



Sérologická diagnostika chřipky – možnosti a diagnostická úskalí

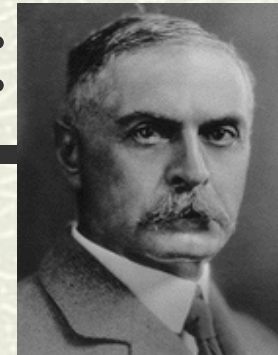
Martina Havlíčková,

Radka Limberková, Pavla Růžičková,

Helena Jiřincová

NRL pro chřipku, Státní zdravotní ústav

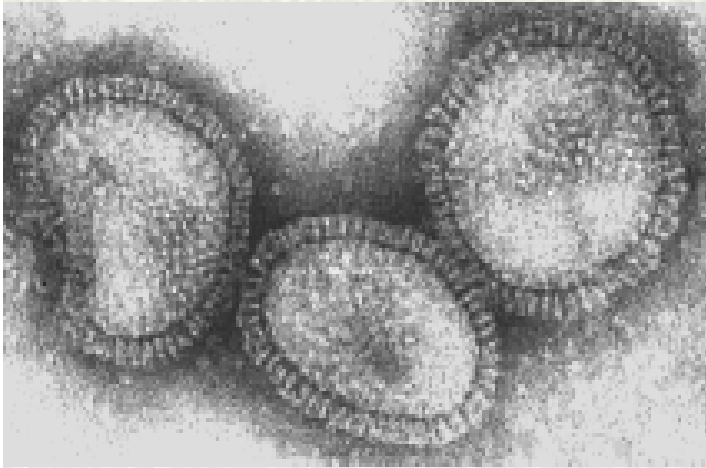
K historii vyšetřování sér – reakce antigenu s protilátkou:



- 1901 – Karl Landsteiner -
1930 mu byla udělena Nobelova cena
- 1907 Jan Janský - objev krevních skupin
- začíná rozvoj „sérologie“ založený na poznatku, že různé buňky a struktury (tělní, mikrobiální) mohou nést na svém povrch znaky jinými buňkami rozpoznatelné a často vysoce specifické.

Základní parametry sérologického vyšetřování

■ Specifita



■ Sensitivita

analytická
klinická



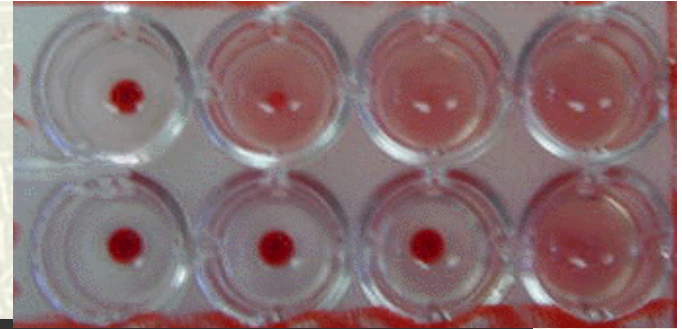
Analytická specifita: míra interference s jinými agens

Klinická specifita: pokud pacient netrpí hledanou infekcí, výsledek testu je negativní

Analytická sensitivita: schopnost testu prokázat co nejnížší kvantum daného agens

Klinická sensitivita: je-li hledaná infekce přítomna, pak výsledek testu je pozitivní

Chřipka- nejpoužívanější testy



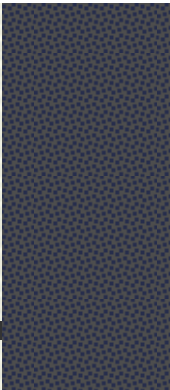
- # **KFR** rutinně zavedená ve většině laboratoří, typově specifická
- # **HIT** pouze některá pracoviště, subtypově a variantně specifický, Stanoveny parametry pro práh positivity/protekcí
- # **VNT** pouze NRL, nutnost práce s živým virem, citlivější než HIT, reaguje širší spektrum protilátek než u HIT
- # **ELISA , IF** komerční sety, u IF nutná zkušenost s hodnocením
- # **SRHT** specifický test, pouze pro některé účely ve vakcinologii
- # **Microarray** nový test, mimořádně citlivý, zatím nejsou zkušenosti s interpretací výsledků v praxi

Před indikací sérologického vyšetření zaměřeného na průkaz chřipky bychom měli zvážit:

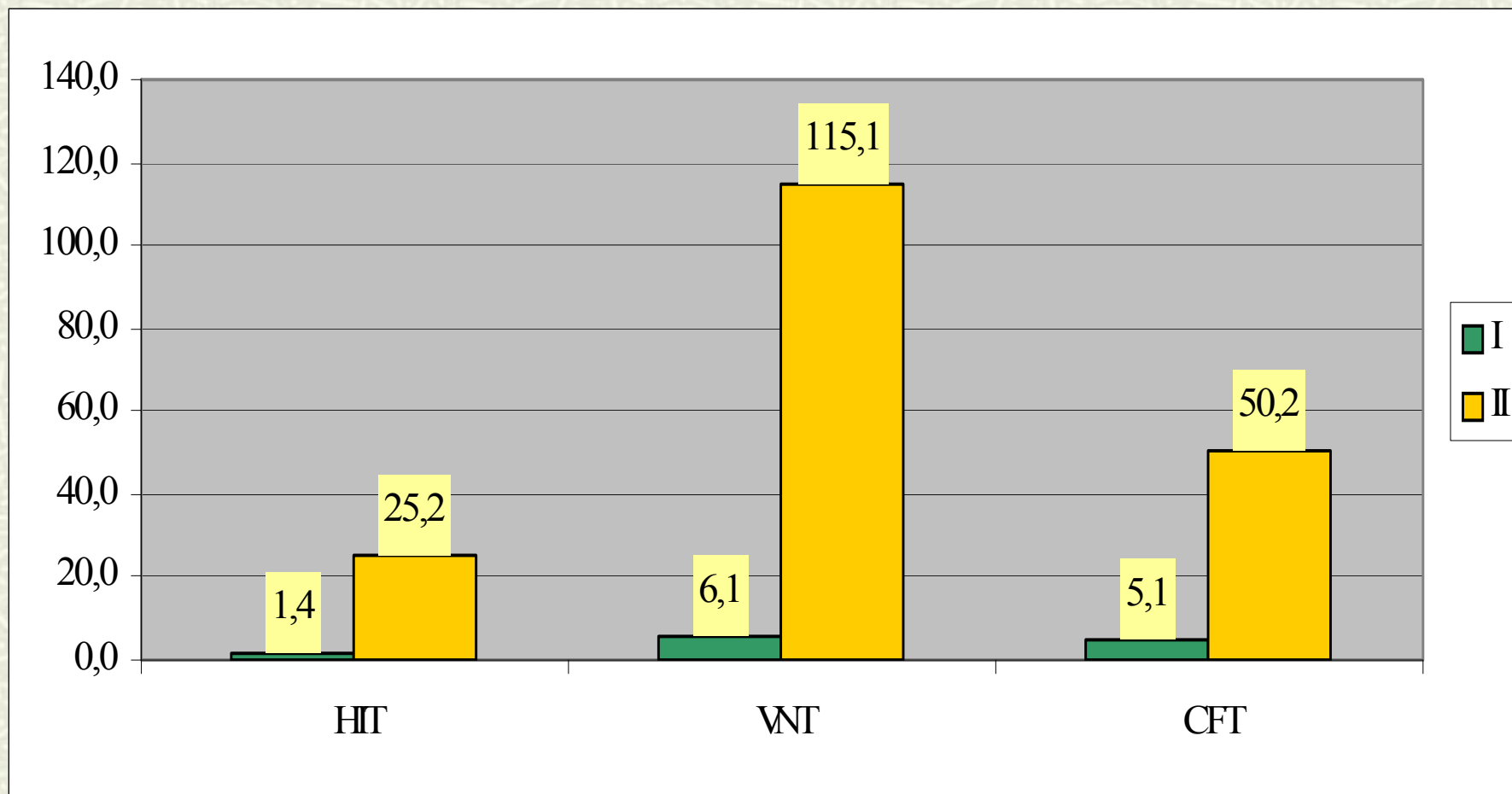
- # V jaké fázi infekce je pacientz toho vyplyne, zda plánovat odběr dvojice sér (otázka – přijde pacient na druhý odběr? Je pravděpodobné, že v době odběru druhého vzorku séra bude ještě hospitalizován?) nebo zda indikovat odběr jednovzorku
 - Je-li indikováám odběr jednovzorku, musíme si být vědomi limitů v interpretaci testu
- # Co od vyšetření očekáváme
 - potvrzení již stanovené diagnózy (PCR pozitivita ve výtěru)
 - alespoň částečné vodítko pro terapii
 - diferenciálně diagnostický údaj
 - momentální stav protilátek proti danému viru (variantě) – sérologický přehled)

Vyšetřování sér na začátku pandemie:

- # Velký tlak na vyšetření
 - # Nedostatek antigenu až do prvního izolátu kmene z vlastních odběrů
 - # Interpretace – nedostatek informací o možných zkřížených reakcích a event. promořenosti
 - # Metody volby pro vyšetření – HIT a KFR
-

- 
-
- ✚ I v době šířením zcela nové varianty/subtypu zpravidla nesežou typově specifické testy, především KFR, ELISA (IgG) a IF (IgG)
 - ✚ HIT, VNT – nutnost pracovat s novým kmenem
-

Porovnání geometrických průměrů titrů protilátek proti viru pandemic H1N1 2009 v akutním a rekonvalescentním vzorku séra pomocí tří základních sérologických metod – KFR, HIT a VNT u 40 pacientů s PCR prokázanou infekcí



Příklady výsledků sérologických vyšetření

číslo	HIT	VNT	výtěr PCR izolace	KFR A(H1N1)	KFR A(H3N2)	ELISA IgM	ELISA IgG
82048/82265	20/80	80/640	pozit. A Sw	256/256	nt	neg/neg	poz/poz
81978/82238	0/40	0/160	pozit. A Sw	0/64	nt	neg/neg	poz/poz
81614/82156	0/40	10/320	pozit. A Sw	16/32	nt	neg/neg	poz/poz
81159/81339	0/0	0/10	negativní	0/0	nt	hraniční/poz	poz/poz
81556/82015	40/>20	<640/320	negativní	32/32	nt	nt	nt
90135/90135	10/40	0/160	negativní	32/32	nt	nt	nt
82177/82282	0/0	10/40	pozit. A Sw	0/0	nt	nt	nt
81480/81560	0/0	10/80	pozit. A Sw	0/64	nt	nt	nt
81170/81279	0/0	20/20	pozit. A Hu	0/8	0/8	nt	nt
90281/90378	0/0	0/0	negativní	8/8	nt	neg/neg	neg/neg

Sérologická vyšetření – co lze očekávat a jaká jsou základní úskalí?

- KFR – velmi výhodná v rutinní praxi, výborně se osvědčila v pandemické sérologii
 - HIT – nezbytně nutný pro diferenciaci mezi subtypy a posouzení promořenosti
 - VNT – s nejvyšší citlivostí může prokázat proběh infekce v rámci vyšetření párového séra, obtížně se interpretují nízké titry
-

Úskalí a nesnáze

- ✚ Dynamika jednotlivých testů nemusí být ve shodě, protože každým měříme odlišné spektrum protilátek
 - ✚ V případě výrazné diskrepance mezi nálezy (např. výtěr PCR pozitivní, HIT nebo KFR negativní,) lze situaci zpravidla verifikovat pomocí VNT
 - ✚ IgM protilátky – doplňující význam, negativita nálezu v žádném případě nevylučuje proběhlou či probíhající infekci
-

Závěr a doporučení

- # Interpretace – pokud možno sledovat vývoj titru mezi akutním a rekonvalescentním vzorkem séra
- # Optimální je kombinace dvou testů
- # Klasické sérologické postupy – méně citlivé, ale velmi spolehlivé
- # Výsledky vyšetření jednotlivých sér interpretovat opatrně a s ohledem na anamnézu