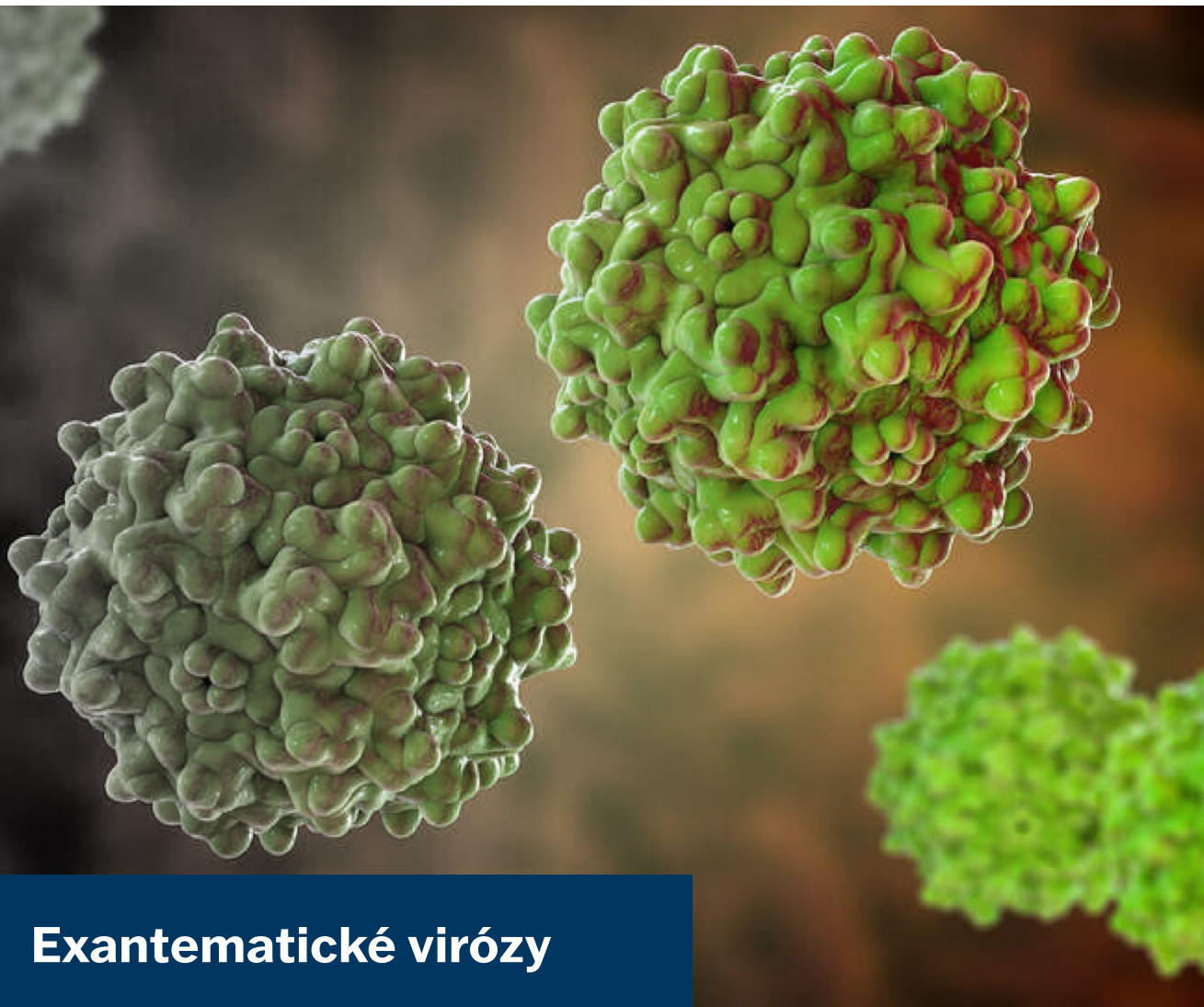




Exantematické virózy

Imunoenzymatické soupravy k diagnostice virových exantémových onemocnění

ELISA soupravy jsou určeny ke stanovení specifických protilátek
třídy IgA, IgG a IgM v lidském séru nebo plazmě



Diagnostické soupravy jsou určeny
pro profesionální použití v laboratoři.



Úvod

Spalničky jsou vysoce nakažlivé virové infekční onemocnění způsobené virem spalniček, rod *Morbillivirus*, čeleď *Paramyxoviridae*. Toto onemocnění dříve patřilo celosvětově mezi nejčastější příčiny úmrtí dětí do 5 let, od zavedení očkování se incidence spalniček snížila.

Jediným přirozeným hostitelem viru spalniček je člověk. K přenosu nákazy dochází kapénkovou infekcí nebo přímým stykem s nemocným. Inkubační doba je přibližně 10 dní, mezi první charakteristické projevy spalniček patří vysoká horečka, kašel, zánět spojivek a rýma. Po 3–5 dnech se objevuje typická sytě červená vyrážka v oblasti kolem uší a postupně se šíří přes obličej na celé tělo. Na vnitřní straně tváří se mohou objevit charakteristické bílé skvrny (tzv. Koplikovy skvrny). Po několika dnech vyrážka vybledne a postupně ustupuje. K nejtěžším komplikacím spalniček patří zánět mozku (encefalitida), pneumonie a otitida. Po uzdravení získává pacient většinou doživotní imunitu vůči spalničkám.

Hlavní prevencí spalniček je plošná vakcinace dětí MMR vakcínou, která obsahuje oslabené viry spalniček, příušnic a zarděnek.



Spalničky

Příušnice (parotitis epidemica, mumps) jsou akutní virové onemocnění způsobené RNA virem ze skupiny *Paramyxoviridae*.

Infekce se přenáší kapénkově, méně často se šíří i předměty kontaminovanými slinami. Onemocnění se objevuje sezónně s nejvyšším výskytem v zimě a na jaře, postihuje zejména děti ve věku 5–9 let a adolescenty ve věku 15–19 let.

Inkubační doba onemocnění je 2–3 týdny. Onemocnění může proběhnout asymptomaticky, s relativně mírnými nespecifickými příznaky (nechutenství, zvýšená teplota, bolest hlavy) se vyskytuje zejména u dětí. Typickým příznakem příušnic je jednostranné nebo oboustranné bolestivé zduření příušních slinných žláz, případně i podjazykové či podčelistních slinných žláz. Komplikace onemocnění jsou častější u dospělých, k nejtěžším patří aseptická meningitida, orchitida, oophoritida a otitida.

Hlavní prevencí příušnic je plošná vakcinace dětí MMR vakcínou, přičemž parotitická složka vakcíny vyvolává tvorbu protilátek asi u 90 % vakcinovaných.

Parvovirus B19 (Erythrovirus B19) náleží do čeledi Parvoviridae. Jedná se o běžný lidský patogen. Jeho výhradním hostitelem je člověk. Patří mezi neobalené viry s jednovláknovou DNA. Skládá se ze dvou strukturálních proteinů VP1 a VP2, přičemž VP2 je majoritním a tvoří přibližně 96 % celkové virové částice. Proti VP1 je namířena tvorba neutralizujících protilátek.

Infekce se vyskytuje celoročně s mírným nárůstem koncem jara. Přenos infekce je možný přímým kontaktem s nemocným (kapénkami i orofekální cestou), krevními deriváty nebo vertikálně z matky na plod. U většiny imunokompetentních jedinců probíhá infekce asymptomaticky nebo za nespecifických příznaků lehké infekce horních cest dýchacích. Virus se množí v rychle se dělících krvetvorných buňkách kostní dřeně a příznakem může být i lehký pokles krevní hladiny hemoglobinu.

K primární infekci parvovirem B19 dochází nejčastěji v dětství jako tzv. pátá nemoc (erythema infectiosum). Po inkubační době 1–2 týdny nastává první fáze nákazy s nespecifickými příznaky (horečka, zimnice, bolesti hlavy a svalů). Po přibližně dvou týdnech se objeví specifické projevy onemocnění (kožní exantém, typická vyrážka v oblasti tváře, případně bolesti kloubů).

Zarděnky jsou exantematické virové onemocnění dětí a adolescentů, které se šíří kapénkovou infekcí nebo transplacentárně. Jde zpravidla o benigní onemocnění charakterizované horečkou, mírnými příznaky infekce horních cest dýchacích, makulopapulózní vyrážkou a zduřením subokcipitálních a postaurikulárních mízních uzlin. Zarděnky mohou být velmi závažné v počáteční fázi těhotenství, protože virus přechází přes placentu a ve většině případů vede ke spontánním potratům nebo vrozeným vadám. Plod je nejvíce ohrožen při onemocnění matky v prvním trimestru, riziko poškození klesá s délkou gravidity.

Reinfekce se častěji vyskytují u očkovaných než u přirozeně imunních jedinců, většina těchto reinfekcí probíhá bez příznaků. Zarděnkové reinfekce v těhotenství zřídka vedou k přenosu na nenarozené dítě.

Při infekci zarděnkami se specifické protilátky vytváří cca 1 týden po odeznění viremické fáze infekce. Akutní infekce vyvolává tvorbu vysokých hladin specifických protilátek třídy IgG i IgM. Zatímco IgM protilátky většinou po 2 měsících mizí, IgG protilátky přetrvávají dlouhou dobu, obvykle po celý život. K významnému vzestupu hladin IgG protilátek dochází i po očkování, i když titry těchto protilátek jsou obecně nižší než po prodělání přirozené infekce.



Zarděnky

Virus Varicella zoster (VZV, HHV-3) patří do skupiny herpetických virů a způsobuje infekční onemocnění plané neštovice (primární infekce) a pásový opar (reaktivace).

K primární infekci VZV dochází nejčastěji v dětství a to kapénkovou infekcí. VZV je vysoce kontagiózní, po kontaktu s infikovanou osobou onemocní až 90 % lidí bez specifických protilátek. Příznaky infekce zahrnují horečku, zimnici, žaludeční potíže nebo průjem, svědění nebo bolest kůže v místech, kde se později objeví charakteristický exantém. Onemocnění zpravidla odezní bez následků. Primoinfekce u adolescentů a dospělých mívají těžší průběh, někdy s vážnými komplikacemi (např. encefalitidy, pneumonie a záněty jater), a to zvláště u jedinců s oslabenou imunitou. Virus prostupuje také placentou a následná infekce plodu může vést k těžkým vrozeným defektům. Dojde-li k nákaze séro-negativní matky (bez specifických protilátek) kolem termínu porodu, je novorozenec vážně ohrožen na životě.

Charakteristickou vlastností VZV je sklon k perzistenci v organismu. Při snížení obranyschopnosti může docházet k reaktivaci viru a vzniku pásového oparu.



Plané neštovice



Pásový opar

Diagnostika onemocnění

Diagnostika onemocnění je založena na klinickém obrazu, epidemiologických údajích a laboratorních testech. Laboratorní diagnostika se provádí pomocí přímého průkazu infekčního agens nebo pomocí stanovení specifických protilátek metodou ELISA.

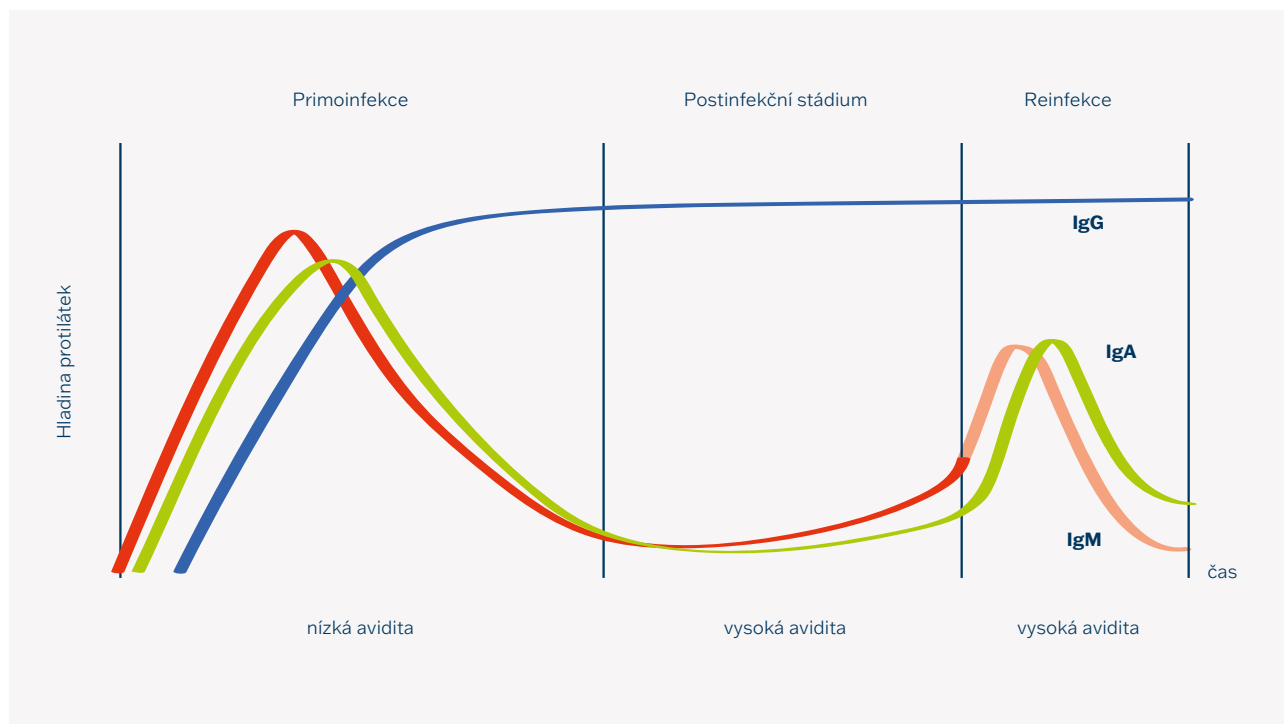
Diagnostický význam specifických protilátek:

IgA, IgM: Specifické protilátky třídy IgM a IgA jsou ukazatelem aktivní infekce (primoinfekce a reaktivace) a v rekonvalescentní fázi vymizí. V některých případech mohou přetrvávat i několik měsíců.

IgG: Specifické protilátky třídy IgG mají anamnestický charakter a slouží pro zjištění imunologického statusu jedince. Specifické IgG protilátky zůstávají většinou v nízkých hladinách po celý život. K rozlišení primární infekce od dříve prodělané infekce nebo reaktivace slouží stanovení avidity IgG protilátek.

V případě očkování dochází k významnému vzestupu hladin IgG protilátek, i když titry těchto protilátek jsou obecně nižší než po prodělaní přirozené infekce a nemusejí přetrvávat celoživotně.

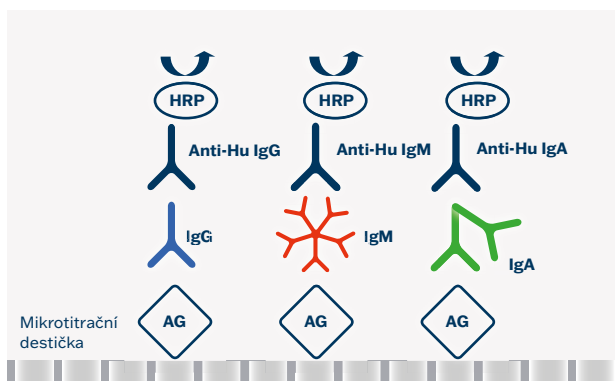
Protilátková odpověď



ELISA

Princip testu

Soupravy jsou založeny na sendvičovém typu ELISA metody.



Pracovní postup

Krok	Kroky testu
1.	Ředění vzorků – séra/plazmy 1:101 (10 µl + 1 ml) – mozkomíšní moky 1:3 (50 µl + 100 µl)
2.	Dávkování kontrol a ředěných vzorků 100 µl – blank = prázdná jamka
3.	Inkubace 30 min. při 37 °C
4.	Odsátí a promytí jamek 5 krát
5.	Dávkování Konjugátu 100 µl – blank = prázdná jamka
6.	Inkubace 30 min. při 37 °C
7.	Odsátí a promytí jamek 5 krát
8.	Dávkování substrátu 100 µl (TMB-Complete) – včetně blanku
9.	Inkubace 30 min. při 37 °C
10.	Dávkování Zastavovacího roztoku 100 µl – včetně blanku
11.	Fotometrické měření při 450 nm

Antigeny

Spalničky

Purifikovaný a inaktivovaný nativní antigen s vysokým obsahem specifických imunodominantních epitopů.

Příušnice

Purifikovaný a inaktivovaný nativní antigen s vysokým obsahem specifických imunodominantních epitopů.

Parvovirus B19

VP2 rekombinantní protein

Zarděnky

Purifikovaný a inaktivovaný antigen z kmene HPV-77 s vysokým obsahem specifických imunodominantních epitopů

Virus Varicella zoster

Purifikovaný a inaktivovaný antigen VZV s vysokým obsahem specifických imunodominantních epitopů

Použití souprav

- Vyhledávací vyšetření specifických IgA, IgG a IgM protilátek v lidském séru nebo plazmě
- Semikvantitativní vyhodnocení je vhodné pro sledování úspěšnosti terapie
- Diagnostika fáze onemocnění
- Diferenciální diagnostika exantémových onemocnění
- Diagnostika u těhotných žen a kongenitálně infikovaných novorozenců

Uživatelský komfort

- Komponenty v pracovním ředění
- Barevně odlišené reagentie
- Zaměnitelnost komponent
- Barevně značené stripky s odlamovacími jamkami
- CUT-OFF kontrola a kalibrátory
- Semikvantitativní hodnocení výsledků (Index positivity-IP) nebo kvantitativní hodnocení výsledků (IU/ml)
- Kvantitativní vyhodnocení v mezinárodních jednotkách bylo odvozeno od mezinárodního standardu WHO

Výhody souprav

- Vysoká diagnostická účinnost
- Dobrá reprodukovatelnost
- Vysoká dynamika testů a identický pracovní postup
- Celková doba vyšetření 1,5 hodiny
- Ředící roztok vzorků obsahuje RF sorb (EIA IgM)
- Aviditní test (EIA Measles IgG, EIA Rubella IgG, EIA VZV IgG)
- Možnost stanovení v mozkomíšním moku (EIA VZV)
- Vhodné pro otevřené automatické systémy
- Možnost nezávislé verifikace (CKS)
- Komplexní zákaznický servis

EIA souprava



SmartEIA souprava



Charakteristiky souprav

<u>ELISA</u>	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>
EIA Measles IgG	99,2 %	97,8 %
EIA Measles IgM	97,7 %	99,2 %
EIA Mumps IgA	84,0 %	99,9 %
EIA Mumps IgG	98,7 %	95,7 %
EIA Mumps IgM	87,5 %	99,0 %
EIA Parvovirus IgG	98,6 %	99,9 %
EIA Parvovirus IgM	96,8 %	99,9 %
EIA Rubella IgG	97,7 %	97,3 %
EIA Rubella IgM	95,1 %	99,6 %
EIA VZV IgA	99,9 %	99,9 %
EIA VZV IgG	98,9 %	99,9 %
EIA VZV IgM	99,9 %	98,9 %

Objednací údaje

ELISA

Kód	Název soupravy	Počet testů
MeG096	EIA Measles IgG	96
MeM096	EIA Measles IgM	96
SK-MeG096	SmartEIA Measles IgG	96
SK-MeM096	SmartEIA Measles IgM	96
MuA096	EIA Mumps IgA	96
MuG096	EIA Mumps IgG	96
MuM096	EIA Mumps IgM	96
SK-MuA096	SmartEIA Mumps IgA	96
SK-MuG096	SmartEIA Mumps IgG	96
SK-MuM096	SmartEIA Mumps IgM	96
PVG096	EIA Parvovirus B19 IgG	96
PVM096	EIA Parvovirus B19 IgM	96
SK-PVG096	SmartEIA Parvovirus B19 IgG	96
SK-PVM096	SmartEIA Parvovirus B19 IgM	96
RubG96	EIA Rubella IgG	96
RubM96	EIA Rubella IgM	96
SK-RubG96	SmartEIA Rubella IgG	96
SK-RubM96	SmartEIA Rubella IgM	96
VZVA96	EIA VZV IgA	96
VZVG96	EIA VZV IgG	96
VZVM96	EIA VZV IgM	96
SK-VZVA96	SmartEIA VZV IgA	96
SK-VZVG96	SmartEIA VZV IgG	96
SK-VZVM96	SmartEIA VZV IgM	96

Soupravy SmartEIA jsou koncipovány pro automatické zpracování na přístroji Agility®.



TestLine Clinical Diagnostics s.r.o.

Křižíkova 188/68, 612 00 Brno, Česká republika

trade@testlinecd.com

www.testlinecd.cz