

Laboratorní diagnostika respiračních infekcí

Studentka: Veronika Majerová, Zdravotní laborant třetí ročník

Školitelé: RNDr. Karel Fajfrlík Ph.D

Ústav mikrobiologie FN Plzeň

Východisko:

Má bakalářská práce obsahuje popis vybraných respiračních infekcí a s nimi související patogení původce, způsoby odběru vzorků a jejich následnou diagnostiku. Druhá část se týká popisu metodiky jednotlivých pracovních postupů a analýzy získaných dat s jejich vzájemným porovnáním. Nejhojněji vyskytujícími se původci respiračních infekcí jsou viry, a proto se má analýza dat týkat právě virologické diagnostiky. Viry se liší jak způsobem jejich izolace, tak i následnou detekcí. Používanými metodami v klinické praxi jsou například sérologická metoda ELISA, KFR nebo HIT, nebo genetická metoda RT-PCR.

Cíl:

Prvním dílčím cílem mé práce bylo popsat vybrané původce respiračních infekcí spolu s nemocemi, které v respiračním traktu způsobují a spojit je s konkrétním způsobem diagnostiky, která je využívána v klinické praxi ve FN v Plzni. Vyšetřovaným obdobím mé práce je říjen 2018 až září 2019 a druhým dílčím cílem je grafické zpracování výsledků, které mi byly poskytnuty oddělením virologie.

Metodika:

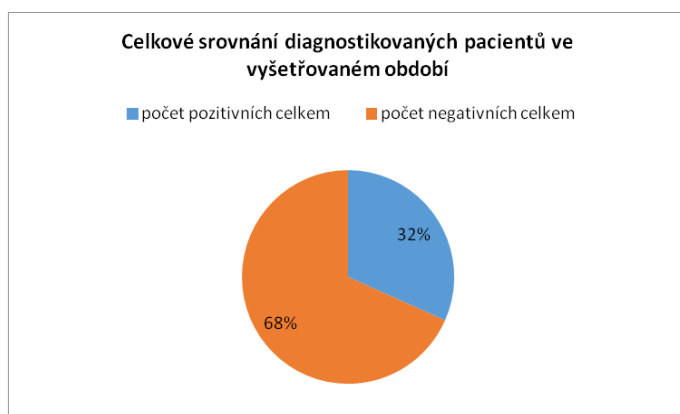
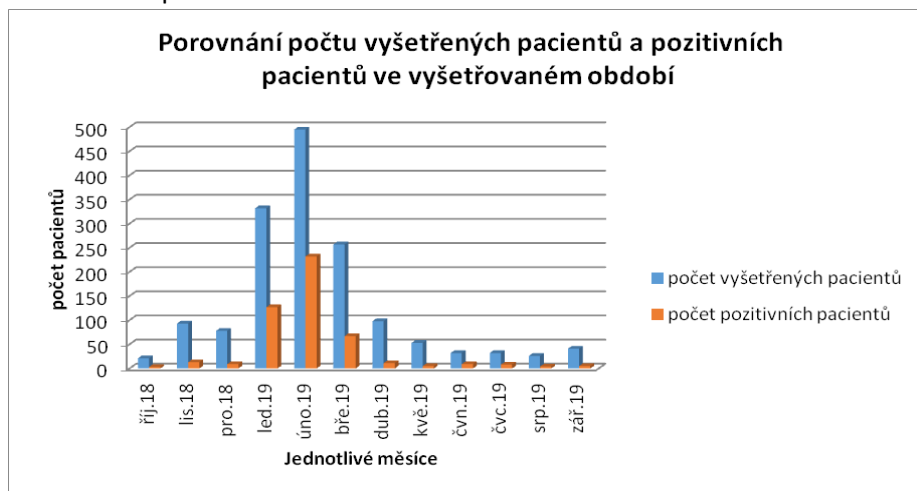
Existují různé metody, kterými je možné diagnostikovat respirační infekce. Seznam zahrnuje využití přímých i nepřímých metod. Mezi ty přímé patří kultivace na buněčných kulturách s využitím LEP, MDCK a Vero buněk a RT-PCR. Po proběhlé kultivaci porovnáváme snímky pořízené ze světelného mikroskopu s prokázaně negativními snímky (čisté buněčné kultury). Výsledkem RT-PCR je křivka nárůstu intenzity fluorescence. Nepřímé metody zahrnují ELISA stanovení, KFR a pro viry způsobující hemaglutinaci je možné využít také HIT. Nepřímou metodou hodnotíme vzniklé protilátky v patientských sérech. ELISA metodou hodnotíme absorbanci v mikrotitrační destičce a naměřené hodnoty porovnáváme s příbalovým letákem. KFR se vyhodnocuje semikvantitativně (na tzv. kříže). Pozorujeme sedimentaci nebo hemolýzu vzorků v mikrotitrační destičce. Výsledkem HIT je pozorování aglutinace přidaných erytrocytů v destičce s napipetovanými vzorky. Odebraným materiálem diagnostikovaným v laboratoři mohou být výtěry z nosu a hrdla nebo zkumavky s venózní krví.

Souhrnné zhodnocení prováděných testů respiračního panelu oddělení Virologie FN Plzeň					
	ELISA	Kultivace	PCR	KFR	HIT
Influenza A virus		+	+	+	+
Influenza B virus		+		+	+
Adenovirus	+	+		+	
RS- virus	+	+		+	
Mycoplasma pneumoniae	+			+	
Chlamydia psit., trach., pn.	+				
Cytomegalovirus			+		
Herpes simplex virus		+	+		

Parainfluenza virus 1, 2, 3, 4	+	+			+
HHV 6			+		

Výsledky:

Při grafickém zpracování výsledků jsme zjistili, že z celkového počtu diagnostikovaných pacientů byla zhruba třetina označena za pozitivní a obdobné výsledky vykazovalo také rozpracování jednotlivých metod. Za vyšetřované období byl také sestaven jeden hlavní graf, který nám ukazuje sezónní charakter respiračních infekcí.



Závěr:

Na výsledcích se stejnou měrou podílí přímý i nepřímý průkaz agens. Ačkoliv jsou počty vyšetření nakloněny na stranu přímé diagnostiky pro celistvost výsledků jsou důležité obě metody. Výskyt respiračních infekcí se hlásí Státnímu zdravotnickému ústavu, kde nahlášené výsledky slouží pro sledování a průběh epidemií, z nichž hlavním sledovaným objektem je onemocnění Influenzaviru typu A, které je každým rokem důvodem úmrtí mnoha pacientů.