0	25	2	A	ND
78/15, B, cc269	467	19-1	15-11	0	0	0	15	1	B	ND
87/15, B, cc18	11853	22	14	6	0	0	37	1	B	247
52/15, B, cc60	13040*	5	2	24	0	0	13	1	B	237
4/15, B, cc162	162	7-2	4	20	0	0	21	2	A	246
54/15, B, cc213	213	22	14	18	0	NadA-4/5 +	59	3	A	304
77/15, W, cc22	2878	18-1	3	20	0	0	16	2	A	349
6/16, W, cc865	3342	5-2	10-1	89	21	NadA-4/5	321	1	B	1320
67/15, B, ccUA	11532	5-3	2-16	63	0	0	931	1	B	2555



# *N. meningitidis* W z období 1984-2017 - Česká republika



# *N. meningitidis* W z období 1984-2017 - Česká republika versus Evropa (430 izolátů)



**ČR versus UK**  
 (932 izolátů)  
**ČR versus non-Evropa**  
 (394 izolátů)  
**cc11** (1098 izolátů)  
**cc22** (169 izolátů)

Honskus M. et al., 2018



# N. meningitidis W z období 1984-2017, Česká republika- antigeny Men B vakcín

Isolate	PubMLST ID	Clinical status	Clonal complex	Sequence type	<i>abcZ</i>	<i>adk</i>	<i>aroE</i>	<i>fumC</i>	<i>gdh</i>	<i>pdhC</i>	<i>pgm</i>	<i>porA</i> VR1	<i>porA</i> VR2	<i>fetA</i> VR	<i>nhba</i> peptid	<i>nhba</i> allele	<i>nadA</i> peptid	<i>nadA</i> allele	<i>nadA</i> variant	<i>fhbp</i> peptid	<i>fhbp</i> allele	<i>fhbp</i> variant	BAST type	
21/84	57208	IMD	cc22	114	11	5	18	17	11	24	21	5-2	10	F3-4	20	3		0		16	16	A	2	1417
165/02	57846	CAR	cc22	2878	12	5	18	8	11	24	21	18-1	3	F4-1	20	3		0		16	16	A	2	349
114/03	57842	CAR	cc22	2878	12	5	18	8	11	24	21	18-1	3	F4-1	20	3		0		16	16	A	2	349
124/03	57843	CAR	cc22	2878	12	5	18	8	11	24	21	18-1	3	F4-1	20	3		0		16	16	A	2	349
182/03	57225	IMD	cc22	184	11	5	18	8	11	4	21	18-1	3	F4-1	20	3		0		16	16	A	2	349
104/04	57218	IMD	cc22	22	11	5	18	8	11	24	21	18-1	3	F4-1	20	3		0		16	16	A	2	349
104/11	57219	IMD	cc22	6342	11	3	18	8	11	24	21	18-1	3	F4-1	20	3		0		16	16	A	2	349
24/14	57834	CAR	cc22	3172	10	5	18	8	11	24	21	18-1	3	F4-1	20	3		0		16	16	A	2	349
25/14	57209	IMD	cc22	10793	11	5	18	17	11	25	21	5-2	10	F3-4	20	3		0		16	16	A	2	1417
77/15	38989	IMD	cc22	2878	12	5	18	8	11	24	21	18-1	3	F4-1	20	3		0		16	16	A	2	349
71/11	57215	IMD	cc865	3342	8	5	6	17	8	31	8	5-2	10-1	F5-8	89	257	21	109	NadA-4/5	321	380	B	1	1320
67/12	57214	IMD	cc865	3342	8	5	6	17	8	31	8	5-2	10-1	F5-8	89	257	21	109	NadA-4/5	321	380	B	1	1320
77/12	57216	IMD	cc865	3342	8	5	6	17	8	31	8	5-2	10-1	F5-8	89	257		0		321	380	B	1	2939
6/16	41191	IMD	cc865	3342	8	5	6	17	8	31	8	5-2	10-1	F5-8	89	257	21	109	NadA-4/5	321	380	B	1	1320
61/16	57212	IMD	cc865	3342	8	5	6	17	8	31	8	5-2	10-1	F5-8	89	257	21	109	NadA-4/5	321	380	B	1	1320
94/16	57217	IMD	cc865	3342	8	5	6	17	8	31	8	5-2	10-1	F5-8	89	257	21	109	NadA-4/5	321	380	B	1	1320
5/17	57829	IMD	cc865	3342	8	5	6	17	8	31	8	5-2	10-1	F5-8	89	1438	21	109	NadA-4/5	321	380	B	1	1320
11/17	57832	CAR	cc865	3342	8	5	6	17	8	31	8	5-2	10-1	F5-8	89	1438	21	109	NadA-4/5	321	380	B	1	1320
290/94	57226	IMD	cc11	247	2	3	4	5	8	4	6	5	2	F3-1	29	17	3	3	NadA-2/3	22	22	A	2	3
318/95	57227	IMD	cc11	11	2	3	4	3	8	4	6	5	2	F3-1	29	17	3	3	NadA-2/3	22	22	A	2	3
39/96	57211	IMD	cc11	11	2	3	4	3	8	4	6	5	2	F3-1	29	17	3	3	NadA-2/3	22	22	A	2	3
63/16	57213	IMD	cc11	11	2	3	4	3	8	4	6	5	2	F1-1	29	17	6	5	NadA-2/3	22	22	A	2	2
162/98	57222	IMD	cc174	2977	6	148	15	17	5	24	17	22	26	F3-7	6	9		0		13	13	B	1	2857
128/00	57221	IMD	cc174	3474	6	5	34	17	5	24	9	22	26	F3-7	6	9		0		321	380	B	1	2865
172/02	57224	IMD	cc174	2977	6	148	15	17	5	24	17	22	26	F3-7	6	9		0		421	491	A	2	355
67/01	57836	CAR	cc41/44	5002	2	5	9	9	9	6	8	19	15	F1-14	656	533		0		24	24	A	2	2866
148/01	57844	CAR	cc1136	13459	5	210	38	15	22	40	13	18-4	25	F4-1	145	44		0		94	91	A	3	657
149/01	57845	CAR	cc53	123	16	2	6	25	17	11	22	7-2	10-1	F1-13	58	65		0		102	102	A	2	2871
86/01	57841	CAR	ccUA	4774	23	5	9	68	13	32	8	19-1	9	F5-13	24	15		0		245	302	B	1	2873
107/01	57220	IMD	ccUA	1184	46	20	4	7	58	20	8	5-3	2-16	F1-5	129	234		0		21	21	A	2	2872
170/02	57223	IMD	ccUA	130	23	5	9	3	13	32	8	18-12	10-2	F2-7	24	15		0		245	302	B	1	1298

clinical status: IMD = invasive isolate from the invasive meningococcal disease or from a healthy carrier

ccUA = clonal complex unassigned

*porA* VR1, VR2 = *porA* variable region 1 and 2

v = isolate lacks a functional allele

yellow highlight = newly described gene allele, the sequence type, or the BAST type



- WGS metoda prokázala svoji absolutní diskriminační kapacitu a schopnost přesnějšího určení genetických vlastností *N. meningitidis*.
- Kvalitnější data umožnila identifikaci nových alel a nových sekvenčních typů, které nebyly klasickými sekvenčními metodami rozpoznány.
- WGS data poskytují přesnější informace o pokrytí českých izolátů MenB vakcínami a dávají kvalitnější podklady pro aktualizaci vakcinační strategie.

V současné době:

- Celosvětově je zaznamenán pokles nemocnosti IMO.
- Smrtnost a celoživotní následky však zůstávají stále příliš vysoké.
- Neexistuje univerzálně účinná vakcína proti všem séro skupinám meningokoků, jsou však již dostupné vakcíny, jejichž kombinací lze dosáhnout ochrany proti většině séro skupin:
  - **MenB vakcína (BEXSERO)**
    - fHbp (factor H binding protein) = GNA1870 = LP2086
    - NHBA (Neisseria Heparin Binding Antigen) = GNA2132
    - NadA (Neisserial adhesin A) = GNA1994
    - protein zevní membrány buněčné (OMP) PorA P1.4
  - **MenB vakcína (Trumenba)**
    - fHbp (factor H binding protein) = GNA1870 = LP2086
  - **konjugovaná tetravakcína A, C, W, Y (NIMENRIX, MENVEO)**

# Očkování proti meningokokovým onemocněním v ČR

- Aktuální incidence IMO v ČR je nízká - není apel na masovou vakcinaci, která navozuje kolektivní imunitu.
- **O to větší je však apel na budování ochrany jednotlivce:**
  - **co nejdříve -**
    - MenB vakcína doporučena zejména v prvním roce života + v posledních letech i preadolescentům
    - konjugovaná tetravakcína A,C,Y,W doporučena zejména preadolescentům + v posledních letech i malým dětem
  - **co nejdéle - přeočkování**
  - **co nejširší = MenB vakcína + konjugovaná tetravakcína A,C,Y,W**
- **Doporučení ČVS pro očkování proti invazivnímu meningokokovému onemocnění**
  - únor 2014
  - aktualizace - červenec 2017
  - aktualizace - leden 2018

<http://www.vakcinace.eu/doporuzeni-a-stanoviska>
- **Novela zákona 48/1997 o veřejném zdravotním pojištění**



# Doporučení České vakcinologické společnosti ČLS JEP pro očkování proti invazivním meningokokovým onemocněním

15. ledna 2018

## Možnosti očkování proti invazivním meningokokovým onemocněním

K očkování proti IMO jsou Evropskou lékovou agenturou (EMA) registrovány a jsou k dispozici dvě konjugované tetravalentní vakcíny obsahující antigeny čtyř séro skupin meningokoka A, C, W, Y (MenA,C,W,Y vakcína) a dvě rekombinantní vakcíny obsahující antigeny meningokoka séro skupiny B (MenB-4C a MenB-FHbp vakcína). U MenA,C,W,Y vakcíny byla prokázána ochrana nejen proti invazivnímu meningokokovému onemocnění způsobenému těmito čtyřmi séro skupinami, ale i proti nosičství meningokoků těchto séro skupin. **Všechny tyto vakcíny jsou určeny k očkování dětí a dospělých.** MenA,C,W,Y vakcína je indikovaná k použití od 6 týdnů věku (Nimenrix) nebo od 2 let věku (Menveo). MenB-4C vakcínu lze aplikovat od 2 měsíců věku (Bexsero) a MenB-FHbp vakcínu od 10 let věku (Trumenba). **Cílem očkování proti IMO je zajistit co nejčasnější, nejkomplexnější a nejdelší individuální protektivní imunitu očkované osoby.**

## Doporučení očkování proti invazivním meningokokovým onemocněním

**K zabezpečení co nejširšího séro skupinového pokrytí se doporučuje očkování s využitím jak MenA,C,W,Y, tak MenB vakcín. Aplikace obou vakcín je doporučena v odstupu minimálně 14 dnů, v případě potřeby lze aplikovat současně, avšak do odlišných míst. Při simultánní aplikaci je možné očekávat vyšší reaktogenitu vakcín. K udržení dlouhodobé imunity je v některých případech doporučeno přeočkování. U MenB-4C vakcíny jedno přeočkování u dětí do 2 let věku, u osob starších 2 let potřeba přeočkování nebyla dosud stanovena. U MenB-FHbp vakcíny nebyla potřeba přeočkování také dosud stanovena. U MenA,C,W,Y vakcín se doporučuje přeočkování v pětiletých intervalech v případě přetrvávání rizika IMO.**

# Doporučení České vakcinologické společnosti ČLS JEP pro očkování proti invazivním meningokokovým onemocněním

15. ledna 2018

## Očkování proti IMO je doporučeno pro:

- kojence ve věku od 2–11 měsíců věku, aplikace první dávky se upřednostňuje v průběhu prvního půl roku života;
- děti ve věku 1–4 let věku;
- adolescenty a mladé dospělé ve věku od 13 do 25 let, očkování se upřednostňuje ve věku 13–15 let;
- pacienty bez ohledu na věk, s následujícími zdravotními indikacemi očkování:
  - porušená či zaniklá funkce sleziny (hyposplenismus/asplenismus),
  - autologní a alogenní transplantace kmenových hemopoetických buněk;
  - primárními nebo sekundárními imunodeficit nebo očekávaný imunodeficit,
  - deficit terminálního komplementu,
  - prodělaná bakteriální meningokoková meningitida a septikémie,
  - před zahájením léčby eculizumabem;
- osoby bez ohledu na věk, cestující nebo plánující trvalý pobyt v zemích s hyperendemickým nebo epidemickým výskytem meningokokových onemocnění;
- osoby v profesionálním riziku IMO (zdravotnický personál pečující o pacienty s IMO, laboratorní pracovníci pracující s původci IMO);
- osoby v ohnisku nákazy IMO.



**Děkuji za pozornost**