

Pracoviště virologie: MUDr. Dana Teislerová

V březnovém čísle Nemocničního zpravodaje nám vedoucí Laboratoře klinické mikrobiologie MUDr. Magda Balejová přiblížila práci Pracoviště bakteriologie. Dalším z pracovišť této laboratoře je Pracoviště virologie. Jaká jsou specifika práce s viry, co znamená pozitivní test na protilátky a spousta dalších zajímavých informací ze světa virologie vám přinášíme v následujícím rozhovoru s vedoucí pracoviště, MUDr. Danou Teislerovou.

Dříve než budeme mluvit o laboratorní diagnostice, kterou Pracoviště virologie provádí, měli bychom si představit původce virových onemocnění.

Paní doktorko, co to vlastně viry jsou a jak se liší od bakterií?

Viry představují velice různorodou skupinu infekčních agens (původců onemocnění). Od bakterií se liší svými malými rozměry a vlastnostmi. Velikost virů vyvolávajících lidská onemocnění se pohybuje zhruba od 20 do 300 nanometrů (nm = miliontina milimetru), zatímco velikost bakterií se pohybuje v mikrometrech (µm, jednotka tisíckrát větší než nanometr). Viry se od bakterií zcela zásadně odlišují svými biologickými vlastnostmi. Jsou to nebuněčné částice, které nemají vlastní metabolismus, nerostou, nedělí se. S živými organismy je ale spojuje jedna vlastnost, mají genetickou informaci pro vlastní replikaci (tvorbu nových kopií). Tu mají zapsanou vždy v jediném druhu nukleové kyseliny, podle toho je dělíme na DNA a RNA viry.

Jak se tedy viry množí?

Jsou to obligátní nitrobuněční parazité, ke svému životu potřebují živou buňku, jsou plně závislé na jejím metabolismu. Jejich hostitelem může být člověk, zvíře, rostlina, ale třeba i bakterie. Využívají buněčnou výbavu svého hostitele k tomu, aby byly pomnoženy, přitom mohou buňku v různé míře poškodit nebo změnit její vlastnosti. Při vstupu do buňky do ní vnesou svou dědičnou informaci a přinutí ji, aby vytvořila nové virové částice, které pak napadají další buňky. Dědičná informace je vlastně předpis na tvorbu různých enzymů a bílkovin, které virus potřebuje.

Jak se ve vaší laboratoři prokazuje virové onemocnění? Též se používají Petriho misky a agar či se v případě virů používají úplně jiné metody?

V laboratorní diagnostice virových onemocnění se využívá přímý průkaz, kdy hledáme virus nebo jenom jeho část (antigen, nukleovou kyselinu). A dále pak nepřímý průkaz, kdy zjišťujeme, zda má pacient protilátky proti danému viru. Hodnotíme tedy reakci imunitního systému na infekci.

Vzhledem k tomu, že množení virů probíhá pouze v živých buňkách, nelze přímý průkaz provádět kultivací na živných půdách, které jsou využívány v bakteriologii nebo mykologii. Pro kultivaci virů se využívají buněčné kultury.

Jedním z požadavků pro práci s buněčnými kulturami je přísné dodržování sterilních postupů tak, aby nedošlo k jejich znehodnocení. Naše pracoviště v současnosti využívá metody takzvané urychlené kultivace pro průkaz chlamydií. Jsou to sice bakterie, ale stejně jako viry jsou závislé na hostitelské buňce, takže nerostou na bakteriologických půdách. Vyšetřovaný materiál je kultivován ve zkumavkách se sklíčkem, na kterém je narostlá buněčná kultura. Přítomnost chlamydií se vyhodnocuje mikroskopicky. Ročně provedeme přibližně 1 700 těchto vyšetření.

Další typ přímého průkazu viru, průkaz virových antigenů, je u nás nejvíce využíván v diagnostice virových gastroenteritid. Používáme testy pro rychlé stanovení. Výhodou je dostupnost výsledku ve velmi krátkém čase po doručení materiálu do laboratoře.

Průkaz virové nukleové kyseliny zajišťuje Laboratoř molekulární biologie a genetiky, se kterou úzce spolupracujeme.

Častěji jsou v naší laboratoři využívané metody nepřímého průkazu sloužící ke stanovení protilátek.

Při vyšetření protilátek je důležité vždy pamatovat na to, že jejich pozitivita neznamená diagnózu právě probíhající infekce. Říká nám jen to, že se vyšetřovaný jedinec s příslušným agens setkal. Může jít i o falešnou pozitivitu (zkřížené reakce, nespecifická tvorba protilátek...). Naopak, negativní výsledek neznamená, že se o infekci nejedná, protilátky nemusí být vytvořené. Buď se ještě nevytvořily, odběr byl provedený brzy (diagnostické okno) nebo je vyšetřovaný špatně tvoří (pacienti s imunodeficity, novorozenci...). Interpretace nálezu na základě vyšetření jednoho vzorku je často obtížná, někdy nemožná. Proto doporučujeme opakovat vyšetření, abychom posoudili dynamiku protilátkové odpovědi. V některých případech i provedení odběru na přímý průkaz viru metodou PCR.

Objevují se ovšem všechny, u kterých nám pro laboratorní potvrzení infekce stačí vyšetření jednoho vzorku. Tak je tomu například u infekce HIV. Samozřejmě, pokud je pozitivní nálezu potvrzen (konfirmován) podle předepsaných postupů. Vyšetření protilátek slouží také k posouzení stavu imunity vůči onemocnění. Nejčastěji je indikováno vyšetření protilátek proti virové hepatitidě B (anti-HBs) a spalničkám u zdravotníků. V naší nemocnici bylo zahájeno vyšetřování protilátek proti spalničkám u zaměstnanců vybraných oddělení v roce 2017. O rok později bylo testování rozšířeno na všechny zaměstnance. Naše laboratoř tehdy během jednoho měsíce zpracovala přes 3 300 vzorků, z toho 2 500 během jednoho týdne. To i díky skvělému pracovnímu týmu naší laboratoře. Byli jsme první nemocnicí a laboratoří v České republice, která měla vyšetřené zaměstnance a soubor v takovém rozsahu.

Někdy je indikováno urgentní vyšetření pro zhodnotení stavu urgency. Je to například vyšetření protilátek proti viru neštovic a pásového oparu po kontaktu s infikovanou osobou bez anamnestického údaje o prodělané infekci nebo očkování.

Jaké materiály vyšetřujete?

Nejčastěji indikovaným vyšetřením je stanovení protilátek v krvi, ta tvoří přibližně 70 % materiálů. Dalšími vyšetřovanými materiály jsou stolice, materiály z urogenitálního traktu a mozkomíšní moky.

Jak vám při práci pomáhají přístroje?

Naše pracoviště využívá dva analyzátoře. Díky nim se výrazně zkrátí doba od příjmu vzorku v laboratoři do získání výsledku. Do doby zavedení automatizace byla vyšetření prováděna manuálními metodami, některá z nich v intervalu jednou týdně. V současnosti vyšetřujeme denně. Výsledky většiny vyšetření jsou dostupné během několika hodin.

Prvním přístrojem je plně automatický analyzátor Liaison XL, ve kterém je možné měřit najednou 120 vzorků krve a 25 metod současně. S výhodou ho lze využít pro metody s vysokou frekvencí požadavků na vyšetření. Slouží k diagnostice virových



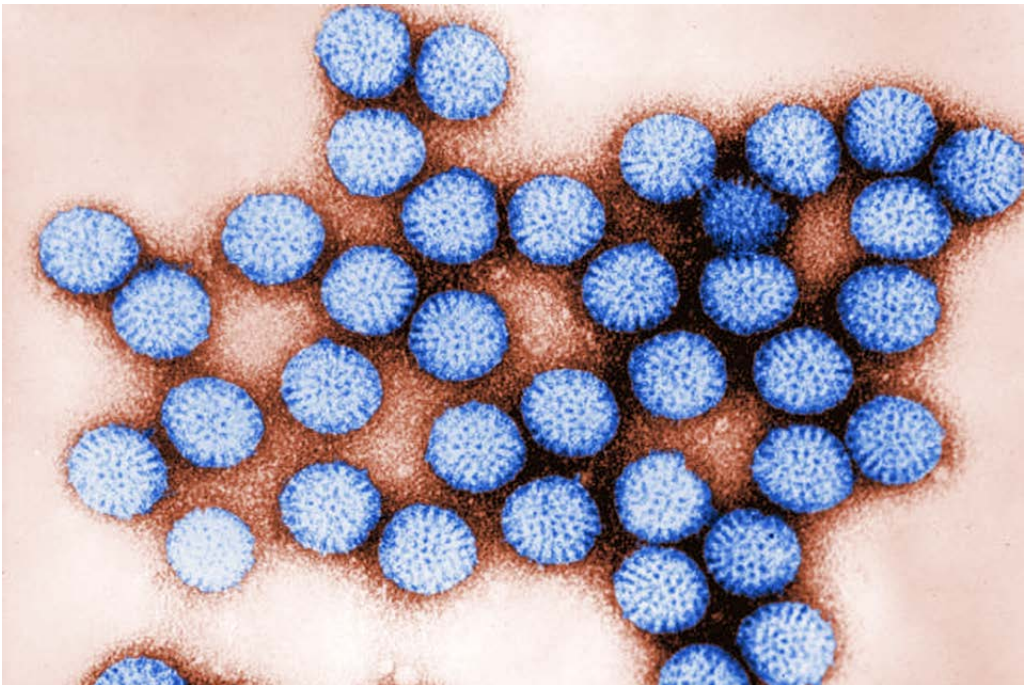
MUDr. Dana Teislerová | Foto: Jan Luxik



Analyzátor Chorus TRIO | Foto: Jan Luxik



Analyzátor Liaison XL | Foto: Jan Luxik



Digitálně zbarvený snímek rotaviru z elektronového mikroskopu.

Zdroj: www.cdc.gov, PHL Public Health Image Library (<https://phil.cdc.gov/>)

Věděli jste, že...

- Celkový počet virů na Zemi by mohl dosáhnout 10^{31} . Většinu jich dosud neznáme. Savčích virů může být až 300 tisíc.
- Bakteriofágy, zkrácené fágy, jsou viry, které vyvolávají infekci u bakterií. V přírodě jsou velmi rozšířené. Nejvíce jich nalezneme v moři. V jednom mililitru mořské vody se nachází v průměru 10 milionů virových částic. Vzhledem k narůstající rezistenci bakterií k antibiotikům má využití fágů velký potenciál. Jejich výzkumem se zabývá řada firem a institucí.
- K pozorování virů se využívá elektronový mikroskop, který má vyšší rozlišovací schopnost než běžně používaný světelný mikroskop. První mikroskop infekční mononukleózy, s teplotami a zánětem jater. U jedinců s oslabenou imunitou může primární infekce i reaktivace probíhat jako život ohrožující onemocnění s postižením různých orgánů. Je možný přenos infekce z matky na plod nebo novorozence.
- Základy očkování položil v 18. století britský lékař Edward Jenner, který v roce 1796 uskutečnil první očkování proti pravým neštovicím.
- K léčbě virových infekcí se používají virostatika. Jejich éra začala relativně nedávno. Nejstarší schválené virostatikum Aciclovir, které je určeno k léčbě infekcí vyvolaných herpetickými viry, bylo uvedeno na trh v roce 1981.

Několik informací o vybraných původcích infekčních onemocnění...

Cytomegalovirus (CMV) po primární infekci přetrvává v organismu v latentní formě. Při oslabení imunity se může reaktivovat. Onemocnění je u zdravých lidí většinou bezpříznakové nebo má mírný průběh. Může se projevit jako syndrom infekční mononukleózy, s teplotami a zánětem jater. U jedinců s oslabenou imunitou může primární infekce i reaktivace probíhat jako život ohrožující onemocnění s postižením různých orgánů. Je možný přenos infekce z matky na plod nebo novorozence.

Parvovirus B19 je známý jako původce onemocnění s vyrážkou, takzvané páté dětské nemoci. Infekce bývá doprovázena postižením kloubů. Virus se množí v buňkách kostní dřeně, následkem toho dochází k útlumu vyzrání červených krvinek. Průběh onemocnění se liší v závislosti na imunitním a hematologickém stavu infikovaného. Při infekci těhotných žen může dojít k přenosu na plod.

Hantaviry způsobují horečnaté onemocnění s různým stupněm závažnosti. Evropské a asijské hantaviry způsobují především postižení ledvin, americké hantaviry napadají nejvíce plicní tkáň. Při onemocnění může dojít k selhání ledvin, krvácení a postižení dalších orgánů. Rezervoárem nákazy jsou drobní hlodavci, kteří virus vylučují močí, trusem a slinami. Člověk se infikuje nejčastěji vdechnutím prachu kontaminovaného jejich exkrementy. Nelze vyloučit ani nákazu prostřednictvím potavy nebo vody kontaminované těmito exkrementy nebo přímým kontaktem s nimi.

Mycoplasma pneumoniae je obtížně kultivovatelná bakterie a zároveň nejmenší volně žijící organismus. Způsobuje onemocnění dýchacího ústrojí s různým stupněm závažnosti, od mírné infekce horních dýchacích cest až po těžký zápal plic. Infekce může mít projevy i mimo dýchací ústrojí, jakými jsou záněty srdečního svalu a osrdečníku, kloubů, nervové soustavy a dalších.

hepatitid, HIV, cytomegalovirových a pozadavkům patří infekci. K nejčastějším protivirové hepatitidě C, vyšetření antigenu virové hepatitidy B (HBsAg) a kombinované stanovení protilátek a antigenu HIV v počtu 3 až 4 tisíce vyšetření ročně u každého z nich.

Druhým přístrojem je poloautomatizovaný analyzátor Chorus, který byl zaveden z důvodu urychlení a zkvalitnění diagnostiky klíšťové encefalitidy. Jihočeský kraj je regionem s každoročním vysokým počtem případů tohoto onemocnění. Vyšetřujeme přibližně 1200 vzorků ročně. Kromě měření protilátek proti původci této infekce využíváme analyzátor pro vyšetřování protilátek proti viru spalniček, zarděnek, příušnic a parvoviru B19. V přístroji je možné měřit najednou 30 vzorků krve na všechny dostupné metody současně.

Máte v plánu nějaké změny v diagnostice?

Aktuálně budujeme metodu pro průkaz protilátek proti hantavirům. Plánujeme zavedení sérologické diagnostiky infekcí virem SARS-CoV-2 a výhledově automatizaci dalších manuálních metod.

Přestože máme k dispozici nejmodernější přístroje a metody, pořád za úspěšně analyzovaným vzorkem stojí společná práce týmu kvalifikovaných pracovníků. Proto bych na závěr chtěla poděkovat kolektivu virologie za jejich spolupráci.

Ing. Veronika Dubská
Oddělení vnitřních a vnějších vztahů