

Problematika herpetických virů u těhotných žen

Michaela Růžková, Markéta Pumannová, Marcela Ondráková

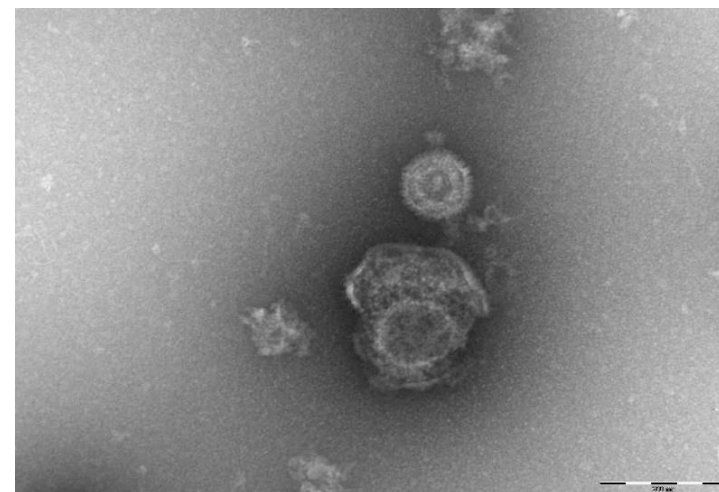
SZÚ Praha, NRL pro herpetické viry

Konzultační den SZÚ, 8. 10. 2025

Čeleď: Herpesviridae

Podčeleď	Rod	Virus	Synonymum
<u>Alfa-herpesvirinae</u>	<i>Simplexvirus</i>	HHV-1	Herpes simplex virus 1 (HSV-1)
		HHV-2	Herpes simplex virus 2 (HSV-2)
	<i>Varicellovirus</i>	HHV-3	<u>Varicella zoster virus (VZV)</u>
<u>Beta-herpesvirinae</u>	<i>Cytomegalovirus</i>	HHV-5	<u>Cytomegalovirus (CMV)</u>
	<i>Roseolovirus</i>	HHV-6A	Lidský herpetický virus 6A (HHV-6A)
		HHV-6B	Lidský herpetický virus 6B (HHV-6B)
		HHV-7	Lidský herpetický virus 7 (HHV-7)
<u>Gamma-herpesvirinae</u>	<i>Lymphocryptovirus</i>	HHV-4	<u>Epstein-Barr virus (EBV)</u>
	<i>Rhadinovirus</i>	HHV-8	<u>Kaposí's sarcoma associated herpesvirus (KSHV)</u>

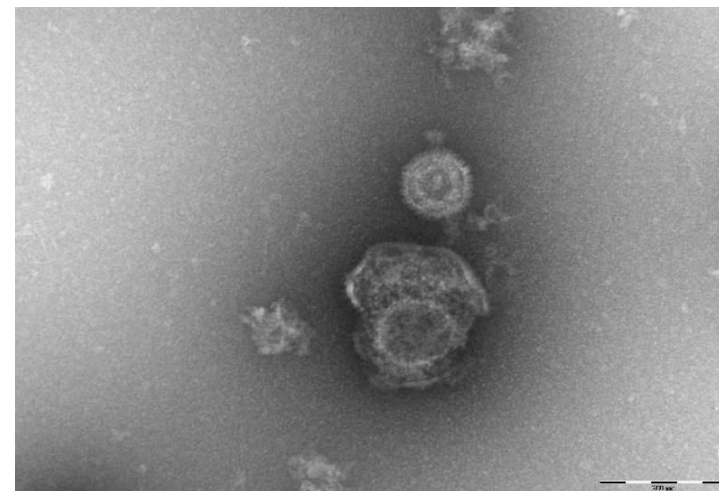
- obalené DNA viry
doživotně perzistují v lidském organismu
dochází k jejich reaktivaci



Čeleď: Herpesviridae

Podčeleď	Rod	Virus	Synonymum
<u>Alfa-herpesvirinae</u>	<i>Simplexvirus</i>	HHV-1	Herpes simplex virus 1 (HSV-1)
		HHV-2	Herpes simplex virus 2 (HSV-2)
	<i>Varicellovirus</i>	HHV-3	<u>Varicella zoster virus (VZV)</u>
<u>Beta-herpesvirinae</u>	<i>Cytomegalovirus</i>	HHV-5	<u>Cytomegalovirus (CMV)</u>
	<i>Roseolovirus</i>	HHV-6A	Lidský herpetický virus 6A (HHV-6A)
		HHV-6B	Lidský herpetický virus 6B (HHV-6B)
		HHV-7	Lidský herpetický virus 7 (HHV-7)
<u>Gamma-herpesvirinae</u>	<i>Lymphocryptovirus</i>	HHV-4	<u>Epstein-Barr virus (EBV)</u>
	<i>Rhadinovirus</i>	HHV-8	<u>Kaposí's sarcoma associated herpesvirus (KSHV)</u>

- obalené DNA viry
- doživotně perzistují v lidském organismu
- dochází k jejich reaktivaci



Primoinfekce viru herpes simplex (HSV) v těhotenství



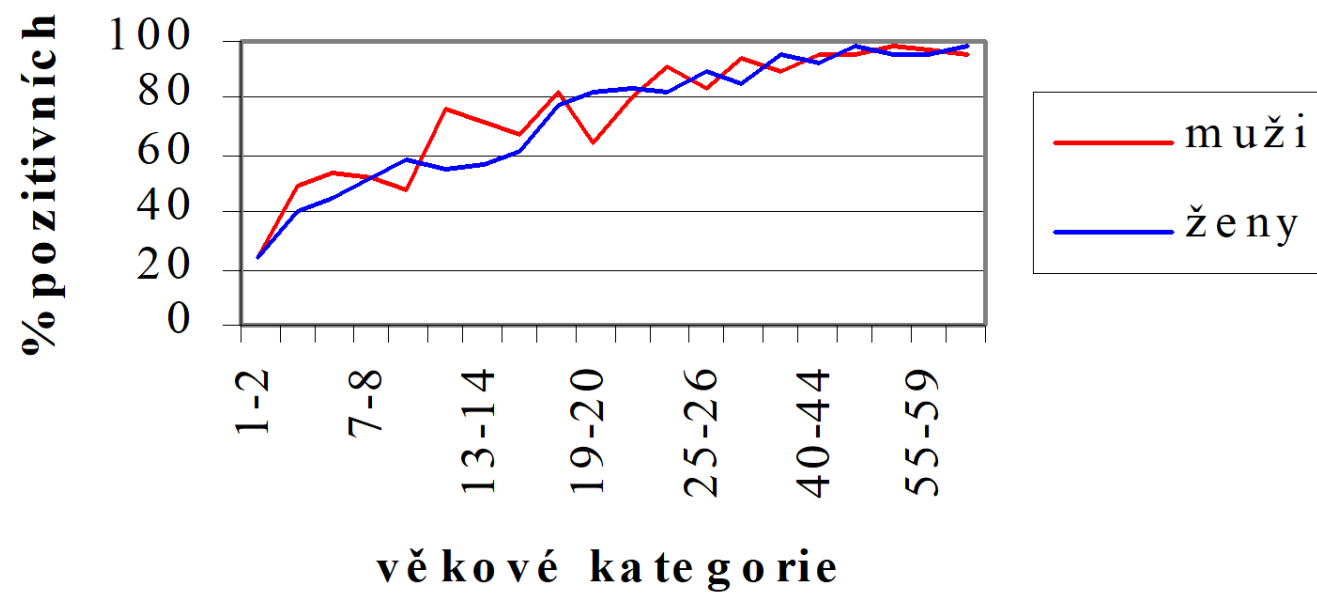
Představuje vážné riziko pro plod a novorozence, zejména pokud k ní dojde v prvním trimestru, kdy může způsobit těžké vrozené malformace:

závažné vrozené vady plodu:

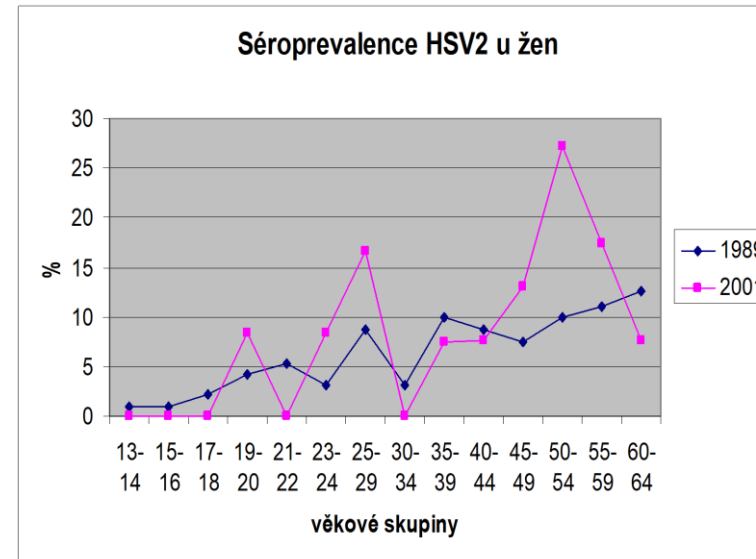
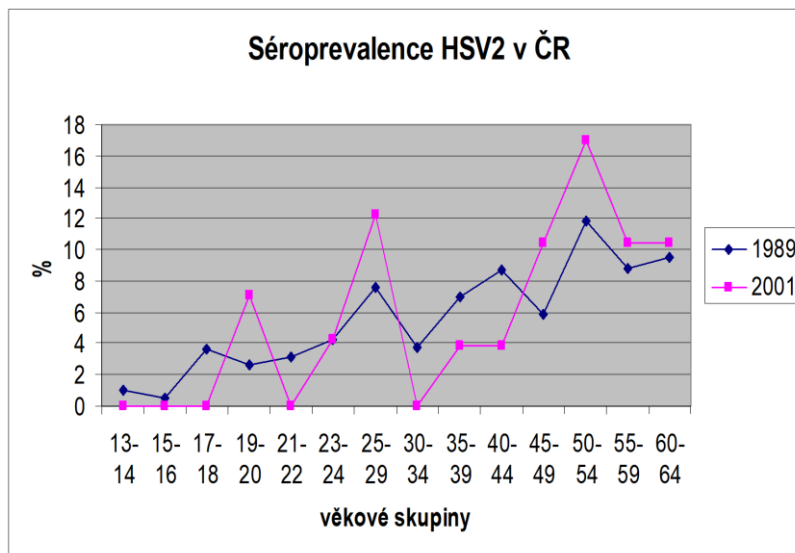
- mikrocefalie
- mikrooftalmie
- kalcifikace v centrálním nervovém systému

Potrat

Séroprevalence HSV1 v ČR (1996)



Séroprevalence HSV 2 v ČR 1989 a 2001



<https://www.thedermspecs.com/medical-services/herpes-simplex-virus-hsv-2/>

Patogeneza infekce HSV u novorozenců



Kongenitální infekce

- Vzácná
- Ascendentní šíření viru
porodními cestami, průchod
porušenými plodovými obaly
- transplacentární přenos (?)
- Asi 5 % dětí s neonatálním
herpesem

Perinatální infekce

- 85 % dětí s neonatálním herpesem
- Vylučování viru do cervikálníhoho
sekretu
 - asymptomatické
 - rekurentní herpes (3 dny)
 - primární infekce (několik týdnů)

Postnatální infekce **10 %**

Kongenitální a perinatální infekce HSV



Výskyt:

USA: 1/3 500 živých porodů

Anglie: 1,7/10⁵

Švédsko: 5/10⁵

Rizikové skupiny:

- + HSV2-seropozitivní ženy (1 %)
- ++ ženy s rekurentním genitálním herpesem a výsevem při porodu (4 %)
- +++ Primoinfekce v 3.trimestru těhotenství (67 %)

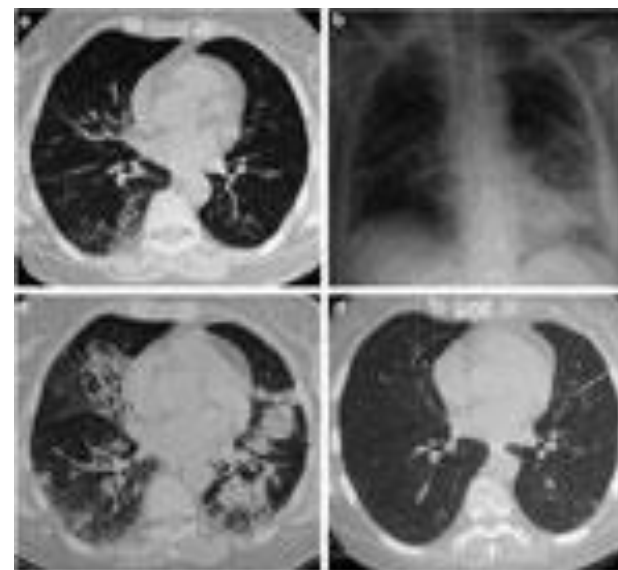
Preventivní opatření HSV₂

- Identifikace párů, kdy je partner HSV+
- Sexuální abstinence nebo užívání bariérových pomůcek ve 3. trimestru těhotenství
- Možná profylaxe aciklovirem od 36.týdne
- Při porodu:
 - zvážit porod s.c.
 - omezit invazivní monitorování
 - interval mezi odtokem plodové vody a vaginální porodem by neměl trvat více než 4 hod

Neonatální herpes



- 3 formy:
 1. Mukokutánní 45 %
 2. Infekce CNS 30 %
 3. Disseminované onemocnění 45 %
- ID 4 dny
- 70 % HSV2, 30 % HSV1
- TH: Aciclovir 20mg/kg á 8 hod i.v., 21 dní
Pokud se jedná o postižení CNS nebo
disseminovanou formu, při mukokutánní –14 dní
- S terapií začít ihned, když je vysloveno podezření



Doporučené postupy v diagnostice HSV



Onemocnění u novorozenců:

Průkaz HSV ve stěru ze sliznic (spojivka, nosohltan) nebo kožních lézí

Průkaz HSV-DNA v periferní krvi

Průkaz HSV-DNA v likvoru

Onemocnění kůže a sliznic:

Průkaz HSV ve stěru z léze

Sérologie – spolehlivá jen u primoinfekcí

Onemocnění NS:

Průkaz HSV-DNA v likvoru

Průkaz intratekální tvorby specifických protilátek

Onemocnění oka:

Průkaz HSV ve stěru z rohovky, spojivkového vaku, v biopsii

Diagnostika generalizované infekce u imunodeficientních pacientů:

Průkaz HSV-DNA v periferní krvi, biopsii z postiženého orgánu

Terapie



Inhibitory virové DNA-polymerázy:

- Nukleosidová analoga;
fosforylace virovou
thymidin-kinázou
- Aciklovir
- Valaciklovir
- Famciclovir
- Penciclovir
- Brivudin
- Ganciklovir
- Cidofovir - lokálně
- (Fosforylace též
buněčnou kinázou,
nežádoucí vedlejší
účinky)
- Foscarnet
(fosfonoformiát)

Vakcíny



Preventivní (profylaktické) x terapeutické

- **Inaktivovaný virus**

- klinická účinnost není dobře dokumentovaná (LupidonG, Lupidon H, Skinnerova vakcína)
- některé geny jsou potenciálními onkogeny

- **Subjednotkové vakcíny**

- ve stadiu klinických zkoušek (GSK, Chiron)
- nemají zcela protektivní účinek (nezabrání latentní infekci – předpokládá se spíše terapeutické využití)
- horší imunogenita - problémy s adjuvans, neúčinné u HSV1 séropozitivních

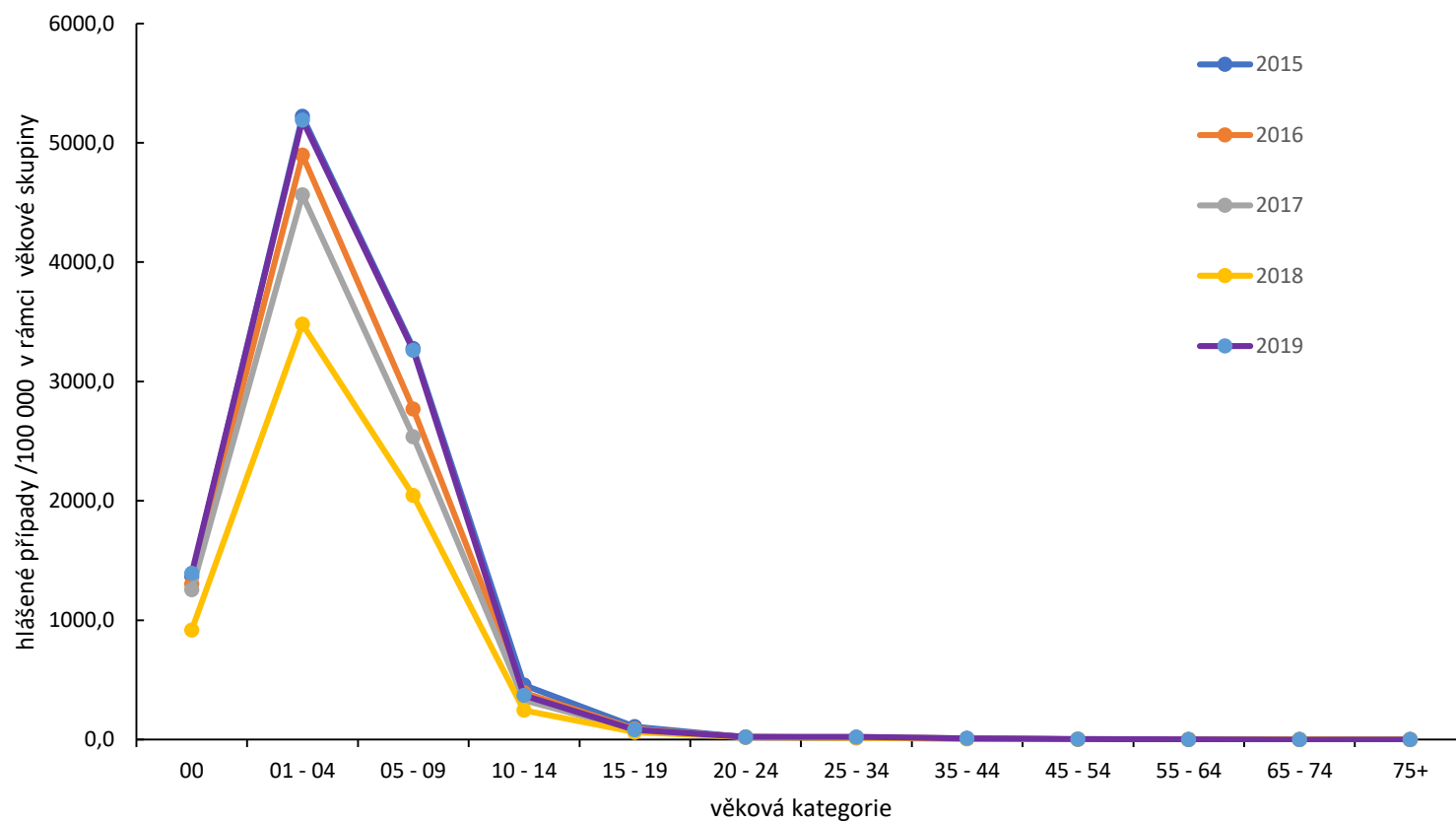
- **Příprava geneticky modifikovaných vakcinálních kmenů**

- DNA vakcíny, DISC (disabled infectious single cycle virus)

VZV (varicella-zoster)

- Silně vázaný na buňky
- Delší replikační čas než HSV
- Latence ganglia spinálních nervů včetně satelitních buněk
- Asymptomatické vylučování vzácné
- Reinfekce existují

Hlášené případy varicelly dle věkových skupin



Hlášené uzavřené případy MKN-10 B01.x dle věkových skupin na 100 000 obyvatel;
2015-2019, EpiDat, Česká republika. Vztaženo na střední stav obyvatelstva v daném roce.

Primoinfekce virem varicella-zoster (VZV) v těhotenství

Může způsobit vážné následky pro plod i novorozence, a to v závislosti na délce těhotenství v době nákazy:

- **V raných fázích těhotenství** může vést k syndromu vrozené varicely s defekty jako jsou kožní jizvy, oční defekty nebo poškození centrálního nervového systému
- **Při nákaze krátce před porodem** (5 dní před až 2 dny po něm) může novorozenec prodělat těžkou, generalizovanou formu onemocnění kvůli chybějícím mateřským protilátkám

Rizika a následky podle období těhotenství



V prvních 4 - 5 týdnech těhotenství:

Může vést k předčasným porodům a syndromu vrozené varicely u dítěte, který se projevuje kožními jizvami, očními defekty, hypoplazií končetin a poškozením CNS.

Mezi 20. a 30. týdnem těhotenství:

Vzácně může dojít k vrozeným abnormalitám u novorozence.

1-3 týdny před porodem:

Plod může získat plané neštovice, které se projeví jako vrozená nebo neonatální varicela.

5 dní před porodem až 2 dny po porodu:

Toto je kritické období. Nedochází k významnému přenosu mateřských protilátek, a proto může novorozenec onemocnět těžkou, generalizovanou formou varicely (viscerální varicela) s vysokou úmrtností.

Přenos viru



Virus VZV se šíří vzdušnou cestou a kontaktem s tekutinou z kožních projevů.

Možný je i transplacentární přenos viru.

Co dělat v případě nákazy

Vzhledem k riziku je klíčové správné posouzení situace a možná diagnostika včasné expozice viru VZV v průběhu těhotenství.

V případě podezření na varicelu u těhotné ženy je nutné co nejdříve vyhledat lékařskou pomoc, aby mohla být stanovena diagnóza a zvážena vhodná opatření, případně progrese onemocnění.

Kongenitální infekce VZV



Riziko:

- Primární infekce matky
- v 1. trimestru riziko kongenitální varicely (0,4 - 0,6 %)
- v 2. trimestru riziko kongenitální varicely (0,9 - 1,4 %)
- 3 týdny před porodem neonatální varicela
- Herpes zoster v těhotenství – o riziko
- Sekundární varicella – reinfekce s mírným průběhem

Klinické příznaky:

- Kožní léze: generalizované hluboké, herpes zoster do 1 roku života
- Chorioretinitis
- Hypoplasie končetin
- Vrozené defekty CNS, kostry, očí, zažívacího traktu, hydrocefalus, mikrocefalie

Léčba



- **Hyperimunní IgG**
(Varitect)
 - do 72 hod po expozici
 - novorozenci, těhotné, rizikovní pacienti
- **Aci(y)klovir**
 - Komplikovaná varicella
(pneumonie, neuroinfekce, novorozenci)
 - Herpes zoster
 - 10mg/kg po 8 hod
nebo 800 mg 6×denně 7-10 dní
(u dětí 20mg/kg po 6 hod)
 -

Vakcinální kmen VZV OKA

Takahashi 1974

- Z divokého japonského kmene p OKA - „clade“ 2 (J)
- Opakované pasáže na buňkách morčecích fibroblastů za nízké teploty
- Vakcína (směs kmenů)
- Proti výchozímu divokému kmenu pouze bodové mutace (42 SNP), většina se změnou AK v genu IE 62
- Latence v organismu s možností reaktivace
- Asymptomatická superinfekce divokými kmeny
- Asymptomatická virémie 2-4 týden po vakcinaci u 3 % očkovaných

Preventivní versus profylaktická vakcína



Varilrix, Varivax

- 2 dávkové schema
- $10^3,3$ PFU
- I postexpoziční profylaxe
(max 5.den)

Zostavax

- 1 dávkové schema
- 19 400 PFU
- Nelze použít jako profylaktická
- 50 let a výš

Shingrix

- glykoprotein E
- 2 dávkové schema
- 90% efektivita v prevenci HZ a PHN
- protektivita 85% 4 roky po vakcinaci

Doporučené postupy v diagnostice VZV



PROTILÁTKOVÁ ODPOVĚĎ

Varicella:

- Detekce VZV ve stěru z léze
- Sérologie (sérokonverze, nízkoavidní protilátky)

Herpes zoster:

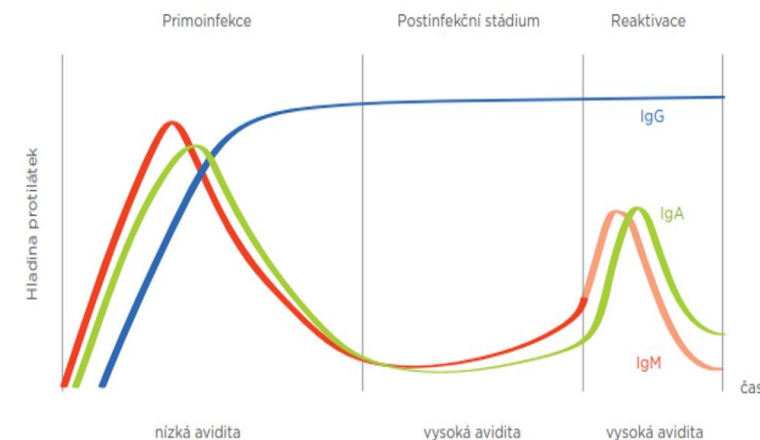
- Detekce VZV ve stěru z léze
- (sérologie)

Neurologická onemocnění:

- Průkaz VZV-DNA v likvoru
- Průkaz intratekální tvorby specifických protilátek

Onemocnění u imunodeficientních pacientů:

- Průkaz VZV-DNA v BAL, výtěru z nosohltanu, krvi



dr e t i e u e y a t i c u r a y d i a t i c e i f e c e i r e
a r i c e l l a t e r

Diagnostika a prevence kongenitální infekce VZV



Prenatální diagnostika:

- Průkaz VZV DNA v plodové vodě (spolehlivost, 4 - 6 týdnů od onemocnění matky)

Diagnostika u novorozenců:

- PCR viru (krev, spojivkový vak, kožní léze, moč), IgM

Prevence přenosu na plod:

- Hyperimunní gammaglobulin do 72 hodin od kontaktu s infekcí novorozenec (pokud výsev u matky 5 dní před a 2 dny po porodu)
- Aciklovir v terapeutické dávce (po 72 hodinách od kontaktu)

Problémy v diagnostice HSV, VZV



Sérologie:

- Nevhodná pro rekurentní infekce
- Intratékální protilátky-tvoří se i při polyklonální aktivaci IS (záněty v CNS, RS –MRZ reakce)
- U akutních infekcí se tvoří pozdě

Izolace:

- Snadná inaktivace viru

PCR:

- Asymptomatické vylučování HSV ve slinách
- Dlouhodobé přetrvávání DNA v likvoru po Herpes Zosteru

Primoinfekce cytomegalovirem (CMV) v těhotenství

Může mít vážné následky pro plod, zejména pokud k ní dojde v prvním trimestru

- **Existuje riziko přenosu viru na plod, což může vést:**
 - ✓ k mikrocefálii
 - ✓ poškození sluchu
 - ✓ žloutence
 - ✓ a dalším problémům u novorozence
- **Virus se může přenést transplacentárně, během porodu nebo kojením**

Rizika pro dítě

- **Závažné následky:** Nejvážnější riziko vzniká při nákaze v prvním trimestru.
- **Asymptomatická infekce:** Většina dětí narozených s kongenitální infekcí je bez příznaků, ale některé mohou mít problémy s vývojem později, jako je postižení sluchu nebo mentální retardace.
- **Symptomatická infekce:** U některých dětí se projeví závažné příznaky, jako je mikrocefalie, růstové problémy, hepatosplenomegalie, ikterus, petechie a poškození sluchu a zraku.

Diagnostika a prevence

- **Serologické vyšetření:** Doporučuje se vyšetření na CMV v těhotenství.
- **Sledování:** V případě pozitivního výsledku je třeba sledovat riziko a případně provést další testy (např. PCR).
- **Hygiena:** Důležitá je hygiena slin a tělesných tekutin, které jsou hlavním způsobem přenosu viru.

Sérologický přehled protilátek proti herpetickým virům CMV, EBV, VZV (1996)



- Organizace: SZÚ, NRL pro herpetické viry
- Vyšetřeno: cca 700 sér z Prahy, Západočeského a Severočeského kraje
- Detekce anti-CMV IgG protilátek: ELISA Wellcozyme anti-CMV IgG (Murex)
- Výsledky:

Séroprevalence CMV se zvyšovala s věkem

U dětí do 9 let se pohybovala okolo 40 %

K výraznému promoření docházelo u populace nad 20 let (60 %)

Ve věku nad 30 let dosahovala séropozitivita 80 % a u nejvyšších věkových skupin se blížila 90 %

Mezi muži a ženami nebyly výrazné rozdíly

Kongenitální CMV infekce



CMV – nejčastější příčina kongenitálních infekcí s prevalencí 0,5 – 2 %

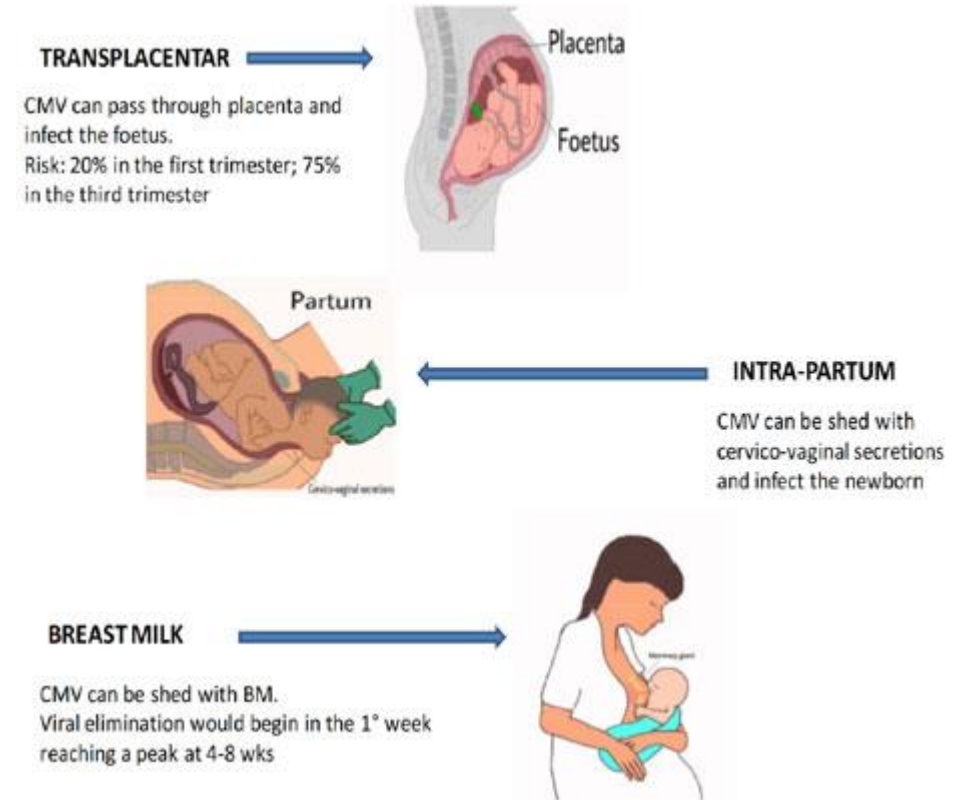
Přenos:

- transplacentární
- perinatální (během porodu)
- postnatální (mateřským mlékem)

CMV infekce u těhotné ženy:

primoinfekce × reaktivace

asymptomatický průběh × zvýšená únava



Kongenitální CMV infekce



- Intrauterinní přenos závisí na **době expozice plodu** virem CMV:
- **Infekce v časných fázích těhotenství** vede ke vzniku vrozených vývojových vad – **kongenitální cytomegalická inkluzní nemoc:**
 - Předčasný porod
 - Hepatosplenomegalie
 - Hyperbilirubinemie
 - Trombocytopenie
 - Poškození mozku (mikrocefalie, intracerebrální kalcifikace, ...)
 - Hydrocefalus
 - Poškození zraku
 - Poškození sluchu
 - Petechie
- **Poporodní mortalita těchto dětí je asi 5 %**

(příčinou – diseminovaná intravaskulární koagulace, jaterní selhání, bakteriální superinfekce)

Kongenitální CMV infekce



Petechie (blueberry muffin rash),
icterus



Zdroj: <https://www.cdc.gov/>

Mikrocefalie



Zdroj: Photograph source: Işıkay S, Yilmaz K. Congenital cytomegalovirus infection and finger anomaly. Case Reports. 2013;2013:bcr2013009486

Poškození sluchu (naslouchátko)



Zdroj: <https://www.maine.gov/>

Kongenitální CMV infekce



- Infekce **v pozdějším stadiu gravidity** – **bez příznaků po porodu**
(vylučování CMV ve slinách, v moči)
- Pozdní následky kongenitální CMV infekce:
 - **Hluchota**
 - **Mentální retardace**
 - **Poruchy chování**

Tyto děti vylučují CMV slinami a močí řadu měsíců x roků

Přenos CMV mateřským mlékem



Klinický obraz – stáří dítěte, stav imunitního systému

- subakutní hepatitida
- intersticiální pneumonie
- hemolytická anémie
- trombocytopenická purpura

Následky: poruchy sluchu

Tab. 2: Různé typy ošetření mateřského mléka

	negativa	pozitiva
Holderova pasterizace (30 min, 62.5 °C)	zničení CMV-specifických protilátek, enzymů, hormonů, růstových faktorů	úplné zničení CMV (30)
Krátkodobá pasterizace (5s, 72 °C)	snížení enzymatické aktivity	eradikace CMV (9)
zmražení (-20 °C, 18 h–20 dní)	neeliminuje virus, pouze snižuje virologickou nálož	redukuje buněčné komponenty, antioxidanty a imunoglobuliny (21, 31)
UV světlo	vir je stále přítomný v malém množství	bioaktivita MM (13)
Mikrovlny, vysoký výkon (750 W, 30 s)	neznámý vliv na složení a vlastnosti mateřského mléka	kompletní neutralizace CMV (14)

Diagnostika CMV infekce



Přímý průkaz

- **Průkaz CMV DNA** molekulárně biologickými metodami (kvantitativní real-time PCR)
- **Izolace viru na TK** (moč, BAL nasofaryngeální sekret)
- **Zrychlená izolace (Shell vials)** – centrifugace vzorku na TK fibroblastů - průkaz antigenu IE pp72
- **pp65 antigenemie** - průkaz pp65 antigenu v leukocytech periferní krve (nepřímá imunofluorescence)
- Vyšetření **funkce T-lymfocytů** – stanovení pravděpodobnosti reaktivace CMV u rizikových pacientů
- **Histopatologické vyšetření** - nejspecifičtější vyšetření, potvrzuje přímé postižení tkání (např. diagnostika CMV kolitidy – viremie nekoreluje s tkáňovým postižením)

Nepřímý průkaz

- Průkaz protilátek:
 - **IgG** – anamnestické protilátky
 - **IgM, IgA** – aktivní infekce (primoinfekce i reaktivace)
 - **Avidita IgG** – rozlišení primoinfekce od reaktivace
(Při primoinfekci jsou produkovány IgG s nízkou aviditou.
Po uplynutí 2-4 měsíců začne probíhat syntéza vysoce avidních IgG)

U imunosuprimovaných pacientů může být humorální imunitní odpověď výrazně oslabená.

Kvantitativní real-time PCR



Průkaz CMV DNA v periferní krvi (akutní fáze)

- sledování průběhu infekce (nárůst počtu kopií viru)
- sledování efektu léčby
- Kontrolní vyšetření za 5-7 dní (poločas CMV DNA v plazmě/krvi 3-8 dní)
- Vyšetření v kratším intervalu nemusí být validní → virová nálož může být stejná/vyšší (probíhající replikace viru > clearance viru)

výsledek tak může být chybně interpretován jako selhání léčby

- Průkaz CMV DNA v moči (rekonvalescentní fáze x asymptomatické vylučování viru)
- Průkaz CMV DNA v BAL nebo aspirátu (pneumonie)
- Průkaz CMV DNA v mozkomíšním moku (neurologické komplikace)

Kvantitativní real-time PCR

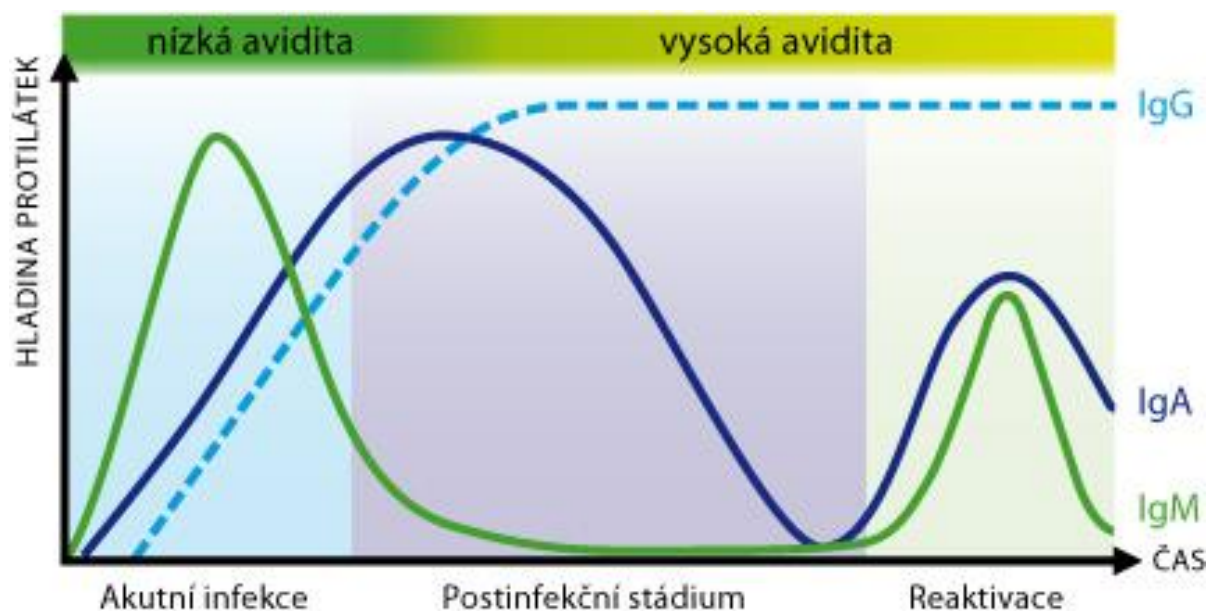
Při použití periferní krve a jiných vzorků (BAL, tkáň) lze odlišit aktivní infekci a lokální reaktivaci CMV

- **CMV pneumonie:** průkaz **CMV DNA v BAL a v krvi** (jen zřídka nedochází k virémii)

Pozn.: CMV může být v malém množství přítomen i v BAL zdravých lidí

- **CMV retinitida:** průkaz **CMV DNA v krvi**, případně **ve sklivci**
- **Postižení GIT:** průkaz **CMV přímo ve tkáni** (virémie – u některých jedinců nemusí být detekována)

Tvorba protilátek při CMV infekci



Zdroj: <https://www2.ikem.cz>

CMV IgM: tvoří se 1-2 týdny po infekci, pokles až vymizení cca za 3-4 měsíce (někdy přetrvávají i déle než rok)

CMV IgG: tvoří se 2-4 týdny po infekci, vrcholu dosahují cca za 2-3 měsíce po infekci

CMV IgA: ukazatelem aktivity infekce, tj. primoinfekce a reaktivace

CMV IgG avidita: slouží pro detekci recentní primární infekce

při primoinfekci – produkce IgG s nízkou aviditou

po uplynutí 2-4 měsíců začne probíhat syntéza vysoce avidních IgG

Diagnostika kongenitální CMV infekce



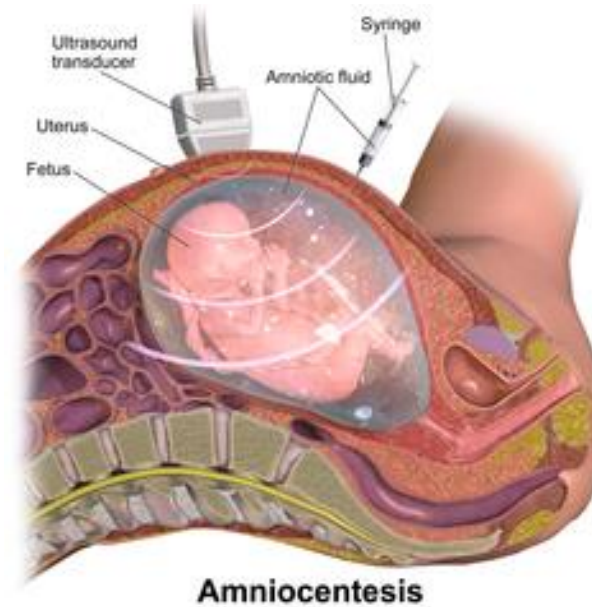
Gravidní ženy:

- sérologický průkaz CMV IgM, IgG, IgA a avidita CMV IgG protilátek
- průkaz CMV DNA v periferní krvi

- Plod:** - sledování vývoje pomocí UZ a MRI
- průkaz CMV DNA v plodové vodě

Novorozenci:

- průkaz CMV DNA ve slinách, moči, krvi
- sérologický průkaz CMV IgM, IgA protilátek v krvi (tvorí se nepravidelně a opožděně)
- další vyšetření: UZ mozku, oční + sluchové vyšetření, neurologické vyšetření, ...
- lab. dg. během prvních 2-3 týdnů života (pak již nelze rozlišit pre- a perinatální inf.)
- při komplikacích v pozdějším věku lze zpětně využít pro detekci CMV DNA suchou kapku z Guthrieho kartičky (novorozenecký screening)



Zdroj: nemuh.cz

Zdroj: <https://www.physio-pedia.com/>

Diagnostika kongenitální CMV infekce

Odběr plodové vody:

- po **21. týdnu** těhotenství
- nejméně **6 - 7 týdnů** po předpokládaném začátku maternální infekce
- **5 - 7 týdnů** trvá infekce plodu + replikace viru v ledvinách plodu + detekovatelné množství viru, vyloučené do amniotické tekutiny

Sérologické vyšetření CMV infekce u těhotné ženy

CMV IgG	CMV IgM	Avidita CMV IgG	Interpretace
-	-	nelze	CMV séronegativní
+	-	vysokoavidní	CMV primoinfekce v minulosti Nízké riziko pro plod
+	+	nízkoavidní	CMV primoinfekce Vysoké riziko pro plod
+	+	vysokoavidní	CMV reaktivace Nízké riziko pro plod

CMV antivirotika



- **Gancyklovir** (Cymevene, i.v.) – **lék 1.volby, inhibuje syntézu virové DNA**
 - nežádoucí účinky: **myelosuprese** (leukopenie, trombocytopenie, anémie, ...)
 - gel do očí (Virgan)
- **Valgancyklovir** (Valcyte, p.o.) – orální forma GCV, **lze podávat ambulantně**
- **Foskarnet** (Foscavir, i.v.) – léčba CMV infekcí, HHV-6 encefalitidy, aciklovir rezistentní HSV, VZV
 - váže se na virovou polymerázu → **inhibice virové polymerázy**
 - nežádoucí účinky: **nefrotoxicita (vzácně může dojít až k renálnímu selhání)**
- **Cidofovir** (Vistide, i.v.) – inhibuje syntézu virové DNA
 - léčba CMV retinitidy u HIV+ pacientů
 - nežádoucí účinky: **nefrotoxicita, neutropenie**
- **Hyperimunní IgG proti CMV** (Cytotect)
- Stimulace buněčné imunity: adoptivní přenos autologních nebo allogenních CMV specifických Tc-lymfocytů
- **Vakcíny – ve vývoji**

Závěr

Široká škála laboratorních metod, které jsou dnes běžně k dispozici, může významně přispět k diagnóze herpetických infekcí. Mnohá z laboratorních vyšetření mají i prognostický význam pro odhad rizika nebo průběhu onemocnění u těhotných. Volba vhodné vyšetřovací metody závisí na klinických příznacích infekce. **Nesprávný odběr materiálu, jeho nevhodné skladování, či transport do laboratoře bývá příčinou získání neplatných a zavádějících výsledků.** Pro všechny laboratorní vyšetřovací metody herpetických infekcí platí, že výsledek vyšetření pacienta je možno interpretovat pouze v kontextu s ostatními laboratorními a klinickými nálezy.



Externí hodnocení kvality a vývoj v laboratorní diagnostice herpetických virů

Michaela Růžková, Markéta Pumannová, Marcela Ondráková

SZÚ Praha, NRL pro herpetické viry

Konzultační den SZÚ, 8. 10. 2025

Programy EHK připravované v NRL pro herpetické viry v rámci roku 2025:

- PT#M/ 6 **Sérologie EBV** (11. 2. 2025, koordinátor Ing. Růžková, Ph.D.) 119 účastníků
 - PT#M/26 **Sérologie HSV** (27. 5. 2025, koordinátor Ing. Růžková, Ph.D.) 78 účastníků
 - PT#M/27 **Sérologie VZV** (27. 5. 2025, koordinátor Ing. Růžková, Ph.D.) 70 účastníků
 - PT#M/34 **Průkaz DNA HSV, VZV** (22. 10. 2024, koordinátor Ing. Růžková, Ph.D.) 37 účastníků
-

Programy EHK připravované v NRL pro cytomegalovirus:

- PT#M/ 7 **Sérologie CMV** (11. 2. 2025, koordinátor MUDr. Štěpánová, Ph.D.)
- PT#M/15 **Detekce CMV-DNA** (24. 3. 2025, koordinátor MUDr. Štěpánová, Ph.D.)

PT#M/6/2025

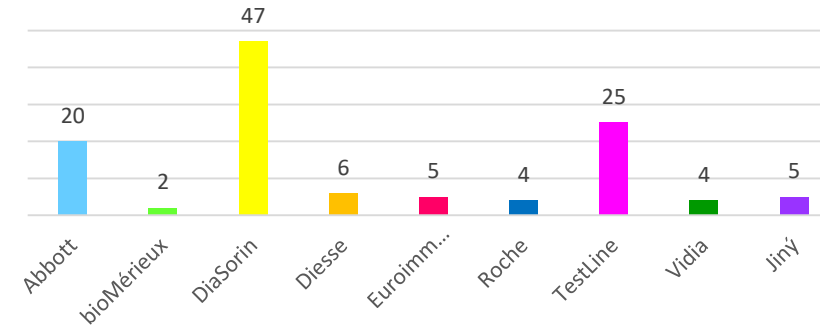
EHK 1459 - Sérologie EBV

- *EHK*: Průkaz protilátek třídy IgG a IgM
proti různým antigenům EBV a souhrnná interpretace testů
- *Počet vzorků v sadě (objem)*: 2 vzorky (0,3 ml)
- *Počet účastníků* : 119 laboratoří
- *Uspělo*: 119 laboratoří
- *Neuspěla*: žádná laboratoř
- Vzorky rozesílány společně s PT#M/7 Sérologie CMV

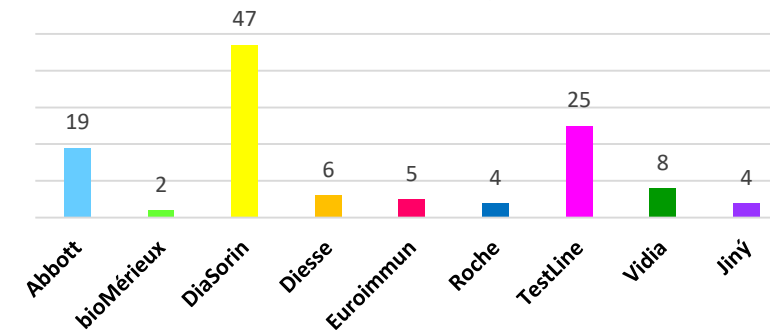
Správné výsledky

Marker	Vzorek A	Vzorek B
EBNA IgG	pozitivní	negativní
EBNA IgM	negativní	negativní
VCA IgG	pozitivní	negativní
VCA IgG avidita	vysokoavidní	nelze stanovit
VCA IgM	negativní	negativní
VCA IgA	negativní	negativní
EA IgG	negativní	negativní
EA IgM	negativní	negativní

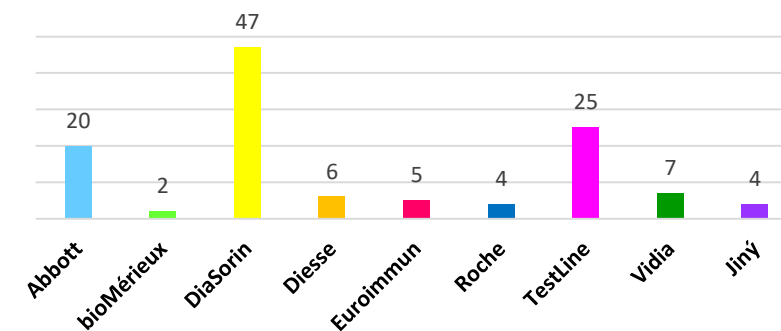
Marker EBNA-1 IgG



Marker VCA IgG



Marker VCA IgM



Hodnocení účastníků

PT#M/6/2025 EHK 1459 - Sérologie EBV

- U každé laboratoře je vypočtena procentuální úspěšnost, definovaná jako podíl skutečně dosaženého počtu bodů a maximálního dosažitelného počtu bodů (maximální dosažitelný počet bodů je dán počtem vyšetřovaných markerů)
- **Hranice úspěšnosti** - stanovena na **80 %**
- Požadujeme vyšetření alespoň 3 markerů

Hodnocení laboratoří

Uspělo všech 119 laboratoří, z toho 5 s bodovou ztrátou.

Bodové hodnocení jednotlivých markerů

Marker	Body
VCA IgG	2
VCA IgM	2
EBNA-1 IgG	2
EBNA-1 IgM	1
EA IgG	1
EA IgM	1
VCA IgA	1
Immunoblot	4
Celk. interpretace	4

PT#M/26/2025

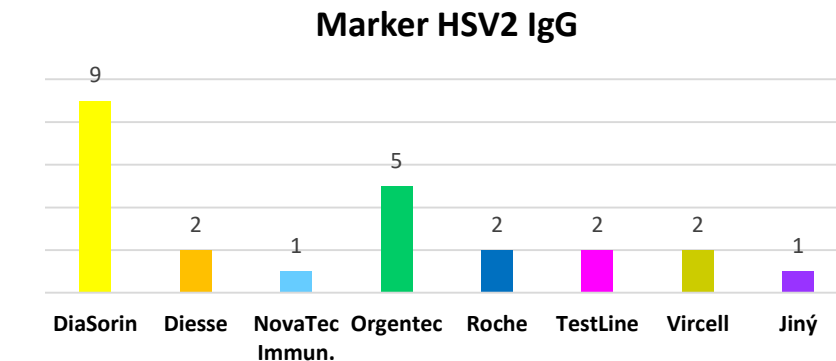
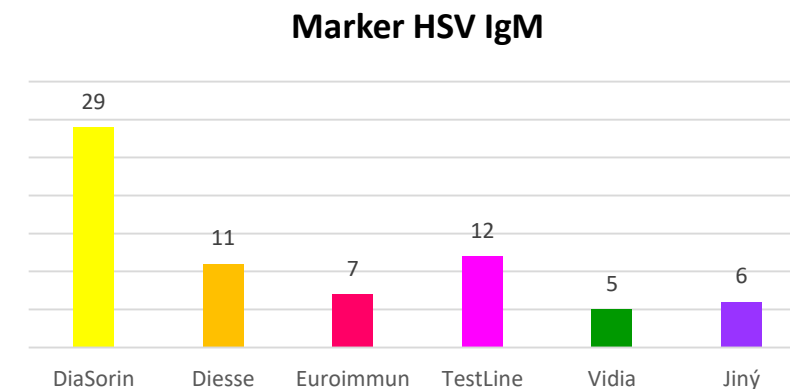
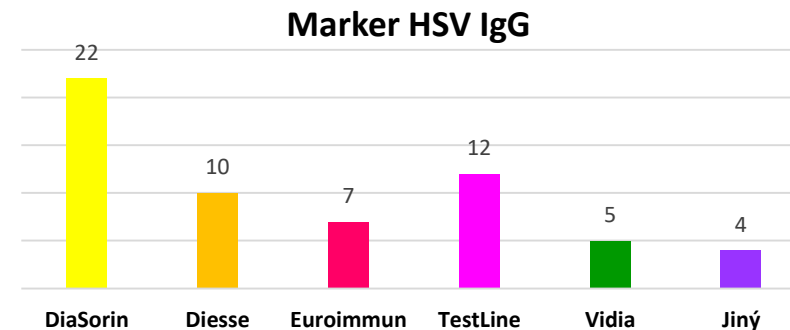
EHK 1486 - Sérologie HSV

- *EHK*: Průkaz protilátek třídy IgG a IgM
proti antigenům HSV a souhrnná interpretace testů
- *Počet vzorků v sadě (objem)*: 2 vzorky (0,3 ml)
- *Počet účastníků* : 78 laboratoří
- *Uspělo*: 76 laboratoří
- Vzorky rozesílány společně
s PT#M/27 Sérologie VZV a
PT#M/28 Sérologie klíšťové encefalitidy

EHK 1486 Správné výsledky

	HSV IgG	HSV IgM	HSV IgA	HSV2 IgG
Vzorek A	negativní	negativní	negativní	negativní
Vzorek B	pozitivní	negativní	negativní	pozitivní

Nejčastěji používané diagnostické testy



Hodnocení účastníků

PT#M/26/2025 EHK 1486 - Sérologie HSV

- U každé laboratoře je vypočtena procentuální úspěšnost, definovaná jako podíl skutečně dosaženého počtu bodů a maximálního dosažitelného počtu bodů (maximální dosažitelný počet bodů je dán počtem vyšetřovaných markerů)
- **Hranice úspěšnosti** - stanovena na **80 %**

Hodnocení laboratoří:

Celkem 78 laboratoří.
Z toho 77 laboratoří dodalo výsledky v termínu.
Uspělo 75 laboratoří.
S bodovou ztrátou 3.
Neuspěly 2 laboratoře.

Bodové hodnocení jednotlivých markerů

Marker	Body
HSV IgG	2
HSV1 IgG	2
HSV2 IgG	2
HSV IgM	2
HSV1 IgM	2
HSV2 IgM	2
Immunoblot	2
Celk. interpretace	2

PT#M/27/2025

EHK 1487 - Sérologie VZV

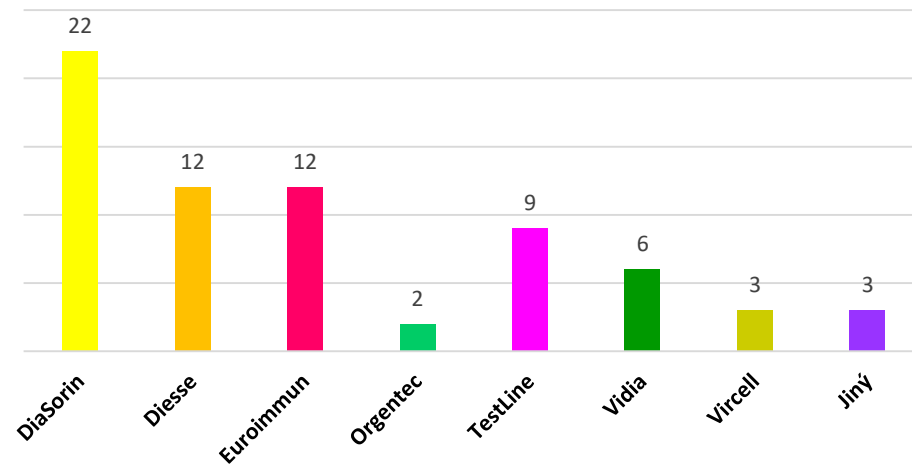
- *EHK*: Průkaz protilátek třídy IgG a IgM
proti antigenům VZV a souhrnná interpretace testů
- *Počet vzorků v sadě (objem)*: 2 vzorky (0,3 ml)
- *Počet účastníků*: 70 laboratoří
- *Uspělo*: 68 laboratoří
- *Neuspěla*: 1 laboratoř
- Vzorky rozesílány společně
s PT#M/26 Sérologie HSV a
PT#M/28 Sérologie klíšťové encefalitidy

EHK 1487 Správné výsledky

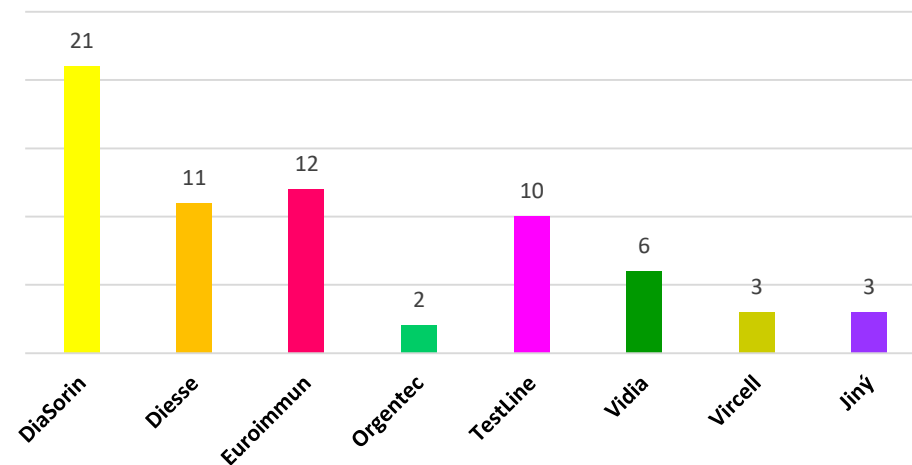
	VZV IgG	VZV IgM	Avidita VZV IgG
Vzorek A	pozitivní	negativní	vysokoavidní
Vzorek B	negativní	negativní	nelze

Nejčastěji používané diagnostické testy

Marker VZV IgG



Marker VZV IgM



Pokroky v rámci testování protilátek

- Firma VIDIA přichází s novou verzí analyzátoru:
- **ThunderBolt®**
- pokročilý automatizovaný ELISA analyzátor
- S jednorázovými kazetami MONO-VIDITEST
- každá kazeta přichází připravená k okamžité analýze
- Je třeba jen vložit vzorek
- přináší automatické zpracování i komplexní reportování



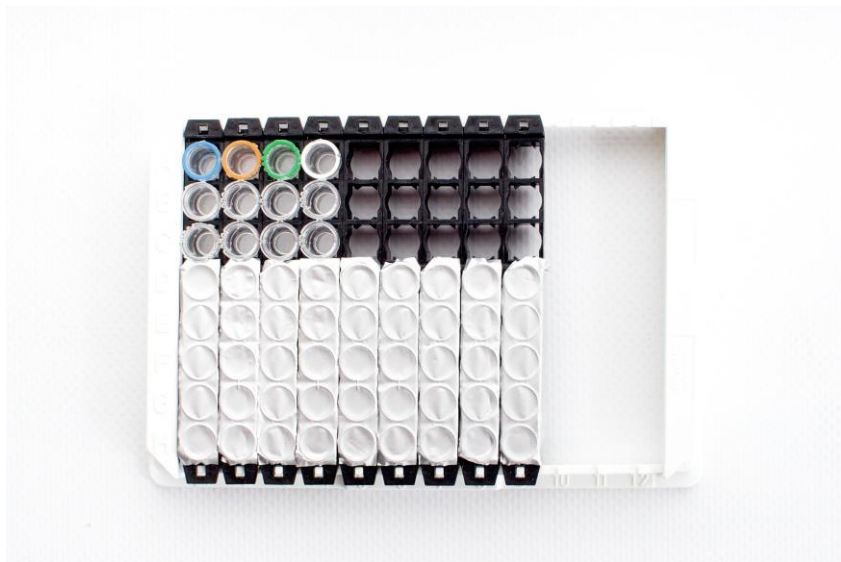
Pokroky v rámci testování protilátek

- Výhody z pohledu laboratoře:
- **Vysoká kapacita a efektivita:**
 - **Až 192 primárních zkumavek** na vzorky díky 12 zásuvným stojanům po 16 vzorcích.
 - Kapacita pro **až 14 reagensů** (2 stojany se 7 reagensy).
 - **Možnost provádění mnoha různých protokolů** v jedné sadě.
 - Přímé ředění v jamkách (až 1:100) pro minimální spotřebu.
- **Jednoduchost a uživatelský komfort:**
 - Intuitivní software s grafickým uživatelským rozhraním MS Windows 10, které Vás provede celým procesem.
 - **Zásuvné stojany s pozitivní identifikací vzorku** a čtením čárových kódů pro snadné a bezpečné vkládání.



Pokroky v rámci testování protilátek

- ThunderBolt® je navržen tak, aby vyhovoval různým požadavkům laboratoří a představuje komplexní řešení pro automatizaci diagnostických procesů.



PT#M/34/2024

EHK 1428 – Průkaz DNA HSV, VZV

- *EHK*: Kvalitativní a kvantitativní průkaz DNA virů HSV1, HSV2 a VZV
- *Počet vzorků v sadě*: 7 vzorků (lyofilizované vzorky)
- *Počet účastníků*: 37 laboratoří
- *Uspělo*: 36 laboratoří (1 laboratoř nedodala výsledky)
- *Kvantitativní průkaz HSV DNA*: 14 laboratoří (1 nevyhovující)

Správné výsledky HSV DNA

Vzorek	HSV Kvalitativní výsledek	HSV Kvantitativní výsledek ¹ (kopie/ml)
1/2024	HSV2	4,89.10 ⁵
2/2024	negativní	0
3/2024	negativní (VZV)	0
4/2024	HSV1	1,65.10 ⁵
5/2024	HSV2	3,98.10 ⁶
6/2024	HSV1	2,15.10 ⁶
7/2024	negativní (VZV)	0

¹ Medián hodnot získaný od účastníků a NRL (po vyloučení nejvyšší a nejnižší odlehlé hodnoty)

Použité soupravy pro průkaz HSV DNA

Výrobce	Souprava	Počet uživatelů
Abbott	Alinity m HSV1&2/VZV Assay	1 (2,8 %)
BioMérieux	Argene HSV1&2 VZV R-GENE	1 (2,8 %)
Clonit	Quanty HSV 1-2	1 (2,8 %)
Ecoli	eSens HSV 1/2 genotype QL PCR kit	1 (2,8 %)
Elisabeth Pharmacon	EliGene HSV1/HSV2 UNI	2 (5,5 %)
GeneProof	Herpes Simplex Virus (HSV-1/2) PCR Kit	17 (47,2 %)
In-house	In-house	1 (2,8 %)
Sacace Biotechnologies	HSV 1/2 Typing Real-TM	8 (22,2 %)
Seegene	Allplex Genital ulcer Assay	1 (2,8 %)
Seegene	Allplex Meningitis-V1 Assay	1 (2,8 %)
Uniogen Dy	GenomEra HSV-1/2, VZV + EV Assay Kit	1 (2,8 %)
Qiagen	Artus HSV-1/2 LC PCR Kit	1 (2,8 %)

Celkem: 36

PT#M/34/2024

EHK 1428 – Průkaz DNA HSV, VZV

- *Celkem:* 37 laboratoří
- *Uspělo:* 36 laboratoří (1 laboratoř nedodala výsledky)
- *Kvantitativní průkaz VZV DNA:* 13 laboratoří (1 nevyhovující)

Správné výsledky VZV DNA

Vzorek	VZV Kvalitativní výsledek	VZV Kvantitativní výsledek ¹ (kopie/ml)
1/2024	negativní (HSV2)	0
2/2024	negativní	0
3/2024	VZV	9,82.10 ⁴
4/2024	negativní (HSV1)	0
5/2024	negativní (HSV2)	0
6/2024	negativní (HSV1)	0
7/2024	VZV	1,34.10 ⁶

¹ Medián hodnot získaný od účastníků a NRL (po vyloučení nejvyšší a nejnižší odlehlé hodnoty)

Použité soupravy pro průkaz VZV DNA

Výrobce	Souprava	Počet uživatelů
Abbott	Alinity m HSV1&2/VZV Assay	1 (2,8 %)
BioMérieux	Argene HSV1&2 VZV R-GENE	1 (2,8 %)
Clonit	Quanti HSV 1-2	1 (2,8 %)
Ecoli	eSens HSV 1/2 genotype QL PCR kit	1 (2,8 %)
Elisabeth Pharmacon	EliGene HSV1/HSV2 UNI	2 (5,5 %)
GeneProof	Herpes Simplex Virus (HSV-1/2) PCR Kit	16 (44,4 %)
In-house	In-house	1 (2,8 %)
Sacace Biotechnologies	HSV 1/2 Typing Real-TM	9 (25,0 %)
Seegene	Allplex Genital ulcer Assay	1 (2,8 %)
Seegene	Allplex Meningitis-V1 Assay	1 (2,8 %)
Uniogen Dy	GenomEra HSV-1/2, VZV + EV Assay Kit	1 (2,8 %)
Qiagen	Artus HSV-1/2 LC PCR Kit	1 (2,8 %)

Celkem: 36

Hodnocení účastníků

PT#M/34/2024 EHK 1428 – Průkaz DNA HSV, VZV

- U každé laboratoře je vypočtena procentuální úspěšnost, definovaná jako podíl skutečně dosaženého počtu bodů a maximálního dosažitelného počtu bodů (maximální dosažitelný počet bodů při 7 vzorcích v sadě je 14 bodů)
- **Hranice úspěšnosti** - stanovena na **80 %**
- Zvlášť se hodnotí detekce HSV DNA a detekce VZV DNA

Kvalitativní hodnocení

- Vztažnou hodnotou je výsledek získaný v NRL pro herpetické viry
- Shodný výsledek každého vzorku je hodnocen **2 body**
- Negativní výsledek u vzorku obsahujícího méně než 1000 kopií/ml je hodnocen 1 bodem
- Do hodnocení je zahrnuto všech 7 vzorků v sadě

Kvantitativní hodnocení

- Výsledky jsou porovnávány s mediánem hodnot získaných od všech účastníků včetně výsledků NRL pro herpetické viry (po vyloučení nejvyšší a nejnižší odlehlé hodnoty)
- **Odchylka do 1 dekadického logaritmu** od vztažné hodnoty je hodnocena **2 body**
- **Odchylka do 2 dekadických logaritmů** od vztažné hodnoty je hodnocena **1 bodem**
- **Odchylka větší než 2 dekadické logaritmy** je za **0 bodů**
- Do hodnocení je zahrnuto všech 7 vzorků v sadě

Pokroky v rámci testování DNA PCR

- **GENEPROOF PORTFOLIO KITŮ PRO DETEKCI INFEKcí U IMUNOKOMPROMITOVANÝCH A TRANSPLANTOVANÝCH**

IVDR	Kvantitativní kit*	GeneProof PCR Kit
✓	✓	Cytomegalovirus (CMV)
✓	✓	Epstein-Barr Virus (EBV)
	✓	BK/JC Virus (BK/JC)
✓	✓	BK Virus (BKV)
✓	✓	JC Virus (JCV)
	✓	Adenovirus
		Aspergillus
✓	✓	Herpes Simplex Virus (HSV-1/2)
✓	✓	Human Herpesvirus 6/7 (HHV-6/7)
✓	✓	Human Herpesvirus 8 (HHV-8)
	✓	Parvovirus B19
✓	✓	Varicella-Zoster Virus (VZV)

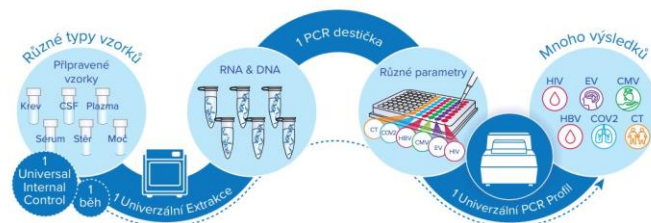
Nabídka kvantitativních kitů

- **12 patogenů** pro komplexní diagnostiku,
z toho 11 kvantitativních

Flexibilita, jednoduchost a efektivita

- Všechny kity lze kombinovat v jednom PCR běhu díky univerzálnímu teplotnímu profilu napříč celým portfoliem
- Jedna univerzální interní kontrola pro všechny kity
- Jednoduché kity s ready-to-use reagensii
- Široká škála validovaných typů vzorku a verifikovaných cyclerů

Vyšší efektivita vaší laboratoře díky One Workflow systému



SEMI-AUTOMATIZOVANÉ ŘEŠENÍ GENEPROOF

croBEE® NA16 Nucleic Acid Extraction System Plus (IVDR)



- Automatický systém pro extrakci nukleových kyselin ze širokého spektra biologických materiálů
- Snadná obsluha díky univerzálním jednorázovým kazetám

croGENE Real-Time PCR System (IVDR)



- Výkonný přístroj pro rychlou a spolehlivou diagnostiku
- Poskytuje přesné a reprodukovatelné výsledky
- Optimalizován pro použití s PCR kity GeneProof

myCROBE® PLNĚ AUTOMATIZOVANÉ ŘEŠENÍ

EXTRAKCE

PCR

VÝSLEDEK

- Minimalizace manuálního zpracování vzorků
- Sample-to-result walk-away automatizace
- Široké spektrum diagnostických testů
- IVDR certifikováno

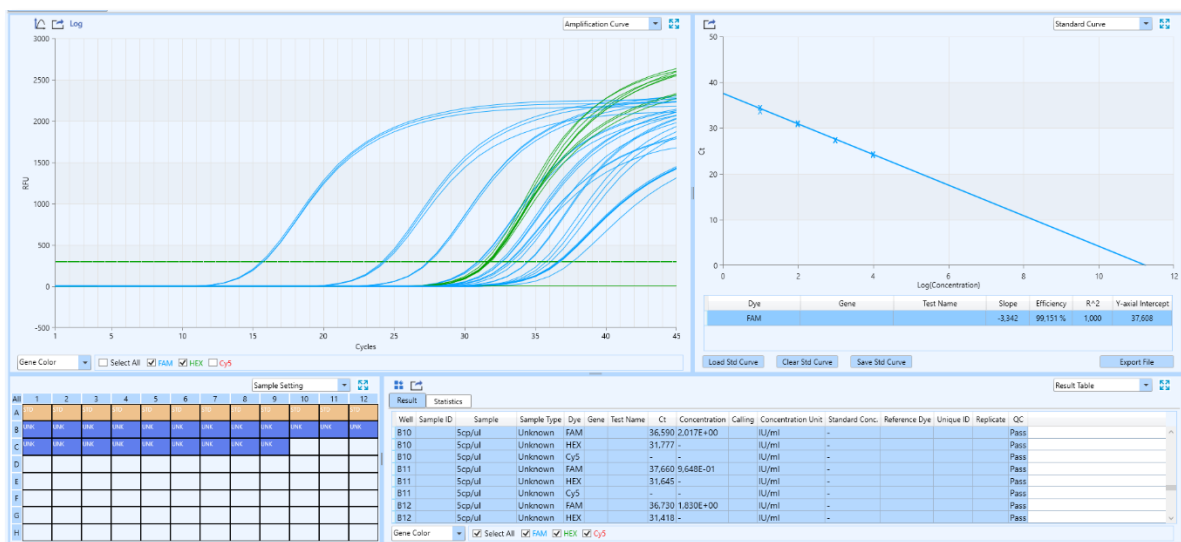


UKÁZKA VÝSLEDKŮ: TEST NA CYTOMEGALOVIRUS A DALŠÍ PARAMETRY

croGENE Real-Time PCR System



- Experiment s CMV vzorky různých koncentrací



- Vše potřebné k vyhodnocení přehledně na jediné obrazovce
 - PCR křivka
 - Kalibrační křivka
 - Rozložení vzorků v PCR platíčku
 - Tabulka s kvalitativními výsledky

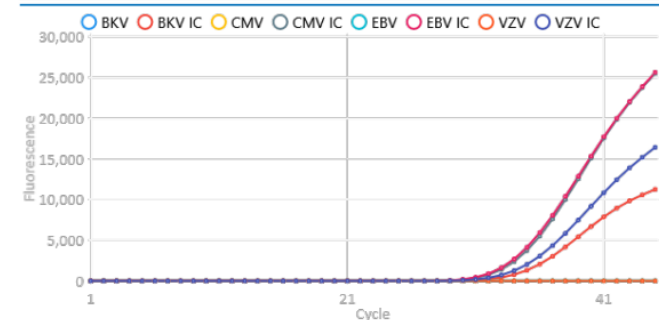
myCROBE® plně automatizované řešení



- Negativního vzorek testovaný na 4 parametry najednou: CMV, EBV, VZV a BKV

Sample ID: 8csf		Specimen: CSF		Date: 5/8/2025
Detection	Target	Result	Specimen	
BKV	BKV	Negative	Valid	
CMV	CMV	Negative	Valid	
EBV	EBV	Negative	Valid	
VZV	VZV	Negative	Valid	

Target	Internal control	Positive control	Negative control	Standard curve
BKV	Valid	Valid	Valid	Valid (R=1.00)
CMV	Valid	Valid	Valid	Valid (R=1.00)
EBV	Valid	Valid	Valid	Valid (R=0.99)
VZV	Valid	Valid	Valid	Valid (R=1.00)



- Automatické vyhodnocení výsledků zpracované v přehledné zprávě ideální ke sdílení i archivaci

Pokroky v rámci testování DNA PCR

- Firma DYNEX

- Během příštího roku by měly být uvedeny na trh minimálně tyto dva multiplexy pro herpetické viry:

- eDetect CMV-EBV-HHV6 QT PCR Kit
 - eDetect HSV1-HSV2-VZV QT PCR Kit

- ✓ Certifikace dle CE IVD-R
 - ✓ Multiplex kity
 - ✓ 50 reakcí (polymeráza i mastermix: po 2x25rxn)
 - ✓ Lyofilizovaný formát – rekonstituce polymerázy přímo mastermixem (1-kroková příprava)
 - ✓ Stejný teplotní profil
 - ✓ 2 interní kontroly (endogenní, exogenní)
 - ✓ Kontrola kontaminace (UDG)
 - ✓ Trvanlivost zatím 12 měsíců, cíl 24 měsíců (dlouhodobé stabilitní studie v běhu)
 - ✓ Přeprava při pokojové teplotě

Pokroky v rámci testování DNA PCR

- eDetect **CMV-EBV-HHV6 QT** PCR Kit – **quantitative**
 - Cytomegalovirus (sensitivita 143 IU/ml)
 - Epstein-Barr virus (sensitivita 129 IU/ml)
 - Lidský herpetický virus 6 A,B (sensitivita 179 IU/ml)
 - Typy vzorků: DNA extrahovaná z krve/plazmy



Mezilaboratorní porovnání (MLP) připravovaná NRL pro herpetické viry

- MLP Kultivace a identifikace herpetických virů (duben příslušného roku)
- MLP Sérologie HHV-6 (září příslušného roku)
- MLP Sérologie HHV-8 (září příslušného roku)

V případě zájmu kontaktujte:

Ing. Michaela Růžková, Ph.D.

Tel: +420 267 082 476

E-mail: michaela.ruzkova@szu.gov.cz

Instand (Německo)

- **Virus Genome Detection - Cytomegalovirus (365)**
- **Virus Genome Detection - Cytomegalovirus Resistance Determination (349)**
- **Virus Genome Detection - Epstein Barr Virus (376)**
- **Virus Genome Detection - Herpes Simplex Virus Type 1/Type 2 (363)**
- **Virus Genome Detection - Human Herpesvirus 6 (HHV-6) (405)**
- **Virus Genome Detection - Human Herpesvirus 8 (HHV-8) (406)**
- **Virus Genome Detection - Varicella Zoster Virus (366)**
- **Virus Immunology - Cytomegalovirus (Ab) (351)**
- **Virus Immunology - Epstein Barr Virus (Ab) (352)**
- **Virus Immunology - Herpes Simplex Viruses (Ab) (354)**
- **Virus Immunology - Varicella Zoster Virus (Ab) (353)**

Quality Control **for Molecular Diagnostics (QCMD)**

(Velká Británie)

- **Cytomegalovirus Drug Resistance Typing**
- **Cytomegalovirus Whole Blood**
- **Human Cytomegalovirus DNA**
- **Cytomegalovirus Dried Blood Spot**
- **Epstein-Barr virus DNA**
- **Epstein-Barr virus Whole Blood**
- **Herpes Simplex Virus Drug Resistance**
- **Herpes simplex virus DNA**
- **Human Herpes Virus 6 DNA**

EHK

- **PT#M/7 Sérologie CMV**
- **PT#M/15 Detekce CMV-DNA**

Poděkování

Celému týmu NRL-HV za jejich práci a týmu LTK za spolupráci.
Bez nich by to nešlo!

