

ZARDĚNKY/ KONGENITÁLNÍ ZARDĚNKOVÝ SYNDROM: příručka pro odběr, skladování a transport klinických vzorků

ZARDĚNKY

Klinická kritéria [1]

Každá osoba s náhlými prvními příznaky generalizované makulopapulózní vyrážky a

nejméně jedním z těchto pěti příznaků:

- cervikální adenopatie
- subokcipitální adenopatie
- postaurikulární adenopatie
- bolesti kloubů
- artritida

Laboratorní kritéria

Nejméně jedno z těchto čtyř kritérií:

- izolace viru zarděnek z klinického vzorku
- detekce nukleové kyseliny viru zarděnek v klinickém vzorku
- detekce protilátek třídy IgM proti viru zarděnek *)
- sérokonverze protilátek třídy IgG proti viru zarděnek nebo signifikantní vzestup titru protilátek třídy IgG proti viru zarděnek v párových vzorcích vyšetřených v paralelním testu

**) Ve fázi eliminace mohou být pro vyloučení falešně pozitivních výsledků testu na IgM v některých situacích vzata v úvahu další vyšetření: Manuál WHO pro laboratorní sledování virů spalniček a zarděnek (WHO Manual for the Laboratory Surveillance of Measles and Rubella Viruses, 2017)*

Laboratorní výsledky je nutno vykládat s ohledem na případné očkování (možné přetrvávání protilátek třídy IgM po očkování).

KONGENITÁLNÍ ZARDĚNKOVÝ SYNDROM (KZS)

Klinická kritéria [1]

Kongenitální zarděnková infekce (KZI): pro CRI není možno definovat žádná klinická kritéria.

Kongenitální zarděnkový syndrom (KZS)

Každý kojenec mladší 1 roku nebo mrtvě narozený plod s:

nejméně dvěma příznaky uvedenými v kategorii A)

NEBO

jedním příznakem v kategorii A) a jedním v kategorii B).

A)

- katarakta(y)

- vrozený glaukom
- vrozená srdeční vada
- ztráta sluchu
- pigmentová retinopatie

B)

- purpura
- splenomegalie
- mikrocefalie
- opoždění ve vývoji
- meningoencefalitida
- radiolucenční onemocnění kostí
- žloutenka, která začne do 24 hodin po porodu

Laboratorní kritéria

Nejméně jedno z těchto čtyř kritérií:

- izolace viru zarděnek z klinického vzorku
- detekce nukleové kyseliny viru zarděnek
- specifická protilátková odpověď proti viru zarděnek (IgM)
- přetrvávání protilátek IgG proti viru zarděnek mezi 6. a 12. měsícem věku (nejméně dva vzorky s podobnou koncentrací protilátek IgG proti viru zarděnek)

Laboratorní výsledky je nutno interpretovat s ohledem na výsledky sérologického testování matky. Sérologické testy k potvrzení CRS zahrnují detekci protilátek IgM proti zarděnkám nebo detekci zvyšujících se hladin protilátek IgG v prvním roce života. V případech KZS jsou protilátky IgM často přítomny krátce po narození, ale je třeba provést opakované testování, protože někteří kojenci si protilátky nevytvoří po dobu několika týdnů. IgM mohou zůstat detekovatelné až 1 rok, avšak detekce IgM je nejspolehlivější mezi 3. a 6. měsícem věku. U kojenců starších 6 měsíců se k potvrzení KZS doporučuje vyšetření specifických IgG proti zarděnkám.

KLINICKÝ MATERIÁL (ZARDĚNKY, KONGENITÁLNÍ ZARDĚNKOVÝ SYNDROM)

1. VZORKY PRO SÉROLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Biologický materiál: cca 5-7 ml srážlivé venózní krve, ideálně akutní a rekonvalescentní vzorek

(párové sérum: nutno vyšetřovat současně)

Optimální doba odběru - zarděnký:

- 1. vzorek krve (akutní): od 4. dne po výsevu exantému, nejvyšší výpovědní hodnotu mají séra odebraná od 4. do 10. dne po výsevu exantému (až u 30 % nemocných nemusí být v prvních třech dnech IgM protilátky detekovatelné, u reinfekcí se nemusí objevit vůbec)
- 2. vzorek krve (rekonvalescentní): do 28. dne po výsevu exantému, minimálně 10 dní od prvního odběru

Podmínky pro skladování:

- plná krev – před doručením do laboratoře maximálně 24 hodin při pokojové teplotě nebo 72 hodin při teplotě 2 – 8 °C (po této době je nutné provést separaci séra)
- separované sérum – před doručením do laboratoře maximálně 5 dní při teplotě 2 – 8 °C, dlouhodobé skladování při teplotě -20 °C ± 5 °C

Podmínky pro transport do laboratoře:

- venózní krev či sérum je možné transportovat při teplotě 2 – 8 °C
- pokud byl vzorek séra před transportem zmrazený, je vhodné zajistit, aby během přepravy nerozmrzl

V případě podezření na zarděnký v těhotenství je nutné další potvrzení pozitivních výsledků testu na IgM (např. specifický test avidity protilátek IgG proti viru zarděnek, protilátky IgM proti viru zarděnek a porovnání s hladinami protilátek IgG proti viru zarděnek u párových sér provedené v referenční laboratoři).

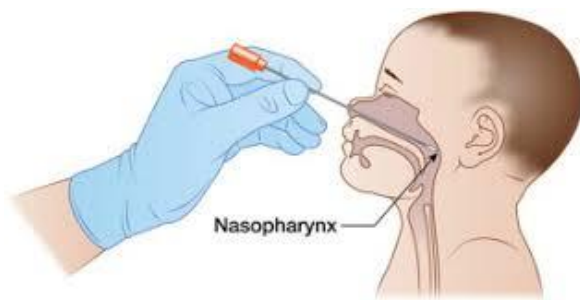
2. VZORKY PRO VIROVOU DETEKCI (průkaz virové RNA)

Biologický materiál: Nasopharyngeální vzorky, výtěry z krku, sliny, moč, likvor u postižení CNS, plodová voda, biopsie

Provedení nasopharyngeálního odběru (nejlépe ráno, nalačno, před ústní hygienou): stěr co největší plochou odběrového tampónu (syntetické jsou vhodnější než bavlněné, které mohou obsahovat látky zpomalující enzymy používané v PCR)

- dvěma sterilními odběrovými tampóny
- prvním tampónem se provede důkladný stěr zadní stěny nosohltanu krouživým pohybem (vyhnout se mandlím) a druhým tampónem stěr z obou nosních průduchů
- zalomení obou odběrových tampónů do jedné zkumavky se 2 ml standardního virového transportního média (VTM)

VTM lze nahradit buněčným kultivačním médiem (např. MEM) nebo Hanksovým solným roztokem – či jiným sterilním isotonickým roztokem (např. fosfátový pufr ve fyziologickém roztoku). Je nutné vzít v úvahu, že přítomnost bílkoviny v médiu (např. 1 % hovězího albuminu, 0,5 % želatiny nebo 2 % séra) stabilizuje virus. Viry bez přítomnosti bílkoviny v médiu ztrácí i při chladničkové teplotě 90 až 99 % infekčnosti během 2 hodin. Je možné provést také suchý stěr se zalomením odběrového tampónu do prázdné zkumavky. Pro tyto účely je vhodné použít tampóny typu flocced swab (Copan flocced swabs nebo Dacron swabs), které působí na mikroorganismy elektrostatickou a kapilární silou. Není vhodné provádět suchý stěr bavlněným námotkem, u něhož buňky jen ulpívají mezi jednotlivými vlákny, kromě toho bavlna může obsahovat inhibitory enzymů PCR.



Zdroj: C. Satzke et al. / Vaccine 32 (2014), 165–179

Optimální doba odběrů - zarděnky:

- co nejdříve, nejlépe do 3. dne od objevení exantému
- u primoinfikovaných osob nejpozději do 10. dne (pravděpodobnost záchytu virové RNA se v čase snižuje)
- u reinfikovaných osob (v minulosti vakcinovaných) již nemusí být virus po 5. dni detekovatelný, neboť ho neutralizují rychle stoupající IgG protilátky

Optimální doba odběrů – suspektní kongenitální zarděnky (KZS):

- Co nejdříve po narození

Optimální doba odběrů při screeningu vylučování viru u potvrzených případů kongenitálního zarděnkového syndromu:

- Každý měsíc po dosažení 3 měsíců věku, do dvou po sobě jdoucích negativních výsledků

Podmínky pro skladování:

- před doručením do laboratoře 24 (max. 48) hodin při teplotě 2 – 8 °C
- dlouhodobé skladování -20 °C ± 5 °C (ideálně -70 °C ± 5 °C)

Podmínky pro transport:

- vzorky je nutné transportovat při teplotě 2 – 8 °C, pokud byl vzorek před transportem zmrazen, nesmí při přepravě rozmrznout (chladicí box)

Zdroj:

1. Úřední věstník Evropské unie L 170/37 3.37, PROVÁDĚCÍ ROZHODNUTÍ KOMISE (EU) 2018/945, ze dne 22. 6. 2018, o přenosných nemocích a souvisejících zvláštních zdravotních problémech, které musí být podchyceny epidemiologickým dozorem, a o příslušných definicích případů
2. BIP01.CEM, Laboratorní příručka pro odběr vzorků

Tabulka primárních vzorků, způsobu odběru a podmínek pro skladování a transport (2)

Primární vzorek	Způsob odběru	Podmínky pro skladování a transport
srážlivá krev pro získání séra	5 - 7 ml krve	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při pokojové teplotě nebo 72 hod. při 2 – 8 °C. Nelze-li dodržet tuto podmínku, je nutno po sražení krve oddělit sérum, které lze skladovat max. 5 dní při 2 - 8 °C, dlouhodobě při teplotě - 20 ± 5 °C
nesrážlivá krev pro získání plazmy	5 ml krve do zkumavky s antikoagulačním činidlem (nejlépe s EDTA)	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při pokojové teplotě nebo 72 hod. při 2 – 8 °C. Nelze-li dodržet tuto podmínku, je nutno plazmu oddělit od krevních buněk a skladovat max. 5 dní při 2 - 8 °C, dlouhodobě při teplotě - 20 ± 5 °C
výtěr z nosohltanu	sterilním tampónem do 0,5 - 2 ml odběrového virologického media nebo sterilního fyziologického roztoku	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při 2 - 8 °C, dlouhodobě při - 70 ± 5 °C
BAL, výplach, aspirát, sliny	do sterilní nádoby	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při 2 - 8 °C, dlouhodobě při - 70 ± 5 °C
moč	50 ml první ranní moči do sterilní nádoby	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při 2 – 8 °C, po centrifugaci dlouhodobě při -70 ± 5°C
likvor (při postižení CNS)	odběr v množství min. 1 ml za aseptických podmínek	do odeslání a během transportu max. 5 dní při 2 – 8 °C, dlouhodobě při - 20 ± 5 °C
plodová voda	odběr cca 5 ml za aseptických podmínek	do odeslání a během transportu max. 5 dní při 2 – 8 °C, dlouhodobě při - 20 ± 5 °C
biopsie, autopsie	cca 1 mm 3 nefixované tkáně do 0,1 ml sterilního odběrového virologického média nebo sterilního fyziologického roztoku	do odeslání a během transportu max. 6 hod. při 2 – 8 °C, dlouhodobě při - 20 ± 5 °C