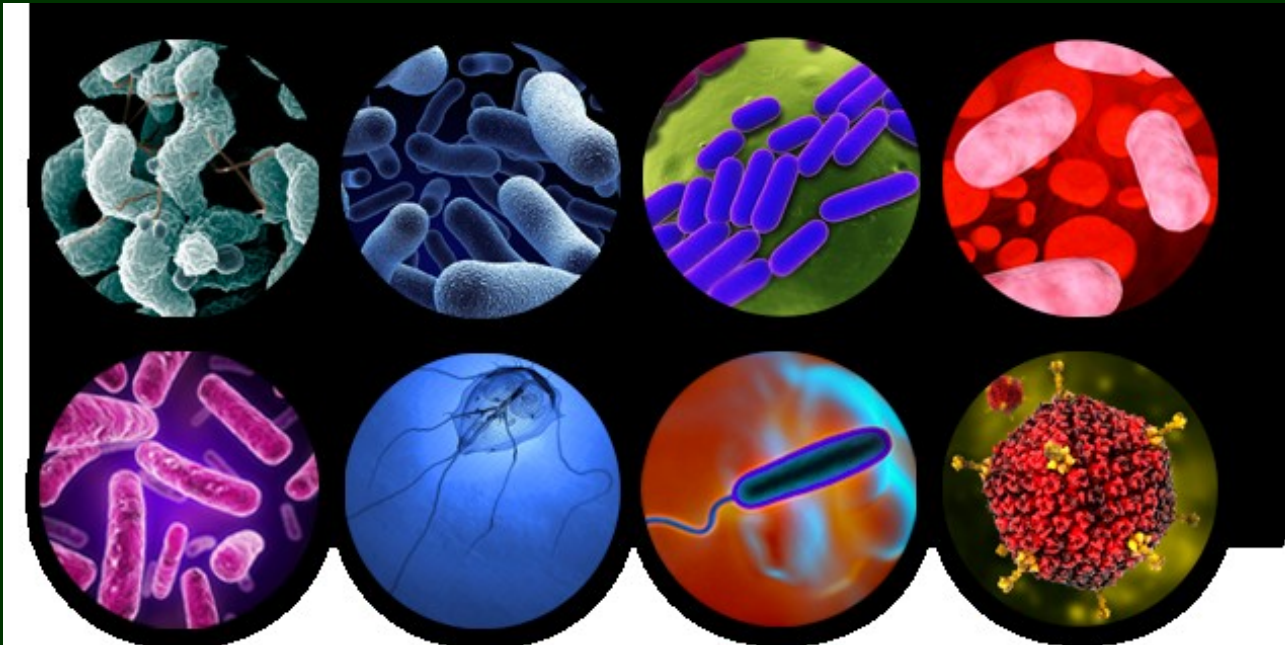


Téma 01_Obecné aspekty mikrobiální diagnostiky a metody odběru klinických vzorků



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

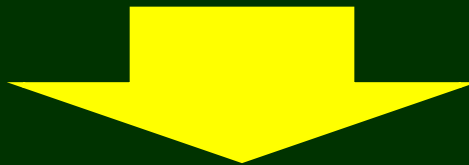


NÁRODNÍ
PLÁN OBNOVY

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

Proč je mikrobiální diagnostika důležitá?

- Identifikace patogenního agens
- Subtypizace patogenního agens
- Identifikace mutant rezistentních na léčiva
 - Cesty přenosu patogenního agens
 - Evoluce mikrobů
 - Detekce emergentních patogenů



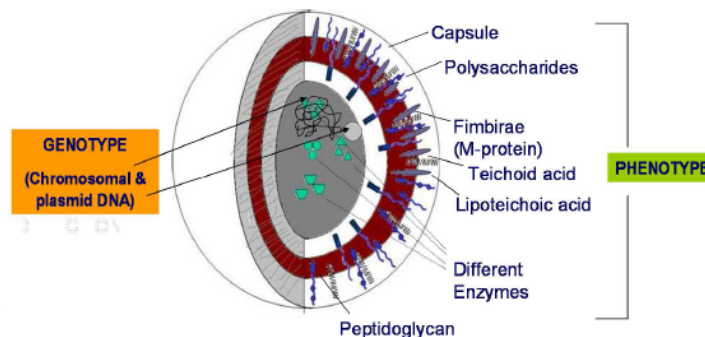
efektivní prevence nebo terapie nebo obojí
epidemiologické studie

Identifikace mikroorganismu

- **ORIENTAČNÍ:** morfologie kolonií, růst na selektivně diagnostických půdách, barvený preparát
- **KONEČNÁ IDENTIFIKACE:** biochemické a fyziologické vlastnosti, antigenní struktura, průkaz toxicity
- **TYPIZACE KMENE:** biotypizace, antibiogram, fagotypizace, bakteriocinotypizace, molekulárně-biologické metody (RFLP a další).

Bacterial typing methods

- Diagnostic/Identification methods → genus & species
- Typing/Characterisation methods → further differentiation of microorganisms based on their phenotype and genotype characteristics





16. stol



17. stol.



21. stol.

1. Stupeň biologické ochrany – Biosafety level 1 (BSL1)

- biologická agens, u kterých není pravděpodobné, že by mohla způsobit onemocnění zdravého (imunokompetentního) člověka (nebo zvířete).
- individuální i společenské riziko agens je nízké
- pouze ochranné oděvy (běžné bílé pláště) a ochranné rukavice
- podobnými laboratořemi disponuje každá nemocnice
- organismy: *Bacillus subtilis*, *Naegleria gruberi*, nepatogenní *E. coli*



2. Stupeň biologické ochrany – Biosafety level 2 (BLS2)

- pracovníci na této úrovni používají vždy ochranné oděvy a rukavice, doplněné o prostředky pokročilé ochrany – o respirační filtry, obličejové štíty a jiné
- laboratoře na BSL2 vyžadují pro manipulaci s infekčními původci (často existuje očkování/terapie), speciální přístrojové vybavení například boxy s laminárním prouděním vzduchu
- biologická agens, která mohou způsobit onemocnění člověka (nebo zvířete), ale za normálních okolností není pravděpodobné, že by se stala vážným nebezpečím pro laboratorní pracovníky (hospodářská zvířata nebo životní prostředí). Většinou je dostupná účinná profylaxe nebo léčba případného onemocnění, riziko šíření je omezené. Mírné individuální riziko, omezené společenské riziko
- organismy: herpes simplex virus (typ 1 a 2), mnoho druhů bakterií rodu *Salmonella* či *Shigella*, *Staphylococcus aureus* (včetně MRSA), chřipkové viry typu B a C, většina chřipkových virů typu A, viry hepatitid, borelie (Lymeská borelióza)



3. Stupeň biologické ochrany – Biosafety level 3 (BLS3)

- je určen pro rutinní manipulaci s nebezpečnými původci nákaz, proti kterým mnohdy neexistuje účinná léčba a je vyžadováno mnohonásobné očkování.
- ochranné prostředky na úrovni BSL3 jsou rozšířeny na kompletní ochranné kombinézy s kapucí doplněné o pasivní respirační přístroj pracující na podobném principu jako plynové masky (vzduch prochází speciálním tzv. HEPA filtrem, který zachytí infekční původce a propustí jen vzduch), dvojité rukavice atd.
- samostatná vzduchotechnika s HEPA filtry
- biologická agens, která mohou způsobit závažná onemocnění člověka (nebo zvířat, či mohou vést k vážným ekonomickým následkům), ale většinou se nešíří náhodným kontaktem mezi jedinci. Představují závažné nebezpečí pro laboratorní pracovníky. Vysoké individuální riziko, nízké společenské riziko
- organismy: virus HIV, virus klíšťové encefalitidy či bakteriální původci tyfu a anthraxu, *Bacillus anthracis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Yersinia pestis* (mor), *Coxiella burnetii* (Q horečka), virus Hantaan, virus SARS-CoV-2, vysoce patogenní kmeny chřipky (H1/N1, H5/N1), virus opičích neštovic



4. Stupeň biologické ochrany – Biosafety level 4 (BLS4)

- je určen pro speciální manipulaci s vysoce infekčními původci onemocnění proti nimž neexistuje účinná léčba ani očkování.
- ochranné prostředky na těchto úrovních spočívají v použití speciálních skafandrů (kompletních hermeticky uzavřených obleků) s vlastním oběhem kyslíku pocházejícího buď z centrálního rozvodu, nebo aktivního respiračního přístroje. Trojnásobná vrstva rukavic.
- biologická agens, která způsobují závažná onemocnění člověka (nebo zvířat) a jsou snadno přenosná z člověka na člověka, ze zvířete na člověka nebo naopak. Představují vážné nebezpečí pro zaměstnance i nebezpečí rozšíření do prostředí mimo pracoviště, přičemž obvykle není dostupná žádná účinná profylaxe nebo léčba případného onemocnění. Vysoké individuální riziko, vysoké společenské riziko
- organismy: virus Ebola, Marburg, virus Lassa, Machupo, Junin, SARS-CoV-1, hantaviry, ruské kmeny viru klíšťové encefalitidy, virus pravých neštovic, virus konžsko-krymské hemoragické horečky

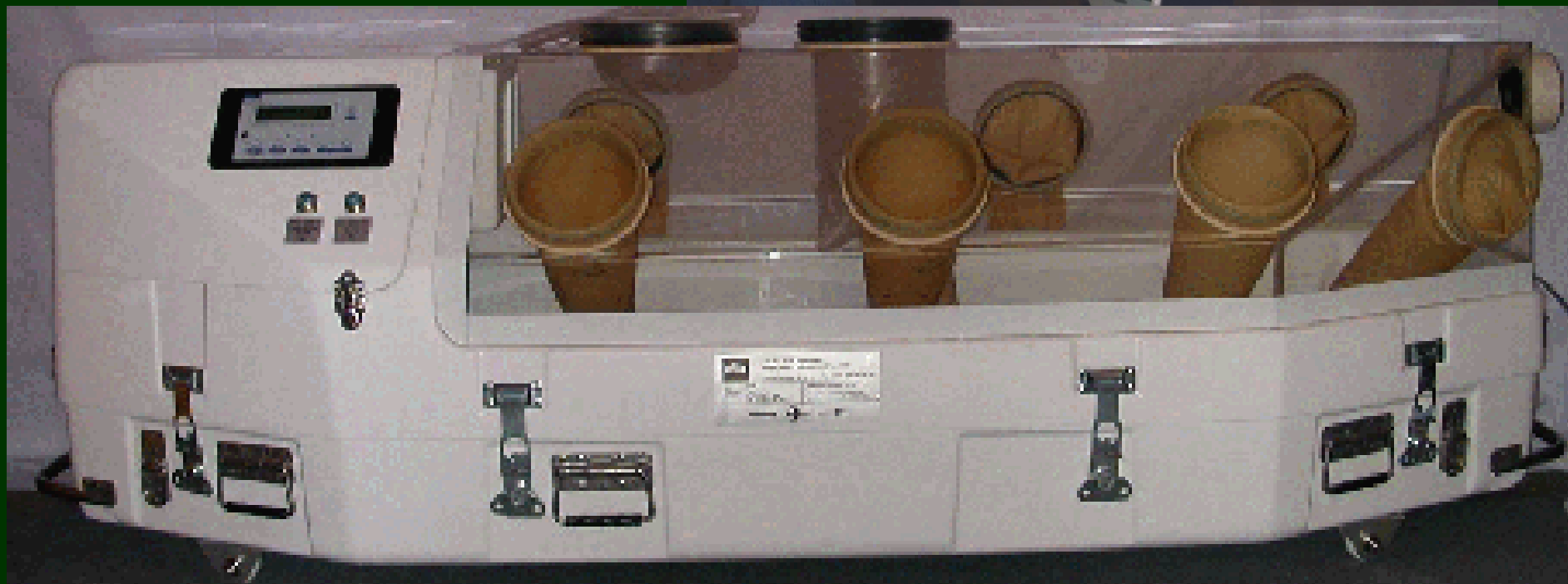


ČR má dvě zařízení s režimem BSL-4:

- Vojenská nemocnice v Těchoníně (Armáda České Republiky)
- Laboratoř biologického monitorování a ochrany v Milíně (Státní ústav jaderné chemické a biologické ochrany).

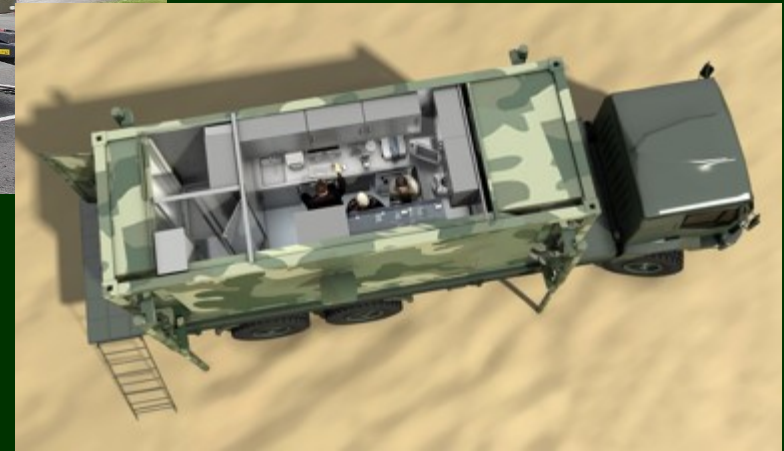


Zařízení pro transport a manipulaci s pacienty s BSL 4 infekcí





Polní a mobilní laboratoře



Trend: mobilní laboratoře vyššího BSL stupně (2 nebo 3)



MOBILE LABORATORY (BSL2)



DIAGNOSTIKA INFEKČNÍCH ONEMOCNĚNÍ

KONEČNÁ DIAGNÓZA

KLINIKA



ANAMNÉZA



VÝSLEDKY
LABORATORNÍCH
VYŠETŘENÍ:

- základní
- speciální

Soubor
symptomů/zjevných
projevů onemocnění

Předchorobí, soubor
informací potřebných k
bližší analýze zdravotního
stavu, zej. z jeho
minulosti, rozhovor lékaře
a pacienta

...a o nich bude
pojednávat celý
tento kurz :-D

Základní laboratorní vyšetření

- **Odběr krve, separace séra**
- Krevní obraz
- Cholesterol celkový
- Glykémie
- Jaterní testy (alaninaminotransferáza ALT, asparátaminotransferáza AST, gamaglutamyltransferáza GMT, alkalická fosfatáza AP): hepatitidy, mononukleóza (EB virus)
- Urea, kreatinin (glomerulární filtrace, poškození ledvin)
- CRP: do 5 mg/ml normální; 6 – 30 mg/mL viróza, opak. za 1-2 dny; >30 mg/mL bakteriální infekce; kolem 300 mg/ml závažný bakteriální zánět
- Sedimentace: rychlost sed. erytrocytů, rychlejší při zánětu, infekci, nádorovém onemocnění

Zobrazovací metody

- **RTG, UZ, tomografické metody (PET, CT), oftalmologické vyšetření**
- Extrémně výhodné při charakterizaci patologických změn CNS

Další specializovaná vyšetření

- EKG – elektrokardiologické vyšetření
- ECHO – echokardiologické vyšetření

Faktory míry úspěšnosti mikrobiologického vyšetření

- Validní klinické + anamnestické údaje
- Validní vzorek

ze správného **místa**

optimální **doba** odběru

správná **technika** odběru

dodržení podmínek **skladování/transportu**



PREANALYTICKÁ FÁZE

- Kvalitní laboratorní proces
- Správná interpretace výsledků



ANALYTICKÁ FÁZE



SPRÁVNÁ TERAPIE příp. PROFYLAXE, EPIDEMIOLOGICKÁ OPATŘENÍ

Odběr klinických vzorků

Zásady odběru

- Každý vzorek na mikrobiologické vyšetření musí splňovat
 - **A) Klinickou validitu**
 - odběr ze správného **místa**, kde lze předpokládat přítomnost mikroba
 - **B) Technickou validitu**, tedy odběr ve:
 - správný **čas** (např. před podáním antibiotika, fáze virémie atd.)
 - správným **způsobem** (lege artis, asepticky)
 - do správných **souprav** (označené sterilní nádoby, transportní média)

Validní vzorek

1. Odběr z místa pravděpodobného výskytu infekčního agens
2. Záchyt optimálního množství materiálu (tj. agens) z místa infekce
3. Optimální doba odběru
4. Správná technika odběru

Vhodná odběrová souprava:

VÝTĚRY – tampony na tyčince nebo drátku v kombinaci se zkumavkou

TEKUTÉ VZORKY – moč atd., sterilní nádoby se širším hrdlem

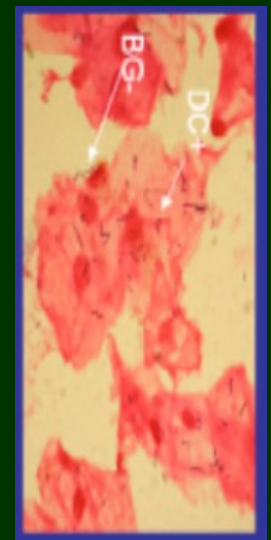
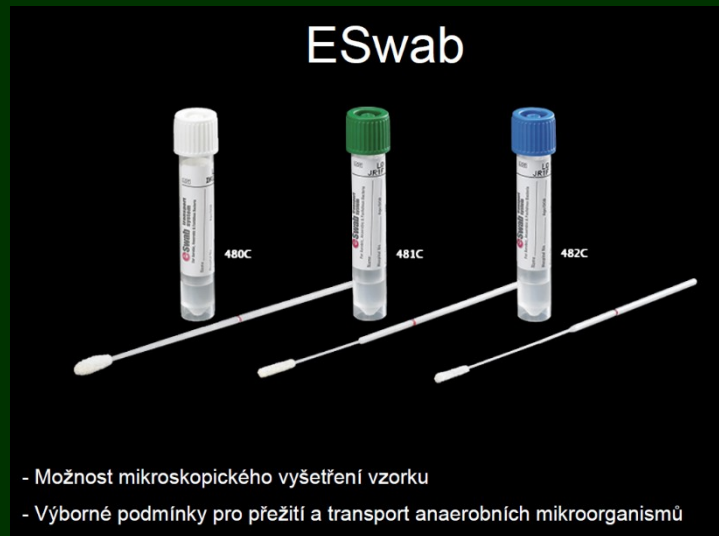
KREV, HNIS, ASPIRÁT – injekční stříkačka na jedno použití uzavřená plast. zátkou (nikdy jehlou)

Preference odběru TEKUTÝCH vzorků: hnisy, obsahy primárně sterilních dutin aspirací injekční stříkačkou (odběr tekutých vzorků tamponem často nevhodné – riziko falešně negativních výsledků, kontaminace)

STĚRY A VÝTĚRY TAMPONEM: pouze infekce orofaryngeální, nazofaryngeální, ušní, oční, některé urogenitální, při podezření na bakteriální – povrchové kožní léze, rektální

Typ odběrové soustavy

- a její transport je závislý na typu agens, které prokazujeme
- např. striktně anaerobní bakterie, kapnofilní bakterie (CO₂ využívající), viry, paraziti atd.
- doporučení od laboratoře, která bude vyšetření provádět



Zasílání do laboratoře

- **Co nejrychleji**
- **Ve správném transportním systému** (např. anaerobní uzavřený systém + transportní médium)
- **Za správné teploty a dalších podmínek** (vyšetření na kapavku, likvor vs. moč)

Transportní půdy

Jsou určeny k přepravě vzorku do laboratoře, udržení mikrobů v životaschopném stavu. Obsahují minimum živin, aby nedošlo k přemnožení a zkreslení kvantity mikroorganismu ve vzorku (zachování stejného poměru organismů jako při odběru, brání přerůstání doprovodné flory). Jsou blízké pufrům, obsahují další složky, např. aktivní uhlí (Amiesovo m.), thioglykonát sodný

Příkladem je Amiesovo, Stuartovo nebo Cary-Blairovo médium.

Pro viry, chlamydie, mykoplasmata:

Systém s Univerzálním transportním Mediem (UTM-RT) z produkce firmy Copan je určen pro odběr a transport klinických vzorků obsahujících především viry, chlamydie, mykoplasmata nebo ureaplasmata.

Vzorek uchovaný v UTM-RT může být následně v klinické laboratoři zpracován standardními postupy

- Kultivace - všechny viry, chlamydie, mykoplasmata a ureaplasmata
- Antigen testy (EIA)
- PCR metody
- Amplifikace nukleových kyselin včetně Chlamydia trachomatis a Neisseria gonorrhoea

Systém Copan UTM-RT obsahuje univerzální transportní médium, stabilní při pokojové teplotě (tedy označeno RT). Po dobu transportu udržuje životaschopnost a infekčnost mikroorganismů, jako jsou klinicky významné viry, chlamydie, mykoplasmata a ureaplasmata.

Medium UTM-RT obsahuje bílkoviny pro stabilizaci, antibiotika pro minimalizaci nebezpečí bakteriální a plísňová kontaminace a pufr pro zachování neutrálního pH.

Médium systému Copan UTM-RT je dodáváno ve šroubovací zkumavce se štítkem, určené přímo pro přepravu klinického vzorku.

Médium Copan UTM-RT doplněné o tampony Flocked Swab, které jsou vyrobeny metodou nástřiku nylonového vlákna na tyčinku v elektrostatickém poli, vytváří jedinečný systém určený pro záchyt a přepravu i nejnáročnějších mikroorganismů.

Požadavky na odběr (kultivace)

- **LIKVOR** (mozkomíšní mok): přísně asepticky, okamžitý transport do laboratoře při 37 °C nebo při 4 °C
- **KREV NA HEMOKULTIVACI**: několik vzorků krve během jednoho dne, nelze-li odeslat hned do laboratoře uložit při 37 °C nebo při RT. Nejpřínosnější výsledky s velkým klinickým významem.
- **SPUTUM**: přítomnosti hnisavých vloček x sliny, mikroskopický screening na posouzení validity vzorku, kvantitativní kultivace pouze u vzorků purulentních, s minimálním obsahem dlaždicových epitelů
- **VÝTĚR Z KRKU**: setřít patrové oblouky tonzily, zaslat v transportní půdě, klinický význam hlavně pro průkaz původců akutní tonzilofaringitidy
- **VÝTĚR ZE SPOJIVKOVÉHO VAKU**: při hnisavých afekcích zaslat v transportní půdě, při podezření na mykotickou etiologii do transportní půdy nekládat, doplnit nátěrem na sklíčko
- **VÝTĚR Z RAN A KOŽNÍCH LÉZÍ**: pouze nejde-li odebrat materiál tekutý do stříkačky, potom setřít okraj léze, kde probíhá akutní zánět s pravděp. přítomností původce, u rozsáhlých defektů otisk na kult. půdu
- **POŠEVNÍ VÝTĚRY**: vždy dva – jeden na bakt. vyšetření v transp. půdě, druhý ve spec. půdě na trichomonády a kvasinky, plus dvě sklíčka s nátěrem na MOP (Gram, Giemsa), dle agens odběry ze zadní nebo střední klenby
- **VYŠETŘENÍ NA KAPAVKU**: výtěry z uterty, pochvy, cervixu, krku, rekta, se vždy doplní nátěrem na sklíčko, zanoří se do vytemperované transportní půdy a při teplotě 37 °C zašlou do lab.

Požadavky na odběr (kultivace)

- **MOČ:** střední proud moči po řádném omytí genitálu, ve sterilním kontejneru se okamžitě zašle do laboratoře, stanovení kvantitativní bakteriurie
- **STOLICE:** výtěr na odběrovém tamponu v transportní půdě (průkaz kampylobaktera)
- **PARAZITOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ STOLICE:** kousek stolice velikosti ořechu, není nutný sterilní kontejner, kultivovat je možno pouze prvoky
- **VIROLOGICKÁ VYŠETŘENÍ:** speciální transportní médium k izolaci viru, vždy při 4 °C (tající led), na průkaz protilátek párová séra (odstup 10 – 14 dnů).

Jak provádíme odběr pro různé patogeny (kultivace/PCR)?

- **VÝTĚR Z KRKU:** tonzofaryngitida (Streptococcus pyogenes, další beta-hemolytické streptokoky, další organismy na sliznicích Staphylococcus aureus, Neisseria meningitidis , Haemophilus influenzae)
- **KREV NA HEMOKULTIVACI:** při infekcích, kdy se dostávají patogeny z míst infekce do krve, v nejzávažnějších případech končící sepsí (např. Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, enterokoky, také pomalu rostoucí organismy jako mykobakterie, Legionella, různé plísně)
- **MOČ nebo VÝTĚR Z CERVIKÁLNÍHO KANÁLU NEBO Z URETRY:** Chlamydia trachomatis, TBC, Legionella, Streptococcus, mykoplazmata, Neisseria gonorrhoeae (kapavka), viry: HPV, HSV
- **STOLICE, STĚR Z REKTA:** Salmonella, Shigella, Campylobacter, Clostridium, Helicobacter, rotaviry, enteroviry
- **BIOPSIE SLIZNICE ŽALUDKU/DVANÁCTNÍKU:** Helicobacter pylori
- **VÝTĚR Z CHRONICKÉ KOŽNÍ/SLIZNIČNÍ RÁNY, EROZE:** Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Pseudomonas aeruginosa, Enterococcus
- **LIKVOR, KREV** – meningokok (Neisseria meningitidis), u klíšťové encefalitidy zvýšení bílých krvinek a proteinů v likvoru.
- **HNIS Z PUCHÝŘKŮ:** herpes simplex, virus neštovic
- **SPUTUM, STĚR ZE SLIZNIC HORNÍCH CEST DÝCHACÍCH:** SARS-CoV-2
- **VÝTĚR ZE SPOJIVKOVÉHO VAKU:** adenoviry, Streptococcus, Haemophilus, Staphylococcus, Neisseria gonorrhoeae nebo Neisseria meningitis

Rozdělení metod pro mikrobiální diagnostiku

Co detekujeme (patogen vs. protilátka)?

- přímé metody: detekce patogenního agens, jeho složek (proteinů, NK)
- nepřímé metody: detekce protilátek (imunitní reakce na patogenní agens)

Jak detekujeme (princip)?

- kultivační metody
- biochemické testy
- testy citlivosti k antibiotikům, antivirotikům a fágům
- metody založené na reportérových systémech
- mikroskopické techniky (světelná a elektronová mikroskopie)
- molekulárně-biologické techniky (PCR, sekvenace)
- imunologické techniky (detekce protilátkové odpovědi nebo přímá detekce patogena pomocí protilátek)
- proteomické (chemotaxonomické metody)

Jak přesně detekujeme (kvantifikace)?

- kvalitativní metody
- kvantitativní metody

PŘÍMÝ PRŮKAZ

- PRŮKAZ INFEKČNÍHO AGENS NEBO JEHO SLOŽEK (ANTIGENY, NUKLEOVÁ KYSELINA)
- MATERIÁL:
- * **stěry/výtěry**: dutina ústní, nos, nosohltan, zevní zvukovod, rektum, perianální stěry, uretra, pochva – ze zevní nebo střední klenby, cervix, sekret z Bartholiniho žlázy, spojivkový vak, kožní léze, rána nebo hluboký defekt
- * **sputum**, endotracheální aspirát, výplachy paranasální dutiny, duodenální obsah, **stolice**, **moč** (střední či poslední proud, cévkovaná, z permanentního katétru, získaná suprapubickou punkcí), plodová voda, tekutina z adnex, prostatický sekret, ejakulát, **mozkomíšni mok**, tekutina z nitroočního prostoru, seškraby pokožky apod.
- * **bioptický materiál**: tkáň odebraná z infikované lokality, biopsie, excize, aspirace, peroperačně
- * **krev** (nesrážlivá EDTA, srážlivá), **kostní dřeň**, **krevní nátěry**
- * **obsah patologických dutin**, **hnis**
- * **cizorodý materiál**, **dialyzát**
- * **suspektní útvary**

Metody: Kultivace, mikroskopie, PCR, přímá/sandwich ELISA, MALDI-TOF, atd.

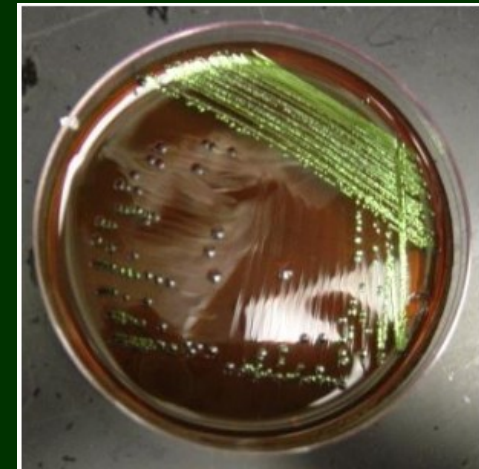
NEPŘÍMÝ PRŮKAZ

- PRŮKAZ SPECIFICKÝCH STOP, KTERÉ MIKROORGANISMUS ZANECHAL V ORGANISMU = PRŮKAZ PROTILÁTEK
- Precipitace
- Alutinace
- Komplementační reakce
- Neutralizační reakce
- Metody se značenými reagenty (ELISA, RIA, senzory...)
- MATERIÁL: srážlivá krev (3 – 5 mL), sklivec (max 20 uL neředěného materiálu), mozkomíšní mok (max 100 uL)
- Detekce protilátek možná až po určité době po infekci
- Titry protilátek neklesají vždy záhy po léčbě
- Nevhodné pro stanovení úspěšnosti léčby
- Zkřížená reakce
- **Výsledek sérologického vyšetření = indikátor, jehož význam hodnotíme v souvislosti s výsledky ostatních typů vyšetření a klinickým stavem**

Klasické (mikrobiologické) metody pro diagnostiku bakterií

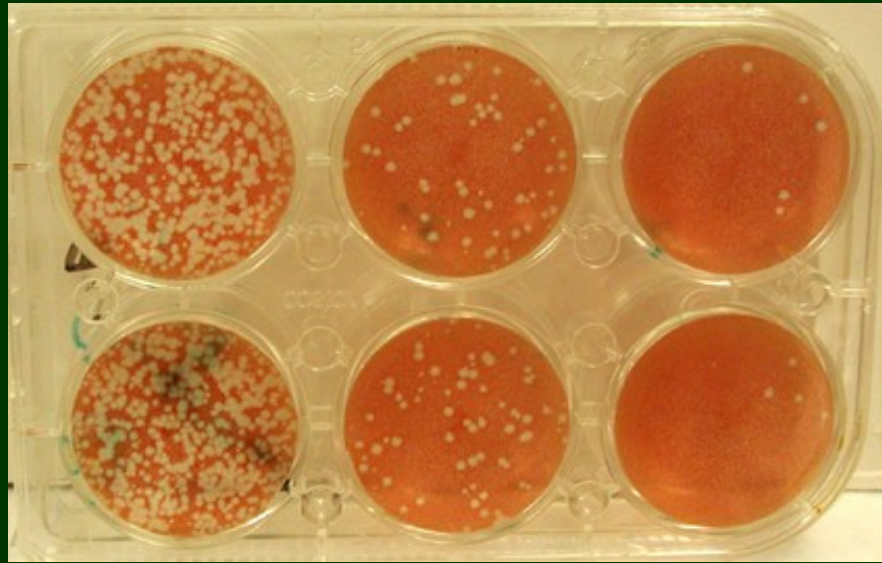
1		H	G	F	E	D	C	B	A
		H ₂ S	LYS	IND	ORN	URE	PHE	ESL	SCI
	⊕	●	●	●	●	●	●	●	●
	⊖	●	●	●	●	●	●	●	●

2		H	G	F	E	D	C	B	A
		MAL	INO	ADO	CEL	SUC	SOR	TRE	MAN
	⊕	●	●	●	●	●	●	●	●
	⊖	●	●	●	●	●	●	●	●



- Kultivační metody
- Barvicí techniky (též viz mikroskopie)
- Klasifikace s využitím selekčních / diferenciačních médií
- Biochemické testy
- Testy citlivosti k antibiotikům
- Fagotypizace a jiné diagnostické metody založené na bakteriofágách

Kultivační metody pro izolaci a identifikaci virů



- Metody založené na práci s tkáňovými kulturami
- Plaková titrace
- Imunofluorescenční barvení
- Virus-neutralizační test
- Reportérové virové systémy
- Izolace virů pomnožením na experimentálním zvířeti

Mikroskopické techniky pro diagnostiku mikroorganismů



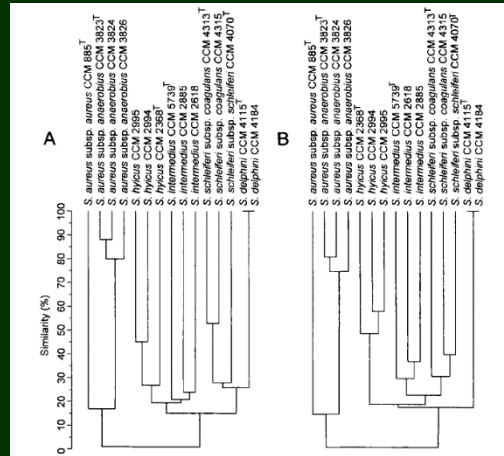
- SVĚTELNÁ MIKROSKOPIE
- Mikroskopie nebarvených preparátů (mikroskopie v procházejícím světle, fyzikální kontrastní metody)
- Mikroskopie barvených preparátů, fluorescenční/konfokální mikr.
- ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE (TEM a SEM)

Molekulárně-biologické metody pro diagnostiku mikroorganismů

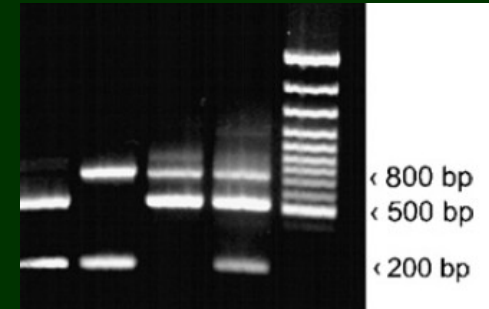
```
Human 1 GLECDGRTNLCCQQQFFIDFRLIGWNDWIIAPIGYIGNYCEGSCPAYLAGVPGASSPHT 60
Monkey 1 GLECDGRTNLCCQQQFFIDFRLIGWNDWIIAPIGYIGNYCEGSCPAYLAGVPGASSPHT 60
Pig 1 GLECDGRTNLCCQQQFFIDFRLIGWNDWIIAPIGYIGNYCEGSCPAYLAGVPGASSPHT 60
Cow 1 GLECDGRTNLCCQQQFFIDFRLIGWNDWIIAPIGYIGNYCEGSCPAYLAGVPGASSPHT 60
Rat 1 GLECDGRTNLCCQQQFFIDFRLIGWNDWIIAPIGYIGNYCEGSCPAYLAGVPGASSPHT 60
Mouse 1 GLECDGRTNLCCQQQFFIDFRLIGWNDWIIAPIGYIGNYCEGSCPAYLAGVPGASSPHT 60

Human 61 AVVNQYRMRGLNPGVNSCCIPTKLSMSMLYFDDYNIIVKRDVPMIIVERCGCA 115
Monkey 61 AVVNQYRMRGLNPGVNSCCIPTKLSMSMLYFDDYNIIVKRDVPMIIVERCGCA 115
Pig 61 AVVNQYRMRGLNPGVNSCCIPTKLSMSMLYFDDYNIIVKRDVPMIIVERCGCA 115
Cow 61 AVVNQYRMRGLNPGVNSCCIPTKLSMSMLYFDDYNIIVKRDVPMIIVERCGCA 115
Rat 61 AVVNQYRMRGLNPGVNSCCIPTKLSMSMLYFDDYNIIVKRDVPMIIVERCGCA 115
Mouse 61 AVVNQYRMRGLNPGVNSCCIPTKLSMSMLYFDDYNIIVKRDVPMIIVERCGCA 115
```

znalost sekvence

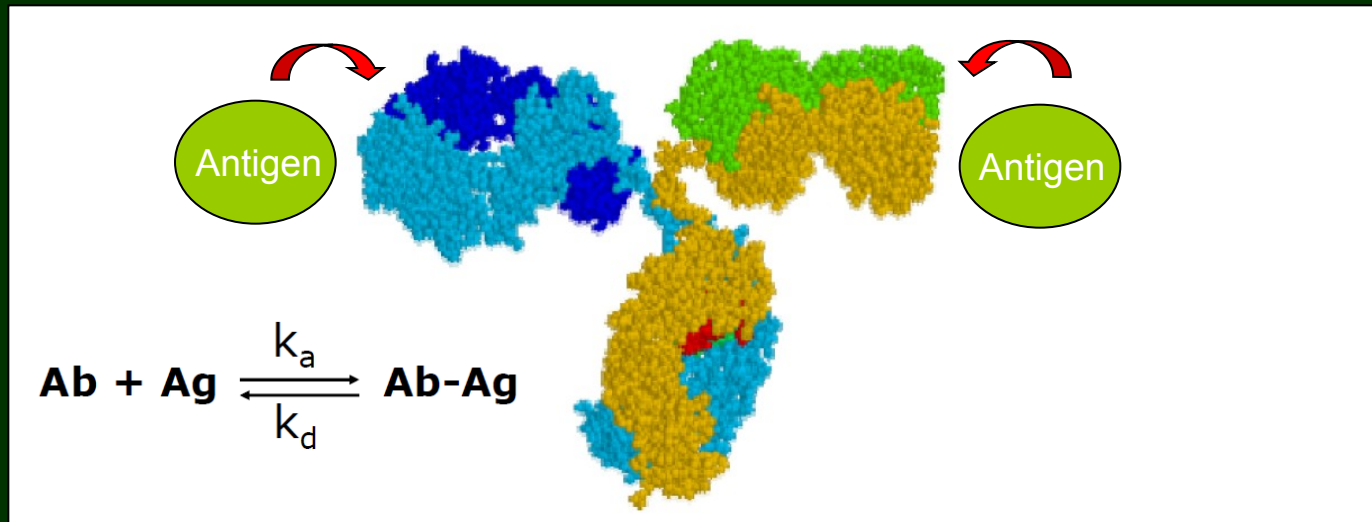


molekulární otisk
(pattern, fingerprint)



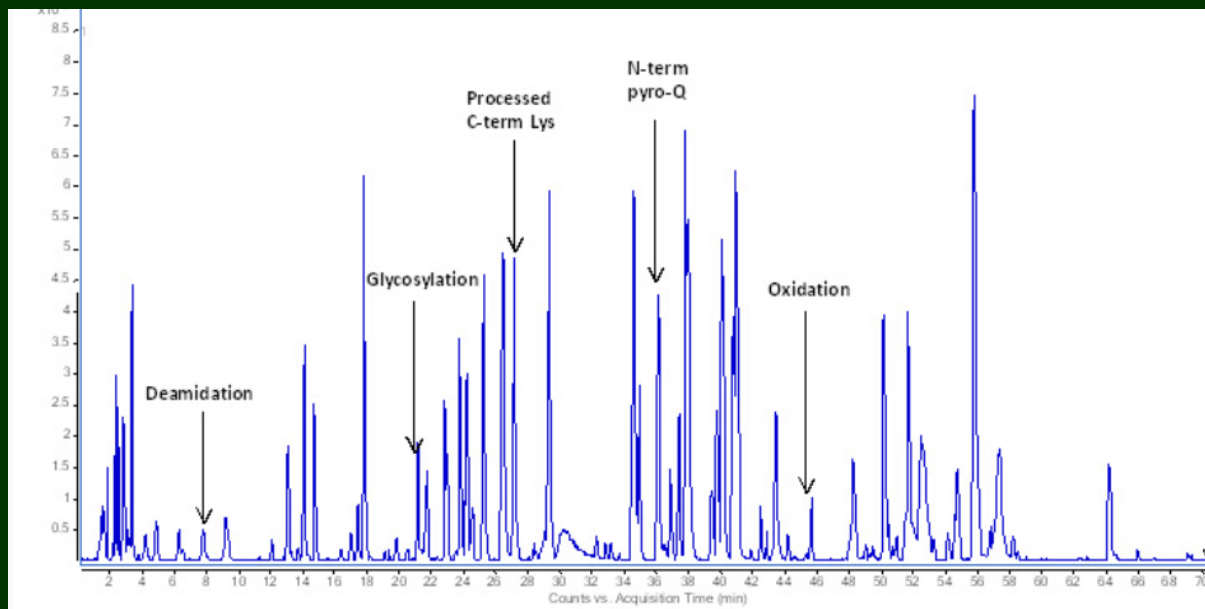
- Techniky nevyžadující předchozí amplifikaci pomocí PCR (např. pulsní gelová elektroforéza, hybridizační techniky, restrikční analýza)
- Molekulární techniky založené na amplifikaci (rozličné typy PCR)
- Sekvenační techniky

Imunologické metody pro diagnostiku mikroorganismů



- Klasické imunologické metody (aglutinační techniky, imunodifuzní techniky, imunoelektroforetické metody)
- Imunoanalytické metody (immunoassays)
- Rychlé imunologické metody (lateral flow immunoassays, dipstick techniky, antigenní testy)
- Biosenzorové technologie

Proteomické (chemotaxonomické) metody pro diagnostiku mikroorganismů



- Elektroforéza proteinů
- Westernový přenos
- Hmotnostní spektrometrie pro identifikaci mikroorganismů
- Proteinové mikročipy

Metody kvalitativní

- rozlišení pozitivního a negativního výsledku
- Westen Blot, klasická PCR, biochemické testy

Metody semikvantitativní

- pro orientační stanovení množství (koncentrace, titru) patogenního agens nebo protilátek ve vzorku
- antigenní testy (dip-stick technologie, mikroskopické metody, imunofluorescenční barvení)

Metody kvantitativní

- pro stanovení přesného množství (koncentrace, titru) patogenního agens nebo protilátek ve vzorku
- imunoanalytické metody, biosenzory, kvantitativní real-time PCR, bakteriální titrace na plotnách, plaková titrace, virus-neutralizační testy, hmotnostní spektrometrie