

Klinická virologie II (J13)



- Autor prezentace: Ondřej Zahradníček
- Praktika z lékařské mikrobiologie (VLLM0421c)
- Kontakt
- 777 031 969 zahradnicek@fnusa.cz
- ICQ 242-234-100



Pro zopakování

- **Cílem mikrobiologických metod** je zpravidla detekce patogena, popř. určení jeho citlivosti na antimikrobiální látky (ale u virů zatím většinou ne)
- **Patogena určujeme**
 - **Přímými metodami**
 - detekce celého mikroba (jako morfologické či fyziologické jednotky)
 - detekce jeho části (antigenů, DNA)
 - detekce jeho produktu (například toxinu)
 - **Nepřímými metodami:** detekce protilátek



Přehled metod – a které využijeme:

- **Přímé metody** (*práce se vzorkem či kmenem*)
 - Mikroskopie (nativní preparát, barvení...)
 - Kultivace (na tekutých i pevných půdách)
 - Biochemické a podobné identifikační metody
 - **Průkaz antigenu (pomocí protilátky)**
 - Pokus na zvířeti (izolace, průkaz toxicity)
 - **Průkaz nukleové kyseliny**
- **Nepřímé metody**
 - **Průkaz protilátek (pomocí antigenu)**



Přímý průkaz virů

- **Kultivace** → **izolace** (virus se často nepomnoží, jen uchová živý). Vyžaduje živé buňky. Blíže viz J 12
- **Mikroskopie**: elektronoptická, optická jen k průkazu něčeho, co viry dělají in vivo či in vitro (inkluze, cytopatický efekt)
- **Biochemická identifikace** nepadá v úvahu
- **Pokus na zvířeti** zde splývá s izolací viru
- **Průkaz DNA** – u virů > u bakterií
- **Průkaz AG ve vzorku** – velmi běžný



Nepřímý průkaz virů

- Používá se hlavně **KFR**, různé typy neutralizací (**HIT, VNT**) a v poslední době především **reakce se značenými složkami (hlavně ELISA)**
- **Pozor!** Ne vše, kde se jako vzorek použije sérum, je nepřímý průkaz! U systémových viróz je často agens (nebo jen jeho antigen) v séru přítomno, a pak se dá sérum použít i pro přímý průkaz



Hepatitidy a virus HIV

- Existuje pět hlavních typů virových hepatitid VHA až VHE, které způsobují viry HAV až HEV. Každý patří do jiné skupiny, většina jsou RNA viry, ale virus hepatitidy B je DNA virus
- VHA a VHE (pomůcka: samohlásky) se přenášejí fekálně orální cestou (ruce)
- VHB, VHC a VHD – přenos krví, popř. sexuální (u VHC spíše nevýznamný)
- Virus HIV způsobuje AIDS a dvě jeho před-stádia (PGL, ARC)



Úkol 1 – diagnostika HAV

- **V úkolu 1a)** stanovujeme anti-HAV IgM.
Výpočet cut off: průměr C1 a D1
- **V úkolu 1b)** stanovujeme celkové protilátky anti-HAV
- **Výpočet cut off (1a + b):** průměr C1 a D1.
Pozitivní je to, co je vyšší, než cut off + 10 %, negativní je to, co je nižší než cut off – 10 %, to mezi tím je hraniční

Stanovení IgM + celkových protilátek je alternativou ke stanovení IgM a IgG



HAV 😊



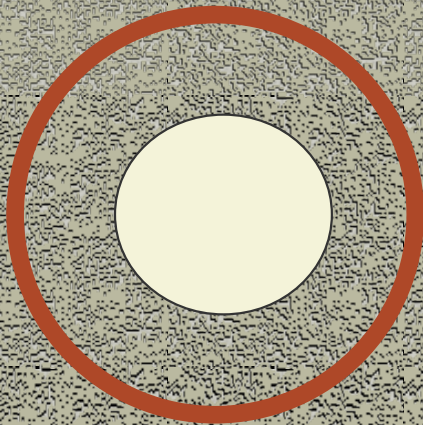
HAV!
HAV!



Úkol 2: Diagnostika HBV

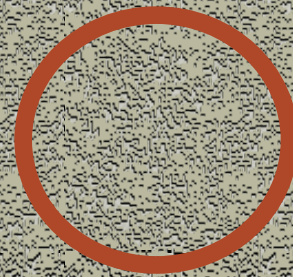
- HBV má tři pro diagnostiku významné antigeny. Jen dva z nich však nalézáme v séru: HBsAg (toho je hodně, protože se tvoří v nadbytku) a HBeAg.
- Protilátky naopak můžeme stanovovat proti všem třem z nich: anti-HBs, anti-HBe i anti-HBc.
- Diagnostiku případně doplní PCR, průkaz jaterních enzymů aj.
- Z kombinace vyšetření plyne interpretace

Virus hepatitidy B



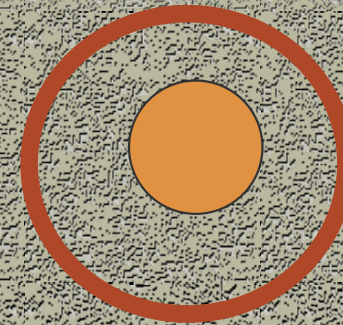
Kompletní
virion
(Daneho
tělísko)

42 nm



Pouhý
prázdný
HBsAg

22 nm



HBsAg,
uvnitř delta
agens
(VHD)

35 nm



Stanovení markerů hepatitid

- 2a) Stanovení HBsAg a HBeAg
- 2b) Stanovení anti-HBs a anti-HBe
- **Výpočet cut off** (úkol 2a i úkol 2b):
průměr C1 a D1. Pozitivní je to, co je vyšší, než cut off + 10 %, negativní je to, co je nižší než cut off – 10 %, to mezi tím je hraniční



Úkol 3: Diagnostika HCV

- 3a): PCR, elektroforéza
- 3b): anti-HCV
- Výpočet cut off: průměr negativních kontrol (důlku B1, C1 a D1) + 0,050
- Pozitivní je to, co je vyšší, než cut off + 10 %, negativní je to, co je nižší než cut off – 10 %, to mezi tím je nutno retestovat z nového odběru



Úkol 4: Diagnostika HIV

- ELISA protilátky – anti HIV
- **Výpočet cut off** ($1a + b$): průměr C1 a D1. Pozitivní je to, co je vyšší, než cut off + 10 %, negativní je to, co je nižší než cut off – 10 %, to mezi tím je hraniční



POKUK – Starobrněnská 12, 19.30 h

Hezký den!

31. 5. – téma „Hynku, Viléme, Jarmilo“

Další 22. 6. – téma „Zprasdny“

