

# Interpretace laboratorních výsledků. Sérologie pertuse v očkující praxi

Kateřina Fabiánová<sup>1</sup>, Jana Zavadilová<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Oddělení epidemiologie infekčních nemocí,

<sup>2</sup>Národní referenční laboratoř pro pertusi a difterii  
Státní zdravotní ústav, Praha

**XIV. HRADECKÉ  
VAKCINOLOGICKÉ DNY**

**4.-6. 10. 2018**

**Kongresové centrum Aldis, Hradec Králové**



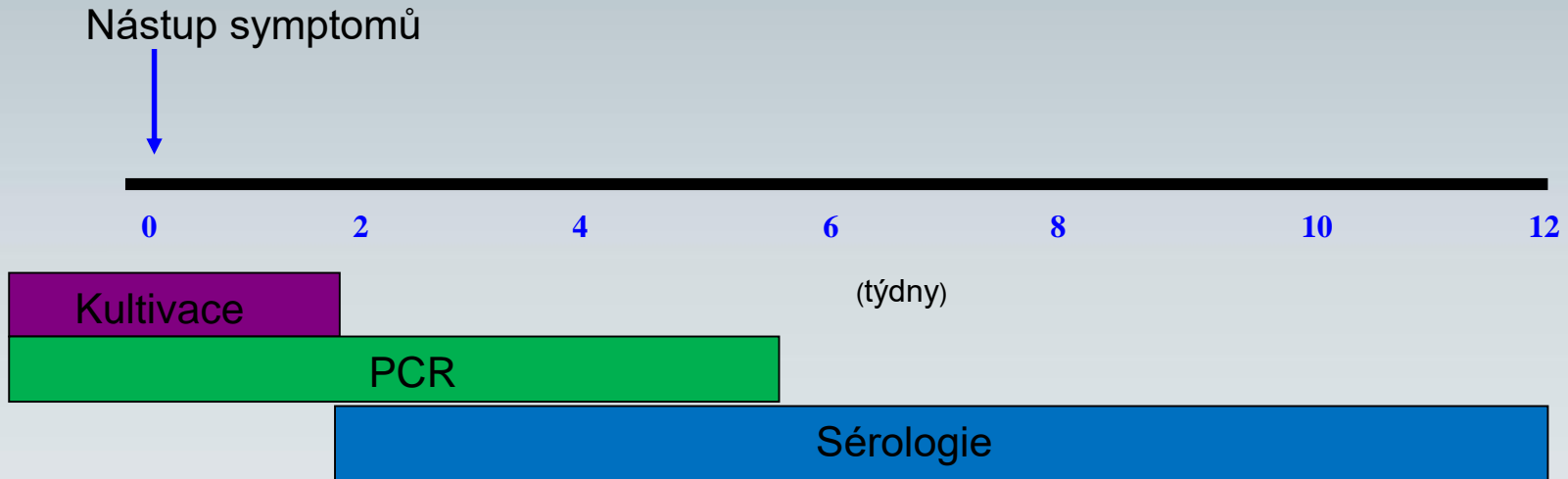
# Možnosti laboratorního vyšetření pertuse

- ➔ **kultivační průkaz a izolace agens** - výtěr z nazofaryngu (~~nebo laryngu~~), aspirát
- ➔ **PCR detekce** (polymerázová řetězová reakce) - výtěr z nazofaryngu, aspirát
- ➔ **sérologie** - žilní krev, párové sérum *ideálně*

## Jak správně zvolit druh vyšetření?

- » podle doby trvání kašle
- » podle očkovacího statutu
- » podle věku pacienta

# Pertuse - laboratorní diagnostika



- u novorozenců a malých dětí a kontaktů → kultivace a PCR co nejdříve
- u očkovanych dětí a dospělých
  - pokud kašel trvá méně než dva týdny → kultivace a PCR
  - pokud kašel trvá déle než dva týdny → PCR a sérologie

V ohnisku pertuse - stanovení PCR a IgG anti PT bez ohledu na dobu trvání příznaků

# Odběr na kultivaci a PCR ze zadní stěny nosohltanu



Tampón jemně zasunout přes nosní průduch těsně podél nosní přepážky a po spodní stěně nosní dutiny až k zadní stěně nosohltanu. Několikrát jemně pootočíme a tampón vytáhneme.

U dětí je nutná fixace!

# Zlatý standard - kultivace

Citlivost metody je závislá na:

- stádiu nemoci, kdy je vzorek odebírán

- ✓ je vyšší v časných stádiích, u dětí a neočkovaných

- Lind-Brandberg L, et al. *J Clin Microbiol* 1998

- van der Zee A, et al. *J Infect Dis* 1995

- Nakamura Y, et al. *Clin Mikrobiol Infect* 2011

- ✓ klesá u očkovaných dětí, adolescentů a dospělých, zejména po 3-4 týdnech od prvních příznaků

- Nakamura Y, et al. *Clin Mikrobiol Infect* 2011

- očkovacím statutu pacienta

- bakteriální náloži

- Vestrheim DF, et al. *J Clin Microbiol* 2012

- kultivační metodě

# Kultivační vyšetření

## Materiál:

- Stěr z nazofaryngu, NE běžný výtěr z krku, NE mandle nebo nasální konchy!!!

## Podmínky odběru:

- odběr před nasazením antibiotik (již jedna dávka antibiotik omezí růst *Bordetell*)
- nejlépe ráno nalačno, případně minimálně 3 hodiny po jídle, před odběrem nepít, nejíst, nekouřit, nežvýkat žvýkačku, nečistit si zuby!
- NE vatový tampon, inhibuje růst bordetel

## Uchovávání a transport vzorků

- při pokojové teplotě, materiál by měl být doručen do laboratoře v den odběru.

## Stanovení výsledku: do 5 - 6 dnů

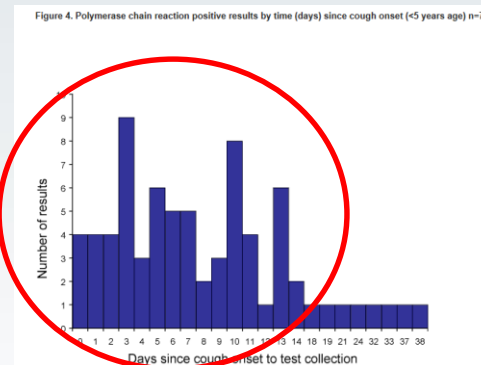
- Nejvyšší záchytnost *Bordetell* je v katarálním stádiu a v prvních dvou týdnech paroxysmálního stádia.

**Cena v bodech: max. 200-250 bodů**

# RT-PCR

- Více citlivější než kultivace
- Kultivačně pozitivní vzorky byly vždy také PCR pozitivní
- Srovnání PCR a kultivace:
  - citlivost PCR 100 %
  - citlivost kultivace 26-85 %
- 89 % pacientů bylo PCR pozitivní 14 dní po vzniku paroxysmálního kašle
- Výjimka: pozitivní PCR až 38 dní po infekci

- Grogan JA, et al. *J Med Microbiol* 2011
- Fry NK, et al. *Clin Microbiol Infect* 2004



# Metoda PCR (průkaz nukleové kyseliny)

## Materiál

- Stěr z nasofaryngu

## Podmínky

- speciální souprava s ohebným tampónem s dakronovým vláknem a odběrovým médiem, lze použít i medium pro průkaz respiračních virů

**Stanovení výsledku:** do 24 hodin

## Výhody a nevýhody

- Rychlé orientační stanovení diagnózy.
- Metoda dává pozitivní výsledky i při terapii antibiotiky (max. do 5 dnů, jinak falešně negativní)
- U vzorků odebraných na medium lze dělat kultivaci!!!
- Možnost falešně pozitivních výsledků - kontaminace
- Citlivost PCR se snižuje s délkou trvání symptomů onemocnění.

**Cena v bodech:** 1120 bodů



# Sérologická diagnostika pertuse I.

- Stanovení specifických protilátek proti *B. pertussis*
  - ✓ nejvyšší sensitivita a specificita - test na pertusový toxin (PT)
- ELISA (enzyme-linked immunosorbent assays - komerční, in-house) nebo multiplex immunoassays
- Párové sérum (*ideálně*), jeden vzorek (*většinou*)
- Výsledky v mezinárodních jednotkách na ml (IU/ml)

# Sérologická diagnostika pertuse II.

- ➔ Vliv předchozí vakcinace nebo předchozí infekce nebo mateřských protilátek (novorozenci a kojenci) – falešná pozitivita
  - ✓ IgG mohou být zvýšeny více než rok po infekci nebo vakcinaci (IgG indukované očkováním)
- ➔ Zkřížená reakce s ostatními *Bordetella* spp., případně jinými bakteriemi
- ➔ Proměnlivá odpověď na bordetelové antigeny

# Sérologická diagnostika pertuse III.

## ➔ Nedoporučuje se:

- ✓ Sérologické vyšetření novorozenců a kojenců
- ✓ Sérologické vyšetření ostatních pertusových antigenů
- ✓ Vyšetření IgM - nedostatečná sensitivita a specificita
- ✓ Metoda DFA (direct fluorescent antibody) - falešně pozitivní a falešně negativní výsledky
- ✓ KFA

# Interpretace sérologických výsledků I.

- ➡ PT je obsažen ve všech aP vakcínách v Evropě
  - Očkování může ovlivnit interpretaci sérologických výsledků
  - Neodliší se imunitní odpověď postvakcinační od postinfekční
- ➡ Kontinuální cirkulace *B. pertussis* v populaci - IgG jsou detekovatelné u většiny adolescentů a dospělých
- ➡ Stanovení IgG anti PT nemá diagnostickou hodnotu u novorozenců a kojenců

*Guiso N., et al. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2011*

*ECDC, Guidance and protocol for the serological diagnosis of human infection with BP, 2012*

# Interpretace sérologických výsledků II.

- Pokud není interpretace možná, je nutný druhý vzorek (za 3 - 6 týdnů), následně současná analýza obou vzorků (ideálně)
- Jestliže není druhý vzorek, mohou být dodatečně stanoveny IgA anti PT
- Hodnocení vždy s ohledem na klinické příznaky!

*Guiso N., et al. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2011*

*ECDC, Guidance and protocol for the serological diagnosis of human infection with BP, 2012*

# Interpretace sérologických výsledků III.

## ➔ Dva vzorky: jako pozitivní výsledek se bere:

- $\geq 50$ -100% zvýšení nebo snížení titrů specifických protilátek  
nebo
- je-li prokazatelná dynamika současně s klinickými příznaky (pokud není 50-100% zvýšení nebo snížení)

## ➔ Jeden vzorek

- IgG + doplnit IgA
- IgG
  - ✓ optimální cut-off: 60 - 75 IU/ml, ALE Gausovo rozložení případů, to neznamena, že vše pod 60 IU/ml je negativní!!!! a nad 75 IU/ml je pozitivní
  - ✓ 62 - 125 IU/ml: pravděpodobně nedávná infekce u lidí, kteří nebyli očkováni během posledních 12 měsíců
  - ✓ IgA - není stanovena standardizovaná hodnota, vysoká specificita a nízká citlivost, kvantifikace pro nízké hladiny 10 - 20 IU/ml

# Detekce IgG anti PT a IgA anti PT

rozlišení mezi nedávnou infekcí a pozdním stádiem onemocnění (nikoliv po očkování, není to stanovení titrů ochranných protilátek!!!)

IgG anti PT	IgA anti PT	Interpretace
negativní	negativní	žádná infekce
negativní	pozitivní	akutní infekce
hraniční	pozitivní	akutní infekce
pozitivní	pozitivní	nedávná/akutní infekce
pozitivní	negativní	nedávná infekce
hraniční	negativní	žádná infekce

# Sérologie pertuse - závěr

- Doporučuje se stanovení koncentrace IgG (IgA) protilátek proti pertusovému toxinu metodou ELISA v mezinárodních jednotkách (IU/ml)
- Sérologické testy jsou určeny pouze k diagnostice onemocnění pertusí
- Není možné vyšetřit ochrannou koncentraci protilátek (hodnota korelátu protektivity není známa) - plošné vyšetřování protilátek u ohrožených skupin NEMÁ SMYSL
- Nelze odlišit protilátky postinfekční od postvakcinačních



Děkuji za pozornost