

Interpretace laboratorních výsledků — sérologie spalniček v očkovací praxi

XIV. Hradecké vakcinologické dny 2018

4. - 6. 10. 2018

Radomíra Limberková



Spalničky - indikace laboratorního vyšetření

Potvrzení probíhajícího onemocnění

1. *přímý průkaz infekčního vyvolavatele – PCR*

- jednoznačný a rychlý průkaz
- neinvazivní odběr (nasopharyngeální výtěr do VTM, moč)
- vhodné v počátku onemocnění

2. *nepřímý průkaz infekčního vyvolavatele - vyšetření IgM a IgG protilátek*

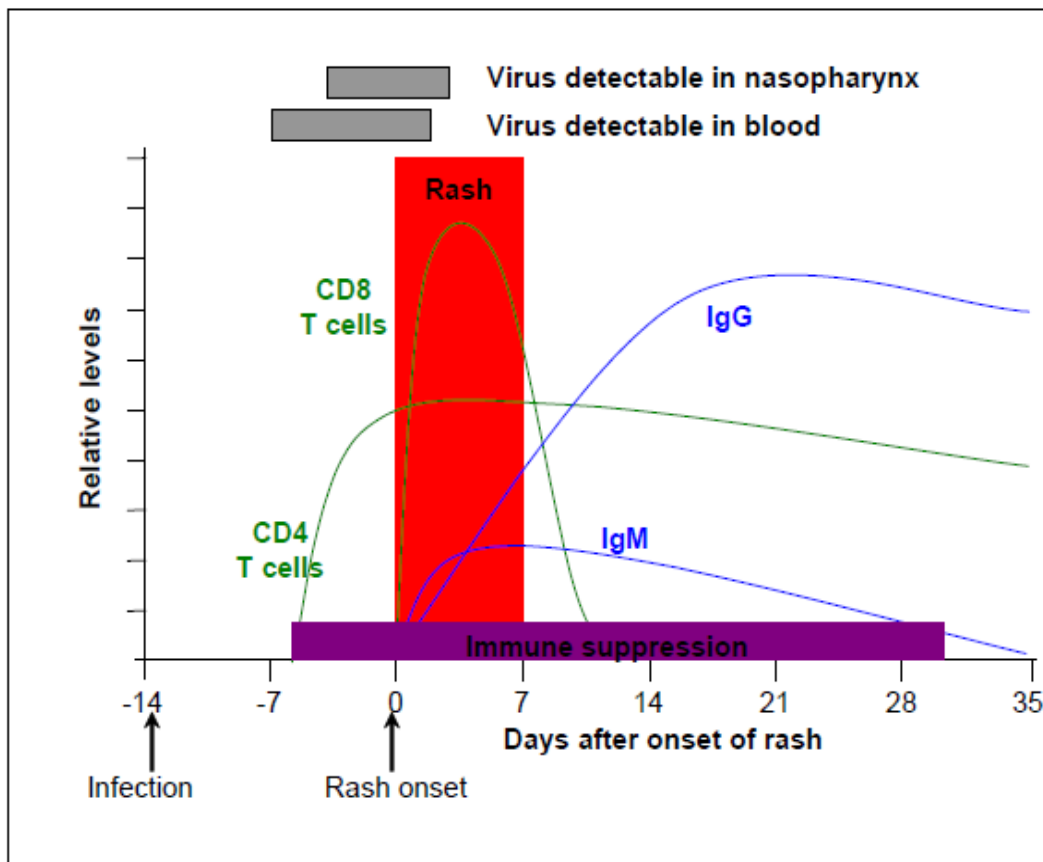
- nespolehlivý průkaz ve vysoce proočkované populaci – častá negativita IgM
- zkřížená reaktivita IgM protilátek s PV B19, zarděnkami, EBV, HHV6 ...
- možná postvakcinační pozitivita IgM protilátek (až 11. týdnů)
- často nutné vyšetření párového vzorku séra
- vhodné až od 4. do 28. dne po výsevu exantému (tzv. adekvátní vzorek)

Testování vnímavosti k nákaze virem spalniček

- sérologické vyšetření IgG protilátek

Nejvhodnější načasování vyšetřovacích metod u suspektního onemocnění spalničkami

Figure 3. Immune responses in acute measles infection (after [7])



sérum	Dny od výsevu	%
	0 - 3	60 - 70
IgM	4 - 14	90 - 100
	15 - 28	100

výtěr	Dny od výsevu	%
	0 - 3	> 80
PCR	4 - 14	50
	15 - 28	≤ 20



IgM negativita či negativita PCR probíhající onemocnění spalničkami nevylučují

IgM negativita onemocnění spalničkami nevylučuje

- zejména u nemocných vakcinovaných osob, u kterých se, díky rychle stoupajícím IgG protilátkám, IgM protilátky nemusí vůbec vytvořit (cca 30 %)
- u primoinfikovaných mohou být IgM protilátky negativní, pokud je odběr proveden v časně fázi onemocnění
- definitivní laboratorní závěr často až po vyšetření PS (interval min. 10 dní)

PCR negativita onemocnění spalničkami nevylučuje

- může být negativní při nevhodném načasování, nesprávně provedeném odběru, nedodržení chladového řetězce
- může být negativní u nemocných vakcinovaných osob, i při vhodně načasovaném odběru, díky eliminaci viru rychle stoupajícími IgG protilátkami

Sérologie jednoho vzorku - interpretace

IgM neg, IgG neg

1. vnímavost k nákaze (je možná i po dřívější vakcinaci – vyvanutí imunity)
2. probíhající onemocnění s časným odběrem (do 4. dne po výsevu)

IgM neg, IgG poz

1. anamnestické protilátky po přirozené infekci (mnohem vyšší) či vakcinaci
2. probíhající onemocnění s časným odběrem u vakcinovaných

IgM neg/hr/poz, IgG vysoce pozitivní

1. booster protilátek
2. probíhající onemocnění u vakcinovaných

IgM hr/poz, IgG neg/hr/poz

1. onemocnění u primoinfikovaných
2. recentní vakcinace MMR



Sérologie jednoho vzorku - interpretace

IgM neg, IgG neg

1. nízká vnímavost k nákaze (je možná i po dřívější vakcinaci – vyvanutí imunity)
2. probíhající onemocnění s časným odběrem (do 4. dne po nástupu onemocnění)

IgM neg, IgG poz

1. anamnestické protilátky po přirozené infekci (včetně onemocnění (osy) či vakcinaci
2. probíhající onemocnění s časným odběrem (do 4. dne po nástupu onemocnění) u vakcinovaných

IgM neg/hr/poz, IgG vye

1. booster protilátky po přirozené infekci (včetně onemocnění (osy) či vakcinaci
2. probíhající onemocnění s časným odběrem (do 4. dne po nástupu onemocnění) u vakcinovaných

IgM neg/hr/poz

1. probíhající onemocnění u primoinfikovaných
2. recentní vakcinace MMR



Nelze validně interpretovat bez znalosti klinického obrazu, počátku onemocnění (výsevu exantému), vakcinačního statutu

Ochrana před onemocněním spalničkami

Slizniční imunita

- není zcela objasněná

Buněčná imunita

- méně prozkoumaná
- zásadní role v protekci - MeV-specifické T buňky důležitější než Ab:
 - děti s agamaglobulinémií – úzdrava
 - děti s defektem buněčné imunity (HIV, imunosuprese, chemoterapie):
 1. progresivní onemocnění plic (Honlova-Hechtova velkobuněčná pneum.)
 2. progresivní onemocnění CNS (MIBE, SSPE)
 3. chybí charakteristický exantém = projev MeV specifické buněčné imunitní odpovědi CD4+ a CD8+ T lymfocytů
- není standardizovaná assay vhodná pro testování velkého množství vzorků

Humorální imunita

- preferovaný přístup k hodnocení imunity - testování protilátek



Laboratorní průkaz imunity – stanovení IgG

PRNT – rutinně nepoužívaná metoda

- kvantitativní měření hladiny neutralizačních protilátek (proti povrch. Ag – H, F)
- nejlepší korelát protekce, protektivní hladina neutralizačních Ab ≥ 120 mIU/ml
- *nevýhody:*
- drahé, časově náročné, pracné, nevhodné pro testování velkého počtu sér

ELISA IgG – rutinní metoda

- dobrá korelace s výsledky PRNT, ale méně citlivá v nízkých hladinách Ab
- vysoká senzitivita a specificita
- komerčně dostupné, relativně levné, malé množství séra
- *nevýhody:*
- je obtížné zahrnout standardní kalibrační vzorek se známou koncentrací IgG pro přímé srovnání výsledků získaných různými kity (různými kity můžeme dosáhnout diametrálně odlišných výsledků!)

WHO doporučuje pro posouzení imunity **EIA hraniční séra** přetestovat v PRNT, (**\pm IgG EIA bývají v PRNT pozitivní**), v praxi nereálné, v souvislosti s hodnocením protekce se k \pm EIA IgG přistupuje jako k negativním



Porovnání ELISA (anti - measles IgG)

diagnostika jednotky ref. hodnoty	LIAISON AU/ml <13,5 a >16,5	CHORUS Index <0,9 a >1,1	SERION mIU/ml <150 a >200	ENZYGNOST KDA <0,1 a >0,2	EUROIMMUN Index <0,8 a >1,1
negativní	6	6	6	6	6
negativní	8	0	0	8	8
negativní	9	0	0	0	0
negativní	2	0	2	2	2
Σ negativní	25	6	8	16	16

- rozdílné vazebné Ag - purifikované virové lyzáty, rekombinantní proteiny (např. N)
- různé vstupní ředění vzorku, různé nastavení cut-off
- různé jednotky kvantitativní (U/ml, AU/ml, mIU/ml) a kvalitativní (KDA, OD, IP)

Enzygnost neg <150 mIU/ml a poz >350 mIU/ml (1:231)
 Human neg <400 mIU/ml a poz >600 mIU/ml (1:100)
 Serion, Ridascreen neg <150 mIU/ml a poz >200 mIU/ml (1:100)
 Denka Seiken neg <200 U/ml a poz >400 U/ml (1:100)

- výsledek laboratoře musí zahrnovat interpretaci alespoň v podobě poz x hran x neg a referenční meze, hraniční vzorek by se měl testovat opakovaně



Odolnost vůči nákaze virem spalniček

CDC: odolné vůči nákaze virem spalniček jsou

- **osoby, které prokazatelně prožily spalničky**
zatím nebyla zaznamenána reinfekce přirozeně promořené osoby
- **osoby narozené před zavedením celoplošné vakcinace** (v ČR před rokem 1968)
SP2013 u těchto věkových skupin ukázaly 97 - 99% promořenost a vysoké hodnoty IgG
- **osoby se zdokumentovanou řádnou dvou dávkovou vakcinací**
i tyto osoby ovšem mohou být nemocné - „vyvanutí imunity“
ČR 2017 – 42 % nemocných s MMR2
PT 2018 – 70 % nemocných s MMR2
- **osoby, které jsou anti-measles IgG pozitivní**
jakákoli pozitivita ELISA IgG protilátek chrání (protektivní hladina EIA IgG nestanovena),
k hraniční hodnotě IgG protilátek se přistupuje jako k negativní



*Protektivita IgG stanovena pro VN Ab: >120/200 mIU/ml (PRNT), nekoreluje s ELISA
(3. IS - mezinárodní standard – 3 IU/ml, sérum určeno výhradně pro neutralizační testy)*

Nic neplatí bezvýhradně!



Dvoudávková vakcinace nemusí automaticky znamenat odolnost
ČR 2017 42 %, PT 2018 70 % nemocných po MMR2

I osoby narozené před rokem 1968 mohly být vakcinovány v rámci mimořádného očkování žáků 8. tříd v letech 1979 – 1981 (1964 – 1968), v případě onemocnění tedy nemají sérologický nálezn odpovídající primoinfekci (IgM +, IgG -)

U osob přirozeně promořených může při onemocnění PV B19 dojít k záměně se spalničkami díky nespecifickému zvýšení spalničkových IgM a vysokým hodnotám anamnestických IgG (podobné obrazu onemocnění spalničkami u vakcinovaných)

ELISA IgG hraniční jsou s největší pravděpodobností ochranné – v PRNT vykazují pozitivní hodnoty

ELISA IgG negativita u vakcinovaných osob nemusí nutně znamenat vnímavost – významná role paměťových buněk, citlivějším PRNT mohou být IgG pozitivní

ELISA IgG pozitivita je v akutních sérech nemocných vakcinovaných běžná - byli v době kontaktu IgG negativní nebo je preexistující IgG protilátka neochránila?

ELISA IgG pozitivní může být jiným kitem IgG negativní – jak hodnotit ?

Literární zdroje:

- CDC. Manual for the laboratory diagnosis of measles and rubella virus infection, 2nd ed., August 2007 from the World Health Organization (WHO)
- WHO. Weekly Epidemiological Record. No.25, 2008, 83, 225-232
- Griffin DE, Lin WW, Nelson AN. Understanding the causes and consequences of measles virus persistence [version 1; referees: 2 approved]. F1000Research 2018, 7(F1000 Faculty Rev):237 doi: [10.12688/f1000research.12094.1](https://doi.org/10.12688/f1000research.12094.1)
- CDC. MMR, Vol.62/No.4; June 14, 2013. Prevention of measles, rubella, congenital rubella syndrome, and mumps, 2013 Summary Recommendations of Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)
- WHO. Manual for the Laboratory-based Surveillance of measles, Rubella, and Congenital Rubella Syndrome, 3rd ed., 2017 (version January 2018)
- Lievano FA, Papania MJ, Helfand RF, Harpaz R, Walls L, Katz RS, Williams I, Villamarzo YS, Rota PA, Bellini WJ. Lack of evidence of measles virus shedding in people with inapparent measles virus infections, J Infect Dis. 2004;189 Suppl 1:S165-70.
- Vyhl. č. 537/2007 Sb., o očkování proti infekčním nemocem (ve znění pp – č. 355/2017 Sb.)
- Sá Machado R, Perez Duque M, Almeida S, Cruz I, Sottomayor A, Almeida I, R Oliveira J, Antunes D. Measles outbreak in a tertiary level hospital, Porto, Portugal, 2018: challenges in the post-elimination era. Euro Surveill.2018;23(20). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.20.18-00224.
- Petroušová L, Rožnovký L, Martinková I. Spalničky v dětském věku – zkušenost z epidemie na Ostravsku 2017. Čes-slov Pediat 2018; 73 (1), 41-47

DĚKUJI VÁM ZA POZORNOST

