

## Algoritmus laboratorního vyšetření biologických vzorků získaných od pacientů s podezřením na infekci virem opičích neštovic – aktualizace k 30. 06. 2022

Na základě upozornění ECDC a zdravotních autorit některých evropských států vydává Státní zdravotní ústav doporučení k diagnostickému postupu při podezření na výskyt případu opičích neštovic na území ČR. **Jakmile bude vysloveno podezření na výskyt infekce, je třeba neprodleně kontaktovat spádové lůžkové infekční oddělení a odbor protiepidemický místně příslušné KHS.**

### Etiologie

**Monkeypox virus (virus opičích neštovic)** z rodu *Orthopoxvirus*, čeledi *Poxviridae*

### Přenos - infekční materiál

kapénky z dýchacích cest (jde o větší kapénky, pro přenos je nutný poměrně těsný kontakt s infekční osobou), ostatní biologický materiál (sekret z lézí, krev v exanthematické fázi), kontaminované předměty (lůžkoviny apod.), u cestovatelů může být zdrojem nemocné zvíře, respektive jím kontaminované povrchy a předměty, za přirozený rezervoár viru jsou považováni hlodavci, kteří jsou pravděpodobně zdrojem infekce mimo území obývané primáty, jejich role může být klíčová i v endemických oblastech výskytu MPXV.

### Inkubační doba

5-21 dní, typicky 6 – 16 dní

### Klinický obraz

- 1) prodromální příznaky (1-2 dny)** – zvýšená tělesná teplota nebo horečka, malátnost, intenzivní bolesti hlavy, bolesti svalů, **zvětšení lymfatických uzlin v oblasti krku, axil a třísel**  
→ zasílané vzorky k laboratornímu vyšetření: krev plná nesrážlivá, sěr z horních cest dýchacích (HCD)
- 2) enanthem** – erozivní projevy v dutině ústní  
→ zasílané vzorky k laboratornímu vyšetření: sěr z HCD, 2 samostatné razantní stěry z erozí (**nelze zaslat pouze krev**)
- 3) exanthem (2-4 týdny)** – simultánní výsev vyrážky, která se může šířit z jedné oblasti těla na ostatní, **u aktuálně hlášených případů, vzhledem k atypické cestě přenosu, se projevy vyskytovaly zejména perianálně a perigenitálně.** Typický postup projevů je makula – vezikula – pustula – eroze – krusta.  
→ zasílané vzorky k laboratornímu vyšetření: vezikulární tekutina, **2 samostatné razantní stěry z několika kožních lézí/erozí, nelze zaslat pouze krev**

### Diferenciální diagnostika – plané neštovice (VZV, B01)

V rámci laboratorní diagnostiky opičích neštovic je nutné vzít na zřetel současnou epidemickou situaci ve výskytu planých neštovic, které se každoročně vyskytují na přelomu zimy a jara. Vyšší výskyt onemocnění je pozorován ve 2 až 4letých cyklech, kdy doroste nová generace vnímavých dětí, což ilustruje i přiložená

tabulka. Nižší výskyt planých neštovic v loňském a předloňském roce bude pravděpodobně souviset jednak s vyšším výskytem tohoto onemocnění v roce 2019 a rovněž se zavedenými protiepidemickými opatřeními kvůli onemocnění covid-19, nicméně lze říci, že současná situace koresponduje s výskytem planých neštovic v "předcovidové době" a není nijak výjimečná.

#### Výskyt planých neštovic v České republice

Duben 2022, porovnání se stejným měsícem v letech 2013 – 2021 a Leden – duben 2022, porovnání se stejným měsícem v letech 2013 – 2021

B01	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
duben	4 912	<b>7 836</b>	<b>7 341</b>	5 533	5 723	3 800	7 360	2 539	444	8 010
leden- duben	17 726	<b>24 890</b>	<b>21 587</b>	18 922	19 163	14 210	<b>22 305</b>	14 180	3 863	<b>20 577</b>

Zdroj: EPIDAT (2013-2017), ISIN (2018 – 2022)

### Epidemiologická anamnéza (alespoň jedno z následujících kritérií)

- 1) pobyt v endemických oblastech (střední a západní Afrika) nebo pobyt v zemích s již nahlášenými případy – iniciálně Velká Británie, Portugalsko, Španělsko, Švédsko, Kanada, USA, Austrálie, Německo, Itálie, Dánsko, Skotsko, Belgie, Francie, případně v dalších zemích dle aktuální situace
- 2) kontakt s osobou s klinickými příznaky
- 3) sexuální kontakty zejména v MSM komunitě v zemích s hlášenými případy nebo s partnerem, který v dané zemi pobýval
- 4) kontakt s divokými nebo domácími zvířaty a volně žijícími hlodavci v endemických oblastech (zejména Afrika), a případně jimi kontaminovanými předměty

### Definice případu (case definition)

#### Potvrzený případ

Osoba s laboratorně potvrzenou infekcí opičích neštovic

- PCR specifická pro MPXV detekci
- PCR specifická pro všechny orthopoxviry potvrzená sekvenací nebo MPXV specifickou PCR
- orthopoxviry určené elektronovou mikroskopií s výsledkem potvrzeným sekvenací nebo MPXV specifickou PCR

#### Pravděpodobný případ

1. Osoba s vyrážkou nejasného původu na kterékoliv části těla

A ZÁROVEŇ jakýkoliv z dalších symptomů infekce opičímí neštovicemi

A ZÁROVEŇ platí jedno z následujících:

- a. pozitivní detekce orthopoxvirů (PCR detekující orthopoxviry bez sekvenace, elektronové mikroskopie, sérologie)
- b. epidemiologická vazba na potvrzený nebo pravděpodobný případ infekce v posledních 21 dnech
- c. cestovatelská anamnéza do endemických oblastí (země západní Afriky, případně Kongo) v posledních 21 dnech
- d. muži praktikující sex s muži
- e. osoba praktikující rizikový sex s více partnery v posledních 21 dnech

NEBO

2. Osoba s nevysvětlitelnou generalizovanou nebo lokalizovanou makulopapulózni nebo vesikulopustulózni vyrážkou s centrifugální distribucí, s lézemi vykazující papulky nebo strupy, lymfadenopatií a s jedním nebo více symptomy infekce opičími neštovicemi.

**Při ošetřování pacienta a odběru vzorků je naprosto nutné dodržovat BSL2 režim i v případě předchozího očkování ošetřujícího personálu proti variole.**

- 1) pacientovi je třeba věnovat pozornost ihned při příchodu do zdravotnického zařízení a při podezření na opičí neštovice ho izolovat a vyšetřit přednostně
- 2) zdravotnický personál má při kontaktu s pacientem a zejména při klinickém vyšetření použít jednorázový plášť, jednorázové nitrilové (nesmí být latexové) rukavice, respirátor FFP2, ochranu očí

Pozn.: pro zabránění přenosu infekce je nejdůležitější důsledně se vyhnout přímému kontaktu s lézemi pacienta a se všemi kontaminovanými předměty bez rukavic, používání rukavic a striktní hygiena rukou je zcela prioritní.

## Odběr vzorků a vyšetření v SZÚ

Vzhledem ke zvýšenému výskytu planých neštovic je nutné, aby pacientovi byla před odesláním do SZÚ provedena **základní diferenciálně diagnostická vyšetření**, včetně vyloučení infekcí způsobených herpetickými viry (VZV, HSV-1, HSV-2), **ve zdravotnickém zařízení, které mu poskytuje zdravotní péči**. Vyšetření v místě klinické péče je vždy rychlejší a obvykle optimálnější z hlediska řešení akutního problému.

Biologické vzorky od pacientů se suspektními příznaky je třeba doručit do vyšetřující laboratoře v SZÚ **co nejdříve po vyslovení podezření**.

**Všechny suspektní vzorky s pozitivně detekovanými orthopoxviry bez bližšího určení musí být zaslány do SZU ke confirmaci (zbytky klinického materiálu a izolovaná DNA).**

**V průvodní žádance na vyšetření je naprosto nezbytné precizně uvést dostupné anamnestické údaje a popis vývoje klinického stavu s časovou osou, případně též výsledky již provedených vyšetření.**

## Vyšetření v SZÚ

### 1. PCR

Jako základní diagnostické vyšetření provádí NRL pro chřipku a nechřipková respirační onemocnění pomocí RT PCR detekující specifický úsek genomu společný pro všechny monkeypox viry. Současně je možné touto metodou rozlišit dvě aktuálně známé cirkulující klády tohoto viru West Africa strain a Congo basin strain.

### 2. Elektronová mikroskopie

Negativní materiály mohou být v odůvodněných případech vyšetřeny v NRL pro průkaz infekčních agens elektronovou mikroskopií.

**Primární klinické materiály** určené k vyšetření a k zaslání do SZÚ jsou uvedeny v následující tabulce.

Nejvhodnějším materiálem pro vyšetření ELMI je sterilně odebraná vezikulární tekutina z 2-3 eflorescencí nebo krusta z 2-3 eflorescencí. V prodromální fázi (pouze ILI příznaky), je možné odebrat stěr z horních cest dýchacích.

Všechny klinické materiály se uchovávají a transportují při teplotě 2 – 8 °C ve sterilní zkumavce. Odběrové tampóny z kožních lézí se vkládají suché do sterilní zkumavky bez přidání virologického transportního média, nesmí být použit inaktivační roztok.

Vzorky se transportují v trojbalu (tzv. pathopacku) označeném UN 2814.

## Příjem vzorků

Klinické vzorky se nesmějí mrazit, musí být doručeny do 24 hodin od odběru při teplotě (2-8°C) do Národní referenční laboratoře pro chřipku a nechřipková respirační virová onemocnění SZÚ budova 4, zvonek „chřipka“ v pracovních dnech v době od 7,30 do 15,00 hodin. Pokud bude vzorek doručen do 12,00 hodin, bude znám výsledek PCR vyšetření téhož dne, v případě pozdějšího doručení, bude výsledek znám následující den.

**Bude-li požadováno vyšetření vzorků v SZÚ mimo běžnou pracovní dobu (tj. pondělí až pátek 7,30 až 15,00 hodin) nebo o víkendech, je nutná telefonická domluva předem na čísle 724 362 602 nebo 725 191 368.**

Typ biologického materiálu	Metoda	Způsob odběru
krev (nesrážlivá v EDTA)	ELMI/PCR	cca 9,0 ml krve odebrané do zkumavky s EDTA, posílat především v prodromální fázi nebo v případě komplikovaného klinického průběhu
vezikulární tekutina	ELMI/PCR	přímý odběr vezikulární tekutiny z 2 - 3 vezikul do insulinové stříkačky, zaslaný v kryozkumavce o objemu 1,5 – 2 ml s vnějším závitem, je možné celou stříkačku i s jehlou vložit do vhodného ochranného pouzdra (nepoužitá sterilní zkumavka od suchého stěru bez tamponu, kovový tubus)
stěr z erozí/lézí	ELMI/PCR	2 vzorky - razantní odběr z 2 – 3 lézí větším dacronovým tamponem nikoli tampóny určené pro stěry z HCD) do sterilní suché zkumavky nebo do 0,5 ml sterilního fyziologického roztoku nebo PBS
stěr z horních cest dýchacích (NSP) případně z erozí/lézí v dutině ústní	ELMI/PCR	1 vzorek - stěr z nasopharyngu a oropharyngu (2 tampóny do jedné zkumavky s 1 ml sterilního fyziologického roztoku nebo PBS), posílat především v prodromální fázi a fázi s nálezem enanthemu
krusta	ELMI/PCR	krusty z 2-3 lézí do 2 prázdných sterilních zkumavek (2 až 3 krusty do každé zkumavky)

## Doporučená cílená PCR – orthopox diagnostika pro terénní laboratoře:

V blízké budoucnosti bude na trhu dostupná CE IVD PCR diagnostika specifická pro MPXV od výrobců Bioperfectus a LifeRiver, první 3 pozitivní/negativní detekce těmito soupravami je třeba zaslat na potvrzení do SZÚ (NRL pro chřipku a nechřipková virová respirační onemocnění).



Další soupravu nabízí výrobce Altona, která je pouze RUO, ale pravděpodobně bude doporučena WHO stejně jako předchozí soupravy tohoto výrobce.

WHO, prostřednictvím sítě EVD Labnet uveřejnilo 3 protokoly pro in house PCR (čerpající z dřívějších publikací):

- ✓ Schroeder K, Nitsche A. Multicolour, multiplex real-time PCR assay for the detection of human- pathogenic poxviruses. Mol Cell Probes. 2010 Apr;24(2):110-3
- ✓ Li Y, Zhao H, Wilkins K, Hughes C, Damon IK. Real-time PCR assays for the specific detection of monkeypox virus West African and Congo Basin strain DNA. Journal of virological methods. 2010;169(1):223-7.

## Reference a užitečné odkazy:

- Public Health England: Monkeypox: information for primary care  
[https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/850059/Monkeypox\\_information\\_for\\_primary\\_care.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/850059/Monkeypox_information_for_primary_care.pdf)
- ECDC. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/risk-assessment-monkeypox-multi-country-outbreak>
- WHO. Monkeypox  
[https://www.who.int/healthtopics/monkeypox#tab=tab\\_1](https://www.who.int/healthtopics/monkeypox#tab=tab_1)
- Monkeypox cases confirmed in England -GOV.UK  
<https://www.gov.uk/government/news/monkeypox-cases-confirmed-in-england-latest-updates>
- Massachusetts public health officials confirm case of monkeypox | Mass.gov <https://www.mass.gov/news/massachusetts-public-health-officials-confirm-case-of-monkeypox>
- CDC. Monkeypox | Poxvirus | <https://www.cdc.gov/poxvirus/monkeypox/clinicians/index.html>
- ECDC. Factsheet for health professionals on monkeypox  
<https://www.ecdc.europa.eu/en/all-topics-z/monkeypox/factsheet-health-professionals>
- ECDC. Monkeypox cases reported in UK and Portugal  
<https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/monkeypox-cases-reported-uk-and-portugal>

