Obsah

1 Průtoková cytometrie 3
1.1 Bazotest – stanovení alergenicity 3
1.2 FagoFlow-oxidativní vzplanutí granulocytů 4
1.3 Fenotypizace lymfocytů 5
1.4 HLA-B27 8
1.5 HLA-DR 9
2 Alergie 11
2.1 Imunoglobulin E (Celkové IgE) 11
2.2 Specifické IgE 12
2.3 Specifické IgG4 13
2.4 Eosinofilní kationický protein (ECP) 14
3 Imunofluorescence 15
3.1 ANA – protilátky proti jaderným antigenům (IgG) 15
3.2 dsDNA - protilátky proti dvouvláknové DNA (IgG) 16
3.3 ANCA – protilátky proti cytoplasmě neutrofilů (IgG) 17
3.4 EMA – protilátky proti endomysiu (IgA, IgG) 18
3.5 IBD – stanovení idiopatických střevních onemocnění (CIBD) 19
3.6 ASCA – protilátky proti Saccharomyces cerevisiae (IgA,IgG) 20
3.7 AIH – autoimunitní hepatopatie (IgG) 21
4 Serologie 22
4.1 Anti-Borrelia (IgG, IgM) ELISA 22
4.2 Anti-CMV (IgA, IgG, IgM) ELISA 23
4.3 Anti-HSV – 1 / 2 Pool (IgG , IgM) ELISA 24
4.4 EBV (EBNA-1 IgG, VCA IgG, VCA IgM, EA-D IgG) ELISA 25
4.5 Anti- Chlamydia pneumoniae (IgA, IgG, IgM) ELISA 26
4.6 Anti- Chlamydia trachomatis (IgA, IgG) ELISA 27
4.7 Anti- Mycoplasma pneumoniae (IgA, IgG, IgM) ELISA 28
4.8 Anti- Bordetella pertussis toxin (IgA, IgG) ELISA 29
4.9 Anti- Bordetella parapertussis (IgA, IgG, IgM) ELISA 30
4.10 Anti- Tetanus Toxoid (IgG) ELISA 31

4.11 Anti- Toxoplasma gondii (IgA, IgG, IgM, IgE) ELISA 32
4.12 Anti- VZV (IgG, IgM) ELISA 33
5 Imunologie 34
5.1 Anti- Cardiolipin (IgG, IgM) ELISA 34
5.2 Anti- β2-glycoprotein 1 (IgG, IgM) ELISA 35
5.3 Anti- gliadin (GAF-3X) (IgG, IgA) ELISA 36
5.4 Anti- tkáňová transglutamináza (IgG, IgA) ELISA 37
5.5 Anti- ENA PoolPlus (IgG) ELISA 38
5.6 Stanovení Diaminooxidázy (DAO) ELISA 39
6 Imunobloting 40
6.1 Protilátky proti nukleárním antigenům metodou imunoblot (ANA) (IgG) 40
6.2 Protilátky proti borreliím metodou imunoblot (IgG, IgM) 41
6.3 Protilátky proti chlamydiím metodou imunoblot (IgG, IgM) 42
6.4 Protilátky proti jaterním antigenům metodou imunoblot (AIH) (IgG) 43
6.5 Protilátky proti myozitidě metodou imunoblot (IgG) 44
6.6 Protilátky proti Bordetella pertussis metodou imunoblot (IgA, IgG) 45
7 Zdroje 46

1 Průtoková cytometrie

1.1 Bazotest – stanovení alergenicity

Bazotest stanovuje aktivované bazofily ve vzorku nesrážlivé krve s heparinem, popř EDTA. Na základě přesného vymezení této buněčné populace identifikujeme klidové a aktivované bazofily metodou průtokové cytometrie. Používá se kombinace tří fluorescenčních barviv-CD203c-PE, CD3-PC7, CRTH2-FITC.

Bazofily hrají klíčovou úlohu v přímé hypersenzitivní reakci-jsou primárními efektorovými buňkami. Exprimují vysokoafinitní receptor pro IgE. Alergeny navozují aktivaci bazofilů navázáním jejich povrchových IgE, což vede k uvolnění mediátorů a expresi aktivačních znaků na povrchu bazofilu.

Znak cd203c slouží k rozlišení klidových i aktivovaných bazofilů v souvislosti s IgE-dependentní odpovědí na různé alergeny, která nastává u senzibilizovaných jedinců.

Odběrová souprava:	Odběrová souprava s antikoagulantem
Požadovaný materiál:	nesrážlivá krev s heparinem, nesrážlivá krev (EDTA)
Princip stanovení:	průtoková cytometrie
Jednotka:	%
Provádíme:	denně
Příprava před odběrem:	3-5 dní před odběrem vynechat: antihistaminika 7 dní před odběrem vynechat: systémové kortikosteroidy
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	24 hodin
Referenční meze:	<10 %
Doba odezvy:	4 dny
Odbornost:	813
Poznámka:	Provádíme pouze pro alergeny včela (I1) a vosa (I3)

1.2 FagoFlow-oxidativní vzplanutí granulocytů

Stanovení fagocytární aktivity neutrofilních granulocytů je důležitý screening při stanovení diagnózy vrozené nebo získané imunodeficience. Neschopnost neutrofilních granulocytů katalyzovat produkci reaktivních forem kyslíku způsobuje chronickou granulomatózní chorobu, skupinu dědičných poruch se společným fenotypovým projevem, závažnými opakujícími se bakteriálními a mykotickými infekcemi s tvorbou granulomů ve tkáních. Výsledky, které odpovídají chronické granulomatózní chorobě mohou mít příčinu také v deficitu myeloperoxidázy – což je nejčastější porucha fagocytů, obvykle s projevy normálního fenotypu bez častého výskytu infekcí.

Pokles fagocytární aktivity bez poruchy enzymů produkujících reaktivní formy kyslíku provází různé jiné klinické stavy spojené s oslabením imunity, buď primární variabilní imunitní nedostatečnost a deficit plazmatických opsoninů, nebo sekundární imunitní nedostatečnost.

Metoda detekuje a měří dva parametry pomocí fluorogenního substrátu Dihydrorhodamin 123 - % neutrofilních granulocytů, které produkují reaktivní metabolity kyslíku v reakci na pohlcení bakterií *E.coli* a intracelulární aktivitu enzymů zodpovědných za produkci reaktivních forem kyslíku.

Odběrová souprava:	Odběrová souprava s antikoagulantem
Požadovaný materiál:	nesrážlivá krev s heparinem
Princip stanovení:	průtoková cytometrie
Jednotka:	%
Provádíme:	denně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	24 hodin
Referenční meze:	90 – 100 %
Doba odezvy:	4 dny
Odbornost:	813
Poznámka:	

1.3 Fenotypizace lymfocytů

Fenotypizace lymfocytů slouží k rozlišení jednotlivých typů buněk na základě specifických povrchových znaků (CD molekul). Hlavními vyšetřovanými znaky jsou: T-lymfocyty (CD3+), pomocné T-lymfocyty (CD3+CD4+), cytotoxické T-lymfocyty (CD3+CD8+), B-lymfocyty (CD19+) a NK buňky (CD3-CD16+CD56+).

CD3+:

Pokles: těžké virové infekce, nádorová onemocnění, stavy po orgánových transplantacích.

Nárůst: probíhající virová nebo parazitární infekce, fyzický stres, NK leukémie.

CD3+CD4+:

Pokles: infekce HIV, po léčbě kortikosteroidy, po chemoterapii, u vrozených imunodeficitů, tělesné vyčerpání.

Nárůst: autoimunitní procesy (systémový lupus, revmatoidní artritida), akutní infekční stavy, lymfoproliferativní nemoci.

CD3+CD8+:

Pokles: vrozené imunodeficity, pokročilá stádia rakoviny, útlum imunitního systému po působení imunosupresiv.

Nárůst: akutní virové infekce (EBV, CMV, hepatitidy.

CD19+:

Pokles: vrozené poruchy tvorby protilátek (Brutonova aganaglobulinémie), po biologické léčbě.

Nárůst: chronická lymfocytární leukémie, B-buněčné lymfomy, chronické bakteriální infekce, autoimunitní nemoci s vysokou produkcí protilátek.

CD3-CD16+CD56+:

Pokles: po imunosupresivní léčbě, chronické infekce, pokročilá stádia nádorů, vrozené imunodeficience, těžký stres a vyčerpání.

Nárůst: akutní virové infekce, reprodukční poruchy, autoimunitní onemocnění, některé solidní nádory a malignity.

Odběrová souprava:	Odběrová souprava s antikoagulantem
Požadovaný materiál:	nesrážlivá krev s EDTA
Princip stanovení:	průtoková cytometrie
Jednotka:	%
Provádíme:	denně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	24 hodin
Referenční meze:	viz tabulky
Doba odezvy:	4 dny
Odbornost:	813
Poznámka:	

Tabulka1: Procentuální zastoupení buněčných subpopulací vzhledem k věku (referenční meze):

	1 den – 3 měs	3 - 12 měsíců	1 - 2 let	2 - 6 let	6 - 12 let	12 - 18 let	18 - 99 let muži	18 - 99 let ženy
T lymfocyty CD3+	63 - 82	52 - 74	61 - 76	60 - 78	63 - 78	63 - 80	58 - 84	63 - 85
B lymfocyty CD19+	7 - 21	17 - 37	14 - 28	13 - 29	12 - 24	12 - 21	6 - 23	6 - 23
NK buňky CD16+56+	4,2 - 14,8	4 - 15,1	4 - 13,8	4,7 - 16,2	5,4 - 18,6	4,3 - 16,2	5 - 33	5 - 27
pomocné T lymfo CD3+CD4+	43 - 66	35 - 53	35 - 52	31 - 47	32 - 47	33 - 52	27 - 62	31 - 64
cytotoxické T lymfo CD3+CD8+	15 - 23	13 - 27	16 - 29	16 - 27	17 - 33	19 - 29	11 - 38	11 - 38

Tabulka 2. Absolutní počty buněčných subpopulací lymfocytů vzhledem k věku (referenční meze):

	1 den – 3 měs	3 - 12 měsíců	1 - 2 let	2 - 6 let	6 - 12 let	12 - 18 let	18 - 99 let muži	18 - 99 let ženy
T lymfocyty CD3+	3,18 - 5,4	2,28 - 4,78	2,54 - 4,93	1,58 - 3,71	1,24 - 2,61	0,95 - 2,33	0,59 - 1,99	0,77 - 2,2
B lymfocyty CD19+	0,3 - 1,38	0,78 - 2,23	0,73 - 1,34	0,43 - 1,27	0,28 - 0,64	0,17 - 0,69	0,1 - 0,43	0,1 - 0,43
pomocné T lymfo CD3+CD4+	2,33 - 3,61	1,52 - 3,47	1,57 - 2,95	0,87 - 2,14	0,64 - 1,52	0,61 - 1,45	0,43 - 1,45	0,5 - 1,76
cytotoxické T lymfo CD3+CD8+	0,71 - 1,36	0,52 - 1,58	0,66 - 1,43	0,47 - 1,11	0,37 - 0,95	0,28 - 0,75	0,17 - 1,05	0,17 - 1,05

NK buňky CD16+56+	do 1 týdne	1 týden – 2 měsíce	2 - 5 měsíců	5 - 9 měsíců	9 měsíců – 65 týdnů	65 týdnů – 2 roky	2 - 5 let	5 - 10 let	10 - 18 let	18 - 100 let muži/ženy
	0,1 - 1,9	0,2 - 1,4	0,1 - 1,3	0,1 – 1,0	0,2 - 1,2	0,1 - 1,4	0,1 – 1,0	0,09 - 0,9	0,07 - 1,2	0,09 - 0,43

1.4 HLA-B27

HLA-B27 je HLA molekula I. třídy, vyskytuje se na všech jaderných buňkách těla. Má klinickou souvislost s ankylozující spondylitidou (Bechtěrevovou chorobou), reaktivní artritidou (Reiterovým syndromem), zánětem oční duhovky, psoriatickou artritidou nebo zánětlivým onemocněním střev. Může se ale objevit také u zdravé populace. HLA B-27 strukturně spadá do rodiny antigenů, kde je hlavním zástupcem HLA-B7. Aby došlo k odhalení falešné pozitivity, používá se značení protilátkami HLA B27/B7 – pokud má pacient velké množství antigenu HLA B7 a HLA B27 je negativní, protilátka se na něj přesto částečně naváže.

Bechtěrevova choroba je chronické revmatické onemocnění, které je charakteristické zánětlivým procesem postihujícím klouby na obratlích a měkkou tkáň podél páteře. Záněty vedou k omezování hybnosti páteře, hrudníku a snižování dechové kapacity plic. U některých pacientů může dojít k postižení ramenních a kyčelních kloubů.
Nemoc postihuje především mladé muže, ženy mívají mírnější průběh nebo se nemoc vůbec nerozpozná. Za jeden z důležitých faktorů je považována přítomnost antigenu HLA-B27 (přítomen v 90% případů), která ovšem nepotvrzuje diagnózu Bechtěrevovy nemoci.

Mezi počáteční příznaky Bechtěrevovy nemoci patří:

- bolesti doprovázené ztuhlostí páteře a hrudníku, které postupují během týdnů až měsíců
- první příznaky přicházejí mezi 15. až 30. rokem života
- bolest je doprovázená ztuhlostí, nejsilnější bývá ráno, ustupuje po rozhýbání těla během dne, pohyb vede ke zlepšení stavu, klid ke zhoršení
- obtíže přetrvávají déle než 3 měsíce

Odběrová souprava:	Odběrová souprava s antikoagulantem
Požadovaný materiál:	nesrážlivá krev s EDTA
Princip stanovení:	průtoková cytometrie
Jednotka:	negativní/neprůkazné/pozitivní
Provádíme:	denně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	24 hodin
Referenční meze:	negativní nález je v normě
Doba odezvy:	4 dny
Odbornost:	813
Poznámka:	V případě nejasného nebo pozitivního výsledku je doporučena konfirmace metodou PCR.

1.5 HLA-DR

HLA molekula II.třídy je povrchovým heterodimerem exprimovaným na povrchu hematopoetických progenitorových buněk, erytroidních, myeloidních, megakaryocytárních prekurzorů, monocytů, makrofágů, B-lymfoidních buněk, nezralých T-lymfocytů a dendritických buněk. HLA-DR má význam v diagnostice leukemií, lymfomů a při zánětu.

Odběrová souprava:	Odběrová souprava s antikoagulantem
Požadovaný materiál:	nesrážlivá krev s EDTA
Princip stanovení:	průtoková cytometrie
Jednotka:	%
Provádíme:	denně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	24 hodin
Referenční meze:	Viz tabulka
Doba odezvy:	4 dny
Odbornost:	813
Poznámka:	

Procentuální zastoupení buněčných subpopulací vzhledem k věku (referenční meze):								
	1 den – 3 měs	3 - 12 měsíců	1 - 2 let	2 - 6 let	6 - 12 let	12 - 18 let	18 - 99 let muži	18 - 99 let ženy
HLA-DR+	0,8-2,3	0,9-5,9	1,1-7,0	1,5-6,4	2,3-7,0	2,3-8,6	1,32-12,20	1,07-8,84

Absolutní počty buněčných subpopulací lymfocytů vzhledem k věku (referenční meze):		
	18 - 99 let muži	18 - 99 let ženy
HLA-DR+	0,59 - 1,99	0,77 - 2,2

2 Alergie

2.1 Imunoglobulin E (Celkové IgE)

Imunoglobulin IgE hraje důležitou roli v imunologické ochraně proti parazitickým infekcím a alergiím (hypersenzitivita typu 1). Přecitlivělost 1. typu je charakterizovaná okamžitou alergickou reakcí po opakovaném kontaktu s antigenem spouštějícím alergii (alergenem) jako při atopických onemocněních (alergické astma), při kontaktu s hmyzím jedem nebo latexem a při některých alergiích na potraviny. Jelikož je IgE nejméně rozšířeným typem protilátky v séru, je jeho koncentrace za normálních okolností velice nízká a je závislá na věku. S nejnižší hladinou se setkáváme po narození, postupně narůstá, aby se ustálila ve věku kolem 5 - 7 let a u dospělých pak hladina klesá. Zvýšené koncentrace IgE se vyskytují u pacientů s alergickými nemocemi (senná rýma, atopická bronchitida, dermatitida). Ani normální hodnoty IgE však přítomnost alergického onemocnění nevylučují. Z tohoto důvodu je kvantitativní stanovení koncentrace sérového IgE pro klinické rozlišení mezi atopickými a neatopickými IgE alergickými nemocemi užitečné pouze v kombinaci s dalšími klinickými nálezy. Zvýšené koncentrace sérového IgE můžeme také pozorovat při nealergických onemocněních, např. vrozených poruchách imunity, nákaze HIV, reakci štěpu proti hostiteli, závažných popáleninách a parazitárních onemocněních. Vzácně také při Jobově syndromu a IgE myelomu. K poklesu IgE dochází u těžkých vrozených nebo získaných imunodeficitů, selektivního deficitu IgE a po léčbě imunosupresivy.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (heparin,EDTA)
Princip stanovení:	Elektrochemiluminiscenční imunostanovení (ECLIA)
Jednotka:	kU/l
Provádíme:	denně
Příprava před odběrem:	Vzorky neodebírat pacientům na léčbě biotinem (tj. > 5 mg/den) po dobu nejméně 8 hodin od podání poslední dávky biotinu. Dále pacientům léčeným přípravkem Omalizumab (Xolair) nebo léčivy obsahující protilátky proti IgE, kde byla zjištěna interference.
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 7 dní při 2-8 °C
Referenční meze:	Věková skupina jednotky kU/l Novorozenci 1.5 Kojenci v 1. roku života 15 Děti 1-5 let 60 Děti 6-9 let 90 Děti 10-15 let 200 Dospělí 100
Doba odezvy:	4 dny
Odbornost:	813
Poznámka:	

2.2 Specifické IgE

Specifické IgE jsou protilátky namířené proti jednomu konkrétnímu alergenu. Vyšetření specifického IgE (sIgE) z krve indikuje lékař v situacích, kdy je potřeba potvrdit nebo vyvrátit alergii zprostředkovanou IgE protilátkami. Indikuje se v případě, že pacient trpí chronickými nebo sezónními potížemi, které by mohla způsobovat alergie (dýchací potíže, kožní projevy, oční příznaky, trávicí potíže). Dále v případě, že nelze provést kožní Prick test nebo v případě upřesnění diagnózy, u anafylaktických stavů. Také před zahájením plánované imunoterapie.

Vyšetřujeme specifické IgE proti jednotlivým alergenům a proti směsi alergenů (např. směsi trav, bylin, stromů, plísní, Phadiatop inhalační, potravinový screen), dále multiplexovou metodu ALEX, popřípadě ELISA metodou (Fooke / kapalné alergeny).

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum
Princip stanovení:	FEIA (vysokoafinitní fluoroimunoanalýza) ELISA (Dr. FOOKE Laboratories, kapalné alergeny) ALEX (multiplexová čipová analýza)
Jednotka:	kU/l
Provádíme:	denně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 7 dnů při teplotě 2-8°C
Referenční meze:	ELISA (Fooke) méně než 0,35 kU/l FEIA méně než 0,35 kU/l ALEX[3] nižší než 0,3 kUA/l
Doba odezvy:	14 dní
Odbornost:	813
Poznámka:	

2.3 Specifické IgG4

Vyšetření specifických IgG4 protilátek se používá pro monitorování alergenové imunoterapie (AIT) a k hodnocení její úspěšnosti. Jedná se o pomůcku k vyhodnocení vývoje alergické tolerance ve spojení s dalšími klinickými nálezy. Zvýšené hladiny alergen-specifického IgG4 jsou obvykle pozorovány po AIT. Referenční meze nejsou přesně dané, závisí vždy na reakci pacienta.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	Sérum, popřípadě plazma (heparin, EDTA)
Princip stanovení:	FEIA (vysokoafinitní fluoroimunoanalýza)
Jednotka:	mg/l
Provádíme:	denně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 7 dnů při teplotě 2-8°C
Referenční meze:	nejsou dané
Doba odezvy:	14 dní
Odbornost:	813
Poznámka:	

2.4 Eosinofilní kationický protein (ECP)

Eosinofilní kationický protein je silně zásaditý protein obsažený v granulech eosinofilních granulocytů. Vylučuje se do okolí procesem degranulace a to ve chvíli, kdy jsou eozinofily aktivovány imunitním systémem. Protein vykazuje silné toxické účinky, kterými dokáže poškozovat buněčné membrány cizorodých organismů, ale i vlastních tkání.

Hraje také důležitou roli při přirozené obraně proti parazitárním infekcím.

Hladina stoupá během pozdní fáze alergických reakcí I. typu. Slouží jako významný biologický marker pro sledování aktivity a závažnosti průduškového astmatu. Při dlouhodobém astmatickém zánětu uvolněný ECP přímo poškozuje sliznici dýchacích cest.

Zvýšené hodnoty korelují také s aktivitou atopické dermatitidy a alergické rýmy.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum
Princip stanovení:	FEIA (vysokoafinitní fluoroimunoanalýza)
Jednotka:	µg/l
Provádíme:	1x – 2x týdně dle počtu požadavků
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 5 dnů při teplotě 2-8°C
Referenční meze:	0 – 24 µg/l
Doba odezvy:	14 dní
Odbornost:	813
Poznámka:	

3 Imunofluorescence

3.1 ANA – protilátky proti jaderným antigenům (IgG)

Stanovení ANA protilátek (antinukleárních protilátek) metodou nepřímé imunofluorescence (NIF) na buňkách Hep-G2 slouží jako základní screeningový test k diagnostice a sledování systémových autoimunitních a revmatických onemocnění. Výhodou buněk Hep-G2 je jejich lidský původ a výrazná proliferační aktivita, díky čemuž jsou v nich bohatě zastoupeny i antigeny specifické pro určité fáze buněčného cyklu (např. PCNA či CENP-F). Vyhodnocení se provádí pod fluorescenčním mikroskopem, kde se hodnotí intenzita fluorescence a specifický typ fluorescenčního obrazu, který napovídá, proti kterému konkrétnímu antigenu protilátky směřují.

Nejčastější typy fluorescenčních obrazů jsou homogenní fluorescence (onemocnění pojivové tkáně, SLE), jaderná membrána, zrnitá fluorescence, jemně zrnitá fluorescence (sklerodermie, Sjögrenův syndrom), fluorescence jadérek, centromery (CREST syndrom) a fluorescence mitochondriální (biliární cirhóza).

Pozitivní výsledky ANA protilátek nacházíme i u zdravých starších lidí, těhotných žen a také u pacientů s nádorovým onemocněním, chronickou infekcí a u mnoha dalších onemocnění. Objevují se měsíce, ale i roky před propuknutím vlastní nemoci.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	nepřímá imunofluorescence (NIF) základní ředění 1:100 titrační řada: 1:80, 1:160, 1:320, 1:640, 1:1280, 1:2560
Jednotka:	kvalitativní hodnocení s popisem fluorescenčního obrazu
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	<1:100 negativní
Doba odezvy:	10 dní
Odbornost:	813
Poznámka:	U pozitivních výsledků je automaticky provedena titrace vzorku do konečného titru, tzn. poslední ředění vzorku, které ještě vykazuje pozitivní fluorescenci. V případě slabé fluorescence v titru 1:80 a 1:160 je uveden komentář: Diagnosticky významný titr je od titru 1:320.

3.2 dsDNA - protilátky proti dvouvláknové DNA (IgG)

Vyšetření autoprotilátek proti deoxyribonukleové kyselině (dsDNA) má zásadní význam pro diagnostiku systémového lupus erythematodes (SLE), známého také jako lupus erythematodes disseminatus. Systémový lupus je autoimunitní onemocnění patřící do skupiny kolagenóz. V průběhu onemocnění se v kapilárách podkoží, v ledvinách a dalších orgánech ukládají imunokomplexy (dvouvláknová DNA a příslušné autoprotilátky), které aktivací komplementu způsobují poškození orgánů. Protilátky proti dsDNA patří mezi nejdůležitější kritéria pro diagnózu SLE (specifita 70 – 98%)

V soupravě IIFT Crithidia luciliae dsDNA se pro detekci autoprotilátek proti dvouřetězcové nativní DNA (dsDNA, nDNA) používají patogenní bičíkovci druhu Crithidia luciliae. Tito jednobuněční bičíkovci mají obří mitochondrii obsahující dsDNA (kinetoplast), která obecně nevykazuje žádné jiné antigeny přítomné v buněčných jádrech. Z tohoto důvodu jsou protilátky reagující s kinetoplastem namířeny pouze proti dsDNA.

Vyhodnocení se provádí pod fluorescenčním mikroskopem, kde se hodnotí intenzita fluorescence.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	nepřímá imunofluorescence (NIF) základní ředění 1:10
Jednotka:	kvalitativní hodnocení – negativní, pozitivní
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	negativní
Doba odezvy:	10 dní
Odbornost:	813
Poznámka:	

3.3 ANCA – protilátky proti cytoplasmě neutrofilů (IgG)

ANCA jsou autoprotilátky proti antigenům cytoplazmatických granulí neutrofilních granulocytů. Pozitivní fluorescenční nálezy se rozlišují na perinukleární (p-ANCA), cytoplasmatické (c-ANCA) a atypické (a-ANCA). Enzym myeloperoxidáza (MPO) je asociován s p-ANCA a protilátky proti tomuto enzymu nacházíme u pacientů s různými druhy glomerulonefritid, vaskulitid, ale také u řady dalších autoimunitních onemocnění, jako je revmatoidní artritida nebo systémový lupus. Pod obrazem p-ANCA se však mohou objevit také protilátky proti dalším enzymům např. laktoferinu, katepsinu, lysozymu, elastáze nebo BPI (bactericidal permeability increasing factor).
Enzym proteináza 3 (PR3) je vázán s c-ANCA a je přítomen v primárních granulích neutrofilů. Protilátky proti proteináze 3 jsou důležitým laboratorním markerem pro granulomatózu s polyangiitidou, kdy v závislosti na stupni postižení a aktivitě choroby jejich hladina kolísá (v remisi u 30-40% pacientů, v aktivním stádiu u 70-80% pacientů).
Možné jsou i atypické obrazy c-ANCA i p-ANCA, které řadíme mezi atypické a-ANCA.
Vyhodnocení se provádí pod fluorescenčním mikroskopem, kde se hodnotí typ fluorescence.

Granulomatóza s polyangiitidou je závažné a poměrně vzácné systémové autoimunitní onemocnění. Patří mezi nekrotizující vaskulitidy (zánětlivá onemocnění cév) vedoucí až k patologickým změnám postižených orgánů. Projevuje se nekrózou (odumírání tkáně) a tvorbou granulomů (chronické zánětlivé ložisko) vznikajících nakupením granulační tkáně. Organismus vytváří protilátky proti určitému typu vlastních bílých krvinek (neutrofilů), tzv. ANCA protilátky. Reakce krvinek pak v těle způsobuje právě vnik granulomů. Nejvíce postiženy bývají dýchací cesty a ledviny. V řadě případů dojde až k selhání ledvin. Kromě toho se objevují celkové příznaky jako je hubnutí, noční pocení, bolesti svalů, kloubů a únava.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	nepřímá imunofluorescence (NIF) základní ředění 1:10
Jednotka:	kvalitativní hodnocení s popisem fluorescenčního obrazu
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	negativní
Doba odezvy:	10 dní
Odbornost:	813
Poznámka:	V případě pozitivního ANCA fluorescenčního obrazu je automaticky provedena typizace ANCA metodou ELISA (PR3, laktoferin, MPO, elastáza, katepsin, BPI) ke konfirmaci nálezu.

3.4 EMA – protilátky proti endomysiu (IgA, IgG)

Endomysium je složka pojivové tkáně, která obklopuje snopce hladkých svalů. Přítomnost protilátek proti endomysiu ve třídě IgA je citlivým a specifickým diagnostickým průkazem glutenové enteropatie (celiakie).

Celiakie se vyskytuje v důsledku přecitlivělosti na lepek, který se nachází v řadě obilovin (pšenici, žitě, ječmenu atd.) a vyznačuje se chronickým zánětem sliznice tenkého střeva. Klinický obraz se vyznačuje průjmem a dalšími potížemi souvisejícími s malabsorpcí (úbytek váhy), únavou, podrážděností a zpomalením růstu u dětí . Nemoc většinou propukne v raném dětství, brzy poté, co se dítě dostane poprvé do kontaktu s moučnými výrobky.
Při podezření na celiakii jsou v první řadě indikována sérologická vyšetření. Standardní metodou je stanovení protilátek proti endomysiu (EMA) ve třídě IgA pomocí testu nepřímé imunofluorescence. Specifita tohoto testu je u neléčené celiakie 98 – 100 %. Endomysiální protilátky rychle reagují na bezlepkovou dietu, a proto je jejich monitorování vhodné ke sledování úspěšnosti dietního režimu. Vyšetření EMA ve třídě IgG je vhodné především k monitorování pacientů s celiakií, kteří trpí zároveň selektivním IgA deficitem.

Vyhodnocení se provádí pod fluorescenčním mikroskopem, kde se hodnotí intenzita fluorescence.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	nepřímá imunofluorescence (NIF) základní ředění 1:10
Jednotka:	kvalitativní hodnocení – negativní, pozitivní
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	negativní
Doba odezvy:	10 dní
Odbornost:	813
Poznámka:	

3.5 IBD – stanovení idiopatických střevních onemocnění (CIBD)

IBD jsou zánětlivá onemocnění s nejasnou etiologií (Crohnova nemoc, ulcerózní kolitida). Na jejich vzniku se podílí jak vnitřní faktory (genová výbava, stav imunitního systému), tak i faktory vnější (infekce). Pro stanovení diagnózy jsou určující především klinické příznaky.

Crohnova choroba (CD) je autoimunitní onemocnění střevní sliznice s vysokou mírou recidivy. Chronický zánět může postihnout celý zažívací trakt. Většinou se vyskytuje pouze v dolní části tenkého střeva (terminals ileum) a v tlustém střevě (tračník), velmi zřídka pak v jícnu a v ústech. Charakteristické pro CD je nesouvislé napadení střevní sliznice, kdy je současně postiženo několik částí střeva.

Ulcerózní kolitida (UC) je geneticky predisponované onemocnění střev s autoimunitní reakcí proti sliznici (tračník, rektum) a zvýšenou imunitní reakcí proti střevní flóře. Zánět začíná v konečníku a šíří se kontinuálně vzhůru od anální oblasti, až k oblasti úst. Onemocnění nastupuje mezi 20 a 40 rokem věku a postiženi jsou muži stejně jako ženy. Klinickými příznaky jsou opakující se průjmy, střevní krvácení a kolika. UC postupuje s proměnlivými symptomy a počátek je často zákeřný. Mezi každodenní stresové faktory pacienta patří rektální inkontinence, snížená fyzická zdatnost, přidružená onemocnění a vedlejší účinky lékové léčby.

IBD screen zahrnuje tyto protilátky:

a-ANCA (protilátky proti cytoplazmě neutrofilů)
a-AGC (protilátky proti pohárkovým buňkám)
a-ASCA (protilátky proti kvasinkách Saccharomyces cerevisiae)
a-PAB (protilátky proti exokrinnímu pankreatu)

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát
Princip stanovení:	nepřímá imunofluorescence (NIF) základní ředění 1:10
Jednotka:	kvalitativní hodnocení – negativní, pozitivní
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	negativní
Doba odezvy:	10 dní
Odbornost:	813
Poznámka:	

3.6 ASCA – protilátky proti Saccharomyces cerevisiae (IgA,IgG)

Protilátky proti kvasince Saccharomyces cerevisiae obohacují sérologickou diagnostiku chronických zánětlivých střevních onemocnění o další specifický parametr. Přítomnost těchto protilátek je asociována s Crohnovou chorobou (60 - 70 % nemocných je ASCA pozitivních). Pacienti s ulcerózní kolitidou jsou většinou ASCA negativní (pouze 2 % nemocných je ASCA pozitivních). Zatímco u Crohnovy choroby může být postižena kterákoli část trávicího aparátu od dutiny ústní až po anální kanál, ulcerózní kolitida se projevuje pouze v tlustém střevě, esovité kličce nebo konečníku, přičemž většinou začíná v posledně jmenované části.

Crohnova choroba je charakterizována přerušovaným postižením trávicího traktu. Bývá postiženo jak illeum, tak tlusté střevo. Mezi klinické příznaky patří především bolest břicha v pravé hypogastrické oblasti a často také průjem, úbytek hmotnosti, horečka nebo anémie. Známými komplikacemi jsou píštěl a fibrostenotická obstrukce. Mezi mimo střevní projevy patří např. erythema nodosum, zánětlivé bolesti kloubů, zánětlivé změny očí. Diagnóza Crohnovy choroby se stanoví na základě kombinované interpretace klinických, sonografických, radiologických, endoskopických a histologických výsledků a sérologických nálezů z analýzy protilátek / autoprotilátek.

ASCA jsou důležité v diferenciální diagnostice Crohnovy choroby a ulcerózní kolitidy, ale nejsou příčinou ani jedné z nich.

Vyhodnocení se provádí pod fluorescenčním mikroskopem, kde se hodnotí intenzita fluorescence.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	nepřímá imunofluorescence (NIF) základní ředění: IgA 1:100, IgG 1:1000
Jednotka:	kvalitativní hodnocení – negativní, pozitivní
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	negativní
Doba odezvy:	10 dní
Odbornost:	813
Poznámka:	

3.7 AIH – autoimunitní hepatopatie (IgG)

Autoimunitní hepatopatie je soubor různých autoimunitních onemocnění jako je např. primární biliární cirhóza (PBC), hepatitida I.typu (AIH-1) a další.

Vyšetření AIH se používá při screeningu autoimunitních nemocí. Slouží jako pomůcka při diagnostice a léčbě a má asociaci s různými autoimunitními onemocněními. Hlavními autoprotilátkami jsou zde ANA (viz vyšetření ANA), AMA, ASMA a protilátky APCA.

Antimitochondriální protilátky (AMA) jsou zlatý standard pro diagnostiku primární biliární cirhózy (PBC), kde se pozitivita vyskytuje u 90–95 % pacientů (AMA-M2). Pozitivní mohou být i asymptomatičtí jedinci, u kterých AMA předpovídá riziko budoucího rozvoje PBC nebo pacienti s jinými nemocemi jater.

Protilátky proti hladkému svalu (ASMA) jsou klíčové pro autoimunitní hepatitidu 1. typu (AIH-1), kde jsou typicky detekovány protilátky proti F-aktinu. Můžeme je zachytit také u PBC, akutní virové infekci (infekční mononukleóza) a chronické hepatitidy. Po odeznění akutní infekce ASMA obvykle mizí.

Protilátky proti parietálním buňkám žaludku (APCA) jsou markerem autoimunitní gastritidy (typu A) a perniciózní anémie (v 90 % případů). Protilátky inhibují protonovou pumpu (H^+/K^+-ATPázu), což vede k achlorhydrii, atrofii žaludeční sliznice a poruše vstřebávání vitaminu B_{12}. Vyskytují se také u jiných orgánově specifických autoimunit (např. autoimunitní tyreoiditidy).

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum
Princip stanovení:	nepřímá imunofluorescence (NIF) základní ředění 1:20
Jednotka:	kvalitativní hodnocení – negativní, pozitivní
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 7 dnů při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	negativní
Doba odezvy:	10 dní
Odbornost:	813
Poznámka:	

Zdrojová data:

4 Serologie

4.1 Anti-Borrelia (IgG, IgM) ELISA

Lymeská borelióza je nejčastějším onemocněním přenášeným klíšťaty, které způsobují druhy B. burgdorferi sensu stricto, B. Afzelii a B. Garinii. Nejčastějším druhem klíštěte, které v Evropě kousne člověka je Ixodes ricinus. Je přenašečem Borrelia burgdorferi, která způsobuje boreliózu.
Klinické projevy borreliózy lze rozdělit do tří stadií:
Stádium I**:** za 3 dny až 6 týdnů po přisátí klíštěte je typickým primárním projevem erythema migrans.
Jedná se o zarudnutí kůže, které se objevuje v místě kousnutí klíštětem a šíří se kruhovitým způsobem. Bývá doprovázeno příznaky podobnými chřipce (horečka, třesavka, bolesti hlavy, zvracení). Může vyústit ve spontánní uzdravení nebo se vyvinout v generalizovanou borreliózu.
Stádium II**:** několik týdnů až měsíců po kousnutí klíštětem se mohou objevit neurologické projevy (meningitida, encefalitida, parézy lebečních nervů), dále také artritida kolenních kloubů, nelokalizované bolesti kostí, kloubů a svalů. U dětí je častým neurologickým příznakem periferní obrna obličeje. Obvykle se paréza lícního nervu objeví na jedné straně a po několika týdnech na straně opačné.
Stádium III**:** za 6 – 12 měsíců po infekci jsou typické chronické změny orgánů, zejména kloubů, kůže a nervového systému. Bez léčby se terciární stadium může rozvinout v průběhu let po původní infekci.
Lidé produkují vysoce specifické protilátky proti Borrelia burgdorferi, které lze sérologicky prokázat již v prvním stádiu onemocnění. Protilátky třídy IgM jsou detekovatelné po 3 – 4 týdnech od přisátí klíštěte. Během 1 – 3 měsíců jsou většinou odbourány, ale mohou přetrvávat i několik měsíců. Hraniční výsledky je doporučováno opakovat po 2 – 3 týdnech. Pozitivní nálezy po 2 – 3 měsících od zahájení terapie. Protilátky třídy IgG se tvoří 4 – 8 týdnů po infekci. Většinou přetrvávají mnoho let, ale mohou být odbourány už za jeden rok. Nemají ovšem protektivní charakter, před další nákazou neochraňují. U čerstvých infekcí se doporučuje provádět ELISA test a imunoblot souběžně, protože některé slabé reakce jsou zjistitelné dříve v imunoblotu než ve screeningovém testu (ELISA).

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	ELISA
Jednotka:	RU/ml
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dnů při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	< 16 RU/ml negativní ≥ 16 až < 22 RU/ml hraniční ≥ 22 RU/ml pozitivní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	U pozitivních výsledků lze provést konfirmaci pomocí testu Imunoblot.

4.2 Anti-CMV (IgA, IgG, IgM) ELISA

Lidský cytomegalovirus (CMV, HHV5) náleží do skupiny herpesvirů. Přenáší se přes placentu nebo během porodu, kontaktem sliznice s nosním sekretem, slinami, slzami, močí, krví, genitálními sekrety, skrze mateřské mléko, krevní produkty nebo transplantované orgány.
Po viremické fázi přetrvává CMV u pacienta po celý život a může být reaktivován při léčbě imunosupresivy nebo během těhotenství. Jediným rezervoárem CMV jsou nakažení lidé. Malé děti často roky asymptomaticky vylučují CMV slinami, slzami nebo močí.
K primární infekci virem dochází nejčastěji v dětství nebo adolescenci. Klinický průběh je většinou asymptomatický, mírný, podobný chřipce. Někdy se objeví příznaky podobné mononukleóze. Poté přechází virus do latentní fáze a následná sekundární infekce (reaktivace) nastupuje v závislosti na změnách ve vztazích mezi hostitelem a virem (těhotenství, vážné onemocnění, stres, léčba).
Většina infekcí CMV u těhotných žen probíhá rovněž bezpříznakově. Závažné riziko představuje primární infekce v průběhu těhotenství (poškození plodu).
Obzvláště ohroženi jsou imunosuprimovaní pacienti, kteří podstoupili transplantaci orgánu nebo kmenových buněk, a také pacienti s AIDS.
Protilátky IgA jsou ukazatelem aktivní infekce, primoinfekce a reaktivace. Při reaktivaci dochází k produkci IgA protilátek, která může, ale nemusí, být provázena nálezem specifických IgM. Protilátky třídy IgA mají také velký význam při potvrzení reaktivace CMV při současném výskytu IgG protilátek.
Specifické IgG protilátky jsou detekovatelné cca 1 týden po vzestupu IgM a IgA protilátek. Jejich vzestup indikuje primární infekci. K rozlišení primární infekce od reaktivace slouží stanovení avidity IgG protilátek.

Negativní sérologický výsledek nevylučuje infekci. Zejména v počáteční fázi onemocnění nemusí být protilátky ještě přítomny nebo jsou přítomny pouze v malém množství, které není ještě detekovatelné.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	ELISA
Jednotka:	Index pozitivity
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15– 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 1 týden při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	INDEX IgG, IgM < 0,8 negativní ≥ 0,8 až <1,1 hraniční ≥ 1,1 pozitivní INDEX IgA < 0,9 negativní ≥ 0,9 až < 1,1 hraniční > 1,1 pozitivní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	K rozlišení primární infekce od reaktivace doordinujeme v případě nejasného výsledku aviditu IgG protilátek proti CMV.

4.3 Anti-HSV – 1 / 2 Pool (IgG , IgM) ELISA

Herpes simplex je onemocnění, které je rozšířeno celosvětově a charakterizuje jej tvorba puchýřů na kůži a sliznicích. Komplikace nastávají, když jsou postiženy i vnitřní orgány a dochází k jejich nekróze. Dva úzce spřízněné lidské patogenní druhy viru, HSV-1 a HSV-2, jsou původci různých onemocnění, která mohou být asymptomatická, benigní nebo závažná.
HSV-1 obecně postihuje oblast úst a nosu, zůstává v těle člověka i po odeznění oparu v latentní (skryté) fázi a může být znovu aktivován (stres, opalování, horečka), přenos slinami.
HSV-2 infekce se objevují v oblasti genitálu, sexuálně přenosná nemoc, přenos pohlavním stykem nebo při porodu z matky na dítě, nejde vyléčit, většinou se opakovaně vrací stejně jako opar.
U primární infekce napadá virus lokální slizniční buňky a replikuje se v epitelu. Poté se šíří epitelem, ničí hostitelské buňky a uvolňuje nové viriony. Následkem destrukce tkáně se tvoří vředy nebo zánětlivé kožní puchýře. Tekutina v těchto puchýřích je exudát s vysokou koncentrací viru.

Častými symptomy jsou bolesti hlavy a strnulost krku. Pokud dojde k nákaze novorozence virem HSV-2 při průchodu rodidly, jsou u něj pozorovány puchýře na kůži, ale také na ústech a očích. Při akutních infekcích se proto indikuje císařský řez, a to bez ohledu na to, jedná-li se o primární infekci nebo recidivu. U osob s promiskuitním chováním je riziko onemocnění vyšší. HSV infekce jsou nejčastějšími koinfekcemi u osob infikovaných HIV. Tvorba vředů HSV-2 na sliznici genitálu může způsobit další infekci.

Testovací systémy ELISA jsou založené na typově specifických antigenech, díky kterým poskytují přesné výsledky a zajišťují tak spolehlivou diagnózu infekcí virem HSV a zároveň diferenciaci infekcí způsobených virem Herpes-simplex-1 a Herpes-simplex-2.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	ELISA
Jednotka:	RU/ml
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	< 16 RU/ml negativní ≥ 16 - < 22 RU/ml hraniční ≥ 22 RU/ml pozitivní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	

4.4 EBV (EBNA-1 IgG, VCA IgG, VCA IgM, EA-D IgG) ELISA

Virus Epstein-Barrové (EBV) je původce infekční mononukleózy. Jedná se o nejrozšířenější lidský herpetický virus, který se přenáší kontaktem s nakaženou osobou, ale také krevní transfúzi a transplantací. Horečnaté onemocnění obvykle provází zánět hltanu, lymfadenopatie, hepatosplenomegalie i exantém.

EBV infekce se často vyskytují ve spojení s Burkittovým lymfomem a karcinomem nosohltanu. Infekční mononukleózu je nutné odlišit od cytomegalie a toxoplazmózy, v případě atypického průběhu také od HIV a jiných infekcí.
Při diagnostice onemocnění infekční mononukleózy je velmi důležitá sérologie.
V časné fázi infekce lze detekovat protilátky IgM a IgG proti antigenu virové kapsidy (CA). Pozitivní výsledek anti-EBV-CA IgM je klasický marker akutní infekce. Jak infekce postupuje, vytvářejí se IgG protilátky proti EBV-CA a hladina IgM protilátek proti EBV-CA klesá pod detekovatelnou mez.
Protilátky proti časnému antigenu (EA) ve třídě IgM a IgG korelují s aktivní infekcí pouze dočasně, z toho IgG přetrvávají delší dobu. Vysoké titry protilátek proti EA indikují chronickou nebo znovu aktivovanou infekci.
Šest až osm týdnů po infekci se začínají tvořit protilátky proti nukleárnímu antigenu (EBNA), které jsou známkou prodělané infekce (5 až 10 % pacientů protilátky proti EBNA-1 netvoří).
Rozlišit sérologicky primární infekci EBV od reaktivace není vždy možné. Pokud jsou přítomny pouze protilátky proti EBV-EA bez protilátek proti EBV-CA, jedná se pravděpodobně o primární infekci. Pokud jsou ale prokázány také protilátky proti EBNA, znamená to reaktivaci.
Pro takové nejednoznačné nálezy je doporučeno vyšetření avidity IgG protilátek proti EBV-CA.

Negativní sérologický výsledek nevylučuje infekci. Zejména v počáteční fázi onemocnění nemusí být protilátky ještě přítomny nebo jsou přítomny pouze v malém množství, které není ještě detekovatelné.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	ELISA
Jednotka:	Index pozitivity
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	INDEX < 0,8 je považován za negativní INDEX ≥ 0,8 až <1,1 je považován za hraniční INDEX ≥ 1,1 je považován za pozitivní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	K rozlišení primární infekce od reaktivace doordinujeme v případě nejasného výsledku aviditu IgG protilátek proti EBV-CA.

4.5 Anti- Chlamydia pneumoniae (IgA, IgG, IgM) ELISA

Chlamydia pneumoniae je celosvětově rozšířený, výhradně lidský patogen, který se přenáší aerosolem.
Více než 50% dospělých starších 20 let prodělalo Chl. pneumoniae infekci a vytvořilo si protilátky proti tomuto patogenu.
Přibližně polovina infekcí probíhá asymptomaticky nebo může způsobit nanejvýš mírnou bolest v krku. Všechny ostatní případy infekcí vyvolaných Chl. pneumoniae se vyznačují především přetrvávajícím suchým, neproduktivním kašlem, bolestí hlavy a horečkou. Léčba infekcí pomocí antibiotik trvá obvykle 10 až 14 dní. Zvláštní význam má sekundární reaktivní artritida způsobená Chl. pneumoniae, která bývá zaměňována s revmatoidní artritidou. Na rozdíl od ní může být léčena a vyléčena antibiotiky. Dosud neexistuje žádná vakcína proti Chl. pneumoniae.

Pro stanovení diagnózy lze využít sérologické stanovení protilátek proti Chl. pneumoniae metodou ELISA.
Při primární infekci Chl. pneumoniae lze prokázat protilátky IgM v séru až po 3 týdnech. Vzhledem k tomu, že detekce protilátek v séru může být spojena jak s akutní, tak s prodělanou infekcí, je k rozlišení nutné další testování po 2 - 3 týdnech a dále po 6 týdnech od začátku onemocnění. Obecně platí, že k významnému zvýšení specifických IgG protilátek dojde po dalších 3 - 5 týdnech. To znamená, že protilátky lze zjistit až mnohem později než u mnoha jiných infekcí.
Pozitivní detekce IgM nebo IgA spolu s výrazným zvýšením IgG protilátek ve vzorku odebraném po 2 až 8 týdnech ukazuje na akutní infekci.
Při reinfekci dochází ke zvýšení IgG až po 1 - 2 týdnech nebo nemusí nastat vůbec. Může být rovněž zjištěno slabé zvýšení IgM.
Specifické IgA lze stanovit pouze v kombinaci s IgG, a to častěji u starších osob než u mladých dospělých.

Negativní sérologický výsledek nevylučuje infekci. Zejména v počáteční fázi onemocnění nemusí být protilátky ještě přítomny nebo jsou přítomny pouze v malém množství, které není ještě detekovatelné.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	ELISA
Jednotka:	Index pozitivity
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15– 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	INDEX < 0,8 je považován za negativní INDEX ≥ 0,8 až <1,1 je považován za hraniční INDEX ≥ 1,1 je považován za pozitivní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	U pozitivních výsledků lze provést konfirmaci pomocí testu Imunoblot.

4.6 Anti- Chlamydia trachomatis (IgA, IgG) ELISA

Chlamydia trachomatis patří spolu s Chlamydia pneumoniae a Chlamydia psittaci do lidského patogenního rodu Chlamydia. Chl.trachomatis je jedna z nejmenších gramnegativních intracelulárních bakterií. Živí se jako energetický parazit a je původcem uretritidy nezpůsobené kapavkou, lymfogranuloma venereum, trachomu, inkluzní konjunktivitidy, neonatální pneumonie a Reiterova syndromu.

Diagnostikované chlamydiové infekce lze obvykle vyléčit různými antibiotiky do 7 dnů, a to i během těhotenství. U reaktivní artritidy je nutná dlouhodobá diferencovaná léčba, která působí lokálně i systémově.
Sexuálně přenosná negonoreální uretritida způsobená převážně Chl. trachomatis je v současnosti nejčastějším sexuálně přenosným onemocněním. Bakterie žijí převážně v buňkách močové trubice a infekce probíhají většinou asymptomaticky. Pokud se objeví příznaky, jedná se o uretritidu, epididymitidu a prostatitidu u mužů a u žen o uretritidu, cervicitidu a salpingitidu/adnexitidu se svěděním, bolestí a výtokem. Chronické infekce vnitřních ženských orgánů vedou v mnoha případech k neplodnosti. Existuje zřejmá souvislost mezi akutními infekcemi vyvolanými Chl. trachomatis během prvních tří měsíců těhotenství a předčasnými potraty, porody nebo porody mrtvých dětí. U nedonošených novorozenců způsobuje Chl. trachomatis prenatálně nebo perinatálně přenesený zánět spojivek a zápal plic.
Urogenitální infekce vyvolaná Chl. trachomatis může přejít do reaktivní artritidy (Reiterova choroba), kde se Chl.trachomatis vyskytuje v kloubech jako aktivní agens.
IgM protilátky se netvoří ve všech případech infekce. Zvýšení IgG protilátek se také nevyskytuje vždy. V problematických případech je proto užitečné stanovit přítomnost chlamydií v infekčních sekretech pomocí přímé imunofluorescence nebo určit specifické genetické sekvence pomocí PCR.

Negativní sérologický výsledek nevylučuje infekci. Zejména v počáteční fázi onemocnění nemusí být protilátky ještě přítomny nebo jsou přítomny pouze v malém množství, které není ještě detekovatelné.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	ELISA
Jednotka:	Index pozitivity
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	INDEX < 0,8 je považován za negativní INDEX ≥ 0,8 až <1,1 je považován za hraniční INDEX ≥ 1,1 je považován za pozitivní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	U pozitivních výsledků lze provést konfirmaci pomocí testu Imunoblot.

4.7 Anti- Mycoplasma pneumoniae (IgA, IgG, IgM) ELISA

Celosvětově rozšířený druh Mycoplasma pneumoniae způsobuje 10 až 15 % všech akutních infekcí dýchacích cest, včetně závažných infekcí horních cest dýchacích, průdušek a plic. Lidé jsou jediným rezervoárem Mycoplasma pneumoniae. Tyto bakterie jsou závislé na hostitelské buňce nebo organismu a žijí jako paraziti. Přenáší se kapénkami a někdy může dojít k jejich endemickému až epidemickému šíření. Nejčastěji jsou postiženy děti a mladí lidé. Výskyt je vyšší u mužů než u žen.

Infekce Mycoplasma pneumoniae jsou povětšinou asymptomatické nebo s lehkými chřipkovými příznaky. Obvykle je to pomalu stoupající teplota, pocit ucpaného nosu a celková malátnost. Po inkubační době (10 až 20 dnů) se může objevit přetrvávající kašel, horečka a bolesti hlavy. Primární atypická pneumonie se může rozvinout do těžké pneumonie, intersticiální pneumonie a také prolongované tracheobronchitidy. Ta většinou postihuje školní děti a mladé dospělé. Obvykle onemocní několik členů rodiny nebo lidí, kteří žijí v blízkém kontaktu.
Specifické protilátky třídy IgM lze detekovat 4 dny po nástupu onemocnění. Po několika dnech následují IgG protilátky. Obvykle dochází k nepřetržitému nárůstu protilátek IgM a především pak IgG. Ty jsou významné pro potvrzení akutní infekce bakterií Mycoplasma pneumoniae. Do 10. nebo nejpozději do 21. dne od začátku onemocnění se nárůst zvyšuje 3 až 4 násobně. Specifické IgA protilátky, které se mohou vyskytovat spolu s IgG protilátkami, se objevují téměř výhradně u dospělých. U dětí se indikuje vyhodnocení specifických IgM protilátek.
Hladina IgG protilátek může zůstávat stejná celé měsíce. Obecně se doporučuje založit diagnózu na analýze dvou vzorků séra odebraných v intervalu dvou až tří týdnů. Jeden vzorek se nepovažuje za dostatečně vypovídající.

Negativní sérologický výsledek nevylučuje infekci. Zejména v počáteční fázi onemocnění nemusí být protilátky ještě přítomny nebo jsou přítomny pouze v malém množství, které není ještě detekovatelné.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	ELISA
Jednotka:	Index pozitivity
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	INDEX < 0,8 je považován za negativní INDEX ≥ 0,8 až <1,1 je považován za hraniční INDEX ≥ 1,1 je považován za pozitivní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	

4.8 Anti- Bordetella pertussis toxin (IgA, IgG) ELISA

Bordetella pertussis je nakažlivá bakterie, rozšířená po celém světě a přenáší se kapénkovou infekcí z člověka na člověka. Prostřednictvím různých adhezinů se váže na buňky řasnatého epitelu bez toho, aby se dostaly do epitelu či krevního řečiště.

B. pertussis je původcem černého kašle. Jedná se o akutní, vysoce nakažlivou infekci dýchacích cest vyznačující se těžkými, křečovitými epizodami kašle. Nebezpečnými komplikacemi jsou bronchopneumonie a akutní encefalopatie, která je charakterizována primárně křečemi a často končí smrtí nebo celoživotním poškozením mozku.
Po inkubační době (přibližně 7 až 14 dní) přechází infekce do necharakteristického katarálního stádia, které trvá 1 až 2 týdny. Pak se rozvine konvulzivní stádium trvající 2 až 3 týdny, které je charakterizováno typickými paroxysmálními, staccato záchvaty kašle. Po těch často následuje hvizd s případným zvracením. Časté jsou noční záchvaty. Během obou stádií dochází k vykašlávání patogenu. Nelze tedy vyloučit přenos kontaminovanými předměty. Následuje stádium ústupu, které trvá několik týdnů, a je provázeno kontinuálním snižováním záchvatů kašle
V případě dětí mladších 2 let jsou časté komplikace v podobě sekundární pneumonie nebo zánětu středního ucha. Jsou známy infekce v dospělosti, ale zřídka dochází k jejich diagnostice. Reinfekce u osob starších 60 let je život ohrožující. Prevencí je vakcinace.
Specifické protilátky lze detekovat v séru také metodou ELISA, která je založena na druhově specifickém pertusním toxinu (PT) a doporučuje se pro specifickou detekci a zároveň kvantifikaci protilátek proti Bordetella pertussis. Zároveň vylučuje infekci parapertussi.

Významný vzestup IgG protilátek svědčí o současné nebo nedávné infekci. Detekce specifických IgA protilátek poskytuje důkaz o přirozené infekci. Část dětí a dospívajících nemusí produkovat detekovatelné IgA protilátky během infekce. Specifické IgM protilátky mohou být použity u kojenců jako indikátor akutní infekce.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	ELISA
Jednotka:	IU/ml
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	IgA: < 12 IU/ml, IgG: < 40 IU/ml
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	U pozitivních výsledků lze provést konfirmaci pomocí testu Imunoblot.

4.9 Anti- Bordetella parapertussis (IgA, IgG, IgM) ELISA

Bordetella parapertussis je aerobní bakterie, která způsobuje syndrom dávivého kašle. Přenáší se kapénkovou cestou a inkubační doba je 7 až 10 dní.

Onemocnění následně probíhá ve třech stádiích (katarální, paroxysmální a rekonvalescentní). Příznaky se podobají pertusovému onemocnění. Rozdíl je v délce trvání s mírnějšími klinickými projevy a bez závažných komplikací. Až 40 % onemocnění probíhá asymptomaticky. Případy s těžkým průběhem mohou vykazovat duální infekci Bordetella pertussis a Bordetella parapertussis.
Volba laboratorní metody pro správnou interpretaci striktně závisí na době trvání příznaků kašle. Na začátku onemocnění je to v průkazu patogenu. Od 4 týdne následuje sérologické vyšetření specifických protilátek. Neprovádí se u dětí do 1 roku a také u osob po očkování proti pertusi (do 12 měsíců po vakcinaci).
Průkazem protilátek třídy IgA a IgG proti antigenům Bordetella parapertussis metodou ELISA lze jednoznačně prokázat akutní nebo proběhlou infekci. Pro spolehlivý sérologický průkaz je nutné vyšetřit 2 vzorky krve v intervalu 3 až 4 týdnů (první v akutním stádiu, druhý v rekonvalescentním). Potvrzením probíhajícího onemocnění je prokázaný signifikantní, minimálně 4násobný vzestup hladin protilátek při současném vyšetření obou vzorků
Průkaz protilátek IgM je pouze doplňkovým vyšetřením třídy IgA a IgG a pozitivita bez průkazu ostatních tříd nemá význam pro stanovení diagnózy.

Negativní sérologický výsledek nevylučuje infekci. Zejména v počáteční fázi onemocnění nemusí být protilátky ještě přítomny nebo jsou přítomny pouze v malém množství, které není ještě detekovatelné.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (citrát)
Princip stanovení:	ELISA
Jednotka:	Index pozitivity
Provádíme:	1X týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 1 týden při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	INDEX < 0,9 je považován za negativní INDEX ≥ 0,9 až <1,1 je považován za hraniční INDEX ≥ 1,1 je považován za pozitivní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	

4.10 Anti- Tetanus Toxoid (IgG) ELISA

Patogenní původce tetanu, Clostridium tetani, je tyčinkovitá bakterie, která se vyskytuje v půdě, v mrtvých zvířatech, obsahu střev a výkalech koní (méně často krav a dalších zvířat). Spory bakterie jsou všudypřítomné v půdě a pokud nejsou vystaveny slunečnímu světlu, přežívají tam roky. Jsou odolné vůči teplu a dezinfekčním prostředkům.
K přímému přenosu z člověka na člověka nedochází. Nezbytným předpokladem infekce je poranění. Spory bakterie C. tetani bývají zaneseny pod kůži prostřednictvím nečistot, často spolu s cizími tělesy, např. dřevěnými třískami, hřebíky nebo trny. Nemusí se jednat o otevřenou ránu. Infekce hrozí také u drobných, sotva viditelných poranění. V ráně dochází k přeměně spor na vegetativní formu bakterie. K okamžitým léčebným opatřením u rizikových poranění s nedostatečnou nebo zcela chybějící imunitou (poslední očkování proběhlo před více než 10 lety) patří důkladné chirurgické ošetření rány, podání tetanového imunoglobulinu k neutralizaci nenavázaného toxinu a zároveň nasazení tetanové imunoprofylaxe.
Tetanus je rozšířen po celém světě. Jeho inkubační doba je obvykle 4 až 14 dní, ojediněle 3 dny až 3 týdny. Krátká inkubace (vyšší množství toxinu) je spojena s nepříznivou prognózou. Tetanus bývá diagnostikován na základě typických klinických nálezů a laboratorní diagnostiky. Pokud pacient podstoupil kompletní základní imunizaci a byl včas přeočkován, je onemocnění tetanem nepravděpodobné.
Pomocí testovací soupravy ELISA lze diagnostikovat infekci a ověřit, zda má pacient dostatečné množství ochranných protilátek (po imunizaci).
Preferovanou metodou profylaxe tetanu je aktivní imunizace. Imunitní ochrana je obzvláště důležitá u starších lidí, zejména těch, kteří trpí poruchami oběhového systému, cukrovkou a onemocněními povrchu kůže, např. bércovými vředy nebo otevřeným ekzémem.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	ELISA
Jednotka:	IU/ml
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	<0,1 IU/ml nedostatečná imunita, doporučuje se přeočkovat 0,1 – 0,5 IU/ml imunita přítomna, přeočkování zajistí dlouhodobou imunitu >0,5 – 1,1 IU/ml dostatečná imunita, přeočkování za 2 – 5 let >1,1 – 5,0 IU/ml dostatečná imunita, přeočkování za 5 – 10 let >5,0 IU/ml dostatečná imuniita, přeočkování zhruba za 10 let
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	Po posilovací imunizaci se mohou objevit reakce na očkování. Proto je důležité před očkováním stanovit titr anti tetanového toxoidu, aby se zjistilo, zda je přeočkování skutečně nutné.

4.11 Anti- Toxoplasma gondii (IgA, IgG, IgM, IgE) ELISA

Toxoplazmóza je parazitární onemocnění, jehož původcem je prvok Toxoplasma gondii. Jedná se o parazita se složitým vývojovým cyklem, který se vyskytuje v několika morfologicky odlišných stádiích. Jeho primárním hostitelem jsou kočkovité šelmy, nejčastěji kočka. Člověk a ostatní teplokrevní obratlovci se můžou nakazit buď primárně kontaminovanou potravou (nedostatečně tepelně upravené maso) nebo pozřením oocysty (znečištěné prsty, předměty atd.).
Získaná toxoplazmóza probíhá obvykle asymptomaticky nebo s mírnými příznaky (teplota, únava, lymfadenopatie, bolesti svalů) a bez následků. Závažnější projevy toxoplazmózy můžou nastat u imunokompromitovaných jedinců (nádor, transplantace, HIV).
Vrozená toxoplazmóza je způsobena přenosem infekce z matky na plod a je důsledkem primoinfekce matky krátce před otěhotněním nebo v graviditě. Může vést k potratu, porodu mrtvého dítěte nebo porodu dítěte s různým stupněm poškození.
Stanovení specifických protilátek tříd IgG, IgA, IgM a IgE se provádí metodou ELISA.
Protilátky tříd IgA, IgE a IgM mají význam pro diagnostiku akutní toxoplazmózy. Protilátky třídy IgA lze prokázat 6 až 9 měsíců po akutní infekci. Protilátky třídy IgM představují vysoce senzitivní marker akutní infekce a mohou přetrvávat déle než rok. Protilátky třídy IgE, jako vysoce specifický marker akutní infekce, přetrvávají v séru méně než 6 měsíců. Protilátky třídy IgG dosahují maximální hladiny v séru půl roku po začátku onemocnění a lze je prokázat mnoho let po prodělání infekce.
Negativní sérologický výsledek nevylučuje infekci. Zejména v počáteční fázi onemocnění nemusí být protilátky ještě přítomny nebo jsou přítomny pouze v malém množství, které není ještě detekovatelné.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum
Princip stanovení:	ELISA
Jednotka:	INDEX pozitivity - IgA, IgM, IgE IU/ml - IgG
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 1 týden při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	INDEX / IgA, IgM < 0,8 považován za negativní ≥ 0,8 až <1,1 považován za hraniční ≥ 1,1 považován za pozitivní INDEX / IgE < 0,9 považován za negativní ≥ 0,9 až <1,1 považován za hraniční ≥ 1,1 považován za pozitivní IU/ml / IgG < 8,0 IU/ml negativní ≥ 8,0 IU/ml až <11,0 IU/ml hraniční ≥11,0 IU/ml pozitivní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	

4.12 Anti- VZV (IgG, IgM) ELISA

Virus varicella zoster (VZV), také lidský patogenní herpes virus 3 (HHV3), je původce planých neštovic (varicella). Po prodělání infekce nastává latence a následně může dojít k reaktivaci, která způsobí pásový opar (herpes zoster). Virus je striktně lidský.
Varicella je velmi nakažlivé onemocnění, které bylo tradičně považováno za nevyhnutelné benigní onemocnění u dětí, s typickou puchýřovitou vyrážkou na celé kůži. Nyní víme, že varicella může být také závažnou infekcí, a to i v dětském věku, ale zejména u mladých a starších dospělých a v těhotenství.
Pásový opar je endogenní recidiva dřívější infekce varicelou.

Varicella také způsobuje závažné infekce během těhotenství. Při porodu představuje infekce VZV u matky pro novorozence skutečně život ohrožující riziko.

Protilátky proti VZV nalézáme téměř u všech osob během infekce, a také po ní. Prokázat je můžeme metodami ELISA.
Protilátky třídy IgG a IgM jsou markery k potvrzení akutní VZV-infekce, v těhotenství pak zejména IgG protilátky. IgA protilátky jsou typické pro reinfekci (zoster).
Negativní sérologický výsledek nevylučuje infekci. Zejména v počáteční fázi onemocnění nemusí být protilátky ještě přítomny nebo jsou přítomny pouze v malém množství, které není ještě detekovatelné.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)	
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)	
Princip stanovení:	ELISA	
Jednotka:	INDEX pozitivity - IgM IU/ml - IgG	
Provádíme:	1x týdně	
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem	
Transport:	15 – 25 °C	
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C	
Referenční meze:	INDEX / IgM <0,8 považován za negativním ≥ 0,8 až 1,1 považován za hraničních ≥ 1,1 považován za pozitivní	IU/ml / IgG < 80 IU/ml negativní ≥ 80 až 110 hraniční ≥ 110 IU/ml pozitivní
Doba odezvy:	10 dnů	
Odbornost:	813	
Poznámka:		

5 Imunologie

5.1 Anti- Cardiolipin (IgG, IgM) ELISA

Protilátky proti kardiolipinu (ACA, ACLA) jsou zaměřeny proti fosfolipid difosfatidylglycerolu (kardiolipin), což je komplex kardiolipinu a plazmového proteinu β2-glykoprotein-1 (β2-GP1). Prokazují se u primárního i sekundárního anti-fosfolipidového syndromu.

Anti-fosfolipidový syndrom (APS nebo také Hughesův syndrom) je autoimunitní choroba, pro kterou je typická trombofilie. Kumulativní hematologické znaky jsou převážně venózní nebo arteriální trombóza, hematocytopenie, komplikace v těhotenství, neurologická selhání a poškození srdeční, plicní či kožní tkáně následkem výše uvedených oběhových poruch. Pacienty s APS tvoří z 82 % ženy a z 18 % muži. APS se dělí na primární APS (pAPS) a sekundární APS (sAPS), který je asociován s autoimunitními chorobami.
APS je prokázán, jestliže je splněno alespoň jedno klinické kritérium pro APS (trombóza nebo komplikace v těhotenství) a jedno laboratorní kritérium (střední nebo vysoké titry protilátek v séru nebo plazmě naměřené v intervalu alespoň 12 týdnů).

Protilátky proti kardiolipinu mají vysokou prevalenci a přetrvávají u pacientů s APS více než 12 týdnů.
Specifičnost protilátek je mírně omezená, protože je můžeme detekovat také u infekcí, např. syfilis, borelióza či malárie.

Pozitivní výsledek na ACLA je třeba vždy vyhodnotit po 12 týdnech a potvrdit tak diagnózu APS. Přetrvávající vysoké titry ACLA jsou považovány za rizikový faktor trombózy a vaskulárních komplikací, jako je srdeční či mozkový infarkt. Míru sérologické detekce při diagnostice APS lze zvýšit souběžným vyšetřením ACLA a protilátek β2-GP1 téměř na 100 %.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	ELISA
Jednotka:	Index pozitivity
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	INDEX < 1,0 je považován za negativní INDEX ≥ 1,0 je považován za pozitivní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	

5.2 Anti- β2-glycoprotein 1 (IgG, IgM) ELISA

Anti-fosfolipidový syndrom (APS), nazývaný také Hughesův syndrom, je autoimunitní onemocnění, které je charakterizováno trombofilií. Kumulativní hematologické znaky jsou převážně venózní nebo arteriální trombóza, hemocytopenie, těhotenské komplikace, neurologická selhání a poškození srdeční, plicní nebo kožní tkáně následkem výše zmíněných oběhových poruch.
Protilátky proti β2- glykoproteinu 1 (β2-GP1) jsou markerem autoimunitní trombózy. Detekce těchto protilátek poskytuje sérologickou pomoc pro odlišení autoimunitních onemocnění od infekcí a umožňuje zlepšit prognózu tromboembolických komplikací. Při stanovení protilátek proti kardiolipinu tato klasifikace neprobíhá, protože mohou být detekovány jak u APS, tak při určitých infekcích (syphilis, borelióza, AIDS, hepatitida, tuberkulóza). Protilátky proti β2-GP1 mají vysokou specifičnost pro APS a často se objevují v kombinaci s protilátkami proti kardiolipinu, kde dobře korelují s jejich koncentrací. Protilátky proti kardiolipinu mají nižší specifičnost, ale vyšší citlivost pro APS.
V případě pacientů s APS se protilátky proti β2-GP1 objevují až u 60 % pacientů, ale lze je najít také u asymptomatických jedinců. Zpětně je možné nalézt významné korelace mezi koncentrací protilátek a předchozí žilní trombózou (IgM protilátky korelují s arteriální trombózou). V případě onemocnění lupus erythematodes disseminatus korelují protilátky proti β2-GP1 se závažností trombóz. Žádná významná korelace mezi potraty spojenými s APS a titry β2-GP1 protilátek nebyla prokázána.
APS je prokázán, jestliže je splněno alespoň jedno klinické kritérium pro APS (trombóza nebo komplikace v těhotenství) a jedno laboratorní kritérium. Detekce protilátek zahrnuje lupusové antikoagulanty (LA), protilátky proti kardiolipinu třídy IgG nebo IgM nebo protilátky proti anti-β2-glykoproteinu-1 třídy IgG nebo IgM.
V případě podezření na APS a negativním výsledku ACLA a β2-GP1 ve třídě IgG a IgM, je třeba stanovit hladinu protilátek IgA.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	ELISA
Jednotka:	Index pozitivity
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	INDEX < 1,0 je považován za negativní INDEX ≥ 1,0 je považován za pozitivní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	

5.3 Anti- gliadin (GAF-3X) (IgG, IgA) ELISA

Lepek se vyskytuje v různých cereáliích (např. v pšenici, ječmeni, v žitě). Skládá se ze směsi proteinů, které je možné rozdělit do dvou skupin - na prolaminy a gluteliny.
Nejčastěji se vyskytujícím prolaminem ja gliadin. Pokud pacienti postižení celiakií konzumují potravu obsahující lepek, vede to v důsledku ke zničení sliznice tenkého střeva, která pak vykazuje plochý mozaikovitý povrch bez klků, ale s viditelnými hlubokými kryptami. Následkem toho pak dochází k funkčním poruchám.

Celiakie (gluten senzitivní enteropatie) je autoimunitním onemocněním, které se projevuje u predisponovaných jedinců jako reakce způsobená citlivostí na lepek. Mezi klinické symptomy patří únava, plynatost, bolesti břicha, průjem, zvracení, zácpa, následky malabsorpce s úbytkem váhy, bolesti kostí, anémie a zpomalení růstu u dětí. Někteří pacienti postižení celiakií trpí také Duhringovou dermatitidou herpetiformis, chronickým onemocněním kůže doprovázeným tvorbou puchýřků.

Nenákladnou diagnostickou metodou s vysokou senzitivitou je vyšetření protilátek proti gliadinu metodou ELISA. Je vhodné ke sledování průběhu léčby a kontrole dodržování bezlepkové diety. Charakteristický nárůst či pokles protilátek proti gliadinu může pacienta ušetřit další biopsie tenkého střeva. Stanovení hladiny protilátek je vhodné také u příbuzných pacienta trpícího celiakií ke zjištění možné predispozice.

Během akutní fáze gluten-senzitivní enteropatie lze téměř vždy detekovat protilátky třídy IgA proti gliadinu, endomyziu nebo tkáňové transglutamináze. Trvale zvýšená hladina IgA protilátek proti gliadinu značí porušování bezlepkové diety. U pacientů s IgA-negativní celiakií se objevuje vyšší výskyt latentních forem, opakující se infekce a atopická onemocnění než u IgA-pozitivních pacientů.
U selektivního deficitu IgA protilátek proti gliadinu bývá téměř ve 100 % případů asociace s velmi vysokým titrem protilátek třídy IgG proti gliadinu.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	ELISA
Jednotka:	RU/ml
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	< 25 RU/ml negativní ≥ 25 RU/ml pozitivní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	

5.4 Anti- tkáňová transglutamináza (IgG, IgA) ELISA

Enzym tkáňová transglutamináza (t-TG) katalyzuje deaminaci gliadinu v buňkách střevní sliznice a právě jeho komplex s gliadinem může stimulovat imunitní systém k tvorbě protilátek. Hraje hlavní roli v patogenezi celiakie a je cílovým antigenem endomysiální tkáně. V kombinaci se stanovením endomysiálních protilátek (EMA) lze dosáhnout 100 % specifity a senzibility testu pro průkaz celiakie.

Celiakie (gluten senzitivní enteropatie) je autoimunitním onemocněním, které se projevuje u predisponovaných jedinců jako reakce způsobená citlivostí na lepek. Mezi klinické symptomy patří únava, plynatost, bolesti břicha, průjem, zvracení, zácpa, následky malabsorpce s úbytkem váhy, bolesti kostí, anémie a zpomalení růstu u dětí. Někteří pacienti postižení celiakií trpí také Duhringovou dermatitidou herpetiformis, chronickým onemocněním kůže doprovázeným tvorbou puchýřků.

Vyšetření přítomnosti protilátek proti tkáňové transglutamináze je vysoce specifický a citlivý marker celiakie. Dnes je doporučován jako první screeningový test při podezření na celiakii u dospělých osob. Klinicky významné je stanovení IgA protilátek. V případě selektivního deficitu IgA se doporučuje vyšetřit IgG protilátky. Zvýšené hladiny IgG protilátek proti t-TG může být nespecifické, a to u různých zánětlivých onemocnění střev.

Pokud je u pacientů s celiakií zjištěn vysoký výskyt IgA protilátek, doporučuje se stanovit také IgG protilátky proti tkáňové transglutamináze. Klinická diagnóza by neměla být stanovena jen na základě výsledku jednoho testu, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní údaje.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	ELISA
Jednotka:	Index pozitivity – IgG RU/ml - IgA
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	INDEX / IgG < 1,0: negativní ≥ 1,0: pozitivní RU/ml / IgA < 20 RU/ml negativní > 20 RU/ml pozitivní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	

5.5 Anti- ENA PoolPlus (IgG) ELISA

Protilátky proti extrahovatelným jaderným antigenům (ENA) odkrývají počínající nebo probíhající systémová onemocnění charakteru smíšené choroby pojiva např. Systémová sklerodermie (SSc), Systémový lupus erythematodes (SLE), Sjögrenův syndrom (SS), Sharpův syndrom (MCTD).

Protilátky proti U1-nRNP jsou charakteristické pro smíšené onemocnění pojiva MCTD (Sharpův syndrom). Titr protilátek koreluje s klinickou aktivitou onemocnění. Nachází se také u 30 % až 40 % pacientů se systémovým lupusem (SLE).

Protilátky proti Sm jsou vysoce specifické pro systémový lupus erythematodes a spolu s protilátkami proti dsDNA jsou typické pro toto onemocnění. Objevují se však pouze u 5 % až 30 % pacientů. Protilátky proti Sm se mohou vyskytovat také u revmatoidní artritidy.

Protilátky proti SS-A jsou asociovány s různými autoimunitními onemocněními, například u Sjögrenova syndromu je to až u 80 % pacientů. Skoro ve 100 % případů také u neonatálního lupus erythematodes. Na plod se přenáší placentou a způsobují zánětlivá onemocnění a riziko ohrožení plodu.

Protilátky proti SS-B nalézáme téměř výhradně u žen v případě Sjögrenova syndromu (kombinace SS-A a SS-B) a systémového lupus erythematodes.

Protilátky proti Scl -70 jsou vysoce specifické pro systémovou sklerodermii.

Protilátky proti Jo-1 se nachází při polymyositidě a jsou asociovány s intersticiální plicní fibrózou.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	ELISA
Jednotka:	RU/ml
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	< 20 RU/ml negativní ≥ 20 RU/ml pozitivní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	V případě pozitivních výsledků testu Anti-ENA PoolPlus ELISA doporučujeme diferenciaci protilátek testem Anti-ENA Profile ELISA (zkouška na protilátky proti nRNP/Sm, Sm, SS-A, SS-B, Scl-70 a Jo-1).

5.6 Stanovení Diaminooxidázy (DAO) ELISA

Diaminooxidáza (DAO) je tělu vlastní enzym, který metabolizuje histamin. Vyskytuje se téměř v celém těle, ale místem jejího působení je tenké střevo. Podílí se na rozkládání histaminu z potravy a ve tkáních. Díky tomu se hladina histaminu v těle drží v optimálním rozmezí. Enzymatická aktivita DAO určuje rychlost degradace histaminu. V případě nedostatku DAO nebo inhibice její činnosti nemůže být histamin dostatečně rychle degradován a dochází ke zvýšení hladiny histaminu v těle. To způsobuje různé zdravotní potíže, které označujeme jako histaminová intolerance (HIT). Vhodným ukazatelem pro stanovení diferenciální diagnózy intolerance histaminu a souvisejících příznaků je stanovení koncentrace DAO v séru.

Histaminová intolerance (HIT) je definována jako akutní nebo chronická reakce organismu na příjem histaminu nebo vyplavení histaminu uvnitř organismu, kterou nevyvolává imunitní systém. Jde o stav, kdy tělo nedovede odbourávat nadbytek histaminu. Projevy HIT přichází po konzumaci potravin bohatých na histamin nebo látek, které histamin v těle uvolňují, či kombinace těchto faktorů. Dostaví se gastrointestinální problémy, migréna, podrážděnost nosní sliznice a jiné příznaky, které jsou podobné alergické reakci.

Snížení DAO bývá často u pacientů s poškozením střevní sliznice při akutních i chronických zánětech střeva (Crohnova choroba), dále u nekompenzované celiakii či vleklých potravinových alergiích postihujících trávicí trakt.

Příznaky histaminové intolerance mohou být způsobené nízkou aktivitou DAO, která je závislá na dalších kofaktorech (vitamín C, vitamín B6, ionty mědi a ionty manganu). V případě nízkých koncentrací těchto kofaktorů, je nutné jejich hladiny doplnit.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum
Princip stanovení:	ELISA
Jednotka:	U/ml
Provádíme:	1x týdně
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 9 dní při teplotě 2-8°C a 4 dny při 18- 25°C
Referenční meze:	<3 U/ml vysoký výskyt HIT (histaminová intolerance) 3-10 U/ml pravděpodobná HIT >10 U/ml nízký výskyt HIT
Doba odezvy:	14 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	Aktivitu DAO ovlivňují některé léky, např. myorelaxancia, narkotika, analgetika, lokální anestetika, antihypotonika, antihypertenziva, antiarytmika, diuretika, léky ovlivňující střevní pohyblivost, antibiotika, mukolytika, broncholytika, cytostatika a antidepresiva.

6 Imunobloting

6.1 Protilátky proti nukleárním antigenům metodou imunoblot (ANA) (IgG)

Konfirmační test určený pro diagnostiku sporných, hraničních a nejasných výsledků ANA (ENA, dsDNA). Slouží k potvrzení přítomnosti autoprotilátek proti těmto antigenům: nRNP, Sm, SS-A, Ro-52, SS-B, Scl-70, PM-Scl, Jo-1, CENP B, PCNA, dsDNA, nukleosomy, histony, ribosomální P-protein, AMA-M2 a DFS70.

Protilátky proti jaderným antigenům (ANA) jsou orientované proti různým komponentům jaderných buněk. Tyto komponenty zahrnují nukleové kyseliny, proteiny jádra buňky a ribonukleoproteiny. Sérologická detekce protilátek proti nukleárním antigenům je důležitým a nenahraditelným prvkem diagnózy autoimunitních chorob, zvláště těch revmatických. Např.:

Systémový lupus erythematodes (SLE) je chronické zánětlivé autoimunitní onemocnění, které se objevuje ve fázích a postihuje převážně pojivové tkáně a různé orgánové systémy.
Sharpův syndrom (smíšené onemocnění pojivových tkání = MCTD) je multisymptomatické onemocnění s mnoha formami, které kombinuje příznaky revmatické artritidy (RA), SLE, systémové sklerózy (SSc) a polymyositidy. Zatím není jasné, jedná-li se o samostatné onemocnění.
Sjögrenův syndrom (SS) je chronické zánětlivé autoimunitní onemocnění exokrinních žláz, kdy hlavním klinickým znakem jsou suché oči a ústa, což je následkem destrukce slzných a slinných žláz.
Systémová skleróza (SSc) je autoimunitní onemocnění pojivových tkání, které postihuje kůži a vnitřní orgány a mezi časné příznaky patří zkrácení uzdičky jazyka a Raynaudův syndrom.
Myositida a idiopatické zánětlivé myopatie jsou systémová autoimunitní onemocnění provázená zánětem kostního svalstva, symetrickou a proximální akcentovanou bolestivostí a svalovou slabostí.
Revmatoidní artritida (RA) je nejčastější autoimunitní choroba a také nejčastější chronické zánětlivé onemocnění kloubů.
Primární biliární cholangitida (PBC) je chronická, nehnisavá destruktivní cholangitida s postupnou zánětlivou destrukcí malých žlučovodů a v posledním stádiu s cirhózou jater.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	imunoblot
Jednotka:	kvalitativní hodnocení s popisem intenzity jednotlivých antigenů
Provádíme:	dle potřeby
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	negativní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	

6.2 Protilátky proti borreliím metodou imunoblot (IgG, IgM)

Konfirmační test ke kvalitativnímu stanovení hladiny IgG / IgM protilátek proti antigenům borrelií na podporu diagnózy borreliózy.

Lymská borelióza je nakažlivé onemocnění způsobené bakterií Borrelia burgdorferi a na člověka je přenášené klíštetem. Je nejčastějším onemocněním přenášeným klíšťaty, které způsobují druhy B. burgdorferi sensu stricto, B. Afzelii, B. Garinii.

Sérologická diagnostika boreliózy se provádí ve dvou krocích. V prvním kroku se použije screeningový test např. ELISA s vysokou citlivostí a přijatelnou specificitou. Pozitivní a hraniční výsledky jsou potvrzeny ve druhém kroku pomocí specifického imunoblotu (IgG a IgM) na základě separovaných nebo purifikovaných antigenů.

Vyhodnocení reakcí pásků na imunoblotu může pomoci rozlišit mezi časnou a pozdní infekcí pomocí těchto antigenů:

VlsE Ba, VlsE Bb a VlsE Bg = vysoce purifikované rekombinantní antigeny VlsE z Borrelia afzelii (Ba), Borrelia burgdorferi sensu stricto (Bb) a Borrelia garinii (Bg).

Lipid Ba a Lipid Bb = lipidy z Borrelia afzelii (Ba) nebo Borrelia burgdorferi sensu stricto (Bb) extrahované z membránové frakce. Protilátky proti lipidům borélií se často objevují v pozdní fázi infekce.

P83 = purifikovaný rekombinantní protein p83 z Borrelia burgdorferi sensu stricto. Protilátky proti p83 se často vyskytují v pozdní fázi infekce.

p 41 a p39 = purifikovaný rekombinantní flagellin (p41) a BmpA (p39) z Borrelia afzelii.

OspC = vysoce specifická rekombinantní dimerní směs OspC advanced (p25) z Borrelia afzelii, Borrelia burgdorferi sensu stricto a Borrelia garinii.

p58, p21, p20, p19, p18 = rekombinantní vysoce specifické antigeny Borrelia burgdorferi sensu stricto purifikované afinitní chromatografií.

V rámci časné reakce se tvoří protilátky (především IgM) proti flagelinu p41, OspC a VlsE. Protilátky pozdní imunitní odpovědi (především IgG) jsou navíc namířeny například proti p83/100, p58, p39, p30 a p21.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	imunoblot
Jednotka:	kvalitativní hodnocení s popisem intenzity jednotlivých antigenů
Provádíme:	dle potřeby
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	negativní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	VlsE a OspC jsou považovány za nejcitlivější antigeny pro detekci IgG nebo IgM protilátek.

6.3 Protilátky proti chlamydiím metodou imunoblot (IgG, IgM)

Konfirmační test podporující diagnózu onemocnění způsobených chlamydiemi.

Chlamydia pneumoniae: jedná se o lidský patogen přenášený kapénkovou infekcí, který postihuje dýchací cesty. Způsobuje mírnější formy zápalu plic (atypickou pneumonii), bronchitidu a záněty horních cest dýchacích. Většina lidí se s touto bakterií během života setká opakovaně a infekce se léčí makrolidovými antibiotiky. Na blotu jej detekujeme na antigenech MOMP, OMP2, TARP, CPAF, YwbM.

Chlamydia trachomatis: způsobuje nejčastější bakteriální sexuálně přenosnou infekci po celém světě. Může postihnout močopohlavní trakt, přičemž infekce probíhá často bezpříznakově, ale bez léčby riskuje způsobení neplodnosti. Některé kmeny (sérotypy) navíc vyvolávají oční onemocnění trachom, které je v rozvojových zemích hlavní příčinou slepoty. Na blotu jej detekujeme na antigenech MOMP, OMP2, TARP, CPAF, HSP60.

Chlamydia psittaci: tento druh způsobuje onemocnění zvané psitakóza (nebo papouščí nemoc), které je primárně ptačí zoonózou. Člověk se nejčastěji nakazí vdechnutím prachu z peří nebo trusu infikovaných ptáků, zejména papoušků či holubů. U lidí se projevuje jako závažné horečnaté onemocnění s těžkým zápalem plic a může postihnout i další orgány. Na blotu jej detekujeme na antigenech MOMP, OMP2, TARP, CPAF.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	imunoblot
Jednotka:	kvalitativní hodnocení s popisem intenzity jednotlivých antigenů
Provádíme:	dle potřeby
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	negativní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	

6.4 Protilátky proti jaterním antigenům metodou imunoblot (AIH) (IgG)

Vyšetření umožňuje kvalitativní stanovení hladiny IgG protilátek proti 10 různým antigenům (AMA-M2, M2-3E, Sp100, PML, gp210, LKM-1, LC-1, SLA/LP, F-Aktin a Ro-52).pro podporu diagnózy primární biliární jaterní cirhózy, zvýšení transamináz z nejasných důvodů, podezření na autoimunitní hepatitidu a překryvné syndromy. Konkrétní autoprotilátky jsou spojeny s řadou různých chorob, např.:

Autoimunitní hepatitida (AIH) je autoimunitní onemocnění jater. Mezi příznaky patří nejprve únava, nevolnost, ztráta chuti k jídlu, horečka, bolesti kloubů, v pozdější fázi žloutenka. AIH často přechází v jaterní cirhózu, někdy se vyvine hepatocelulární karcinom. Medikamentózní léčba je úspěšná u 75-90 % pacientů, poslední terapeutickou možností je transplantace jater. I po ní může dojít k recidivě nemoci.
AIH lze rozdělit na dva podtypy: AIH 1 - spojení s autoprotilátkami ANA, ASMA a SLA/LP, AIH 2 – spojení s autoprotilátkami proti LKM-1, LC-1 a LKM 3.
Pro AIH1 jsou vysoce specifickým markerem také protilátky proti F-aktinu. V podstatě každý pozitivní nález je důkazem AIH (pokud jsou přítomny odpovídající klinické příznaky).
Při negativním výsledku protilátek a pokračujícím podezření na AIH lze provést detekci autoprotilátek proti neutrofilním granulocytům (pANCA) a asialoglykoproteinovým receptorům (ASGPR)

Primární biliární cholangitida (PBC), dříve primární biliární cirhóza, je charakterizována progresivní a nevratnou destrukcí epitelových buněk žlučových cest, která může vést k chronické cholestáze, cirhóze a nakonec k selhání jater. Mezi příznaky patří žloutenka, svědění, únava a bolesti břicha. Průběh onemocnění je variabilní, od asymptomatického a stabilního nebo pomalu progredujícího, až po symptomatický a rychle progredující. Onemocnění lze omezit medikamentózní léčbou. Pozitivita na mitochondriálně specifické protilátky (AMA) předchází propuknutí PBC o mnoho let. U PBC se vyskytují podtypy AMA anti-M2, anti-M4, anti-M8 a anti-M9. Diagnosticky nejvýznamnější je AMA-M2.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	imunoblot
Jednotka:	kvalitativní hodnocení s popisem intenzity jednotlivých antigenů
Provádíme:	dle potřeby
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	negativní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	

6.5 Protilátky proti myozitidě metodou imunoblot (IgG)

Vyšetření umožňuje kvalitativní stanovení hladiny IgG protilátek proti 11 různým antigenům: Mi-2β, Ku, PM-Scl100, PM-Scl75, Jo-1, SRP, PL-7, PL-12, EJ, OJ a Ro-52 za účelem potvrzení diagnózy dermatomyozitidy a polymyozitidy, idiopatické myozitidy, antisyntetázového syndromu a tzv. překryvného syndromu.

Myozitida je zánětlivé onemocnění, které může být dědičné nebo ho mohou vyvolat infekce, toxiny nebo poruchy imunitního systému. Myozitidy vyvolané autoimunitním onemocněním (idiopatické zánětlivé myopatie) jsou systémová autoimunitní onemocnění provázená zánětem příčně pruhované svaloviny, symetrickou bolestí převážně v proximálních částech končetin a svalovou slabostí.

Mi-2 β mají vysokou specificitu pro myozitidy, zejména pro dermatomyozitidu s hypertrofií nehtových lůžek.

Ku jsou spojeny s překryvným („overlap“) syndromem polymyozitidy s progresivní systémovou sklerózou.

PM-Scl100/PM-Scl75 jsou vázány s překryvným („overlap“) syndromem (jedná se o kombinaci symptomů polymyozitidy, dermatomyozitidy a progresivní systémové sklerózy).

Jo-1 bývají zjištěny u polymyozitidy, asociace se souběžně se vyskytujícími autoimunitními onemocněními.

SRP jsou přítomny u polymyozitidy a jsou markerem nekrotizující myopatie.

PL-7 se vyskytují u pacientů s myozitidou.

PL-12 bývají u pacientů s myozitidou.

EJ jsou diagnostickým markerem polymyozitidy.

OJ jsou asociovány s (poly)myozitidou, intersticiální plicní fibrózou a bývají při Raynaudově syndromu.

Ro-52 se vyskytují u pacientů s myozitidou, u některých revmatických a nerevmatických onemocněních a hrají patrně důležitou roli při neonatálním lupusu a vrozené srdeční vadě.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	imunoblot
Jednotka:	kvalitativní hodnocení s popisem intenzity jednotlivých antigenů
Provádíme:	dle potřeby
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	negativní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	

6.6 Protilátky proti Bordetella pertussis metodou imunoblot (IgA, IgG)

Vyšetření umožňuje kvalitativní stanovení protilátek ve třídě IgG a IgA proti různým antigenům Bordetella pertussis, FHA, PT a ACT.

Do rodu Bordetella (B.) patří čtyři známé druhy: B. Pertussis, B. parapertussis, B. bronchiseptica a B. Avium. Jsou to vysoce nakažlivé bakterie, rozšířené po celém světě, které se přenášejí kapénkovou infekcí z člověka na člověka.

Bordetella pertussis, původce černého kašle, překonává lokální imunitní obranný mechanizmus horního respiračního traktu člověka a může spustit onemocnění u zcela zdravých lidí. Bakterie se váží prostřednictvím různých adhezinů na buňky řasnatého epitelu bez toho, aby epitel či krevní řečiště zasáhly. Mimo kapsle, která chrání patogen před inaktivací komplementem, existují funkčně dvě skupiny faktorů virulence: adheziny a toxiny. Dva nejdůležitější faktory adherence jsou filamentový hemaglutinin (FHA) a pertusový toxin (PT).
Bordetella parapertussis, která způsobuje syndrom černého kašle, pertusový toxin netvoří. Na vnější membráně jsou obě bakterie vybaveny membránovým toxinem pertaktinem a BrkA (Bordetella resistance to killing), které hrají roli při uchycení se na hostitelskou buňku.

FHA – antigen vláknitý hemaglutinin je protein buněčného povrchu bakterie Bordetella pertussis, který funguje pro tento mikroorganismus jako adhezin. Je součástí mnoha nových acelulárních vakcín proti pertussi. Je specifický pro infekce Bordetella. Protilátky jsou detekovatelné jak po infekci, tak po vakcinaci.

PT – pertusní toxin, faktor virulence vylučovaný bakterií Bordetella pertussis. Je specifický pro infekci B.pertussis a slouží k vyloučení infekce B.parapertussis. Protilátky jsou detekovatelné jak po infekci, tak po vakcinaci (PT je obsažena v mnoha vakcínách).

ACT – adenylát cykláza toxin bakterie Bordetella pertussis. Specifický pro infekce Bordetella.V současnosti není součástí vakcín. Detekovatelné protilátky mohou být známkou přirozeně získané imunity.

Odběrová souprava:	odběrová zkumavka srážlivá krev (sérum)
Požadovaný materiál:	sérum, popřípadě plazma (EDTA, heparin, citrát)
Princip stanovení:	imunoblot
Jednotka:	kvalitativní hodnocení s popisem intenzity jednotlivých antigenů
Provádíme:	dle potřeby
Příprava před odběrem:	nevyžaduje speciální přípravu před odběrem
Transport:	15 – 25 °C
Stabilita analytu:	separované sérum je stabilní 14 dní při teplotě 2 až 8°C
Referenční meze:	negativní
Doba odezvy:	10 dnů
Odbornost:	813
Poznámka:	

7 Zdroje

Jako zdroje sloužily příbalové letáky k reagenciím a informace od firem na jejich webových stránkách.