

Laboratorní diagnostika leptospirózy

Laboratory diagnosis of leptospirosis

Tereza Marvanová, Petr Kodym

Leptospiróza je celosvětově rozšířená zoonóza s prevalencí 0,1–100/100 000 obyvatel. Výskyt je výrazně vyšší v oblastech s teplým a vlhkým klimatem. V České republice je uváděna prevalence 0,4/100 000 obyvatel, ale předpokládá se, že je ve skutečnosti o něco vyšší, díky nesprávné diagnóze, jelikož příznaky jsou často podobné chřipce. Na vyšší výskyt leptospirózy mají vliv především dva fenomény – povodně a přemnožení hlodavců. Po povodních bývají v Evropě i v České republice vyšší lokální výskyty leptospirózy. Leptospiróza se přenáší vodou kontaminovanou výkaly a močí infikovaných zvířat (např. hlodavci, drobní savci, psi, hmyzožravci). K rizikovým aktivitám patří práce v zatopených oblastech, vyklízení sklepů, vodní sporty, pití ze studánek a práce, během kterých dojde ke kontaktu s exkrementy rezervoárových zvířat. Onemocnění se obvykle projevuje 5–14 dní po nákaze a klinické příznaky jsou podobné chřipkovému onemocnění (bolesti hlavy, únava, horečky, třesavky, zimnice). Při těžké formě leptospirózy (Weilova choroba), způsobené *Leptospira icterohaemorrhagiae*, se dostavuje těžká hepatorenální insuficience, pneumonie až respirační selhání.

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

1. Nepřímá diagnostika

1.1. Nepřímá diagnostika

– průkaz protilátek metodou MAT

Za „zlatý standard“ je v laboratorní diagnostice leptospir považován mikroskopický aglutinační test (MAT) s živými laboratorními kmeny leptospir. Principem testu je reakce specifické protilátky s živým antigenem. Tato reakce způ-

sobí aglutinaci až lýzu živých leptospir z kultury. Reakci a její intenzitu hodnotí laboratorní pracovník pomocí mikroskopu se zástiněm. Vzhledem ke skutečnosti, že detekovatelné množství protilátek je infikovaným hostitelem tvořeno asi 7–10 dní po nakažení, je tento test velmi vhodný k následnému konfirmačnímu vyšetření a určení sérovaru.

Metoda je založena na inkubaci živých laboratorních kmenů leptospir s naředěným sérem pacienta po dobu jedné hodiny při 37 °C. Výsledek mikroaglutinační reakce se odečítá mikroskopicky v temném poli (zástině). Za pozitivní se považuje reakce, kdy aglutinuje (lyzuje) cca 50 % leptospir v zorném poli mikroskopu. U všech vyšetřovaných kmenů se mikroskopicky stanoví výsledný titer protilátek – titer, při kterém se aglutinuje 50 % leptospir. Nejsou-li leptospiry v zorném poli mikroskopu vůbec aglutinovány a volně se pohybují, je reakce MAT negativní.

1.2. Nepřímá diagnostika – ELISA test

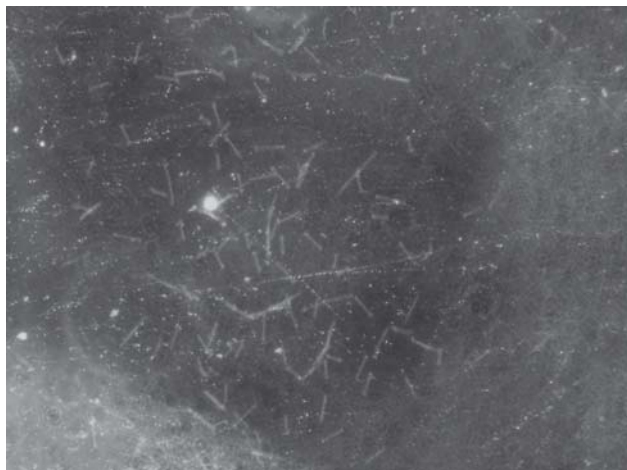
Na trhu je k dispozici v různých zemích několik ELISA testů. Tyto testy detekují pouze rodově specifické protilátky. Jelikož existuje velké množství patogenních sérovarů, jsou pro přesnou diagnostiku leptospirózy a pro konfirmační vyšetření dle našich zkušeností nepoužitelné.

2. Přímá diagnostika

2.2. Kultivace leptospir na půdách

Pro kultivaci se používají tekutá či polotuhá média. Při pokusu se několik kapek krve, likvoru či moči vkápnou do zkumavek s Korthofovou půdou. Kultivuje se buď v termostatu při 28 °C nebo při pokojové teplotě, prohlíží se mikroskopicky v zástině za 3–7 dní a pak ještě jednou za 14–21 dnů. Nevýhodou metody je nízký záchyt, časová ná-

Obrázek 1: *Leptospira pomona* v zástiněm mikroskopu (zvětšení 400x)



Obrázek 2: Shluk leptospir



Foto: dr. Pavla Balátová, SZÚ - CEM

ročnost a nesterilní biologický materiál (moč), ve kterém se mohou rychle množit bakterie.

2.3. Průkaz DNA patogenních leptospir metodou PCR

Tato metoda umožňuje rychlý a citlivý průkaz DNA leptospir ve vzorku. Existuje řada komerčně vyráběných kitů pro PCR diagnostiku leptospir, lišících se v amplifikaci různých úseků genů DNA. Leptospiry je možno pomocí PCR zachytit v prvních deseti dnech od nákazy v krvi, likvoru,

po týdnů také v moči. Metoda PCR je použitelná i pro další klinické materiály, jako například jaterní biopsie či jiné tělní tekutiny. Národní referenční laboratoř pro leptospiry má za cíl zavést PCR diagnostiku leptospir v blízké budoucnosti.

*Mgr. Tereza Marvanová
RNDr. Petr Kodým, CSc.
NRL pro leptospiry
CEM - SZÚ, Praha*