# SEROLOGICKÁ VYŠETŘENÍ A INTERPRETACE SEROLOGICKÝCH NÁLEZŮ

**prof. MUDr. Miroslav Votava, CSc.**
Mikrobiologický ústav LF MU a FN u sv. Anny v Brně

**Serologickým vyšetřením lze prokázat jak mikrobiální antigeny, tak protilátky proti nim. Zatímco pozitivní průkaz mikrobiálních antigenů svědčí pro přítomnost mikroba v organizmu, průkaz protilátek dokazuje jeho případnou přítomnost jen nepřímo a jejich nález se mnohdy interpretuje chybně. Existují totiž dva důvody pro průkaz přítomnosti protilátek: první je skutečně potřeba vědět, jestli vyšetřovaná osoba má protilátky proti příslušnému agens – zde je interpretace výsledku snadná. V druhém případě se za otázkou, má-li pacient protilátky či nikoli, skrývá zcela odlišný dotaz: totiž zda pacient právě prodělává infekci způsobenou příslušným agens. Protože serologické výsledky se nerovnají lékařské diagnóze, jejich správná interpretace je obtížná, ne-li nemožná. Pro diagnostické účely musíme obvykle vyšetřit dva vzorky séra a prokázat signifikantní změny titru protilátek. Uvedeny jsou příklady, kdy je výjimečně možné diagnostikovat infekci ze serologického výsledku jediného vzorku. Obecně se při interpretaci musí brát v úvahu: 1. druh infekčního agens, 2. patogeneze infekce, 3. individuální reaktivita a věk nemocného, 4. časové údaje o trvání choroby a 5. technické záležitosti, jako je typ serologické reakce a typ použitého antigenu. Ošetřující lékař by měl být informován o možnostech serologických postupů a laboratorní pracovník zase o příslušné chorobě a o konkrétním nemocném.**
**Klíčová slova: serologie, průkaz antigenů, průkaz protilátek, titr protilátek, interpretace výsledků.**

**SEROLOGIC EXAMINATIONS AND INTERPRETATION OF SEROLOGIC FINDINGS**
**By means of the serologic examination we can detect both the microbial antigens and antibodies against them. While the positive finding of microbial antigens points to the presence of a microorganism in the body, the finding of antibodies provides only circumstantial evidence for the possible presence of the microbe and such result is often interpreted incorrectly. Essentially, there are two reasons for the serologic examination. The first one is simply the necessity to know if the person examined has antibodies against the agent in question. Here the interpretation of the result is easy. In the second case, the question hidden behind the inquiry if the patient has antibodies or not, is entirely different: namely, if the patient is experiencing the infection caused by the agent in question. Since the serologic results do not equate with medical diagnosis, their correct interpretation is difficult, if not impossible. For the diagnostic purposes we must usually examine two specimens of the serum and demonstrate significant changes in the titre of antibodies. Examples are given when it is exceptionally possible to diagnose an infection from the serologic result of the single specimen. Generally, the interpretation must take into account: 1. the kind of the infectious agent, 2. the pathogenesis of infection, 3. the individual reactivity and the age of the patient, 4. the information about the duration of the illness, and 5. technical data as the type of serologic reaction and the antigen used. The attending physician should have adequate knowledge of serologic methods and the laboratory worker should be informed about the disease and about the individual patient in question.**
**Key words: serology, antigen detection, antibody detection, antibody titre, interpretation of results.**

## Úvod

Termínem ***serologické vyšetření*** se často mylně rozumí pouze vyšetření séra na protilátky. Serologické vyšetření se však nenazývá serologické proto, že se na ně zasílá sérum pacienta, ale proto, že je založeno na serologické reakci. ***Serologická reakce*** je reakce mezi antigenem a protilátkou probíhající in vitro. Z toho plyne, že serologicky lze vyšetřit nejen krev či sérum, ale i další tekutiny, a že kromě protilátek lze ve vyšetřovaném vzorku prokazovat i druhou složku serologických reakcí, totiž antigen (16).

## Průkaz mikrobiálních antigenů a jeho interpretace

Průkaz specifických mikrobiálních antigenů patří spolu s mikroskopií, kultivací a s průkazem dalších mikrobiálních složek, zejména specifických sekvencí mikrobiálních nukleových kyselin, kupř. pomocí tzv. polymerázové řetězové reakce (PCR), k metodám ***přímého průkazu infekčního agens***.

Průkaz mikrobiálních antigenů se využívá nejčastěji v laboratorní diagnostice virové hepatitidy B, kdy jako tzv. markery virové hepatitidy B slouží virové antigeny HBsAg a HBeAg v krevním séru. Mikrobiální antigeny lze však serologickými reakcemi dokazovat i v jiných tělesných tekutinách, ba dokonce i ve stolici. Příkladem je průkaz antigenů *Streptococcus pyogenes* ve výtěrech z krku při zánětu mandlí, antigenů *Legionella pneumophila* serotyp 1 v moči, antigenů chlamydií ve vzorcích z urogenitálního traktu, antigenů celé řady původců hnisavých meningitid v likvoru nebo průkaz antigenů rotavirů a adenovirů nebo toxinu *Clostridium difficile* během průjmu ve stolici, případně průkaz antigenů *Helicobacter pylori* ve stolici.

Obrovskou výhodou průkazu mikrobiálních antigenů ve vzorcích odebraných od pacienta je jeho rychlost. Výsledek – na rozdíl od klasické kultivace – bývá k dispozici někdy i během několika minut. Průkaz mikrobiálních antigenů se proto řadí mezi tzv. rychlé neboli rapidní mikrobiologické postupy (mezi ně patří ještě mikroskopie a molekulárně biologické postupy jako zmíněná PCR).

Další výhodou průkazu antigenů je snadná interpretace pozitivního výsledku: přítomnost antigenů jednoznačně svědčí o tom, že se příslušný mikrob v odebraném materiálu

**prof. MUDr. Miroslav Votava, CSc.**
Mikrobiologický ústav LF MU a FN u sv. Anny v Brně, Pekařská 53, 656 91 Brno
e-mail: mvotava@med.muni.cz

nachází, ať živý, či rozpadlý, a tudíž s vysokou pravděpodobností odpovídá za příznaky, kvůli nimž nemocného vyšetřujeme (16).

Nevýhodou průkazu antigenů je, že se tento postup dá použít zatím jen u omezeného počtu infekcí, jeho citlivost není vždy dostatečně vysoká (zejména u průkazu beta-hemolytických streptokoků v krku) a příslušná reagens nepatří mezi nejlevnější.

## Důkaz protilátek – jeho indikace

Ve většině serologických reakcí pomocí známého antigenu dokazujeme přítomnost, případně množství protilátek. Důkaz protilátek je prakticky jediný postup při tzv. ***nepřímém průkazu infekčního agens***, kdy místo mikroba (původce infekce) prokazujeme stopy, které tento původce v organizmu zanechal, totiž právě protilátky. Kromě protilátek existuje ještě jeden typ stop, které může infekční agens v těle zanechat, a to je pozdní přecitlivělost vůči antigenům příslušného původce. Praktický význam to má vlastně jen u tuberkulózy v případě tzv. tuberkulinových testů.

Vyšetření na důkaz protilátek (ať ve smyslu průkazu jejich přítomnosti nebo stanovení jejich množství) patří mezi jedno z nejčastěji indikovaných laboratorních vyšetření. Vždyť se ordinuje tak snadno: „Sestro, pošleme krev na borreliózu, mononukleózu, toxoplazmózu, EB-viry a pro jistotu ještě na chřipku...“ Omlouvám se za tuto kombinaci diagnóz a nepřesných názvů (EB-virus je jen jeden), vím, že prakticky nepřipadá v úvahu, ale to spojení slov „poslat krev na to či ono, krev na tu či onu nemoc“ je při ordinacích serologických vyšetření typické.

Za požadavkem „Krev na to či ono“ se v praxi většinou neskrývá dotaz, zda pacient má či nemá protilátky proti mikrobu X, ale ***jestli trpí nemocí mikrobem X vyvolanou***. Tento dotaz je ze strany klinika zcela legitimní, bohužel serolog ho ke spokojenosti klinika zodpovědět nejen neumí, ale vlastně ani nemůže. Na požadavek „Krev na chřipku“ nemůže vydat výsledek „Chřipka pozitivní“ či „Chřipka negativní“, smí pouze odpovědět, jaký zjistil titr protilátek proti jednotlivým antigenům viru chřipky A nebo B. Srdce mu přitom drásá vědomí, že klinik bude jeho nález interpretovat nejspíš chybně – o pozitivním nálezu protilátek si bude myslit, že potvrzuje právě probíhající infekci, a o negativním, že ji vylučuje.

Avšak i v případě, že je požadavek na serologické vyšetření formulován korektněji, tedy ne „Krev na nemoc X“, ale třeba „Krev na protilátky proti agens X“, zase je to v běžné praxi spíše dotaz na přítomnost dotyčné nemoci. Přesto si nejdříve probereme situace, kdy skutečně jde jen o zjištění přítomnosti protilátek.

## Důkaz protilátek – zjištění stavu imunity

Typickým příkladem je vyšetření těhotné bezprostředně po jejím kontaktu se zarděnkami. Nalezneme-li u ní protilátky proti viru rubeoly v dostatečném množství, je tato žena imunní a o osud plodu se nemusíme obávat (12). Analogický význam má nález tzv. anamnestických, a tudíž ochranných titrů při screeningu těhotných na toxoplasmózu. Podobně se ptají epidemiologové, když zpracovávají přehledy promořenosti populace různými agens nebo když zjišťují výsledky očkování. Dále sem patří stanovení množství protilátek proti některým mikrobiálním antigenům v rámci základního imunologického screeningu. Částečně sem patří i vyšetření dárců krve, příp. vyšetření dárce a příjemce štěpu před transplantací.

Ve většině uvedených případů stačí vyšetřit jediný vzorek séra a z nálezu přítomnosti či nepřítomnosti protilátek, resp. jejich množství můžeme učinit závěr o stavu imunity vyšetřovaného jedince.

## Důkaz protilátek – diagnóza právě probíhající infekce

Daleko častěji tedy jde o situaci, kdy za požadavkem na serologické vyšetření vyjádřeným formulací „Krev na protilátky proti agens X“ stojí dotaz zcela jiný, a to „Prodělává právě můj pacient infekci vyvolanou agens X?“

Jak již bylo řečeno, na tuto otázku serolog odpovědět nemůže. Nález protilátek bude vždy pouze ***nepřímým důkazem infekce***. Nález protilátek říká jen to, že se vyšetřený jedinec někdy v životě s příslušným agens (přesněji s antigeny pro ono agens typickými) setkal. Z nálezu protilátek nelze jen tak jednoduše vyvozovat, že pacient zrovna prodělává určitou infekci, případně že ji právě prodělal. Sám o sobě ***nález protilátek k diagnóze*** právě probíhajícího mikrobiálního onemocnění ***většinou nestačí*** (11). Ani stanovení množství čili titru protilátek k tomu obvykle nestačí. Tzv. pozitivní titr protilátek je totiž záležitost statistická a v individuálním případě z něj nelze mechanicky vycházet. ***K diagnóze*** právě probíhající infekce ***je třeba dokázat, že*** v kritickém období ***došlo k signifikantním změnám titru.*** K tomu je samozřejmě nutno vyšetřit alespoň dva vzorky séra a sledovat pohyb neboli dynamiku titru. Jako všechna pravidla ale i toto má řadu výjimek, a proto si nejprve probereme možnosti stanovení diagnózy na základě nálezu protilátek v jediném vzorku krve.

## Serologický průkaz infekce z jediného vzorku

Učinit diagnózu infekce na základě vyšetření jediného vzorku séra je možno např. u některých ***chronických infekcí,*** při nichž etiologické agens přetrvává v organizmu prakticky po celý život. Typickými příklady jsou syfilis nebo infekce virem HIV. Zde má průkaz protilátek v jediném vzorku mimořádný význam a pokud bude předepsaným postupem potvrzen čili konfirmován, stane se základním nálezem, o nějž se bude opírat diagnóza infekce (4).

U běžných ***akutně probíhajících nákaz*** má důležitý diagnostický význam vyšetření jediného vzorku séra Paulovou-Bunnellovou reakcí (PBR) při podezření na infekční mononukleózu. Jako PBR nyní označujeme jakoukoli modifikaci serologické reakce k průkazu tzv. ***heterofilních protilátek*** u EB-virové ***infekční mononukleózy***. Klasická PBR spočívala v průkazu protilátek shlukujících beraní krvinky, kdy specifitu jejího výsledku bylo třeba kontrolovat vysycovacími testy. Novější modifikace reakce na průkaz heterofilních protilátek, jako jsou orientační ***IM-test*** nebo ***OCH-test*** zvaný též ***test Ericsonův***, vysycování nevyžadují (14). U dospívající mládeže, kde je infekční mononukleóza nejčastější, je PBR vysoce specifická i citlivá. Často nás však zklame u malých dětí (18), kde je místo ní diagnosticky cennější prokazovat protilátky proti rozličným antigenům EB-viru. Průkaz specifických protilátek proti EB-viru je ale mnohem nákladnější, proto je u starších dětí výhodnější vyšetření zahájit požadavkem na PBR. Protože heterofilní protilátky se většinou asi po měsíci trvání choroby vytrácejí, má pozitivita PBR obrovský diagnostický význam. V případě hraničních nízkých titrů je vhodné konzultovat svoji spádovou serologickou laboratoř. Je chybou z negativity PBR usuzovat, že vyšetřovaná mononukleóza je cytomegalovirového původu.

Zvýšit výpovědní schopnost výsledku serologického vyšetření jediného vzorku séra pomáhá průkaz protilátek v jednotlivých třídách imunoglobulinů a průkaz avidity protilátek.

***Průkaz protilátek v jednotlivých třídách imunoglobulinů.*** Na začátku imunitní reakce se vytvářejí ***protilátky třídy IgM***, které jsou rychle vystřídány protilátkami třídy IgG. Protože asi během měsíce od začátku onemocnění protilátky IgM vymizí, svědčí jejich nález spíše pro čerstvou než dříve prodělanou infekci. Tyto protilátky se prokazují pomocí reakcí se značenými složkami, jako jsou např. nepřímá imunofluorescence a reakce imunoenzymatické (ELISA a Western blot).

Bohužel, pokud jde o diagnózu čerstvé infekce, v mnoha případech není průkaz IgM-

-protilátek dostatečně spolehlivý (1). Na jedné straně jsou časté falešně negativní výsledky způsobené slabou tvorbou, resp. pozdním nástupem IgM nebo nízkou citlivostí použité soupravy. Kupříkladu protilátky IgM proti viru chřipky A a proti RS-viru nelze očekávat před 6.–8. dnem onemocnění (7).

Naopak při jistém uspořádání reakce ELISA se často setkáváme s falešnými nespecificky pozitivními nálezy IgM-protilátek. Jindy zase hladina těchto protilátek přetrvává tak dlouho, že je zachytíme při serologickém vyšetřování další infekce – u chřipky a RS-virózy se protilátky IgM daly běžně nalézt až tři měsíce po infekci (7). Stává se též, že latentní infekce dřímající v organizmu se může další nákazou aktivovat a podnítit tak imunitní systém znovu k produkci IgM-protilátek; jejich nález nás pak může zmýlit.

Z uvedených důvodů se u některých infekcí osvědčil průkaz protilátek třídy IgA a IgE. Dynamika jejich tvorby je obdobná jako u protilátek IgM a jejich nález tedy může svědčit pro nepříliš dávnou infekci příslušným agens. Diagnostické využití detekce IgA-protilátek bylo popsáno u mnoha infekcí, jednak virových, jednak těch, kde se agens množí na sliznicích, jako jsou kupř. infekce helikobakterové či chlamydiové, a u toxoplazmózy, kde se osvědčil i průkaz protilátek IgE. Sami jsme popsali dobré zkušenosti s detekcí protilátek IgA a IgE při diagnostice EB-virových infekcí u malých dětí (17).

***Průkaz avidity protilátek***. V prvních týdnech imunitní reakce není vazba mezi protilátkami IgG a antigenem dostatečně pevná. Říkáme, že ***časné IgG-protilátky jsou málo avidní***. Nález protilátek o nízké aviditě tedy může svědčit pro čerstvou infekci. Diagnosticky spolehlivější je ale nález protilátek o vysoké aviditě, který dokládá, že k infekci došlo již před delší dobou. K průkazu avidity se používá imunofluorescence nebo ELISA. Srovnává se množství protilátek v neovlivněném vzorku s množstvím protilátek, které zůstaly navázány na antigen i po působení chemikálie, jež měla za úkol málo pevnou vazbu antigenu s protilátkou rozrušit. Metoda se již rutinně používá např. v diagnostice toxoplasmózy (9), toxokarózy (8) nebo zarděnek (12). Sami s ní máme zkušenosti u EB-virózy (17), syfilidy (19) a borreliózy.

V ostatních případech akutních nákaz může serologické vyšetření jediného vzorku pomoci např. u tularémie, i když se tu leckdy protilátky objevují až ve druhém až třetím týdnu příznaků. Břišní tyf, skvrnivka nebo brucelóza se u nás nyní nevyskytují. Ve většině dalších případů je interpretace serologického nálezu z jediného vzorku séra obtížná a k serologické diagnóze infekce je nutno vyšetřovat pacienta opakovaně a sledovat dynamiku titru protilátek.

## Sledování dynamiky titru

Bez sledování dynamiky titru se neobejdeme zejména u běžných, často se vyskytující nákaz, kdy značná část populace má protilátky po infekci prodělané třeba již před několika lety. Zejména v klasické virologické serologii se vžilo vyšetřování dvojice sér: tzv. ***akutní vzorek*** laboratoř vyšetří, až obdrží ***vzorek rekonvalescentní***, paralelně s ním.

Optimální délka intervalu mezi oběma odběry se liší případ od případu. U akutních infekcí (chřipka, infekční mononukleóza) stačí někdy pouhý týden. U chroničtěji probíhajících nákaz, typicky u lymeské borreliózy, by interval mezi odběry měl činit 4–6 neděl (1). Často tu jde o průkaz tzv. serokonverze a protože paralelní testování obou vzorků u této choroby není zvykem, případné rozdíly ve výši titrů je třeba hodnotit velmi přísně. Lepší je raději sledovat dynamiku titru ve více vzorcích, což ovšem vyšetřování prodraží.

Požadavek na průkaz čtyřnásobného rozdílu titrů se týká klasických reakcí, zvláště reakce komplementfixační (KFR). Naopak stanovení ASLO je ve většině laboratoří velmi přesné a změna hladiny o pouhých 25 % i v nesouběžně vyšetřených vzorcích může být signifikantní. U reakcí typu ELISA musíme být opatrní, srovnávání kvantitativních nálezů z některých laboratoří bývá velice ošidné. Některé serologické laboratoře si to uvědomují a vydávají jen nálezy kvalitativní nebo semikvantitativní (tj. výsledek negativní, slabě pozitivní, pozitivní), jiné laboratoře podléhají nátlaku kliniků a vydávají výsledky ve tvaru číselném. Zde jsou kromě mezinárodních jednotek přijatelné tzv. indexy pozitivity, vyjadřující poměr mezi hodnotou absorbance vyšetřovaného séra a průměrnou hodnotou hraničního séra kontrolního. Srovnávání pouhé absorbance sér nemusí být vždy správné.

Rozšíření tohoto postupu, totiž souběžného vyšetřování akutního a rekonvalescentního vzorku do ostatních oblastí serologie brání jednak malá aktuálnost takovýchto nálezů pro ošetřujícího lékaře, jednak problémy organizační a skladovací.

## Interpretace nálezu protilátek

Jediným způsobem jak získat spolehlivou serologickou diagnózu infekce je ***vyšetřit dva vzorky*** séra odebrané ve vhodném časovém odstupu a porovnat výši titru protilátek. Za důkaz právě proběhlé infekce se považuje ***signifikantní, tj. nejméně čtyřnásobný rozdíl mezi titry*** (většinou ve smyslu zvýšení), příp. ***serokonverze***, tj. negativní nález ve vzorku prvním a průkazný nález protilátek ve vzorku druhém.

Poněvadž ale výsledek vyšetření dvou vzorků séra bývá pro ošetřujícího lékaře málo aktuální a diagnózu mu pomůže stanovit až retrospektivně, snažíme se interpretovat serologický nález získaný vyšetřením jediného vzorku séra. Obecně tu platí, že ***interpretace serologického nálezu z jediného vzorku séra je nesnadná až nemožná***. Pokud se o to přece jen pokusíme, musíme brát v úvahu celou řadu faktorů. Patří mezi ně: 1. druh infekčního agens, 2. patogeneze infekce, 3. individuální reaktivita nemocného, 4. časové údaje a konečně 5. technické laboratorní záležitosti. Ve všech případech ale znalost těchto faktorů jen ovlivňuje pravděpodobnost, s jakou výsledek serologického vyšetření přispívá ke stanovení diagnózy infekce.

1. ***Druh infekčního agens*** by měl hrát rozhodující roli v našich úvahách nad významem serologického výsledku. Víme, že např. u chřipky nebo adenoviróz prokážeme protilátky velmi záhy po začátku infekce, již koncem prvního týdne příznaků, u toxoplazmózy později, u infekce HIV poměrně pozdě, až za několik týdnů, u hepatitidy se protilátky anti-HBs objeví až po vymizení HBsAg z krve, tedy obvykle do půl roku. U chřipky a mnoha dalších respiračních viróz je tak časný nález protilátek vzhledem ke krátké inkubační době těchto nákaz vlastně nečekaný. Vysvětlení spočívá v tom, že většinou vyšetřujeme jedince, kteří se s těmito viry v životě již setkali. U těchto osob probíhá sekundární, příp. další imunitní reakce, které jsou kratší než reakce primární. U malého dítěte prodělávajícího chřipku poprvé v životě si musíme na protilátky asi 14 dnů počkat.
2. ***Patogeneze infekce.*** U generalizovaných infekcí, kde imunitní systém bývá antigeny etiologického agens dostatečně zaplaven, bývají titry protilátek dostatečně vysoké. Naproti tomu u infekcí omezených na sliznice, jako je např. většina infekcí vyvolaných respiračními viry jinými než virus chřipky, je protilátková odezva obvykle chabá. U infekcí systémových pak záleží na konkrétním postiženém orgánu: při toxoplazmové krční lymfadenitidě mohou být titry protilátek vysoké, při oční formě toxoplazmózy bývají nízké (11).
3. ***Individuální reaktivita nemocného*** představuje v našich úvahách velkou neznámou. Někdy pomohou výsledky předchozích vyšetření, pokud se držíme stále jedné a téže laboratoře a pokud ta nemění dodavatele svých antigenů

a diagnostických souprav. Obecně lze nižší reaktivitu očekávat u malých dětí a u osob s postiženou specifickou imunitou. U novorozenců a kojenců přibližně do půl roku věku je při interpretaci serologického výsledku třeba počítat s přítomností pasivně přenesených mateřských protilátek. Při opakovaném vyšetření s měsíčním odstupem bývá znát zřetelný pokles titru. Naopak novorozenci a batolata přibližně do dvou let věku hůře tvoří protilátky. Vyjde-li tedy v tomto věku serologické vyšetření pozitivně (ve smyslu přítomnosti protilátek ve vzorku), bývá tento nález diagnosticky důležitější než u dospělého. Poněkud odlišná je situace u ASLO, kde všeobecně uznávaná „normální" hodnota do 200 m.j. platí pro dospělou populaci. Ve věkové skupině 5 – 10 let, v níž bývají streptokokové infekce nejčastější, lze za normální nález považovat hodnotu až 400 m.j. (10). Naopak u malých dětí jsme po streptokokové infekci občas pozorovali významné pohyby titrů právě v oblasti do 200 m.j.

4. ***Časové údaje. Spolehlivá anamnéza*** je dalším důležitým faktorem, který nám může pomoci interpretovat výsledek serologického vyšetření. Je pravda, že jen vzácně zjistíme dobu, která uplynula od okamžiku infekce do odběru vzorku (je to možné např. u borreliózy nebo u klíšťové encefalitidy). Vždy bychom ale měli zaznamenat datum prvních příznaků, resp. kolikátý den choroby byl vzorek odebrán, a tento údaj by serologická laboratoř měla mít vždy k dispozici. Bohužel standardní žádanka zdravotní pojišťovny tuto důležitou kolonku postrádá.
5. ***Technickými záležitostmi*** míním např. typ serologické reakce nebo typ použitého antigenu. Vzhledem k jejich důležitosti by o nich měl ošetřující lékař být zhruba informován.

***Typ serologické reakce.*** V nabídce přípravků k detekci protilátek nyní převládají imunoenzymatické soupravy typu ELISA. V těchto metodách se jedna ze složek reakce váže na vhodný povrch (obvykle na důlek serologické destičky), jiná je konjugována s určitým enzymem, výsledek reakce se projeví vznikem barevného produktu a intenzita vzniklého zbarvení se proměří fotometrem. Výhodou metod ELISA je mj. vyšší citlivost, dostupnější standardizace, možnost automatizace a zpracování velkého počtu vzorků naráz, jednoduchost provedení a tím nižší nároky na kvalifikaci personálu, především pak možnost prokazovat protilátkovou aktivitu jednotlivých tříd imunoglobulinů, což by teoreticky mělo usnadnit interpretaci nálezu z jediného vzorku séra.

Imunoenzymatické metody jsou ale poměrně drahé (ve většině případů na ně sazebník pamatuje 466 body proti 161 bodům u vazby komplementu nebo 26 bodům u aglutinace). Ovšem počítačem vytištěný výsledek, zhusta v podobě čísla s několika desetinnými místy, působí velmi důvěryhodně, přesně a objektivně. Bohužel pouze působí, skutečnost je jiná. Jen málo souprav je dostatečně standardizováno a pokud ano, pak mnohdy pro zcela odlišnou populaci. Různé laboratoře používají sety odlišného původu, takže vzájemné srovnávání jejich nálezů je téměř nemožné. Vzhledem k vyšší citlivosti je třeba výsledky metod ELISA interpretovat velmi opatrně, možnost falešně pozitivních závěrů je tu relativně vysoká. V závažných případech, jako je diagnostika infekce HIV, je nutná konfirmace výsledku jiným postupem.

V mnoha případech mohou stále dobře posloužit klasické serologické reakce. K průkazu čerstvé infekce je výhodná aglutinace, protože časné protilátky třídy IgM dovedou aglutinovat výrazněji než IgG. Imunoglobuliny M mimo to výborně vážou komplement, a proto se k diagnostice aktivní infekce dobře hodí i komplementfixační reakce (KFR). Pozitivita KFR odráží průběžnou antigenní stimulaci u chronických nákaz, což může s výhodou posloužit k průkazu aktivace toxoplasmózy (11) nebo k průkazu infekcí některými herpesviry. Ukazuje se, že KFR by se dala dobře použít i u nově popsaných nákaz jako je infekce vyvolaná *Chlamydia pneumoniae* (2). Precipitace je sice k průkazu protilátek málo citlivá, ale právě proto její schopnost zachytit jen vysoké hladiny protilátek se využívá k rozlišení pouhé kolonizace od infekce např. u plicní aspergilózy.

***Typ použitého antigenu.*** Proti některým antigenům se protilátky vytvářejí dříve než proti jiným, což lze s výhodou použít k průkazu čerstvé nákazy. Takto jsou po antigenní stránce rozpitvány např. borrelie, a proto moderní diagnostické soupravy obsahují jen izolované antigeny získané rekombinantními technikami. Důvodem byla nízká specifita většiny původních přípravků. Tak se stalo, že průkaz lymeské borreliózy sesadil ASLO z místa nejzbytečněji vyžadovaného serologického vyšetření. V případech, kdy pravděpodobnost lymeské borreliózy je malá, bude dokonce většina pozitivních serologických nálezů falešně pozitivní (3, 13). Všechny nálezy anti-borreliových protilátek získané metodou ELISA je třeba konfirmovat drahým Western blotem (5), což je technika umožňující průkaz protilátek proti jednotlivým izolovaným antigenům mikroba.

## Závěr

V interpretaci serologického nálezu kliničtí pracovníci poměrně často chybují. Ve své praxi jsem se setkal se třemi druhy chyb při interpretaci serologického nálezu:

1. ***Nález protilátek se mylně považuje za diagnostický.*** Je třeba mít stále na zřeteli, že nález protilátek není totožný s diagnózou infekce, svědčí jen o kontaktu s antigeny příslušného agens někdy v životě (a u zkřížených reaktivit ani o tom ne).
2. ***Negativní nález protilátek se mylně pokládá za něco, co danou infekci vylučuje.*** Není tomu tak, protilátky se ještě nemusely vytvořit v dostatečné míře, příp. reakce nemusí být dostatečně citlivá. Je třeba přihlížet k časovým údajům a nechat vyšetřit další vzorek.
3. ***Vzestup titru protilátek a jejich přítomnost se mylně považují za něco patologického, co je třeba léčit.*** Neléčíme titry, ale nemoc (15). Jen výjimečně nález protilátek sám o sobě vyžaduje aktivní zásah (syfilis, infekce HIV).

## Východisko

Jak si pomoci z diagnostických rozpaků nad výsledkem serologického vyšetření?

**Ad 1.** Klinik či praktik by měl znát možnosti své spádové serologické laboratoře a alespoň povšechně by měl být informován o úskalích jednotlivých typů serologického vyšetření. Snad k tomu trochu pomohl i tento článek. Serolog (samozřejmě s atestací z lékařské mikrobiologie, nikoli biochemik) by měl mít kromě technických dovedností a zkušeností dobré znalosti jednak o dané chorobě obecně, jednak o konkrétním vyšetřovaném pacientu zvlášť. K poslednímu je nutná úzká spolupráce klinika a serologa.

**Ad 2.** Úzká spolupráce obou partnerů začíná zejména údaji o charakteru choroby a trvání prvních příznaků zaznamenanými na žádance o vyšetření. Ideální je, když se ošetřující lékař a laboratorní pracovník osobně znají, často si kvůli pacientům volávají, mohou se vzájemně navštěvovat na svých pracovištích a nad šálkem kávy či čaje probírat případné problémy.

Východisko z rozpaků nad výsledkem serologického vyšetření tedy spočívá: ***1. v dobré informovanosti ošetřujícího lékaře i serologa*** a ***2. v úzké spolupráci obou odborníků***. Obojí může významně přispět jak k lepší péči o nemocné, tak k efektivnějšímu využití dostupných prostředků.

*Převzato z Pediatr. pro Praxi 2003; 2: 75–79.*

## Literatura


**1.** Bartůněk P, Mrázek V, Vařejka P, Janovská D, Valešová M. Lymeská borelióza: možnosti a meze interpretace sérologických nálezů. Prakt. Lékař 1998; 78:611–614.

**2.** Berdal BP, Fields PI, Melbye H. *Chlamydia pneumoniae* respiratory tract infection: The interpretation of high titres in the complement fixation test. Scand. J. infect. Dis. 1991; 23: 305–307.

**3.** Brown SL, Hansen SL, Langone JJ. Role of serology in the diagnosis of Lyme disease. JAMA 1999; 282: 62–66.

**4.** Brůčková M. Mikrobiologická diagnostika infekcí vyvolaných HIV, In: Šejda J, et al. Prevence, léčba a další aspekty nákazy HIV/AIDS. Zdrav. aktuality 230. Praha, Galén l993: 42–56.

**5.** Hauser U, Lehnert G, Wilske B. Validity of interpretation criteria for standardized Western blots (immunoblots) for serodiagnosis of Lyme borreliosis based on sera collected throughout Europe. J. clin. Microbiol. 1999; 37: 2241–2247.

**6.** Havlasová J, Honegr K, Drahošová M, Ettlerová E, Krejsek J. Sérologický průkaz infekce *Borrelia burgdorferi* technikou ELISA a imunoblot. Prakt. Lék. 1997; 77: 589–593.

**7.** Havlíčková M, Štumpa A, Holíková I, Horníčková Z. Je průkaz IgM protilátek proti RSV a chřipce typu A alternativní rychlou diagnostikou etiologie onemocnění? Prakt. Lék. 1999; 79: 272–274.

**8.** Hübner J, Uhlíková M, Leissová M. Diagnóza časné fáze larvální toxokarózy s použitím avidity IgM. Epidemiol. Mikrobiol. Imunol. 2001; 50: 67–70.

**9.** Kodym P, Tolarová V. Laboratorní diagnostika toxoplazmózy. Remedia – Klin. Mikrobiol. 1998; 2:224–226.

**10.** Rotta J, a kol.: Patogenní streptokoky. Praha, Avicenum 1983: 258 s.

**11.** Sýkora J, Pokorný J, Zástěra M. Význam komplementfixační reakce pro diagnostiku akutní fáze uzlinové formy toxoplazmózy. Čas. Lék. čes. 1992; 131: 178–182.

**12.** Šmelhausová M, Mrázová M. Laboratorní diagnostika zarděnek. Prakt. Lék. 2003; 83: 94–96.

**13.** Tugwell P, Dennis DT, Weinstein A, et al. Laboratory evaluation in the diagnosis of Lyme disease. Ann. intern. Med. 1997; 127: 1109–1123.

**14.** Votava M. The comparison of three tests for the detection of heterophile antibodies in infectious mononucleosis. Scripta med. (Brno) 1992; 65: 151–160.

**15.** Votava M. Případ přeléčených protilátek. Prakt. Lék. 2001; 81(Supl.1): 22.

**16.** Votava M, a kol. Lékařská mikrobiologie II. Přehled vyšetřovacích metod v lékařské mikrobiologii. Brno, Masarykova univerzita 2003: 309 s.

**17.** Votava M, Bartošová D, Krchňáková A, Crhová K, Kubinová L. Diagnostic importance of heterophile antibodies and immunoglobulins IgA, IgE, IgM and low-avidity IgG against Epstein-Barr virus capsid antigen in children. Acta virol. 1996; 40: 99-101.

**18.** Votava M, Horký P. Sérologická diagnostika infekční mononukleózy u dětí. Čs. Pediat. 1991; 46: 327–331.

**19.** Woznicová V, Votava M. Western blot determination of IgG avidity in primary and secondary syphilis. Scripta med. (Brno) 2001; 74: 353–359.