

PŘÍUŠNICE: ODBĚR, SKLADOVÁNÍ A TRANSPORT KLINICKÉHO MATERIÁLU, LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA A KLINICKÁ KRITÉRIA

KLINICKÁ KRITÉRIA PAROTITIS EPIDEMICA dle Commission Implementing Decision (EU) 2018/945

Horečka a nejméně jeden z následujících projevů:

- náhlý nástup jedno- nebo oboustranného bolestivého otoku příušní nebo podčelistní či podjazykové slinné žlázy bez jiné zjevné příčiny
- orchitis
- meningitis

Poznámka NRL: 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 %).

KLINICKÝ MATERIÁL

1. VZORKY PRO SÉROLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

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

Optimální doba odběru:

- 1. vzorek krve (akutní): 5. až 7. den od počátku klinické manifestace (v prvních dnech onemocnění nemusí být IgM protilátky detekovatelné, u reinfekcí se nemusí objevit vůbec)
- 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 teplotě 2 – 8 °C
- pokud byl vzorek séra před transportem zmrazený, je vhodné zajistit, aby během přepravy nerozmrzl

2. VZORKY PRO VIROVOU DETEKCI

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

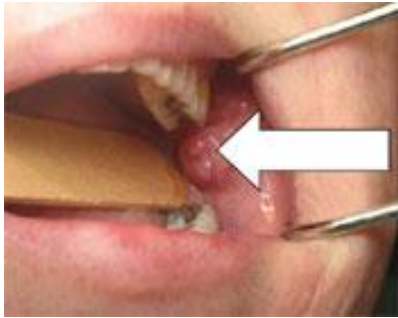
2.1. Bukálně orální stěr (sliny)

Optimální doba odběru:

- co nejdříve, ideálně do 3. až 5. dne od počátku klinické manifestace,
- u primoinfikovaných osob nejpozději do 9. dne (pravděpodobnost zachytu virové RNA se v čase snižuje)
- u reinfikovaných osob (v minulosti vakcinovaných) již nemusí být virus odebraný po 5. dni 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

VTM lze nahradit buněčným kultivačním médiem (např. MEM) nebo Hanksovým solným roztokem – či jiným sterilním isotonickým roztokem (např. fosfátový pufr ve fyziologickém roztoku). Je nutné vzít v úvahu, že přítomnost 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 bavlna může obsahovat inhibitory enzymů PCR.

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:

- bukalně orální stěr je nutné transportovat při teplotě 2 – 8 °C, pokud byl vzorek před transportem zmražen, nesmí při přepravě rozmraznout (chladič box)

2.2. 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 významnému vzestupu protilátek.

V rekonvalescentním séru je možné detekovat nízkavidní IgG protilátky.

U vakcinovaných je sérologický nálezn charakterizován poměrně častou negativitou IgM protilátek a vysokými titry IgG protilátek (desetitisícové hodnoty) již v prvním vzorku séra. Při vyšetření párového séra nemusí díky vysokým hodnotám IgG protilátek v prvním vzorku dojít k významnému 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 nálezn vysokoavidních IgG protilátek v rekonvalescentním séru.

Charakteristické sérologické nálezy u primoinfekcí a reinfekcí (v minulosti vakcinované osoby)

	I. odběr 5. – 7. den od počátku onemocnění	II. odběr min. 10 dní od prvního odběru
Primoinfekce	IgM +	IgM ++
	IgA +	IgA ++
	IgG -	IgG +
	Avidita u IgG -/nelze stanovit	Avidita IgG nízká
Reinfekce	IgM -/±/+	IgM -/±/+
	IgA -/±/+	IgA ±/+
	IgG -/±/+/+++	IgG +++
	Avidita IgG nízká	Avidita IgG vysoká

Virologická transportní média jsou zdarma k dispozici v NRL, vyzvednout je lze po telefonické domluvě na 267 082 412 nebo 724 362 602.