



# **Stanovení avidity IgG protilátek v diagnostice klíšťové encefalitidy**

**Hana Zelená**

**Jiří Januška**

**Jan Raszka**

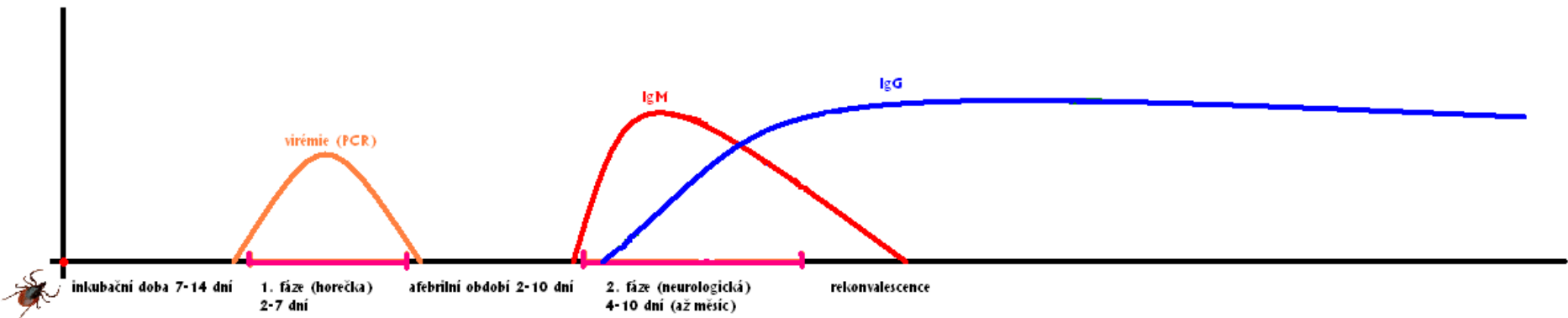
Virologické oddělení, NRL ČR pro arboviry

Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

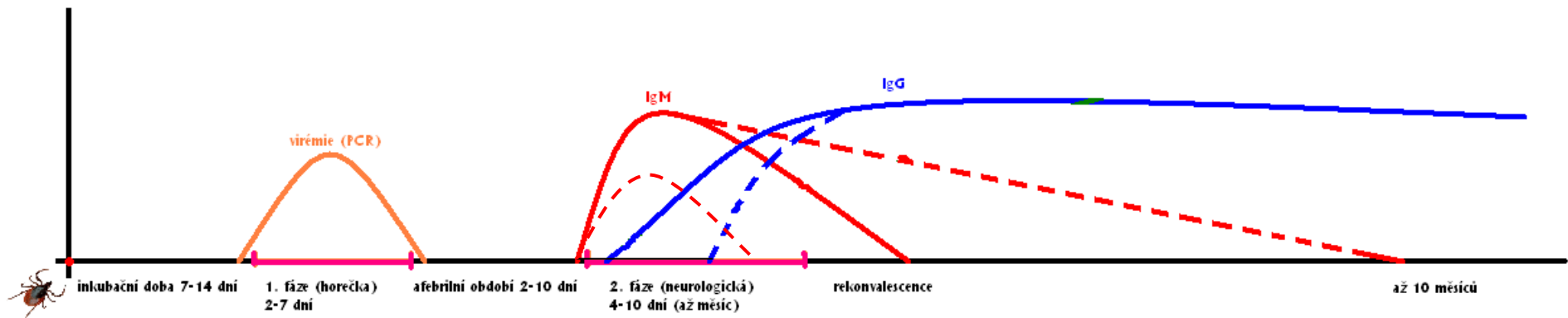
# Diagnostika klíšťové encefalitidy

- 1. fáze (febrilie): přímý průkaz
  - PCR
  - izolace viru z krve
- 2. fáze (neurologická): nepřímý průkaz
  - IgM, IgG ELISA, IF
  - KFR
  - VNT

# Dynamika diagnostických markerů u klíšťové encefalitidy



# Dynamika diagnostických markerů u klíšťové encefalitidy



# Avidita IgG protilátek

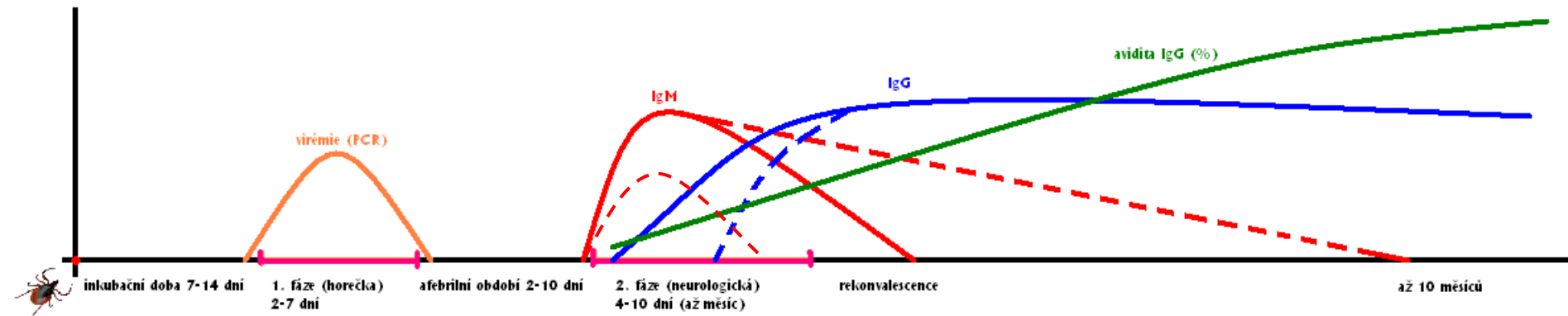
- Vyjadřuje sílu interakce mezi protilátkami a antigeny, narůstá s jejich afinitou a s počtem současně se uplatňujících vazebných míst.
- Avidita vypovídá o vyzrálosti protilátek. Při primární infekci se tvoří nejprve protilátky s nízkou aviditou, která se s časem postupně zvyšuje.
- Při sekundární infekci nebo reaktivaci nebo při infekci po očkování produkují paměťové B-buňky ihned IgG protilátky s vysokou aviditou.

Nízká avidita protilátek je rovněž u imunosupresí.

# Využití stanovení avidity IgG

- rubeola
- CMV
- VZV
- toxoplazmóza
- EBV-VCA
- HIV
- virové hepatitidy
- WNV

# Dynamika diagnostických markerů u klíšťové encefalitidy



# Princip stanovení avidity IgG

- Narušení pevnosti vazby mezi antigenem a protilátkou denaturačním činidlem (urea).
- Protilátky s nízkou aviditou jsou z vazby na antigen uvolněny a odmyty.
- Protilátky s vysokou aviditou odolávají působení urey, z vazby se neuvolní.



# Metodika stanovení avidity IgG anti-TBEV

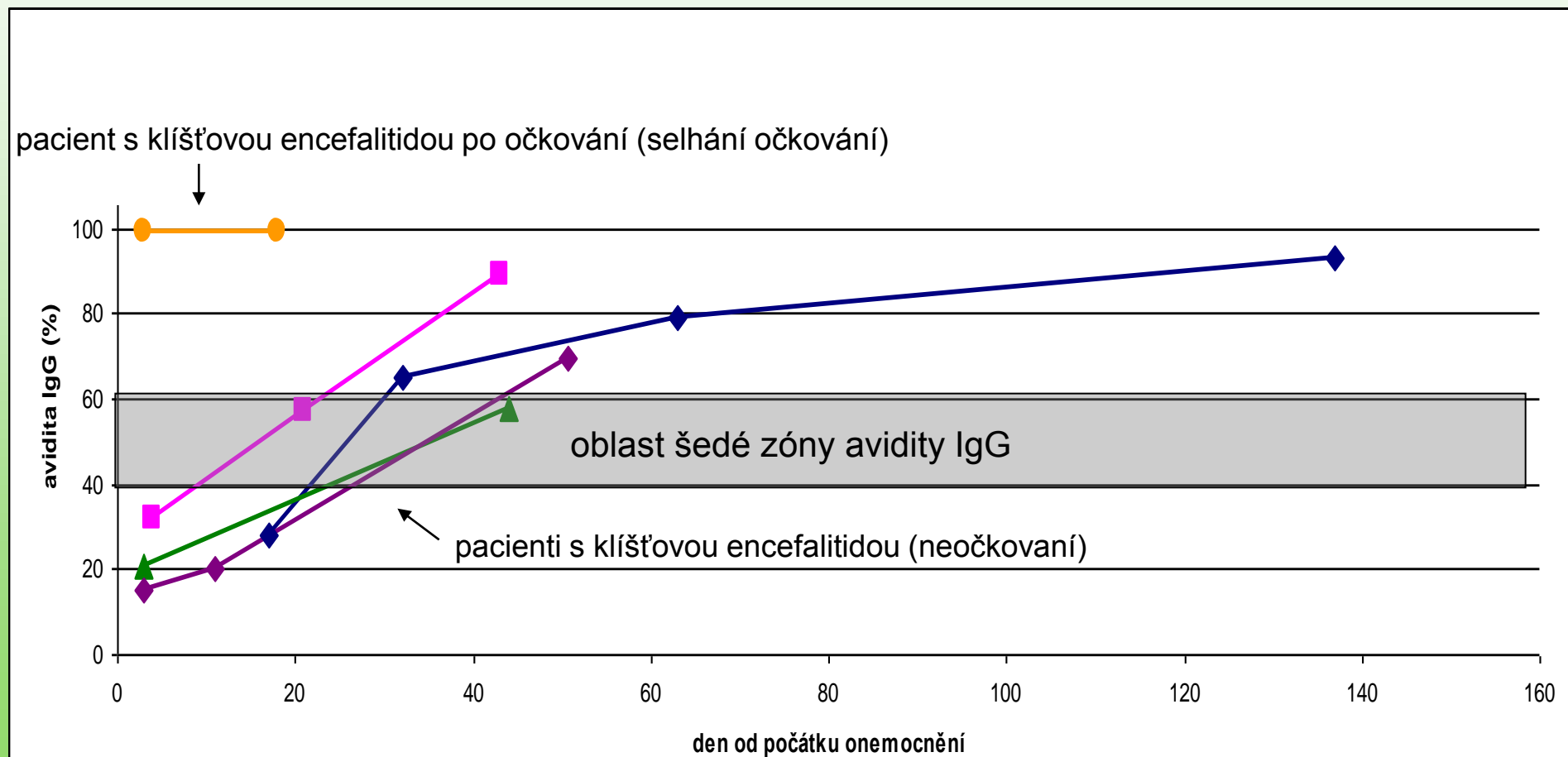
- Souprava pro stanovení IgG anti-TBEV metodou nepřímé ELISA.
- Séra pacientů se testují paralelně ve 2 jamkách soupravy.
- Po 1. inkubaci a navázání protilátek ze vzorku na antigen se na 1 jamku nechá působit 5 minut urea (8mol/l), 2. jamka je prázdná.
- Na konci testu porovnáváme absorbanci jamky opracované s ureou proti jamce bez urey.

# Hodnocení avidity IgG

- Avidita = podíl O.D. jamky s ureou / O.D. jamky bez urey, v %

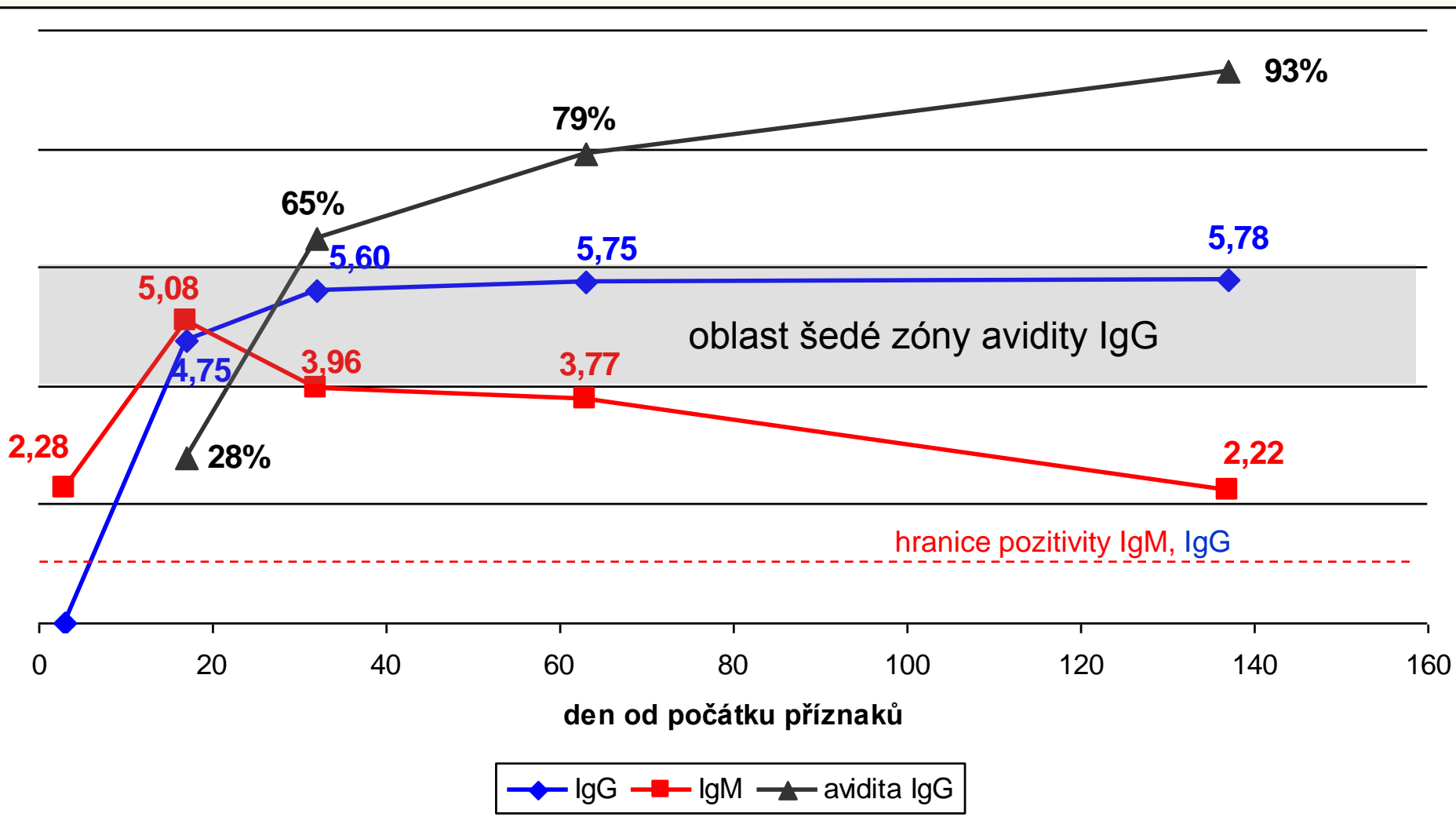
| Avidita | Hodnocení      | Interpretace  |
|---------|----------------|---|
| <40%    | nízká avidita  | čerstvá infekce (< 3 týdny)                         |
| 40-60%  | „šedá zóna“    |   |
| >60%    | vysoká avidita | starší infekce nebo infekce po očkování (> 6 týdnů) |

# Vývoj avidity IgG v čase (pacienti)



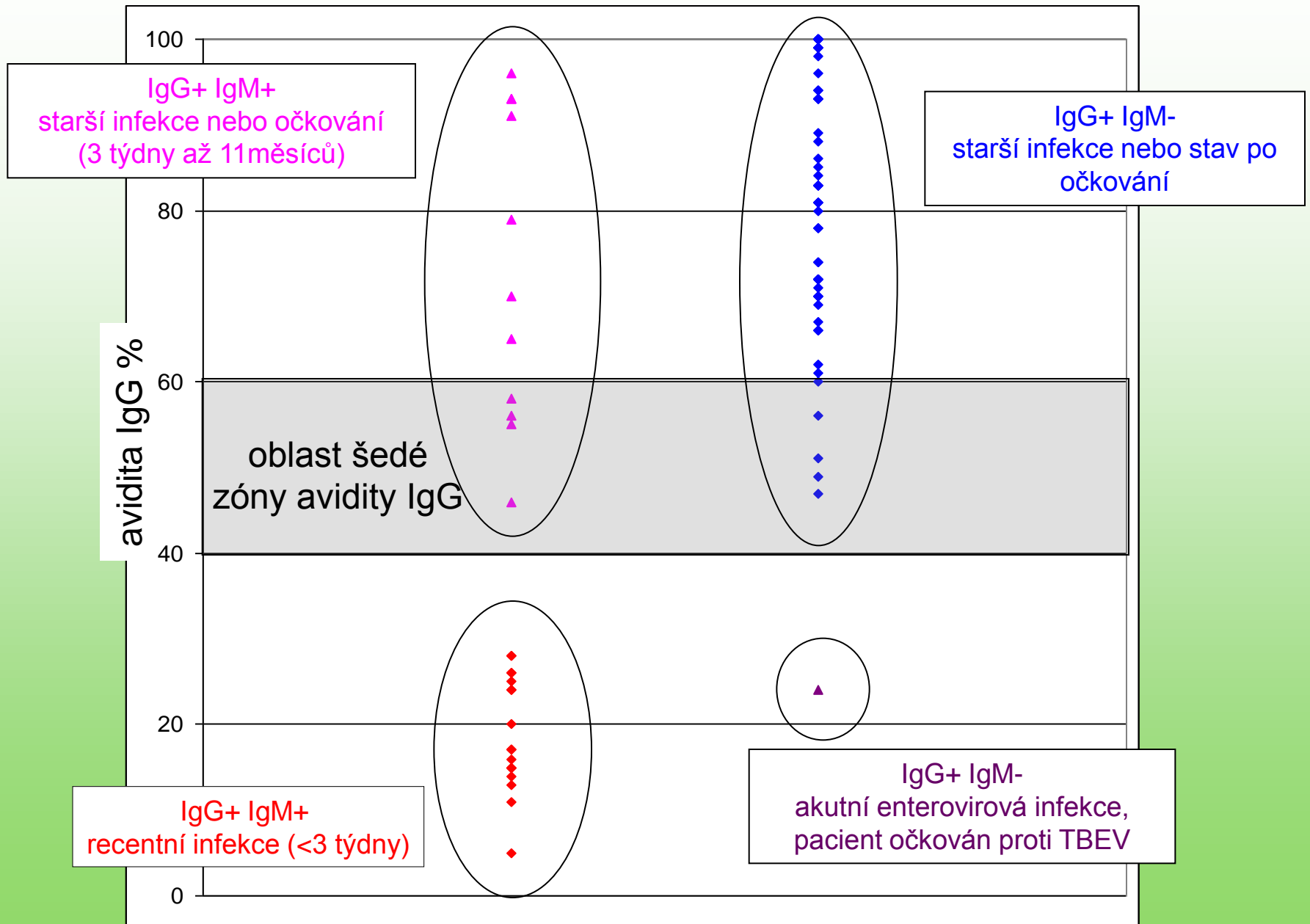
# Dynamika tvorby protilátek a-TBEV

(pacient s atypickým průběhem klíšťové encefalitidy)



# a-TBEV pozitivní vzorky vyšetřené od dubna do září 2010

29 vzorků IgG+ IgM+    59 vzorků IgG+ IgM-



# Úskalí v sérologické diagnostice TBEV – význam testování avidity

- infekce u očkovaných
  - min. 4-násobný vzestup ve VNT a KFR – vždy vyšetření párových sér
  - IgM pozitivní nebo negativní
  - vysoká avidita IgG
- dlouhodobé přetrvávání IgM po primární nákaze (až 1 rok)
  - pozitivní IgG i IgM
  - vysoká avidita IgG
- atypický nebo subklinický průběh akutní nákazy
  - pozitivní IgM i IgG
  - nízká avidita IgG
- rychlé vymizení IgM při primární nákaze
  - IgM negativní, IgG pozitivní
  - nízká avidita IgG

# Závěr a zhodnocení

- Stanovení avidity protilátek IgG je vhodným doplněním a upřesněním sérologické diagnostiky klíšťové encefalitidy.
- Umožňuje přesnější stanovení čerstvé nákazy, velký význam zejména u:
  - atypického průběhu nákazy
  - atypické protilátkové odpovědi
  - onemocnění u očkovaných
- Interpretace výsledku doplněného o aviditu IgG má jednoznačně vyšší validitu.