

## Příušnice: odběr, skladování a transport klinického materiálu, laboratorní diagnostika a klinický obraz onemocnění u vakcinovaných osob

MUDr. Radomíra Limberková, SZÚ Praha, NRL pro zarděnky, spalničky, parotitidu a parvovirus B19

### VZORKY PRO SÉROLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Biologický materiál: cca 5-7 ml srážlivé venózní krve, ideálně akutní a rekonvalescentní vzorek (párové sérum)

#### Optimální doba odběru:

1. vzorek krve (akutní): 5. až 7. den od počátku klinické manifestace (v prvních dnech onemocnění nemusí být IgM protilátky detekovatelné)
2. vzorek krve (rekonvalescentní): minimálně 10 dní od prvního odběru

#### Podmínky pro skladování:

plná krev – před doručením do laboratoře maximálně 24 hodin při pokojové teplotě nebo 72 hodin při teplotě 2 – 8 °C (po této době je nutné provést separaci séra)

separované sérum – před doručením do laboratoře maximálně 5 dní při teplotě 2 – 8 °C, dlouhodobé skladování při teplotě -20 °C ± 5 °C

#### Podmínky pro transport do laboratoře:

venózní krev či sérum je možné transportovat při pokojové teplotě, pokud byl vzorek séra před transportem zmražený, je nutné tuto skutečnost uvést na žádance o vyšetření

### VZORKY PRO VIROVOU DETEKCI

Biologický materiál: bukalně orální stěr (sliny), moč, mozkomíšní mok

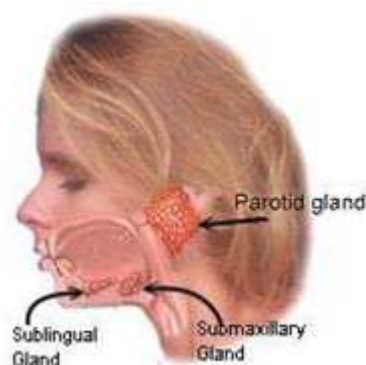
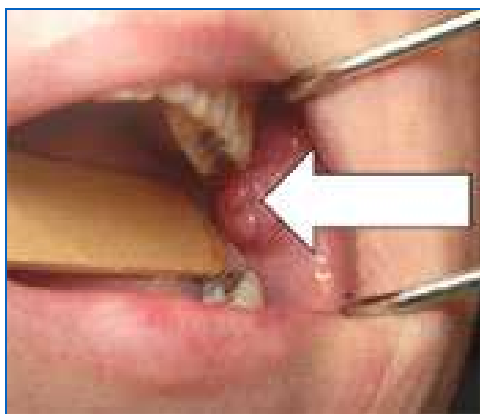
#### 1. Bukálně orální stěr (sliny)

**Optimální doba odběru:** co nejdříve, ideálně do 4. až 5. dne od počátku klinické manifestace, nejpozději 9. den (platí pro primoinfekce, u vakcinovaných již nemusí být virus detekovatelný, neboť ho neutralizují rychle stoupající IgG protilátky)

**Provedení odběru** (nejlépe ráno, nalačno, před ústní hygienou):

stěr co největší plochou odběrového tampónu (syntetické jsou vhodnější než bavlněné, které mohou obsahovat látky zpomalující enzymy používané v PCR)

- cca 30 sekundová masáž oblasti kolem Stensenova vývodu příušní žlázy (oblast v blízkosti horních zadních stoliček mezi tváří a zuby)
- razantní opakovaný stěr bukalní sliznice od horní stoličky k dolní
- zalomení odběrového tampónu do zkumavky se 2 ml standardního virového transportního média (VTM)



Zdroj: CDC - Illustration of Parotid Gland and Instructions for Collection of Buccal Fluid

#### **Podmínky pro skladování:**

před doručením do laboratoře 24 (max. 48) hodin při teplotě 2 – 8 °C, dlouhodobé skladování -20 °C ± 5 °C (ideálně -70 °C ± 5 °C)

#### **Podmínky pro transport:**

bukálně orální stěr je nutné transportovat při teplotě 2 – 8 °C, pokud byl vzorek před transportem zmražen, nesmí při přepravě rozmrznout (chladicí box)

#### **Zpracování bukálního stěru (slin) v laboratoři:**

optimálně do 24 hodin od doručení, nejdříve za hodinu od provedení odběru

- zkumavka se krátce protřepe
- tampón se sterilně vymačká o okraj zkumavky a zlikviduje jako infekční odpad
- zkumavka se vzorkem se sterilně uzavře

#### **2. Moč (méně vhodná než vzorky z dutiny ústní, náročnější na uchování a rychlost transportu a rovněž na zpracování)**

**Optimální doba odběru:** co nejdříve, ideálně do 4. až 5. dne od počátku klinické manifestace (později nemusí být virus v moči detekovatelný)

#### **Provedení odběru:**

50 ml první ranní moči do sterilní nádoby

#### **Podmínky pro skladování:**

před doručením do laboratoře 24 (max. 48) hodin při teplotě 2 – 8 °C, dlouhodobé skladování -20 °C ± 5 °C (ideálně -70 °C ± 5 °C) není možné bez předchozí centrifugace a resuspendace močového sedimentu do 2 ml virového transportního média (viz níže)

#### **Podmínky pro transport:**

moč je nutné transportovat při teplotě 2 – 8 °C (chladicí box), pokud byl vzorek moči po centrifugaci resuspendován do VTM a zmražen, nesmí při přepravě rozmrznout (chladicí box)

### **Zpracování moči v laboratoři:**

optimálně do 24 hodin od doručení

- centrifugace 15 minut při 2500 x g a teplotě 4 °C
- resuspendace sedimentu do 2 ml VTM, supernatant se zlikviduje jako infekční odpad
- zkumavka se vzorkem se sterilně uzavře

### **3. Mozkomíšní mok**

**Optimální doba odběru:** co nejdříve od klinických projevů postižení centrálního nervového systému (meningoencefalitida, encefalitida)

#### **Provedení odběru:**

minimálně 1 ml mozkomíšního moku do sterilní nádoby

#### **Podmínky pro skladování:**

před doručením do laboratoře 24 hodin při teplotě 2 – 8 °C, dlouhodobé skladování -20 °C ± 5 °C (ideálně -70 °C ± 5 °C)

#### **Podmínky pro transport:**

mozkomíšní mok je nutné transportovat při teplotě 2 – 8 °C (chladicí box), pokud byl vzorek zmražen, nesmí při přepravě rozmraznout (chladicí box)

## **SÉROLOGICKÝ OBRAZ U PRIMOINFIKOVANÝCH A VAKCINOVANÝCH OSOB**

Pro správnou interpretaci sérologického nálezu je nutné znát nejen začátek klinické manifestace, ale také vakcinační stav pacienta. Oba tyto údaje mají zásadní vliv na výsledek sérologického vyšetření a jeho následnou interpretaci a měly by tedy být uvedeny na žádance o vyšetření. Do 3. až 4. dne od počátku onemocnění nemusí být v séru detekovatelné IgM a IgA protilátky bez ohledu na vakcinační status, protilátky IgG pak mohou být negativní (primoinfikovaní, vakcinovaní), hraniční (vakcinovaní) i pozitivní (vakcinovaní). V sérech odebraných přibližně od 5. dne klinické manifestace jsou mezi primoinfikovanými a vakcinovanými již zásadní rozdíly.

U primoinfikovaných osob jsou v akutních sérech pozitivní IgM a IgA protilátky, protilátky IgG jsou negativní a při vyšetření párového vzorku séra dochází k signifikantnímu vzestupu protilátek. V rekonvalescentním séru je možné detekovat nízkoavidní IgG protilátky.

U vakcinovaných je sérologický nález charakterizován poměrně častou negativitou IgM protilátek a vysokými titry IgG protilátek (desetitisíkové hodnoty) již v prvním vzorku séra. Při vyšetření párového séra nemusí díky vysokým hodnotám IgG protilátek v prvním vzorku dojít k signifikantnímu vzestupu protilátek; IgM protilátky mohou vykazovat sérokonverzi, ale u cca 20 % v minulosti vakcinovaných pacientů mohou být IgM protilátky negativní i v tzv. rekonvalescentním vzorku séra. Dalším charakteristickým rysem je nález vysokoavidních IgG protilátek v rekonvalescentním séru.

Tabulka 1 Charakteristické sérologické nálezy u primoinfikovaných a vakcinovaných osob

	I. odběr 5. – 7. den od počátku onem.	II. odběr min. 10 dní od prvního odběru
Primoinfikovaní	IgM +	IgM ++
	IgA +	IgA ++
	IgG -	IgG ++
	Avidita IgG – nelze stanovit	Avidita IgG nízká
Vakcinovaní	IgM - /±/ +	IgM - /±/ +
	IgA -/±/ +	IgA ±/ +
	IgG - /±/ + /+++	IgG +++
	Avidita IgG nízká	Avidita IgG vysoká

### KLINICKÝ OBRAZ U PRIMOINFIKOVANÝCH A VAKCINOVANÝCH OSOB

Klinická kritéria ([EU Commission Decision](#) of 8 August 2012):

- Horečka a nejméně dva z následujících projevů:

- Náhlý nástup jedno- nebo oboustranného bolestivého otoku příušní nebo podčelistní či podjazykové slinné žlázy bez jiné zjevné příčiny
- Orchitis
- Meningitis

U vakcinovaných osob bývá průběh onemocnění mírnější a výskyt komplikací (orchitis, meningitis) je méně častý než u primoinfikovaných. Příušnice mohou rovněž probíhat pod obrazem nespecifických respiračních symptomů či jako subklinická infekce (30 – 40 %).

**Poznámka:** VTM lze nahradit buněčným kultivačním médiem – MEM nebo Hanksův solný roztok - či jiným sterilním isotonickým roztokem (např. fosfátový pufr ve fyziologickém roztoku). Je nutné vzít v úvahu, že přítomnosti bílkoviny v médiu (např. 1 % hovězího albuminu, 0,5 % želatiny nebo 2 % séra) stabilizuje virus. Viry bez přítomnosti bílkoviny v médiu ztrácí i při chladničkové teplotě 90 až 99 % infekčnosti během 2 hodin. Je možné provést také suchý stěr se zalomením odběrového tampónu do prázdné zkumavky. Pro tyto účely je vhodné použít tampóny typu flocced swab (Copan flocced swabs nebo Dacron swabs), které působí na mikroorganismy elektrostatickou a kapilární silou. Není vhodné provádět suchý stěr bavlněným námotkem, u něhož buňky jen ulpívají mezi jednotlivými vlákny, kromě toho může bavlna obsahovat inhibitory enzymů PCR.

**VTM JE ZDARMA K DISPOZICI V NRL, jejich odběr je nutné předem domluvit na telefonních číslech 26708 2412, 2400, 2504, 2234 případně na pohotovostním mobilu 724362602.**