



HRADECKÉ VIROLOGICKÉ DNY XXIII. Celostátní konference virologů 22. – 23. října 2019

Nové Adalbertinum, Velké nám. 32, Hradec Králové



ÚSTAV KLINICKÉ MIKROBIOLOGIE



KRÁLOVÉHRADECKÝ
KRAJ



Vážení účastníci XXIII. ročníku Hradeckých virologických dnů, milí přátelé,

jsme rádi, že vás všechny můžeme přivítat opět v Hradci Králové, letos již po třiatřicáté, na Hradeckých virologických dnech.

Jako každý rok, i letos jsme se snažili sestavit odborný program s důrazem na hlavní téma konference, klinickou virologii. Rozvojem poznání původců, porozumění patogenese virových infekcí a uplatněním citlivých, specifických a rychlých diagnostických metod se virologie, stejně jako bakteriologie nebo parazitologie, zařadila mezi klinické obory a stala se nezastupitelným partnerem kliniků. Je samozřejmě nutné spojit znalost možností virologické laboratorní diagnostiky se schopností interpretovat nálezy ve spojitosti s klinickým obrazem a ostatními laboratorními nálezy u pacienta. Klinicko-virologické konzultace jsou pro validní zhodnocení výsledku velmi důležitou součástí naší práce. Jsme rádi, že na naši letošní konferenci budou prezentovány kazuistiky, které jsou společnou prací klinika a virologa. Mnohé klinické případy virových nákaz jsou všeobecně známy, ale některé méně časté, které jsou zde popisovány, mohou být impulsem i vodítkem pro další práci náš všech. Součástí klinické virologie je i rychlá aplikace nových diagnostických metod, které k objasnění etiologie infekce výrazně pomáhají. V odborném programu jsme se také soustředili na léčbu některých virových infekcí. Průkaz rezistence virů a jejich mutant na virostatika u imunosuprimovaných pacientů, kterých rapidně díky rozvoji medicíny přibývá, musí být zařazen do běžné klinicko-virologické diagnostiky. I letos budeme opět diskutovat ožehavé téma epidemie spalniček v České republice. Velice si ceníme zájmu a příspěvků našich kolegů, veterinárních virologů, kteří k šíři a kvalitě odborného programu výrazně přispívají. Pokaždé máme velkou snahu vás všechny sestaveným odborným programem zaujmout a doufáme, že se to podaří i letos.

V odborných i přátelských diskuzích budeme pokračovat večer 22. října při společenském večeru v příjemných prostorách historického Nového Adalbertina. Teze jednotlivých odborných příspěvků si můžete připomenout v knize abstrakt, kterou vydáváme i letos.

Přeji nám všem úspěšné třiatřicáté Hradecké virologické dny a příjemný pobyt v podzimním Hradci Králové.

Za organizátory XXIII. Hradeckých virologických dnů,



MUDr. Vlasta Štěpánová, Ph.D.



doc. MUDr. Helena Žemličková, Ph.D.
odborný garant akce

Záštitu nad XXIII. Celostátní konferencí virologů převzali:

prof. MUDr. Vladimír Palička, CSc., dr. h. c.
ředitel FN Hradec Králové

prof. MUDr. Jiří Mandák, Ph.D.
děkan LF UK v Hradci Králové

PhDr. Jiří Štěpán, Ph.D.
hejtman Královéhradeckého kraje

©

Ústav klinické mikrobiologie

Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Hradci Králové

2019

ODBORNÝ PROGRAM

XXIII. Hradecké virologické dny, 22. – 23. října 2019
Nové Adalbertinum, Hradec Králové

Úterý 22. října 2019

08:30 - 10:00 Registrace, instalace přihlášených posterů

10:00 - 12:30 Uvítání a Odborný program

Slavnostní zahájení konference

Lenka Rysková, zastupující přednostka ÚKM FN a LF UK, Hradec Králové
Jiří Štěpán, hejtman Královéhradeckého kraje
Vladimír Palička, ředitel FN, Hradec Králové
Jiří Mandák, děkan LF UK, Hradec Králové

Odborný program

Vlasta Štěpánová, ÚKM FN a LF UK, Hradec Králové:
Od prvních objevů ke klinické virologii

Petr Hubáček, ÚKM FN Motol a 2. LF UK, Praha:
Možnosti interpretace genetické diagnostiky

Kateřina Roubalová, Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha:
Možnosti vyšetřování buněčné imunity proti oportunním virovým infekcím

Vratislav Němeček, NRL pro HIV/AIDS, SZÚ, Praha:
Aktuální situace ve výskytu HIV/AIDS v ČR

Petra Vašíčková, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno:
Molekulární epidemiologie viru hepatitidy A v ČR – záchyt kmenů spojených s evropskou epidemií virové hepatitidy A postihující převážně muže mající sex s muži

12:30 - 14:00 Přestávka na oběd

14:00 - 16:00 Odborný program

Lenka Hobzová, Odd. nemocniční hygieny FN, Hradec Králové:
Praktické zkušenosti s výskytem varicelly na Porodnicko-gynekologické klinice Fakultní nemocnice Hradec Králové

Zuzana Hermanová, Klinika infekčních nemocí FN a LF UK, Hradec Králové:
Závažný průběh klíšťové meningoencefalitidy

Věra Pellantová, Klinika infekčních nemocí FN a LF UK, Hradec Králové:
CMV primoinfekce v 3. trimestru gravidity

Marcel Bena, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno:
Prase divoké – rezervoár virových a parazitárních agens patogenních nejen pro člověka

Pavel Boštík, Univerzita obrany, FVZ, Hradec Králové:
Zobrazovací metody při studiu patogeneze virových onemocnění

Ondřej Hovorka, SVEN BioLabs s. r. o., Praha:
Automatizace v klinické laboratoři

16:00 - 16:30 Přestávka s občerstvením

16:30 - 18:30 Odborný program

Eva Beranová, KHS Královéhradeckého kraje, Hradec Králové:
Spalničky v Královéhradeckém kraji 2019

Renata Kračmarová, Klinika infekčních nemocí FN a LF UK, Hradec Králové:
Stevens-Johnsonův syndrom indukovaný varicellou

Daniel Růžek, Biologické centrum AV ČR, v. v. i., České Budějovice:
Post-expozici profylaxe u klíšťové encefalitidy – ano či ne?

Magdaléna Krásna, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno:
Multiplexní detekční panel zvířecích virů založený na technologii xMap

Miroslava Krzyžánková, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno:
Optimalizace metody pro detekci virových částic v mase a masných výrobcích

19:30 - 23:00 Společenský večer s občerstvením

Středa 23. října 2019

08:30 - 10:30 Odborný program

Barbora Macková, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, SZÚ, Praha:
Situace a spolupráce s NRL, možnosti EHK v lékařské mikrobiologii

Radovan Slezák, Stomatologická klinika FN a LF UK, Hradec Králové:
Neobvyklé formy primární infekce vyvolané HSV v dutině ústní

Jan Machač, Klinika infekčních nemocí FN a LF UK, Hradec Králové:
Hemoragická horečka s renálním syndromem hantavirové etiologie

Hana Zelená, NRL pro arboviry, ZÚ, Ostrava:
Žlutá zimnice importovaná do České republiky

Hana Zákoucká, Oddělení STI, SZÚ, Praha:
Akutní syfilitická aortitida

Pavla Vykydalová, DiaSorin Czech s. r. o., Praha:
Potřeba rychlé PCR diagnostiky chřipky

10:30 - 11:00 Přestávka s občerstvením

11:00 - 13:30 **Odborný program**

Petr Hubáček, ÚKM FN Motol a 2. LF UK, Praha:

Virové infekce u hematologických nemocných

Šárka Němečková, Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha:

Buněčná a protilátková odpověď proti antigenům viru BK u pacientů po transplantaci krvetvorných kmenových buněk

Eva Vejražková, IV. interní klinika FN a LF UK, Hradec Králové:

Rezistence CMV na ganciclovir u pacientů po alogenní transplantaci krvetvorných kmenových buněk – reálná data transplantačního centra

Ruth Tachezy, Katedra genetiky a mikrobiologie, PřF UK a ÚHKT, NRL pro

papillomaviry a polyomaviry, Praha:

HPV pozitivní dlaždicobuněčný karcinom orofaryngu u manželského páru

Jakub Hrdý, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno:

xMAP technologie – multiplexní systém pro rychlý průkaz virů spojených s alimentárními nákazami

Miroslav Fajfr, ÚKM FN a LF UK, Hradec Králové:

Spalničky – laboratorní zkušenosti s lokální epidemií

Radka Bolehovská, ÚKM FN a LF UK, Hradec Králové:

Genotypizace spalničkového viru

Radomíra Limberková, NRL pro spalničky, SZÚ, Praha:

Spalničky z pohledu Národní referenční laboratoře

13:30 - 14:00 **Ukončení konference**

Vlasta Štěpánová, ÚKM FN a LF UK, Hradec Králové

SBORNÍK ABSTRAKT

Odborná vzdělávací akce je pořádána
dle Stavovského předpisu ČLK č. 16 a hodnocena 12 kredity.

ORGANIZÁTOŘI

Pořadatel:

Ústav klinické mikrobiologie

Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařská fakulta UK v Hradci Králové

Organizační zajištění akce:



Alena Sanders, Project Manager, +420 606 096 006

alena.sanders@novacekandpartners.com

www.novacekandpartners.com

Od prvních objevů ke klinické virologii

Vlasta Štěpánová

Ústav klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Hradec Králové

Virové infekce provázely lidstvo od počátků jeho historie. S růstem populace, během častých válek i přírodních katastrof a v souvislosti s migrací celých národů ve starověku, středověku, ale i v novověku docházelo k velkým epidemiím virového původu, např. pravých neštovic, poliomyelitidy a ve 20. století chřipky. Předpokládá se, že se v historii některé infekce z endemických oblastí Asie a Afriky do Evropy rozšířily prostřednictvím kupeckých karavan a dále během velkých zámořských objevů do oblastí jižní Afriky, Jižní i Severní Ameriky.

Spektrum virových infekcí se v posledních desetiletích výrazně změnilo od „klasických“ ve prospěch infekcí postihujících imunokompromitované pacienty (např. herpetické viry, polyoma viry). Vzhledem k oteplování klimatu dochází k rozšíření a importu agens dříve netypických pro danou oblast (např. West Nile Virus a další arboviróvé infekce ve střední a západní Evropě). Velký význam nabývají virové chronické infekce jako hepatitidy, HIV/AIDS.

I když virus jako biologická jednotka byl identifikován až na přelomu 19. a 20. století (zakladatelem virologie je považován holandský mikrobiolog Beijerinck a ruský Dmitrij Ivanovskij), základy klinické mikrobiologie a virologie byly dány již v předchozím století pokusy se zavedením vakcinace proti variole Edwardem Jennerem, pokusy a objevy Louise Pasteura nebo stanovením postulátů Roberta Kocha. V 1. polovině 20. století dochází k rychlému rozvoji přímé virologické diagnostiky – objevy elektronového mikroskopu, zavedení kuřecích embryí a tkáňových kultur do diagnostiky. Zavedením sérologických metod přibyla v diagnostice možnost průkazu specifických protilátek proti virovým agens. Oba typy klasického průkazu virů sice přispěly k objasnění etiologie infekce, ale v podstatě až po uzdravě pacienta a retrospektivně.

Metody diagnostické virologie byly významně zrychleny po zavedení imunoenzymatických metod v 80. letech 20. století, které umožnily detekci virových antigenů a jednotlivých tříd protilátek a objasnily vztah virové infekce ke klinickému obrazu pacienta. Zásadním objevem pro klinickou virologii bylo objasnění struktury DNA a uvedení metody PCR do diagnostiky v roce 1985. Na přelomu 20. a 21. století dochází k velkému rozvoji molekulárně biologických metod, od klasické a nested PCR k real-time PCR, multiplexovým metodám. Pro potřeby klinické virologie, kdy výsledek dostaneme během 1 hodiny, slouží metody FilmArray pro identifikace panelu virů (bakterií, hub), které představují nejčastější etiologická agens klinického syndromu. Díky rozvoji expresních imunoenzymatických a molekulárně biologických metod dochází v klinickém pohledu k zaměření na diferenciální diagnostiku pacientova onemocnění. Můžeme použít panel virových gastroenteritid, respiračních virů, původce infekcí CNS, urogenitálních infekcí, exantematických či kongenitálních infekcí z biologického vzorku během 1-2 hodin. Klinická virologie při dostatku validních

informací o pacientovi umožňuje interpretaci výsledků a přispívá ke stanovení diagnózy. Aby byla co nejpřesnější, je nutná úzká spolupráce klinika s laboratoří a komplexní virologické vyšetření podle suspektní fáze onemocnění. Pro strmě vzrůstající počty pacientů v léčbě imunosupresivními léky z důvodu onemocnění nebo po transplantacích orgánů a tkání je nutné tyto nemocné sledovat též metodami antivirové specifické buněčné imunity.

K tématu klinické virologie patří i antivirová terapie a sledování její účinnosti, určení genotypu virů i průkaz virové rezistence. To nám umožňují metody sekvenace virového genomu, které byly do diagnostiky zavedeny na začátku 21. století.

Možnosti interpretace genetické diagnostiky

Petr Hubáček

Ústav klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice Motol a 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Praha

Během posledních 20 let došlo k výraznému rozšíření metod molekulární biologie a genetiky do mikrobiologické diagnostiky. Zatímco se tato přímá detekce například v klinické virologii stala základní diagnostickou technikou, do dalších částí mikrobiologie proniká tato detekce výrazně pomaleji a to i přes nesporné výhody spojené s rychlostí a možnostmi cílené diagnostiky většiny myslitelných patogenů.

Důvody opatrného šíření do zbylých částí mikrobiologie je spojen nejen s tradičním přístupem k přímé diagnostice, ale často také s limity diagnostiky genetických metod. Mezi ně patří například vysoká senzitivita vlastní PCR detekce, kterou ale limituje například vstupní objem materiálu, který je použitý pro získání nukleové kyseliny, nebo obtíže při izolaci nukleových kyselin například u mykotických infekcí. Na druhou stranu možnost kvantifikace lákavě zvyšuje možnosti posouzení dopadu jednotlivých agens na klinický stav pacienta a možnosti detailní detekce jednotlivých kmenů patogenů pak umožňuje detailní epidemiologickou analýzu některých klinických situací.

Pro správnou interpretaci je ale nutné si uvědomit také specifitu provedené detekce a především biologie a patofyziologie nalezené infekce, která je základní pro správné odebrání biologického vzorku a pozitivní detekci, je v určitých situacích nutné interpretovat velmi obezřetně, zejména v souvislosti s klinickým stavem pacienta a jeho vývojem.

Moderní metody molekulární genetiky jsou rozhodně účinným nástrojem diagnostiky a epidemiologie, přesto je třeba takto generované výsledky interpretovat, stejně jako u jiných technik, vždy z pohledu pacienta a výhod i úskalí, která mu tento způsob detekce může přinést.

Podpořeno MZ ČR – RVO, FN v Motole 00064203.

Možnosti vyšetřování buněčné imunity proti oportunním virovým infekcím

Kateřina Roubalová¹, Jana Žlábková², Eva Hamšíková³, Petr Hainz¹, Jitka Kryštofová¹, Šárka Němečková¹

¹Oddělení imunologie, ²Transfúzní oddělení, ³NRL pro papillomaviry, ⁴Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

Specifická buněčná imunita proti lidskému cytomegaloviru, viru Epsteinova a Barrové, polyomaviru BK a adenoviru u zdravých dospělých dárců. Porovnání citlivosti interferon γ -release ELISA a ELISPOT.

Úvod a cíl

Herpetické viry, polyomaviry, či adenoviry jsou původci závažných oportunních infekcí u jedinců s vrozeným nebo získaným defektem buněčné imunity. Monitorování virus-specifické buněčné imunity je významné pro jejich prognózu a léčbu. Pro tyto účely jsou vhodné testy, založené na krátkodobé stimulaci lymfocytů pacienta specifickými antigeny ex vivo a následném měření reakce pomocí detekce produkovaného interferonu γ (interferon γ -release assay, IGRA). Naším cílem bylo navrhnout test, který by bylo možno pro tyto účely využít v širokém laboratorním měřítku, a ověřit jeho účinnost na souboru vzorků od dobrovolných dárců.

Metody

Test IGRA-ELISA: Do kultivační destičky aplikováno 50 μ l krve a 150 μ l media, obsahujícího specifické antigeny a kostimulační protilátky proti CD28 a CD49d (Exbio). Stimulace 24 hod v CO₂ inkubátoru. Koncentrace IFN γ (IU/ml) v kultivačním mediu stanovena pomocí ELISA (ELISA-VIDITEST IFN γ , Vidia). ELISPOT: Leukocyty (PBMC), naředěné v kultivačním mediu s kostimulačními protilátkami a specifickými antigeny, aplikovány na destičku pro ELISPOT, potaženou chytací protilátkou proti IFN γ (Mabtech). Po stimulaci 20 hod. buňky odmyty a spoty IFN γ (SFC) imunohistochemicky obarveny. Specifickými antigeny byly v obou testech směsi syntetických peptidů (PepMixy, JPT peptides), odvozené od imunodominantních proteinů BKV, CMV, EBV a ADV. Stimulace PHA a medium bez stimulans sloužily jako kontroly. Sérologie: IgG protilátky proti CMV a BKV stanoveny pomocí ELISA.

Výsledky

Pomocí IGRA-ELISA byla naměřena odpověď proti antigenům CMV u 78 % CMV-séropozitivních, proti EBV1 (BZLF1 + EBNA3) u 75 % a EBV2 (EBNA1 + LMP2) u 63 % EBV-séropozitivních, proti BKV u 70 % BKV-séropozitivních a proti adeno 3 a adeno 5 u 94 % a 63 % dárců. Záchyt pozitivit v ELISPOT byl 100 % pro CMV, 93 % a 73 % pro EBV1 a EBV2, 86 % pro adeno 3, 64 % pro adeno 5 a jen 44 % pro BKV. Vzorky od CMV- a BKV- séronegativních dárců byly negativní v obou testech. Reaktivita na antigeny CMV byla v obou testech významně vyšší v porovnání s odpovědí na ostatní agens. Poměry hodnot ELISPOT/ELISA byly individuálně značně rozdílné. Lymfocyty aktivované antigeny ADV byly silnými producenty IFN γ , kdežto lymfocyty aktivované antigeny CMV nebo EBV1 byly slabšími producenty.

Závěr

Vyšetření z plné krve pomocí IGRA-ELISA je vhodné pro screening specifické buněčné imunity proti CMV, EBV a adenovirům u imunokompetentních jedinců, např. u potenciálních dárců buněk pro imunoterapii refrakterních infekcí po transplantacích. Možnost využití tohoto testu u imunodeficientních pacientů je nutno ještě ověřit. Pro testování specifické buněčné imunity u pacientů s lymfopenií je vhodnější ELISPOT.

Aktuální situace ve výskytu HIV/AIDS v ČR

Vratislav Němeček, Marek Malý

Národní referenční laboratoř pro HIV/AIDS, Státní zdravotní ústav, Praha

Počet nově zjištěných případů infekce HIV v ČR od r. 2002 (50 případů) výrazně narůstal až do r. 2016 (286 případů). Přes tento nárůst je výskyt nových případů infekce HIV v ČR nízký a hodnota 2,7 případů/100 000 obyvatel v r. 2016 řadí ČR ke státům s nejnižším počtem v Evropě (spolu Maďarskem, Slovenskem a státy bývalé Jugoslávie). V ČR naprosto převládá sexuální způsob přenosu HIV (kumulativně za období 2009-2018 94,3 %), přičemž přenos homosexuální dominuje se 73,6 %, heterosexuální přenos se podílí 20,7 %. Příznivá je skutečnost, že přenos injekčním užíváním drog je v ČR velmi nízký (kumulativně 2,7 %).

V letech 2017 a 2018 došlo k výraznému poklesu nově zachycených případů HIV celkem o 28 %. Pokles byl zjištěn hlavně u občanů ČR a mužů majících sex s muži. Za hlavní příčinu poklesu považujeme zavedení doporučeného postupu zahajování léčby bezprostředně po zjištění HIV positivity, které kromě pozitivního efektu na zdraví a dobu přežití pacientů má i protiepidemický efekt. V důsledku výrazného poklesu replikace viru a tím zásadního snížení infekčnosti léčených pacientů se omezuje počet zdrojů infekce HIV v populaci. Zatím nelze predikovat další vývoj v počtu nových případů HIV. Data za osm měsíců roku 2019 však naznačují, že pokles nebude nadále pokračovat.

V posledním desetiletí cca 30 % z nově zachycených případů HIV je u rezidentů, tj. cizinců s dlouhodobým pobytem, a ti tak tvoří další významnou skupinu, na kterou je třeba zaměřit preventivní opatření a programy.

Závažnou skutečností jsou tzv. pozdní záchyty, definované počtem CD4+ lymfocytů nižším než 350/mm³. Mezi nově zjištěnými případy HIV tvoří cca 30 %, ještě výraznější je jejich podíl u nových případů AIDS, kdy v posledních 10 letech mělo 60-80 % z nich AIDS již v době záchytu infekce HIV.

SZÚ připravil s využitím matematického modelu ECDC odhady počtu dosud nediodagnostikovaných případů HIV v ČR (cca 550 osob k roku 2018).

Molekulární epidemiologie viru hepatitidy A v ČR – záchyt kmenů spojovaných s evropskou epidemií virové hepatitidy A postihující převážně muže mající sex s muži

Petra Vašíčková¹, Matúš Mihalčín², Pavel Chalupa³, Marcel Bena¹, Miroslava Krzyžánková¹, Anna Ogrocká¹

¹*Bezpečnost potravin a krmiv: Virologie potravin, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno, ²Klinika infekčních chorob, Fakultní nemocnice, Brno, ³Klinika infekčních, parazitárních a tropických nemocí, Nemocnice Na Bulovce, Praha*

Virus hepatitidy A (HAV) je původce akutního zánětu jater, virové hepatitidy A (VHA). Přenos tohoto agens probíhá nejčastěji fekálně orální cestou ve spojení s přímým kontaktem s infikovaným, kontaminovanými potravinami či vodou. Právě díky souvislosti HAV s kontaminovanými potravinami a vodou probíhá na oddělení Bezpečnost potravin a krmiv Výzkumného ústavu veterinárního lékařství, v. v. i., v Brně od roku 2014 molekulárně epidemiologická studie zaměřena na výskyt kmenů tohoto viru v České republice. K tomuto účelu jsou sekvenovány specifické oblasti genomu (HAV VP1 – 1117 nt a HAV VP1-P2A – 467 nt) zachycených virů. Získané sekvence jsou analyzovány, porovnávány mezi sebou a se sekvencemi dostupnými v mezinárodní databázi GenBank. Dosud takto byly analyzovány viry pocházející z klinického materiálu 455 pacientů.

V rozmezí června 2016 až srpna 2018 bylo v Evropě hlášeno 4475 souvisejících případů VHA. Tato rozsáhlá epidemie postihla zejména muže mající sex s muži (MSM), kteří nebyli proti tomuto onemocnění očkováni. Jako původci byly charakterizovány tři kmeny HAV (VRD_521_2016, RIVM-HAV16-090 a V16-25801). Následně byl jejich výskyt potvrzen ve 22 evropských zemích. Proto se naše pozornost zaměřila také na tyto kmeny. Minimálně 99,3 % podobnost specifických oblastí genomu HAV s výše uvedenými kmeny byla zjištěna u kmene VRD_521_20 v devíti případech, RIVM-HAV16-090 ve dvanácti případech a u V16-25801 ve čtyřech případech. Nicméně tato shoda nemusí znamenat, že u všech těchto případů se jednalo o souvislost evropskou MSM epidemií. Cílem příspěvku je seznámit posluchače s výsledky naší studie a možnostmi interpretace získaných dat.

Práce byla provedena s podporou grantu Ministerstva zdravotnictví (MZ 17-31921A) a za laskavého přispění pracovníků Krajských hygienických stanic a infekčních oddělení FN Brno a Nemocnice Na Bulovce.

Praktické zkušenosti s výskytem varicelly na Porodnicko-gynekologické klinice Fakultní nemocnice Hradec Králové

Lenka Hobzová¹, Šárka Rumlarová²

¹*Oddělení nemocniční hygieny, Fakultní nemocnice, Hradec Králové, ²Klinika infekčních nemocí, Fakultní nemocnice, Hradec Králové*

Plané neštovice jsou vysoce nakažlivé horečnaté onemocnění s exantémem. Kontagiozita onemocnění je vysoká, u osob v úzkém kontaktu je attack rate 60-100 %.

Na porodnicko-gynekologickém oddělení představuje výskyt planých neštovic závažný problém, nejen medicínský, ale i organizační.

Ve sdělení jsou použity kazuistiky z FN HK, cílem je nastínit závažnost situace. Při každém případě výskytu varicelly na této klinice se provádí epidemiologické šetření zaměřené na identifikaci všech osob v kontaktu. Zjišťuje se charakter kontaktu, stav imunity kontaktů a anamnestické údaje o prodělání nemoci. Pozornost věnujeme těhotným a imunosuprimovaným osobám, které plané neštovice dosud neprodělaly nebo nebyly řádně očkovány. Na základě zhodnocení stavu imunity a charakteru expozice se provádí případně pasivní imunizace, eventuálně se podávají antivirotika. Neimunní osoby v kontaktu z řad zaměstnanců jsou vyloučeny z kontaktu s těhotnými a dětmi.

Na základě našich zkušeností lze doporučit preventivní zjištění stavu imunity zaměstnanců na porodnicko-gynekologických odděleních, případně očkování neimunních osob s cílem zabránit dalšímu šíření nemoci a k zajištění provozu oddělení.

Závažný průběh klíšťové meningoencefalitidy

Zuzana Hermanová, Petr Prášil, Stanislav Plíšek

*Klinika infekčních nemocí Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy,
Hradec Králové*

V krátkém sdělení si dovoluujeme prezentovat těžký průběh klíšťové meningoencefalitidy u doposud zcela zdravého 52letého, neočkovaného muže. Onemocnění probíhalo pod obrazem meningomyeloradikulitidy s kvadruparézou končetin, postižením funkce dýchacích svalů a parézou lícního nervu.

CMV primoinfekce ve 3 trimestru gravidity

Věra Pellantová, Renata Kračmarová

*Klinika infekčních nemocí Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy,
Hradec Králové*

Autoři prezentují kasuistiku 27leté ženy v 30. týdnu gravidity, hospitalizované na našem pracovišti září 2018 pro protrahovaný febrilní stav s respirační symptomatikou, mírnou elevací jaterních testů, středně zvýšenou hodnotou CRP. V panelu vyšetření byla prokázána pozitivita PCR na CMV v krvi a ve sputu, byla zvažována diagnóza CMV pneumonitidy. Vzhledem ke graviditě byla nemocná залéčena valacyclovirem. Gynekologické vyšetření (amniocentéza) v době hospitalizace vyloučilo intraamniální zánět. Porod následoval ve 34. týdnu pro předčasný odtok plodové vody, dítě je dispenzarizováno v poradně pro rizikové novorozence, na základě vyšetření PCR krve a moči u něj byla prokázána primoinfekce CMV.

Prase divoké – rezervoár virových a parazitárních agens patogenních nejen pro člověka

Marcel Bena^{1,2}, Petra Vašíčková¹, Iva Slaná¹, Monika Kubánková¹, Jakub Drimaj², Markéta Hušáková¹, Radim Plhal¹, Ondřej Mikulka², Jiří Kamler²

¹Oddělení bezpečnosti potravin a krmiv, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno, ²Mendelova univerzita v Brně, Lesnická a dřevařská fakulta, Ústav ochrany lesa a myslivosti, Brno

Zvýšený výskyt a s tím spojený lov prasat divokých (*Sus scrofa* L.) je v poslední době velmi aktuální téma, hlavně díky výskytu afrického moru prasat, působení škod na zemědělských pozemcích a osidlování městských parků. Prase divoké je přirozeným hostitelem a významným rezervoárem řady patogenů, které jsou přenosné na ostatní zvířata a také na člověka. S narůstajícím odlovem roste také logicky spotřeba a distribuce zvěřiny, a tím také dochází ke zvyšování rizika nákazy díky konzumaci nevhodně upraveného masa a vnitřností. Proto byla jedna z našich studií věnována méně medializovaným, přesto závažným problémům, jimiž jsou například výskyt viru hepatitidy E, prasečího herpesviru 1 (virus Aujeszkyho choroby), *Toxoplasma gondii* či *Trichinella spiralis*.

Cílem bylo zmapovat výskyt výše uvedených patogenů v populaci prasat divokých v České republice. Použitím molekulárně biologických metod (qPCR, RT-qPCR) byly na přítomnost těchto patogenů analyzovány vzorky celkem od 361 prasat divokých z 22 lokalit rozmístěných po celé České republice. Odběry probíhaly v loveckých sezónách 2015/2016 a 2016/2017.

Virus hepatitidy E a virus Aujeszkyho choroby byly zjištěny v alespoň jednom analyzovaném vzorku u 54 (15 %) a 13 (4 %) zvířat. Přítomnost *Toxoplasma gondii* byla prokázána ve vzorcích 23 (6 %) prasat divokých. Jediný patogen, u kterého nebyla prokázána přítomnost v žádném z analyzovaných vzorků, byla *Trichinella spiralis*.

I přesto, že se zjištěná prevalence jeví u zkoumaných patogenů nízká, neměli bychom ji podceňovat. V lovecké sezóně 2017/2018 bylo odloveno více než 230 tis. prasat divokých. Při prokázání 15 % výskytu viru hepatitidy E, by tato prevalence znamenala, že tímto virem může být infikováno až 35 tis. zvířat, která by mohla sloužit jako rezervoár viru hepatitidy E.

Výzkum probíhal s podporou Ministerstva zdravotnictví (MZ 17-31921A) a Ministerstva vnitra České republiky (VI 20152020044).

Zobrazovací metody při studiu patogeneze virových onemocnění

Pavel Boštík^{1,2}, Radek Sleha², Petr Prášil¹, Francois Villinger³

¹Infekční klinika Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Hradec Králové, ²Katedra epidemiologie, Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany, Hradec Králové, ³New Iberia Research Center, Lafayette, Los Angeles, USA

Úvod

Oblast diagnostických a experimentálních metod ve virologii zaznamenala v posledních desetiletích prudký rozvoj, zejména v souvislosti s pokrokem v molekulárně biologických metodách. Nové postupy spočívají ve využití postupů umožněných technologickým pokrokem v různých oblastech – miniaturizace, nové formy monitoringu hodnot, nové materiály a zařízení. Zajímavá jsou ale i použití stávajících metodologií ve zcela netradičních souvislostech.

Cíl

V prezentaci jsou představeny komerčně dostupná metoda kvantitativního hodnocení virulence a zcela experimentální technologie, která umožňuje celotělové sledování pohybu virových částic při infekci.

Metody

PET-CT metodika se značením lentivirových částic je použita na celotělové sledování pohybu virionů po experimentální infekci. Virulence klinických izolátů *Varicella Zoster* viru je kvantifikována v reálném čase pomocí cytopatického efektu na tkáňových kulturách.

Výsledky

Pomocí experimentální adaptace PET-CT metody je možné sledovat, distribuci virionů po experimentální infekci virem SIV v organismu a jejich specifickou lokalizaci v jednotlivých orgánech. Tato data umožňují identifikovat primární cílové struktury lentiviru po infekci hostitele.

Sledováním cytopatického efektu vyvolaného růstem VZV na buněčných kulturách v reálném čase je možné poměrně přesně kvantifikovat virulence jednotlivých izolátů. Po doplnění sekvenčními daty u jednotlivých izolátů lze korelovat genomické varianty s virulencí a na základě genetických odchylek identifikovat faktory virulence viru.

Závěr

Pokrok ve studiu patogeneze virových onemocnění mohou přinést nejen nové, komerčně dostupné metody, ale i zcela experimentálně vyvinuté metodiky na bázi postupů aplikovaných původně zcela jiným způsobem. Sledování distribuce virionů v experimentálních modelech může u dosud nevyčísitelných onemocnění přinést důležité poznatky o patogenezi následně využitelné v hledání efektivní terapie. Kvantifikace virulence geneticky rozdílných virových izolátů může vést k objasnění faktorů ovlivňujících průběh onemocnění.

Automatizace v klinické laboratoři

Ondřej Hovorka

SVEN BioLabs s. r. o., Praha

Automatizace v klinické laboratoři umožní nejen zvýšit prostup a kapacitu laboratoře, ale také zabránit variacím popřípadě chybám způsobených lidským faktorem.

Pro Izolaci nukleových kyselin nabízíme systémy Zinexts MagPurix využívající technologii magnetických partikulí. Tyto CE-IVD certifikované systémy provedou izolaci DNA či RNA u 1-12 vzorků z téměř jakéhokoli myslitelného substrátu do 50 minut včetně problematických vzorků jako FFPE řezy nebo CFC DNA. Nejnovější systém SoniMag využívající kombinaci magnetické separace a ultrazvukového promíchávání dokáže NK izolovat již za 20 minut a to dokonce až z 20 ml objemů!

Dále naše společnost nabízí plně automatizovatelnou pipetovací stanici Opentrans OT2, která díky možnosti využití integrovaných magnetických a temperovacích podložek izolovat nukleové kyseliny řadou technologií a následně purifikáty přenést do integrovaného PCR cyklu, který provede finální amplifikaci. Celý proces je tak integrován do jediného systému, kdy obsluha pouze vloží vzorek, připraví provozní reagenty a spustí příslušný program. Proces pak proběhne automaticky od začátku až do konce bez nutnosti jakéhokoli lidského zásahu.

Automatizovaná promývačka Western blot membrán FlexiWash ušetří práci a čas při značení a promývání membrán. Umožňuje zcela nezávisle promývat až 4 membrány, každou s vlastními reagenty a různými programy.

Spalničky v Královéhradeckém kraji 2019

Eva Beranová a kolektiv epidemiologie

Krajská hygienická stanice Královéhradeckého kraje, Hradec Králové

Úvod

Přesto, že spalničky svými epidemiologickými charakteristikami splňují kritéria infekce, která může být celosvětově eliminována až eradikována, došlo v posledních letech především na evropském kontinentu k výraznému nárůstu incidence tohoto v nedávné historii málo frekventního onemocnění. Od roku 2018 zaznamenáváme zhoršení epidemiologické situace ve výskytu spalniček prakticky ve všech krajích České republiky, a to zejména z důvodu poklesu celkové proočkovanosti a importu dané nákazy především z Ukrajiny. Sdělení se zaměřuje na problematiku šíření spalniček v Královéhradeckém kraji, popis práce epidemiologa v ohnisku a význam související mezioborové spolupráce.

Cíl

Cílem sdělení je obeznámit účastníky konference s vývojem epidemiologické situace ve výskytu onemocnění spalničkami v Královéhradeckém kraji, prezentovat výsledky epidemiologických šetření v první polovině roku 2019 a připomenout význam mezioborové spolupráce při zajišťování opatření k zamezení dalšího šíření nákazy.

Metody

Pro vyhodnocení celorepublikových i krajských přehledů byla využita a zpracována data ze systému EPIDAT a z Informačního systému infekčních nemocí (ISIN). Analýza vstupních dat byla provedena retrospektivně a byla využita deskriptivní epidemiologická metoda práce.

Výsledky

V Královéhradeckém kraji byl v první polovině roku 2019 (zejména od konce února do konce dubna) zaznamenán zvýšený výskyt onemocnění spalničkami. Postiženo bylo celkem 72 osob ve věku od 8 měsíců do 75 let. Jednalo se o 50 potvrzených, 9 pravděpodobných a 13 možných případů nákazy. Postiženy byly i osoby očkované v dětství. Na Trutnovsku došlo k protražovanému epidemickému výskytu spalniček v kolektivu specializovaného výrobního závodu. Ve spolupráci s infektology se podařilo odhalit i zdroj této lokální epidemie.

Závěr

Zkušenosti z řešení tohoto v novodobé epidemiologické historii nejpočetnějšího výskytu onemocnění spalničkami v Královéhradeckém kraji za poslední desítky let ukázaly, že zásadní roli v identifikaci případů má zejména správná a včasná diagnostika, která závisí především na informovanosti klinických lékařů dotčených odborností. Primární je zejména zajištění cíleného klinického a laboratorního vyšetření v rámci diferenciální diagnostiky, neprodlených základních protiepidemických opatření a následné epidemiologické šetření s navazujícím zajištěním přísných karanténních opatření. Zejména díky příkladné spolupráci s Klinikou infekčních nemocí a s pracovníky virologie Ústavu klinické mikrobiologie FN Hradec Králové, ale i na základě úspěšné spolupráce s ostatními laboratořemi a zdravotníky v kraji

včetně spolupráce s NRL pro spalničky, zarděnky, parotitidu a parvovirus B19, SZÚ-CEM, se od května 2019 podařilo situaci v Královéhradeckém kraji stabilizovat.

Stevens-Johnsonův syndrom indukovaný varicellou

Renata Kračmarová¹, Pavel Kosina¹, Jiřina Bartoňová², Věra Pellantová¹, Šárka Rumlarová¹

¹Klinika infekční nemoci Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Hradec Králové, ²Klinika nemocí kožních a pohlavních Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Hradec Králové

Stevens-Johnsonův syndrom je závažná imunopatologická reakce s poškozením kůže a sliznic. Inzultem bývají nejčastěji léky, ale v etiologii se mohou uplatnit i infekční příčiny. Nejčastěji uváděným agens v této souvislosti je *Mycoplasma pneumoniae*, literární prameny zmiňují i herpetické infekce. Varicella je jako induktor rozvoje SJS mimořádně vzácná a kromě klinické závažnosti stavu působí tato situace i značné diagnostické obtíže, které autoři dokumentují na dvou předkládaných kazuistikách.

Post-expoziční profylaxe u klíšťové encefalitidy – ano či ne?

Daniel Růžek^{1,2}

¹Oddělení virologie, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno, ²Laboratoř arbovirologie, Parazitologický ústav, Biologické centrum Akademie věd České republiky, v. v. i., České Budějovice

Klíšťová encefalitida (KE) je jednou z nejvýznamnějších virových infekcí centrálního nervového systému člověka. KE se vyskytuje napříč euroasijským kontinentem – od západní Evropy, přes Rusko až po Japonsko. Účinnou prevencí před nákazou virem KE je očkování. Na území Ruské federace je dostupný též preparát obsahující specifické lidské imunoglobuliny proti viru KE, který je aplikován jako post-expoziční profylaxe, jakmile se prokáže, že na člověku sálo infikované klíště. Včas podaný preparát poskytuje ochranu před rozvojem KE u téměř 80 % subjektů. V Evropě (mimo území Ruské federace) bylo používání post-expoziční profylaxe KE zastaveno kvůli obavám z protilátkami zesílené infekčnosti viru KE po podání imunoglobulinového preparátu. V současné době je věnována značná pozornost vývoji nové generace preparátů pro post-expoziční profylaxi KE. Příspěvek bude kriticky analyzovat možné riziko protilátkami zesílené infekčnosti u KE, bude popsán mechanismus neutralizace viru protilátkami a budou zmíněny nejnovější trendy vývoje post-expoziční profylaxe u KE. Bude diskutována otázka možného opětovného zavedení post-expoziční imunoglobulinové profylaxe v zemích Evropské unie.

Multiplexní detekční panel zvířecích virů založený na technologii xMap

Magdaléna Krásna, Petra Vašíčková

Oddělení bezpečnosti potravin a krmiv, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno

Současná společnost je velmi dynamická s téměř neomezením pohybem lidí, zvířat i potravin. Tím je ulehčeno šíření patogenů i do míst, kde se dosud nebyl zjištěn jejich výskyt. Jedním z možných lehkých přenosných a poměrně odolných agens jsou viry, které mohou představovat riziko pro zdraví lidí i zvířat (nejen z pohledu nezávadného zdroje potravin). Klíčovým faktorem k eliminaci šíření potenciálních nálezů je včasná diagnostika. Proto je naším cílem připravit robustní a dostatečně citlivý multiplexní detekční systém, který je schopen prokázat významné původce virových infekcí zvířat (se zaměřením na prasata domácí) v rámci jedné reakce a výrazně tak snížit dobu potřebnou ke komplexní analýze vzorků.

Metodická část je postavena na existující technologii xMap (Luminex, Texas, USA). Koncept této technologie pracuje s možností multiplexní ligace s eventuální detekcí až 50 cílů. V případě RNA virů je detekce zahájena reverzní transkripcí. Následuje ligace sond cílených na specifické oblasti genomu sledovaných agens a jejich následná amplifikace. V posledním kroku dochází k detekci fluorescenčního signálu, pomocí přístroje MAGPIX (Luminex, Texas, USA), kdy k emisi signálu dochází po hybridizaci fluorescenčně značených ampliconů s magnetickými mikrosférami.

V současné době jsou navrženy detekční systémy k identifikaci viru afrického moru prasat a prasečí herpesvirus 1 (původce Aujeszkyho choroby). Oba viry patří mezi významné patogeny ohrožující chov prasat domácích i divokých. V případě Aujeszkyho choroby je možný přenos i na jiné zvířecí druhy. Nadále pracujeme na rozšíření panelu o další významné viry postihující prasata domácí i divoká, kterých byl prokázán zoonotický potenciál (např. původce chřipky).

Práce byla provedena s podporou grantu Ministerstva zdravotnictví (MZ 17-31921A) a Ministerstva vnitra České republiky (VI 20152020044).

Optimalizace metody pro detekci virových částic v masu a masných výrobcích

Miroslava Krzyžánková, Petra Vašíčková

Oddělení bezpečnosti potravin a krmiv, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno

Mezi nejvýznamnější virové patogeny přenášené potravinami se řadí zejména virus hepatitidy A a noroviry. Tato agens jsou odpovědná za vznik četných epidemií s významným dopadem na zdraví obyvatelstva, přičemž jako vehikulum může sloužit jakákoli potravina rostlinného i živočišného původu. Kvůli omezení jejich šíření a propuknutí epidemií spojených s kontaminovanými potravinami je nutná včasná a spolehlivá detekce těchto agens. Jejím nezbytným předpokladem je dostatečně efektivní izolace virových částic, nebo přímo virových nukleových kyselin z dané potraviny. Pro některé matrice, např. drobné ovoce, zelenina, mořské plody a pitná voda jsou tyto metody již standardizovány (ISO 15216-1). Pro maso a lahůdkové masné výrobky standardizace zatím neexistuje. Proto cílem současných studií je vývoj a optimalizace metod pro izolaci virových částic nebo virových nukleových kyselin z masa a masných výrobků.

K tomuto účelu byly vybrány vzorky masa a masných výrobků uměle kontaminovány částicemi in vitro připraveného bakteriofága MS2. Následně byly provedeny tři typy oplachů alkalickými elučními roztoky pro získání virových částic a dva typy oplachu lyzačními roztoky pro přímou izolaci nukleových kyselin (TRIreagent®). Obsah cílových virových nukleových kyselin byl kvantifikován RT-qPCR. Po srovnání výtěžnosti uvedených postupů byla stanovena metoda, která pro většinu uvedených matric poskytovala nejvyšší účinnost a robustnost.

Srovnáním metod oplachu v alkalickém prostředí a oplachu pomocí TRIreagent® bylo pozorováno, že alkalická eluce je mnohem méně účinná ve srovnání s přímou izolací nukleových kyselin. Z toho důvodu byly následně porovnány metody pro přímou izolaci nukleových kyselin – koncentrovaný TRIreagent® a směs TRIreagent®+PBS.

Dle získaných výsledků přímá izolace nukleových kyselin z matrice se jeví jako nejvhodnější metoda izolace pro matrice masa a masných výrobků. TRIreagent® s PBS poskytuje řádově srovnatelné výsledky ve srovnání s koncentrovaným roztokem TRIreagent®. Tento postup poskytne vhodné řešení problematiké analýzy potravin živočišného původu.

Práce byla provedena s podporou grantů MZ 17-31921A a TAČR GAMA – Proof of Concept, r.č.TG03010038.

Situace a spolupráce s NRL, možnosti EHK v lékařské mikrobiologii

Barbora Macková

Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha

Centrum epidemiologie a mikrobiologie (CEM) sdružuje mimo jiné 26 NRL a NRC, které mají stanoveny úkoly a povinnosti nejen zákony ČR, ale i požadavky EU, WHO, IHR 2005 a ECDC. NRL jsou zapojeny do systémů hlášení a včasného varování v oblasti kontroly infekčních onemocnění dle požadavků ECDC a WHO.

NRL se věnují těmto oblastem: bakteriální vzdušné nákazy, bakteriální rezistence na antibiotika, mykobakterie, respirační, střevní a exantematické virové nákazy, sexuálně přenosné nemoci, zoonózy s přírodní ohniskovostí, stafylokokové a alimentární bakteriální infekce, dezinfekce, sterilizace, dezinfekce a deratizace, infekce spojené se zdravotní péčí. Jejich zaměření je dáno jednak potřebami surveillance dle epidemiologických podmínek v ČR, a také situací v Evropě a ve světě. NRL provádějí laboratorní a diagnostickou činnost včetně superkonsiliární služby, čímž doplňují a upřesňují laboratorní nálezy v souladu s diferenciální diagnostikou a především s ohledem na všechny aspekty ochrany veřejného zdraví i zdraví jednotlivce, dále činnost metodickou a referenční. Jsou součástí nadnárodních sítí NRL (Evropa i WHO).

Nedílnou součástí CEM je Oddělení epidemiologie infekčních nemocí, jež se podílí na monitoringu a analýzách epidemiologické situace na národní a mezinárodní úrovni. CEM zajišťuje také činnost vzdělávací a výzkumnou, úzce spolupracuje s Oddělením biostatistiky SZÚ a vydává bulletin Zprávy CEM.

Laboratoře CEM jsou akreditovány ČIA od 2001 jako zkušební laboratoře (17 025), od 2005 jako zdravotnické laboratoře (15 189) a od 2010 i jako Poskytovatel programů zkoušení způsobilosti (17 043).

Kontrola kvality v mikrobiologických laboratořích je nedílnou součástí správné laboratorní praxe. Proto byl již v roce 1993 spuštěn systém externího hodnocení kvality (EHK) v lékařské mikrobiologii a tento rok je v běhu již jeho 25. ročník. Přínosem systému zkoušení způsobilosti laboratoří je nejen kontrola správnosti v laboratořích nastavených postupů, ale i jeho edukativní charakter. Systém výrazně přispívá k vyrovnání kvality práce a konkurenceschopnosti jednotlivých laboratoří v celé ČR.

I přesto je hlavním cílem sdělení poukázat na konkrétní a velmi pravděpodobný přenos infekce VHC podáním transfúzního přípravku (TP) z trutnovské transfúzní stanice onkologicky nemocné pacientce od fluktuujícího a nespolehlivého mladého dárce, který byl přitom zařazen do Registru trvale vyřazených dárců krve ještě před vydáním inkriminovaného TP vzhledem k dodatečně zjištěnému pozitivnímu testu na přítomnost viru hepatitidy C.

Neobvyklé formy primární infekce vyvolané HSV v dutině ústní

Radovan Slezák¹, Vlasta Štěpánová², Martin Šembera¹, Vladimíra Radochová¹

¹*Stomatologická klinika Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Hradec Králové*, ²*Ústav klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Hradec Králové*

Úvod

Primární infekce vyvolané HSV se vyskytují v typických věkových kategoriích, přičemž jeví relativně typický průběh a klinický obraz. Klinický nález lze verifikovat virologickým vyšetřením. V přednášce jsou diskutována dvě sledování, jež svým průběhem, klinickým obrazem, věkem a celkovým zdravotním stavem postižených jedinců neodpovídají obecně přijímaným poznatkům.

Cíl a metody

Práce hodnotí klinické, virologické a další laboratorní nálezy.

Výsledky

Obě pozorování byla učiněna v netypickém věku. Průběh choroby, charakter a distribuce intraorálních slizničních projevů neodpovídaly primární herpetické gingivostomatitidě. Virologická vyšetření však svědčila pro HSV primoinfekci v obou popsáných případech.

Závěr

Popsaná klinicko-laboratorní pozorování nejsou v souladu s tradovanými poznatky o výskytu a klinickém obrazu intraorální primární infekce vyvolané HSV. Svědčí o měnícím se klinickém obrazu tohoto postižení a o měnícím se spektru postižených jedinců.

Hemoragická horečka s renálním syndromem hantavirové etiologie

Jan Machač¹, Petr Prášil¹, Stanislav Plíšek¹, Věra Pellantová¹, Pavel Gebouský¹, Renata Kračmarová¹, Jan Maňák²

¹*Klinika infekčních nemocí Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Hradec Králové*, ²*III. interní gerontometabolická klinika Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Hradec Králové*

Dvacetitřiletý pacient byl přijat na Klinikou infekčních nemocí (KIN) pro šest dnů trvající horečky, kašel, občasné zvracení a nechutenství. Laboratorně známky rhabdomyolýzy, trombocytopenie, koagulopatie, elevace dusíkatých katabolitů. CRP 56 s nízkou sedimentací. Empiricky nasazena kombinace ceftriaxon + ciprofloxacín + oseltamivir. Postupně otok víček, rozvoj subkonjunktiválních hemoragií a krvácivých projevů na kůži. Opakovaná zobrazovací vyšetření s obrazem progredujícího fluidothoraxu, fluidoperikardu, splenomegalie a edému ledvin. Postupně vzestup CRP, progresse dusíkatých katabolitů a koagulační poruchy. Nově rozvoj proteinurie a vzestup sérových aminotransferáz. Rozsáhlá mikrobiologická, hematologická i revmatologická vyšetření bez průkazu etiologie onemocnění. Pro anamnézu blízkého kontaktu s hlodavci, v druhém sledu odeslána mikrobiologická vyšetření na hantaviry. Do terapie empiricky přidán meropenem v redukované dávce. Pro oligurii podpora diurézy furosemidem. Vzhledem k horšení celkového stavu překládán na interní JIP, kde pokračuje progresse dusíkatých katabolitů až k predialyzačním hodnotám (kreatinin 714 $\mu\text{mol/l}$). Během hospitalizace hlášena pozitivita sérologií a PCR hantavirové RNA (subtyp Dobrava). Do terapie nasazen ribavirin. V dalším průběhu lepší celkový stav, regrese trombocytopenie a pokles zánětlivých markerů. V rámci polyurické fáze renálního selhání rozvoj vydatné diurézy (8-10 l/den) s postupnou úpravou. Přeložen zpět na KIN. Pokračuje pokles diurézy, laboratorně přechodně známky iritace pankreatu mírného stupně. V dobrém stavu propuštěn do domácí péče. Jediným následkem po prodělaném onemocnění zůstává mírná elevace sérového kreatininu (129 $\mu\text{mol/l}$).

Žlutá zimnice importovaná do České republiky

Hana Zelená^{1,2}, Jakub Mrázek¹, Zdeněk Prokeš³

¹Národní referenční laboratoř pro arboviry, Zdravotní ústav, Ostrava, ²Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany, Hradec Králové, ³Infekční oddělení, Nemocnice Prostějov

Úvod

Žlutá zimnice je onemocnění způsobené virem z čeledi Flaviviridae vyskytující se v tropech a subtropích. Ročně je celosvětově hlášeno okolo 200 tisíc případů a 30 tisíc úmrtí. Vyskytuje se ve formě džunglové a městské, hlavním přenašečem je komár *Aedes aegypti*. Projevem nákazy je horečnaté onemocnění provázené jaterním postižením, krvácivými projevy, poškozením ledvin a myokardu. Onemocnění může končit šokem a smrtí. Importované případy do Evropy jsou vzácné, v roce 2018 bylo evidováno celkem 6 importů z Brazílie do Evropy. Nejúčinnější ochranou před nákazou je vakcinace.

Cíl

Jedná se o kazuistiku – cílem je popis průběhu onemocnění, provedených diagnostických postupů a upozornění na možnost importu této infekce u neočkovaných turistů z endemických oblastí.

Metody

U pacientky po návratu z Brazílie bylo vysloveno podezření na žlutou zimnici na základě cestovatelské anamnézy, typické klinické manifestace a výsledků laboratorních vyšetření. Pro potvrzení diagnózy následovalo vyšetření specifických protilátek proti YFV třídy IgG a IgM metodou nepřímé imunofluorescence (EUROIMMUN), konfirmace virusneutralizačním testem (VNT) a přímý průkaz z moče a krve metodou RT-PCR s následnou sekvenací. Průběh onemocnění byl protražovaný s těžkou hepatopatií, ale nakonec došlo k úzdavě.

Výsledky

Výsledky sérologie i RT-PCR a sekvenace potvrdily diagnózu žluté zimnice. Výsledky byly potvrzeny také v zahraniční laboratoři (Erasmus MC Rotterdam, Nizozemsko).

Závěr

Byl potvrzen první případ importu žluté zimnice do ČR u neočkované cestovatelky. Vzhledem k masovému nárůstu turistiky do tropických oblastí je nutno počítat se zvýšeným rizikem importu pro nás dosud raritních endemicky se vyskytujících nákaz a neopomíjet profylaktickou vakcinaci.

Akutní syfilitická aortitida

Hana Zákoucká

Národní referenční laboratoř pro diagnostiku syphilis, Státní zdravotní ústav, Praha

Přestože je syfilis i v současné době poměrně běžné onemocnění (incidence v ČR cca 7 na 100 tisíc obyvatel), patří postižení aorty syfilitického původu mezi vzácné klinické nálezy. Většina lékařů si pak kardiovaskulární manifestaci lues spojuje s terciární syfilis. Ta je v ČR mimořádně vzácná (1-4 případy ročně). Často je diagnostikována náhodou bez klinických obtíží, nebo může být minoritní příčinou nedomykavosti aortální chlopně.

Podstatou této terciární manifestace je však akutní mesaortitida proběhlá v akutní fázi syfilis s následným jizvením zánětlivě změněné tkáně. Příležitost zastihnout právě probíhající akutní zánět vzestupné aorty je zcela ojedinělá. I v mezinárodním kontextu se vyskytují publikace nepříliš často, více se jich objevilo až v posledních letech (2010 až 2017). Zájem o problematiku jistě souvisí se stoupajícím výskytem recentní syfilis celosvětově i s pokrokem v diagnostických možnostech. Léčba onemocnění vyžaduje zvýšenou obezřetnost, ale v podstatě respektuje pravidla stanovená již ve 40. a 50. letech minulého století.

NRL se podařilo v posledním roce zachytit 2 případy akutní syfilis s postižením ascendentní aorty.

Přednáška je zaměřena na diferenciální diagnostiku, verifikaci nálezu a strategii léčby.

Potřeba rychlé PCR diagnostiky chřipky

Pavla Vykydalová

DiaSorin Czech s. r. o., Praha

Chřipka je akutní respirační onemocnění virového původu. Výskyt může být lokální, ale i celosvětový, zejména v zimních měsících. Vzhledem k tomu, že nákaza probíhá převážně vzdušnou cestou, zasáhne každoročně chřipkové onemocnění vysoké procento obyvatelstva s dopadem na celý zdravotně-sociální systém. Klinický průběh je variabilní od lehkých asymptomatických průběhů až po záněty plic nebo srdečního svalu, které ohrožují život pacienta. Jen v České republice každoročně způsobí tato infekce v průměru dva tisíce úmrtí. Období nakažlivosti je u dospělých osob od 1-5 dnů. V současné době existují na trhu detekční systémy pro diagnostiku chřipkových agens. Kit Simplexa™ FLU A/B & RSV Direct Kit firmy DiaSorin umožňuje rychlou diagnostiku chřipkových virů, ale i respiračního syncytiálního viru (RSV) na principu molekulární diagnostiky bez nutnosti extrakce DNA, což zásadním způsobem umožňuje rychle identifikovat patogen a v případě potřeby tak separovat pacienty na lůžkovém oddělení. Potřeba rychlé molekulární diagnostiky je v současné době častým diskutovaným tématem. Jasnou výhodou systému MDX a kitů Simplexa™ FLU A/B & RSV Direct Kit je možnost simultánního běhu několika patientských vzorků, jednoduchá příprava bez potřeby plně vybavené molekulární laboratoře, ale i možnosti použití dalších kitů umožňujících rychlou a přesnou diagnostiku.

Virové infekce u hematologických nemocných

Petr Hubáček

Ústav klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice Motol a 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Praha

Během posledních dvaceti let došlo k významnému posuvu v léčbě hematologických onemocnění; zvýšení účinnosti terapie je však často vykoupeno častějším výskytem jejích nežádoucích účinků jako jsou infekční komplikace. Z virových se pak může jednat jak o běžně se vyskytující infekce, které může pacient získat například během ambulantních kontrol (např. respirační viry jako influenza, RSV, nebo viry gastroenteritid jako např. rotaviry, noroviry, adenoviry a apod.), stejně jako se mohou objevovat reaktivace virů latentně přítomných v organismu (typicky např. herpesviry, polyomaviry).

Od roku 2002 jsme ve FN Motol detekovali přítomnost virů ve více jak 70000 biologických vzorcích od hematologických dospělých a dětských pacientů, většinou po allogenní transplantaci kmenových buněk krvetvorby (HSCT). V přednášce se pokusíme shrnout a na příkladech dokumentovat naši zkušenost s diagnostikou a léčbou zejména u infekcí respiračními viry, lidskými herpesviry a adenoviry. Mimo stupně poškození imunitního systému pak chceme demonstrovat zejména nutnost respektování biologického chování těchto virů pro správnou diagnostiku a léčbu těchto infekcí ať již v rámci kompartmentace virové nálože, délky virové proliferace a jeho vylučování, nebo rozvoje rezistence.

Podpořeno MZ ČR – RVO, FN v Motole 00064203.

Buněčná a protilátková odpověď proti antigenům viru BK u pacientů po transplantaci krvetvorných kmenových buněk

Šárka Němečková¹, Eva Hamšíková¹, Jitka Kryštofová¹, Viera Ludvíková¹, Petr Hainz¹, Markéta Šťastná-Marková²

¹Oddělení imunologie, Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha, ²Transplantační jednotka, Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

Úvod

Infekce virem BK se může spolupodílet na onemocnění hemoragickou cystitidou (HC) u pacientů, kteří podstoupili transplantaci krvetvorných kmenových buněk (HSC).

Cíl

V naší studii analyzujeme imunologické rizikové faktory pro vznik HC asociované s BKV infekcí a chceme určit protektivní hladinu imunity proti BKV.

Metody

Studujeme, zda a jak výše hladiny anamnestických a neutralizačních protilátek pacientů i dárců proti BKV před a po transplantaci souvisejí s průběhem reaktivace BKV infekce. Protilátky stanovujeme metodou ELISA využívající rekombinantní VLP genotypu 1, 2 a 4 a pomocí neutralizačního testu. V některých případech monitorujeme virově specifickou T buněčnou odpověď pacientů proti virovým proteinům VP1 a LTag pomocí ELISPOT-IFN γ a IC FACS. Fenotyp virově specifických T buněk stanovujeme pomocí průtokové cytometrie. Studujeme asociaci s dalšími markery infekce, bereme v úvahu výskyt GVHD a její léčbu, typ přípravného režimu před transplantací a míru neshody v HLA systému.

Výsledky

Budeme prezentovat výsledky sledování skupiny 150 pacientů a jejich dárců HSC.

Závěry

Pacienti, u nichž probíhá replikace BKV následně odpovídají zvýšením jak frekvence virově specifických T buněk, tak i zvýšením hladin specifických protilátek. Dosud jsme zjistili, že hlavními rizikovými faktory pro vznik HC je vysoká hladina BKV DNA v krvi pacienta (109 kopií/ml) a myeloablativní přípravný režim před transplantací.

Studie je financována z grantu 17-31593A-20 AZV MZ ČR.

Klinická a virová rezistence CMV u hematologických pacientů

Eva Vejražková¹, Lenka Plíšková², Vlasta Štěpánová³, Petr Hubáček⁴, Pavel Žák¹

¹IV. interní hematologická klinika, Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Hradec Králové, ²Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Hradec Králové, ³Ústav klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Hradec Králové, ⁴Ústav lékařské mikrobiologie a Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Motol, Praha

Úvod

Preemptivní specifická terapie proti lidskému cytomegaloviru (CMV) sebou nese riziko vzniku virové rezistence. Vznik virové rezistence je stále relativně málo prozkoumanou komplikací léčby CMV u pacientů po transplantaci hematopoetických buněk (HSCT). Cílem práce bylo stanovit incidenci klinické i genotypové rezistence viru na podávaná virostatika u pacientů během 1. roku po HSCT ve Fakultní nemocnici Hradec Králové (FN HK). Byl hledán vztah mezi klinickou rezistencí a rezistencí podmíněnou genotypicky. U pacientů s prokázanou virovou rezistencí byly porovnány metody sekvenční analýzy podle Sangera se Sekvenováním nové generace (NGS).

Metodika

Do prospektivního sledování bylo zařazeno 101 pacientů IV. interní hematologické kliniky FNHK, u kterých byla provedena v časovém rozmezí od 06/2012 do 12/2014 alogenní HSCT. CMV DNAémie byla monitorována pomocí kvantitativní real-time PCR. Sekvenční analýza genů UL97 a UL54 byla prováděna u všech pacientů suspektně rezistentních k léčbě. Za klinickou rezistencí byl považován stav, kdy po minimálně 2 týdnech řádně vedené antivirové terapie došlo k nárůstu CMV nálože alespoň o jeden řád. Byla provedena sekvenční analýza genů UL97 a UL54, získané sekvence byly srovnávány s referenčním kmenem a následně porovnány s databází literárně popsaných mutací. Při průkazu virové rezistence bylo prováděno porovnání metodiky podle Sangera a NGS.

Výsledky

Incidence klinické rezistence CMV byla 7 % (odpovídá 12 % pacientů s anti-CMV léčbou) a incidence virové rezistence byla 3 % (5 % léčených pacientů). Tři případy klinické rezistence byly podmíněny mutací v UL97 (L595F, M460I, A594V). U pacientů s virovou rezistencí byla mutace prokázána pomocí NGS metody o maximálně jeden odběr dříve oproti sekvenaci dle Sangera.

Závěr

Pacienti s prolongovaným podáváním virostatik a s vysokou virovou náloží by měli být pečlivě monitorováni a při diagnóze klinické rezistence by měla být testována citlivost klinického izolátu na podávanou léčbu. NGS analýza dokáže kvantitativně vyjádřit zastoupení mutované subpopulace viru v klinickém izolátu. Je také citlivější a prokáže mutovaný kmen již od 5 % zastoupení.

HPV pozitivní dlaždicobuněčný karcinom orofaryngu u manželského páru

Ruth Tachezy^{1,2}, Martina Saláková^{1,2}, Tereza Frčková¹, Jan Rotnág³, Eliška Rotnáglóvá⁴, Jana Šmahelová^{1,2}

¹Katedra genetiky a mikrobiologie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha, ²Ústav hematologie a krevní transfuze, Národní referenční laboratoř pro papilomaviry a polyomaviry, Praha, ³Klinika otorhinolaryngologie a maxilofaciální chirurgie, Ústřední vojenská nemocnice, ⁴Lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha, ⁴Protonové centrum, Praha

Úvod

Lidské papilomaviry (HPV) jsou malé viry s dvojřetězcovým DNK genomem. Fylogeneticky jsou velmi staré, vyvíjeli se společně se svým hostitelem a nebyla u nich prokázána rekombinace. Tyto vlastnosti jsou důvodem velmi nízké mutační obměny jejich genomu. Nejčastěji se vyskytujícím typem je HPV16. Tento virus je též nejčastějším vyvolavatelem orofaryngeálních karcinomů. Vzhledem k jeho vysoké prevalenci v populaci není možné pouhým určením typu jednoduše zjistit, jak se daný jedinec infikoval. S určitou pravděpodobností lze však toto odhadnout na základě detailní analýzy variabilních oblastí virového genomu.

Cíl

Určit, zda genotyp HPV16, který byl příčinou vzniku orofaryngeálního karcinomu u manželského páru v rozmezí 4 let, je totožný, což by naznačovalo vzájemnou infekci obou jedinců. Či zda se jedná o odlišný izolát, což by svědčilo spíše o infekci de novo u každého z partnerů.

Metody

HPV 16 E6, L1, E2, E5/L2 a dlouhá regulační oblast byla u obou vzorků amplifikována, sekvenována a analyzována pomocí programů Chromas (Technelysium, Austrálie) a LaserGene (DNASTAR, USA). Sekvence jsme porovnávali mezi sebou a s referenční sekvencí HPV 16 (GenBank: K02718.1).

Výsledky

Celkem jsme u páru provedli 5 amplifikačních reakcí a analyzovali 1300 pb genomu HPV16. Výsledky ukazují nukleotidové změny, které svědčí pro nezávislou infekci HPV16 u obou jedinců. Variabilní oblast E5/L2 není u obou vzorků přítomna, patrně z důvodu integrace viru do hostitelského genomu. Integraci viru budeme dále studovat pomocí specifické metody, která mapuje místa spojení viru a hostitelské DNA.

Závěr

Ačkoliv je sexuální přenos HPV infekce mezi páry běžný, v literatuře byly zdokumentovány pouze 3 případy, kdy došlo, s velkou pravděpodobností, k vzájemné infekci HPV16 mezi partnery a ta následně vedla u obou jedinců ke vzniku orofaryngeálního karcinomu.

xMAP technologie – multiplexní systém pro rychlý průkaz virů spojovaných s alimentárními nákazami

Jakub Hrdý^{1,2}, Petra Vašíčková¹

¹Oddělení Bezpečnosti potravin a krmiv, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v-vi, Brno, ²Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, Brno

Mikrobiologická bezpečnost potravin a prostředí, v němž žijeme, je v současnosti intenzivně diskutované téma. Narůstající produkce a globální trh vytváří tlak na zajištění dostatečného množství kvalitních potravin a nezávadných zdrojů pitné vody. Oproti minulosti je v této oblasti zvýšená pozornost věnována i významným virovým agens, a to jak v případě intenzivního výzkumu, tak i rutinní diagnostiky. V současnosti používané metody pro detekci přítomnosti virů však mají velkou nevýhodu v omezené možnosti vytvářet multiplexní systémy pro rychlou detekci většího počtu patogenů. Naším cílem je proto vývoj a validace nové robustní detekční metody, která nám umožní překonat zmíněné omezení současných přístupů.

K vývoji takovéto metody jsme využili kombinace komerčně dostupné technologie xMAP (Luminex, Texas, USA) s multiplexní ligační reakcí. Otevřená architektura tohoto systému nám umožňuje vytvářet systémy s možností detekce až 50 různých cílů v rámci jedné reakce.

Prvním krokem analýzy je reverzní transkripce, poté následuje ligace specifických sond v přítomnosti cílové sekvence. Dalším krokem je amplifikace ligovaných sond. Tyto amplikony nesou fluorescenční signál, který je v poslední fázi analýzy detekován prostřednictvím hybridizace na magnetické mikrosféry a za využití přístroje MAGPIX (Luminex, Texas, USA).

V současnosti máme dostupný detekční panel zaměřený na virové patogeny, které jsou nejčastěji spojovány s případy onemocnění, kdy jsou jako zdroj identifikovány kontaminované potraviny či vodní zdroje. Tento panel je zaměřen na detekci viru hepatitidy A a E, humánních norovirů, adenovirů a rotavirů.

V blízké budoucnosti je plánováno přidávání dalších původců virových onemocnění pro vytvoření dostatečně robustního systému s požadovanou citlivostí, specifitou a spolehlivostí.

Práce byla provedena s podporou grantu Ministerstva zdravotnictví (MZ 17-31921A).

Spalničky – laboratorní zkušenosti s lokální epidemií

Miroslav Fajfr

Ústav klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Hradec Králové

Úvod

Onemocnění virem spalniček je stále aktuálním problémem a podle údajů WHO stojí onemocnění spalničkami celosvětově za 453 000 úmrtími a tvoří tak třetinu všech úmrtí v dětské populaci spojenými s infekcemi preventabilními vakcinací většinou v rozvojových zemích. V rozvinutých regionech se pak spalničky objevují v lokálních epidemiích, často spojených s importem z endemických oblastí. V letošním roce se taková lokální epidemie objevila i v našem kraji. Diagnostika spalniček se opírá o klinický obraz, laboratorní potvrzení (sérologické nebo genetické) a epidemiologickou souvislost.

Materiál a metodika

Celkem bylo v souvislosti s touto lokální epidemií přijato na oddělení kliniky infekčních nemocí 68 pacientů s potvrzenou, pravděpodobnou nebo možnou infekcí spalničkami. V souvislosti se zvýšeným výskytem spalniček v ČR byl také vyšetřen zdravotnický personál vybraných oddělení FN HK na přítomnost protilátek ve třídě IgG.

Výsledky

Věkový průměr pacientů byl 39,2 roku (s rozmezím od 1 roku do 60 let). U všech 42 potvrzených případů byla pozitivní sérologie. V 14,3 % (6/42) potvrzených případů bylo PCR negativní a v 7,1 % (3/42) byla pozitivita PCR pouze na hranici detekce. Pozitivita IgM protilátek byla zachycena pouze u 11,9 % (5/42) případů, hraniční IgM pak u 16,7 % (7/42) případů. Ve 2 případech byla pozitivní pouze PCR bez positivity protilátek ve třídě IgM i IgG. V rámci epidemie došlo také k nákaze 1 zdravotníka, který měl v roce 2018 pozitivní IgG protilátky s hladinou 375 mIU/ml.

Závěr

Závěrem lze konstatovat, že diagnostika případů spalniček není jednoduchá. Pro správnou diagnostiku je z našich zkušeností nezbytné využívat všech možností, tj. kombinace sérologie s vyšetřením párových sér, tak i přímé detekce metodou PCR.

Genotypizace spalničkového viru

Radka Bolehovská¹, Lenka Plíšková², Petr Prášil³, Rudolf Kukla¹, Miroslav Fajfr¹, Vlasta Štěpánová¹

¹Ústav klinické mikrobiologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové, ²Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové, ³Klinika infekčních nemocí, Fakultní nemocnice, Hradec Králové

Úvod

Virus spalniček existuje v jediném antigenním typu, ale genotypově mohou být kmeny odlišné. Klasifikační systém spalniček je tedy založen na genotypové analýze 450 nukleotidů N proteinu (nejvíce variabilní oblast genomu viru spalniček). V dnešní době tento systém definuje 8 clades (A-H) a 24 subclades (A, B1-B3, C1-C2, D1-D11, E, F, G1-G3, H1-H2).

Cíl

Zavedení metody pro genotypizaci viru spalniček a její použití při epidemii v Královéhradeckém kraji v roce 2019.

Metody

Pro genotypizaci použita metoda nested PCR s následnou sekvenací na ABI3500XL. Primery pro obě kola PCR byly vybrány z N genu, která amplifikuje požadovanou oblast 450 nukleotidů potřebnou pro správné rozlišení genotypů.

Výsledky

Zavedená metoda byla použita pro genotypizaci pozitivních pacientů z konce epidemie (období 13. 3. až 10. 4. 2019). Vyšetřeno bylo celkem 11 pacientů z daného období. U 3 pacientů se genotypizace nepodařila, neboť se jednalo o vzorky se slabou pozitivitou RNA spalniček. U 8 pacientů se podařilo pomocí MeaNS databáze dourčit genotyp – v 7 případech se jednalo o genotyp D8 a jedenkrát o genotyp B3. Metoda genotypizace byla také verifikována pomocí externí kontroly kvality (EHK, QCMD MV 2019).

Závěr

Metoda genotypizace spalniček byla úspěšně zavedena a ověřena pomocí EHK a je tak plně použitelná pro možné zjištění epidemiologických souvislostí v případě vzniku dalších epidemií spalniček.

Spalničky z pohledu národní referenční laboratoře

Radomíra Limberková

*Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Národní referenční laboratoř pro spalničky,
Státní zdravotní ústav, Praha*

Od ledna 2018 do konce května 2019 bylo ze 49/53 států evropského WHO regionu nahlášeno více než 160 000 případů onemocnění spalničkami a více než 100 úmrtí. V regionu sice bylo dosaženo 91 % proočkovanosti dvěma dávkami spalničkové vakcíny (2018), nicméně na národní úrovni jsou tato procenta nižší. Nejvážnější je situace na Ukrajině, která uvádí pouhých 31 % vakcinovaných 2 dávkami (2017). Žádoucí 95 % proočkovanost byla v evropském WHO regionu dosažena pouze ve 4 státech (2017), i proto se spalničky Evropou nekontrolovatelně šíří. Epidemiologická situace je natolik závažná, že v květnu 2019 Světová zdravotnická organizace aktivovala 2. stupeň nebezpečí cirkulace viru spalniček v Evropě s cílem mobilizovat potřebné lidské a finanční zdroje k podpoře postižených zemí a získání kontroly nad onemocněním. V České republice byl rovněž zaznamenán klesající trend proočkovanosti, který je, spolu s poklesem postvakcinačních protilátek a značnou migrací obyvatel, zodpovědný za nárůst nemocnosti v posledních letech. V roce 2018 bylo v ČR nahlášeno 207 případů, do poloviny srpna 2019 to bylo již 580 případů spalniček. V obou letech u nás, stejně jako ve zbytku Evropy, dominantně cirkuloval genotyp D8, sporadicky byl zachycen také genotyp B3. Změněná epidemiologická situace se odráží rovněž v laboratorní diagnostice. Ačkoli u nás sérologie i nadále převažuje, roste význam molekulárně biologických metod, které mají ve vysoce proočkované populaci nezastupitelné místo. Zatímco v roce 2017 představovaly vzorky pro PCR necelých 13 % všech zaslaných materiálů do NRL, pak v roce 2018 to bylo 22 % a letos do srpna dokonce 40 % všech vzorků. PCR diagnostiku u nás provádí asi 10 laboratoří, sérologickou diagnostikou spalniček se zabývá asi 60 pracovišť. Národní referenční laboratoř připravuje pilotní sérii vzorků pro externí hodnocení kvality – sérologie spalniček (listopad 2019), neboť sérologická diagnostika spalniček může, díky křížově reagujícím IgM protilátkám a možnému nevhodnému načasování odběru, činit interpretační problémy.

PREZENTACE PARTNERŮ

Systém FilmArray® je systém multiplexní PCR s certifikací FDA, CE-IVD a TGA, který integruje přípravu, amplifikaci, detekci a analýzu vzorků.






Systém FILMARRAY je:

- Jednoduchý: Doba přípravy vzorku 2 minuty
- Snadný: Není zapotřebí přesné měření nebo pipetování
- Rychlý: Doba testu cca. 1 hodina
- Komplexní: Testy ke stanovení různých patogenů, které vyvolávají respirační, krevní a gastrointestinální infekce, a ke stanovení genů antimikrobiální rezistence.

Systém FILMARRAY



Systém FilmArray® nabízí 5 druhů panelů:

-  Respirační panel (horní cesty dýchací)
-  Hemokultivační identifikační panel
-  Gastrointestinální panel
-  Meningitida/Encefalitida
-  Pneumopanel (dolní cesty dýchací)



DYNEX = KOMPLETNÍ ŘEŠENÍ PRO KLINICKÉ I VĚDECKÉ LABORATOŘE

Diagnostika

Diagnostika pro imunologii a sérologii

- ◆ nepřímá fluorescence
- ◆ ELISA
- ◆ Western blot, imunoblot
- ◆ RIA
- ◆ rapid testy
- ◆ testy na drogy

Diagnostika pro molekulární biologii

- ◆ detekce lidských patogenů
- ◆ genetické testování
- ◆ nemoci zvířat
- ◆ potravinářství



Přístroje

- ◆ Biohazardní, laminární boxy a digestoře
- ◆ Malé laboratorní přístroje
- ◆ Pipety a dávkovače
- ◆ Izolační a rozplňovací automaty
- ◆ PCR cykly
- ◆ ELISA, IF a blot automaty
- ◆ fotometry, promývačky



Služby

- ◆ Servis přístrojů
- ◆ Akreditovaná kalibrační laboratoř pipet
- ◆ Servisní laboratoř
- ◆ Aplikační podpora
- ◆ Demo laboratoř pro molekulárně biologické metody
- ◆ Zkušební laboratoř DYNEX akreditovaná ČIA pro laminární boxy



DYNEX
 ČR: Lidická 977, 273 43 Buštěhrad, Česká republika
 Tel.: +420 220 303 600, email: office@dynex.cz
 SR: Nové Kalište 17, 974 04 Banská Bystrica, Slovenská republika
 Tel.: +421 484 155 045, email: dynex@isternet.sk
 www.dynex.cz



SVEN BIOLABS



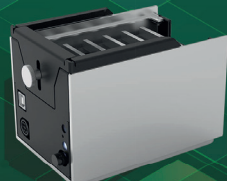
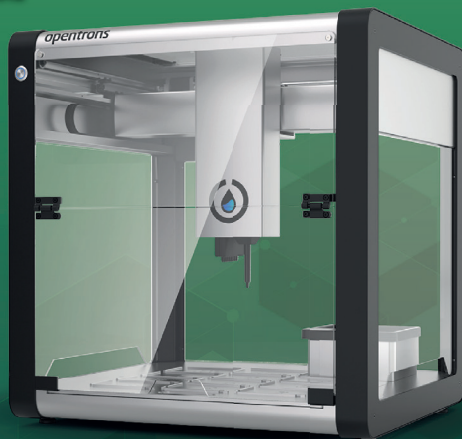
PIPETOVACÍ ROBOT OT-2

- Umožní automatizovat stovky protokolů a postupů
- Přesné elektronicky řízené 1- i 8-kanálové pipety v rozsahu 1–1000 µl
- Snadno nastavitelná rychlost i technika pipetování
- Uživatelsky přívětivý open-source software
- Můžete používat jakékoli laboratorní nádoby a špičky a definovat si je v prostředí SW robota
- Konektivita USB 2.0, WiFi 2.5 Ghz
- Rozměry: 63cm x 57cm x 66cm
- Váha: 40kg



PCR Cycler

Integrovaný PCR cycler pro až 80 vzorků 25–100 µl s pracovním objemem 10–100 µl.



MagDeck

Automatizuje protokoly využívající magnetické partikule.



TempDeck

Udrží reagentie při konstantní teplotě v rozsahu od 0–100°C.

✉ office@svenbiolabs.cz | ☎ 728 475 822 | 🌐 www.svenbiolabs.cz

Abbott ODHALTE NOVÉ MOŽNOSTI SE SYSTÉMY ALINITY

Alinity s Alinity Alinity ci-series

CHOOSE TRANSFORMATION

© 2018 Abbott Laboratories. AID-00064800 Jul 2018 | Abbott and Choose Transformation are trademarks of Abbott Laboratories in various jurisdictions.

MOLECULAR. IN MINUTES.™

ID NOW™ INFLUENZA A & B 2

The fastest molecular flu test just got faster and even better.



- Now with early detection — positive results in as few as 5 minutes
- Detects up to 42% more true positives than RADTs
- Room temperature storage
- CLIA waived

RADTs, Rapid antigen detection tests (lateral flow/rapid)



Your Partner.
in **Infectious Serology Testing.**



VIRCLIA® LOTUS SYSTEM

Automatický analyzátor na principu CLIA pro serologickou diagnostiku s jednotlivými testy ve formátu monotestů.

- Více než 80 dostupných testů, libovolně kombinovatelných
- Kapacita: až 40 různých monotestů v jednom běhu
- První výsledek je hotov za 1 hodinu
- Použití primárních zkumavek
- LIS konektivita
- Management výsledků



Pro více informací, prosím, kontaktujte



BIOMEDICA ČR, s.r.o.

Radlická 740/113d • 158 00 Praha 5 – Jinonice • T +420 283 933 605 • F +420 283 932 507
office@bmgrp.cz • www.bmgrp.cz

Bio-Rad Laboratories INFECTION DISEASE TESTING



ULTRA Product Line
Safety is not a Matter of Chance

Široké portfolio diagnostických souprav pro infekční sérologii a imunologii včetně automatizace zpracování

ELISA, BLOT-LINE

Soupravy s vysokou diagnostickou účinností a uživatelským komfortem jsou vhodné pro manuální i automatizované zpracování (**Agility, BlueDiver**).



MICROBLOT-ARRAY

Nová koncepce konfirmačních multiplexních testů ve formátu mikrotitrační destičky umožňuje efektivní zpracování velkého počtu testů, minimalizuje chybovost a spotřebu vzorku.



CHORUS Trio

Automatický imunoanalyzátor pro multiparametrické testování infekčních a autoimunitních onemocnění v jednom systému. Umožňuje kombinaci různých typů vyšetření v jednom běhu s promptním vydáváním výsledků.



TestLine Clinical Diagnostics s.r.o.
Křížkova 68, 612 00 Brno, CZ
www.testlinecd.cz

Tel.: +420 549 121 205 (209, 238)
Fax: +420 541 243 390
E-mail: trade@testlinecd.com



NOVÉ
řešení pro rychlou
molekulární diagnostiku

LIAISON® MDX

One instrument. Multiple discs.



the Diagnostic Specialist

Soupravy EliGene® pro DNA diagnostiku virových, bakteriálních infekcí a pro izolaci DNA
Polymerázy EliZyme™ pro qPCR, End-Point PCR a NGS
Laboratorní přístroj ZEPHYRUS® PCR Box Harmony

Více na: www.elisabeth.cz | www.eligene.com | www.elizyme.com

Dodavatel laboratorní diagnostiky

- Infekční sérologie
- Real-time PCR detekce patogenů

Široká nabídka sérologických ELISA a blotových souprav a detekce antigenů imunochromatograficky i pomocí real-time PCR

Společnost LABOSERV s.r.o. je již třidvacet let spolehlivým partnerem laboratoří zabývajících se imunologickou a mikrobiologickou diagnostikou. Dodáváme kompletní soupravy pro ELISA, IFA, ImunoBlot a PCR diagnostiku. V našem sortimentu je také přístrojové vybavení pro zpracování těchto souprav, univerzální laboratorní přístroje a spotřební materiál.

Cílem naší činnosti je spokojenost našich odběratelů s kvalitou dodávaných produktů a námi poskytovaných služeb.

ReaScan® rapid test reader, kat. č. R-114100

- reader imunochromatografických testů
- rychlý, snadno ovladatelný
- napájení na dvě tužkové baterie – vydrží až 1000 měření
- automatické vypnutí po 30 sekundách nečinnosti
- je určen k vyhodnocování následujících testů:

ReaScan® CXCL13
ReaScan® TBE IgM
ReaScan® Dobrava-Hantaan
ReaScan® Puumala

LABOSERV s.r.o., Tuřanka 1222/115, Brno – Slatina 627 00
 tel.: 541 243 113, email: objednavky@laboserv.cz, www.lshop.cz, www.laboserv.cz

cobas® Liat System
Rychlá PCR diagnostika v ambulanci lékaře

Vzorek

Vzorek pacienta se přidá do cobas® Liat® testovací zkumavky

Skenování

Testovací zkumavka se naskenuje pomocí zabudované čtečky čárových kódů

Start

Testovací zkumavka se vloží do analyzátoru cobas® Liat®

Doba testování 15-20 minut v závislosti na testu

Malý, kompaktní design vhodný pro rychlé statimové testování

cobas® Liat® zkumavka obsahuje všechny předpipetované reagentie

Plně automatizovaný proces, intuitivní uživatelské rozhraní

Portfolio testů: cobas® Strep A, cobas® Influenza A/B, cobas® Influenza A/B & RSV

Jednoduchý pracovní postup, kvalita vyšetření bez kompromisů

ROCHE s.r.o., Diagnostická divize • Na Valentince 3336/4, 150 00 Praha 5 • www.roche-diagnostics.cz nebo www.cobasliat.com

Fast Track

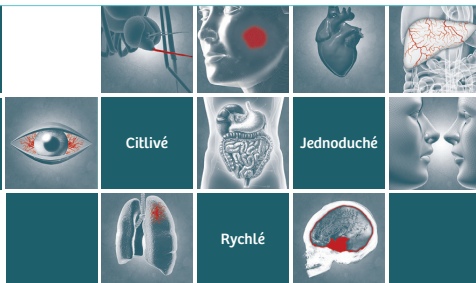
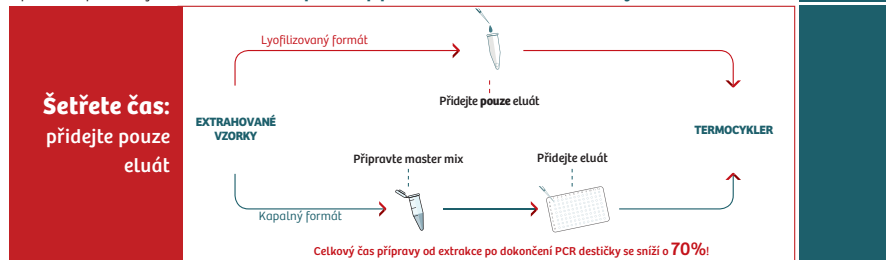
DIAGNOSTICS

A Siemens Healthineers Company

Lyofilizované syndromatické RT-PCR multiplex testy

Jednodušší detekce infekčních onemocnění

Mnoho FTD existujících testů je nyní dostupných v lyofilizované formě, všechny PCR reagentie jsou připraveny k přímému použití v jedné zkumavce. Stačí pouze napipetovat extrahovanou nukleovou kyselinu.



Spolehlivé

EXPERT NEJEN NA DIAGNOSTIKU HERPETICKÝCH VIRŮ

PŘEDSTAVUJE



Univerzální plně automatický analyzátor



Testování

malého počtu vzorků – monotesty
&
velkého počtu vzorků – ELISA kity



www.vidia.cz



Přístrojové vybavení a služby pro bioimplantologii, Life Science, mikrobiologické i biochemické laboratoře

centrifugy, ultracentrifugy

biohazardy a laminární boxy

termostaty / CO₂ inkubátory

bezodtahové digestoře

anaerobní a hypoxické boxy

dekontaminační systémy

chladicí, mrazicí a kryo boxy

gel - imaging analýza

systémy pro monitoring teploty

elektroforézy a zdroje

koncentrátory vzorků, lyofilizátory

mikrodestičkové readery

sterilizátory, autoklávy, myčky

purifikátory DNA/RNA - KingFisher

pipety a laboratorní plast

příprava ultračisté vody

další drobné laboratorní přístroje

zařízení pro chov laboratorních zvířat

www.trigonplus.cz

poradenství
prodej

autorizovaný
servis

validace

akreditovaná
kalibrační a zkušební laboratoř

PROSTOR PRO POZNÁMKY

DĚKUJEME PARTNERŮM AKCE

XXIII. Hradecké virologické dny, 22. – 23. října 2019
Nové Adalbertinum, Hradec Králové

HLAVNÍ PARTNEŘI



PARTNEŘI



Alere is now Abbott



PODPOROVATELÉ

