

Téma P09: Diagnostika spirochetálních infekcí

K nastudování: *Borrelia, Leptospira, Treponema* (z učebnic, WWW atd.)
Z jarního semestru: Mikroskopie, PCR, průkazy antigenů a protilátek

Lymeská borrelióza

Společná tabulka pro úkoly 1, 2 a 3.

Úkol 1: Průkaz protilátek proti *Borrelia garinii* metodou ELISA

Odečtěte podle výkladu vyučujícího výsledek reakce u pacientů s podezřením na lymeskou borreliózu. Určujeme protilátky ve třídě IgG a IgM. V poli A1 (odpovídá délce A1 v mikrotitrační destičce) naleznete hodnotu CAL (= v postatě cut-off; všechny hodnoty absorbance nad CAL jsou pozitivní, vše pod CAL budiž negativní). V polích B1 a C1 jsou kontroly. Pacienti označení písmeny J až N jsou v barevně označených polích.

Zapište hodnotu CAL, zkontrolujte, jestli negativní a pozitivní kontrola je v pořádku. Pak odečtěte a vyhodnoťte výsledky ELISA reakce pro pacienty No. J, K, L, M, N (ty nepište sem, použijte hlavní tabulkou nahoře).

Výsledky ELISA reakce pro pacienty No. J, K, L, M, N (ty kreslete sem, použijte hliník tabulkou na horce).				
Hodnota CAL (důlek A1):		Hodnota absorbance K+ (důlek B1):		<input type="checkbox"/> K+ je OK <input type="checkbox"/> K+ není OK
IgM		Hodnota absorbance K- (důlek C1):		<input type="checkbox"/> K- je OK <input type="checkbox"/> K- není OK
Hodnota CAL (důlek A1):		Hodnota absorbance K+ (důlek B1):		<input type="checkbox"/> K+ je OK <input type="checkbox"/> K+ není OK
IgG		Hodnota absorbance K- (důlek C1):		<input type="checkbox"/> K- je OK <input type="checkbox"/> K- není OK

Úkol 2: Průkaz protilátek proti *Borrelia garinii* pomocí Western blotu

Úkol 2. Příkaz prohlásek proti *Borrelia burgdorferi* pomocí Western blotu
U pacientů řešených v úkolu č. 1 se vzorky séra či likvoru testovaly také Western blottem. Odečtěte výsledky dle instrukcí. Pro odečtení reakce použijte kontrolní proužek. Diagnostické schéma je vždy stejné: ELISA je použita ke screeningu, Western blot ke konfirmaci jejich výsledků. Odečtěte Western blot u pacientů J až N a zapište výsledky do hlavní tabulky.

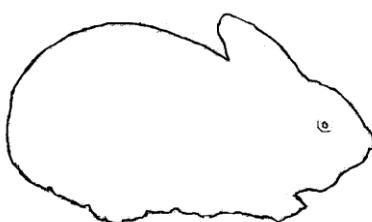
Úkol 3: Diagnostika Lymeské borreliózy pomocí PCR

Cíl 3: Diagnostika závažného bolestihoho pomocí PCR
Pomocí dané fotografie PCR produktu na agarózovém gelu zakreslete a zaznamenejte, který z testovaných vzorků je pozitivní. PCR diagnostika se prováděla s ohledem na závažnost anamnézy pouze u dvou z pěti řešených pacientů. Poté provedte celkové zhodnocení všech tří úkolů a zapište závěr.

Syphilis

Úkol 4: Přímý průkaz svfiliš.

Krok 1. Průkaz syfilis.
Přímý průkaz syfilis je možný pouze v případě zaslání vhodných vzorků do laboratoře. V některých stádiích nemoci však není k mání žádný vhodný vzorek pro tento účel.

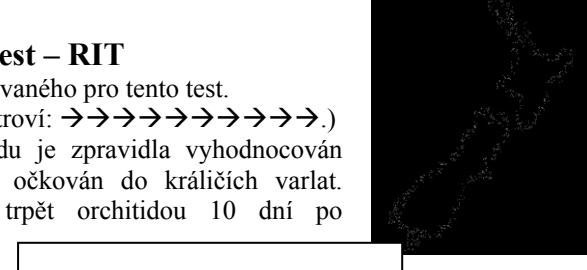


a) Rabbit infectivity test – RIT

Zapište název králíka používaného pro tento test.

Zapište název knihy používané pro tento test.
(Je odvozen z tohoto souostroví: →→→→→→→→→→→→.)

Exudát z podezřelého vředu je zpravidla vyhodnocován zástinovou mikroskopii a očkován do králičích varlat. Testované zvíře začíná trpět orchitidou 10 dní po naočkování. Název králíka:



b) Mikroskopie v zástinu

Podívejte se na mikrofotografii treponematu ze zástinové mikroskopie, zakreslete princip zástinové mikroskopie a zaznamenejte výsledek svého pozorování.

c) Přímá imunofluorescence

Podívejte se na mikrofotografii treponematu získanou z fluorescenčního mikroskopu a zaznamenejte výsledek.

4b) princip	4b) výsledek	4c)
-------------	--------------	-----

Původce syfilis, *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*, NENÍ kultivovatelný organismus. Diagnostika závisí na stádiu nemoci.

Nepřímý průkaz syfilis

Společná tabulka pro úkoly 5 a 6.

Písmeno pacienta	Krátké jméno a klinické znaky charakterizace případu	Úkol 5 screening		Úkol 6 konfirmace				Závěr: konečná interpretace, doporučení případné léčby	
		RRR	TPHA	ELISA		WB			
				IgM	IgG	IgM (+/-)	IgG (+/-)		
A									
B									
C									
D									
E									

Úkol 5: Screening syfilis – RRR a TPHA

Těhotné ženy a dárci krve jsou screeningově vyšetřováni rychlou reaginovou reakcí (RRR) a *Treponema pallidum* pasivní hemaglutinací (TPHA). Posuďte výsledky screeningu u předložené skupiny osob a stanovte, u koho je třeba ještě zajistit podrobnější, tzv. konfirmační (potvrzovací) vyšetření. Výsledky zapište přímo do tabulky.

RRR: pozitivní je vyzločkování. TPHA: pozitivní je tvorba aglutinátu. Více viz praktikum J07.

Úkol 6: Konfirmace syfilis – FTA-ABS, ELISA a Western blotting

Vyhodnotěte výsledky FTA-ABS, ELISA a western blottingu (WB) u pacientů se suspektní syfilis (viz předchozí úkol). Spočítejte cut-off a porovnejte s ním hodnoty pozitivní a negativní kontroly a výsledky pacientů.

V poli/důlku A1 je přítomen blank.

Hodnota cut off (C1 + D1) / 2		Hodnota absorbance K- (pole/důlek B1):		<input type="checkbox"/> K- je OK <input type="checkbox"/> K- není OK	
IgM		Hodnota absorbance K+ (pole/důlek E1):		<input type="checkbox"/> K+ je OK <input type="checkbox"/> K+ není OK	
Hodnota cut off (C1 + D1) / 2		Hodnota absorbance K- (pole/důlek B1):		<input type="checkbox"/> K- je OK <input type="checkbox"/> K- není OK	
IgG		Hodnota absorbance K+ (pole/důlek E1):		<input type="checkbox"/> K+ je OK <input type="checkbox"/> K+ není OK	

Leptospíroza

Úkol 7: Přímý průkaz *Leptospira* sp.

Podle daného obrázku popište a zakreslete morfologii leptospir kultivovaných na tekutém Korthoffově médiu po dva týdny. Pro test byla použita moč pacienta s podezřením na leptospírozou.

