

SEROLOŠKA DIJAGNOSTIKA INFEKTIVNIH BOLESTI

Prim.dr.sc. Oktavija Đaković Rode
Klinika za infektivne bolesti
"Dr. Fran Mihaljević", Zagreb

ETIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA INFEKTIVNIH BOLESTI

• DIREKTNA iz kliničkog materijala:

- Izravna detekcija uzročnika ili njegovih dijelova
 - antigeni, nukleinske kiseline
 - detekcija antigena imunofluorescentnim ili imunoenzimskim testom
 - metode molekularne biologije za detekciju genoma
 - elektronski mikroskop
 - svjetlosni mikroskop (inkluzijska tjelešca)
- Izolacija uzročnika (**kultivacija**)
 - stanične kulture (CPE, hemadsorpcija, potvrda testom neutralizacije, interferencije, imunofluorescencije); oplodena jaja; pokusne životinje; bakteriološke podloge

• INDIREKTNA

- Dokaz specifičnog imunog odgovora - **serologija**

KATEGORIJE IMUNOSNOG ODGOVORA

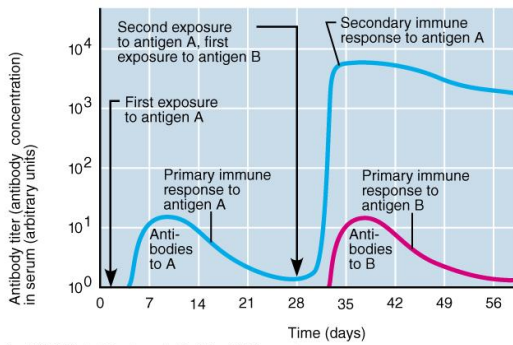
- STANIČNA IMUNOST (limfociti T)
- HUMORALNA IMUNOST (limfociti B)

IMUNOGLOBULINI = PROTUTIJELA
IgM, IgG, IgA, (IgE, IgD)

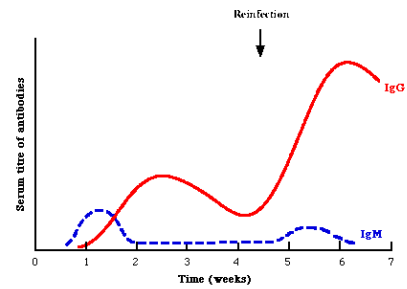
KARAKTERISTIKE PROTUTIJELA

Karakteristike	IgG	IgM	IgA	IgD	IgE
% ukupnih IgG	75	9	15	0.2	0.004
Prolaz kroz placentu	+	-	-	?	-
Poluvrijeme života u krvi (dani)	21	10	6	3	2
Aktivacija komplementa					
Klasični put	++	+++	-	-	-
Alternativni put	-	-	+	-	-
Glavna obilježja	Neutralizacija toksina, opsonizacija bakterija, aktivacija komplementa; majčina protutijela	Primarni odgovor na antigenu stimulaciju, receptor za antigene na površini ly B; aglutinacija	Sekretoma protutijela; štiti mukozne membrane	Prisutan na površini ly B, veže antigene; potiče ly B na produkciju protutijela	Medijator alergijskog odgovora; rezistencija na helminte

PRIMARNI I SEKUNDARNI IMUNOSNI ODGOVOR



IMUNOSNI ODGOVOR



ZNAČAJKE HUMORALNOG IMUNOSNOG ODGOVORA KOJE SE KORISTE U SEROLOGIJI

- Dinamika stvaranja protutijela
- Primarni odgovor
- Sekundarni anamnestički odgovor
 - Specifičan (monoklonski)
 - Nespecifičan (poliklonski)

SEROLOGIJA

=

DIJAGNOSTICIRANJE BOLESTI
ODREĐIVANJEM REAKCIJE
PROTUTIJELA I ANTIGENA

UZORCI ZA SEROLOŠKU OBRADU

PARNI SERUMI

- **prvi ili akutni serum**
 - uzeti što ranije u početku bolesti
- **drugi ili parni (rekonvalescentni serum)**
 - uzeti oko 2-3 tjedna kasnije

POSTUPAK S UZORKOM

- u **sterilnu epruvetu** (bez dodataka) u aseptičkim uvjetima uzeti **5-10 mL pune krvi**
 - ostaviti na sobnoj temperaturi da se odvoji koagulum
 - centrifugirati (na 3000 rpm / 5-10 minuta)
 - oprezno odvojiti supernatant - **SERUM**
- **ČUVANJE** seruma na +2-8° C do 7 dana
 - za dulje čuvanje uzorke alikvotirati i čuvati na -20° C
- **TRANSPORT UZORAKA** u adekvatno zaštićenim posudama u hladnim uvjetima

**KVALITETA UZORKA ZNAČAJNO UTJEČE NA
REZULTATE TESTIRANJA !**

ODREĐIVANJE PROTUTIJELA U DRUGIM TJELESNIM TEKUĆINAMA

LIKVOR, OČNA VODICA

PROBLEM PORIJEKLA PROTUTIJELA !

ANTIBODY INDEX (AI)

- Uz **TEKUĆINU** iz koje se žele odrediti protutijela obavezno je **ISTOVREMENO UZETI SERUM!**
- Iz istovremeno oduzetih uzoraka, npr. **likvora i seruma**, uz određivanje specifičnih protutijela treba odrediti i **ukupne imunoglobuline i/ili albumin i/ili “surogat” protutijela**

PROCJENA KRVNO-MOŽDANE MEMBRANE

1. "normalan" kvocijent IgG

$$Q_{\text{ukupni}} < Q_{\text{lim}}$$

$$AI = Q_{\text{spec}} : Q_{\text{ukupni}}$$

Q_{spec} = specifični IgG u likvoru : specifični IgG u serumu

Q_{ukupni} = ukupni IgG u likvoru : ukupni IgG u serum

Reiberova formula za procjenu krvno-moždane membrane

2. povećani kvocijent IgG

npr. u multiplom mijelomu ili nekim kroničnim bolestima

$$Q_{\text{ukupni}} > Q_{\text{lim}}$$

$$AI = Q_{\text{spec}} : Q_{\text{lim}}$$

$$Q_{\text{lim (IgG)}} = 0.93 \times \sqrt{Q_{\text{alb}}^2 + (6 \times 10^{-6})} - 1.7 \times 10^{-3}$$

$$Q_{\text{lim (IgM)}} = 0.67 \times \sqrt{Q_{\text{alb}}^2 + (120 \times 10^{-6})} - 7.1 \times 10^{-3}$$

Interpretacija nalaza likvorskih protutijela *antibody indeks AI*

- AI 0.5-1.5
 - Referentne vrijednosti za zdrave osobe
 - Nema intratekalne sinteze
- AI 1.5-2.0 (4.0)
 - Granični nalaz
- AI > 2.0 (4.0)
 - Značajan nalaz likvorskih protutijela

METODE U SEROLOGIJI

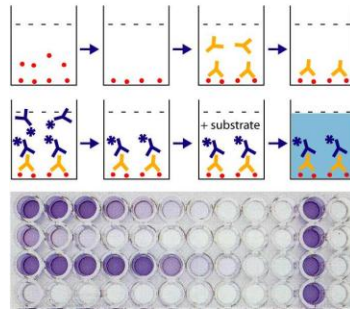
- REAKCIJA VEZANJA KOMPLEMENTA (RVK)
 - Bakterijska
 - Latex
 - Hemaglutinacija
 - Inhibicija hemaglutinacije
- REAKCIJA PRECIPITACIJE
 - Precipitacija u epruveti
 - Gel imunodifuzija
 - Protusmjerna imunoelktroforeza
- NEUTRALIZACIJA
 - Virusna
 - Toksina

NOVIJE METODE

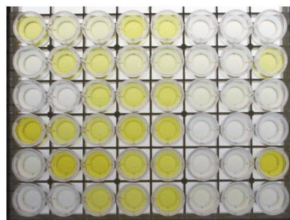
- RADIOIMUNOTEST (**RIA**)
- FLUORESCENTNI IMUNOTEST (**IFA**)
- ENZIMSKI IMUNOTEST (**EIA, ELISA**)
- IMUNOBLOT / WESTERN BLOT (**WB**)
- REKOMBINANTNI IMUNOBLOT TEST (**RIBA**)

- TESTOVI AVIDNOSTI

EIA – enzyme immunoassay ELISA – enzyme linked immunosorbent assay



EIA / ELISA



ELISA assay
(b)

IZRAŽAVANJE REZULTATA

- **Reaktivno**
- **Nereaktivno**
- **Granično ("siva zona")**

- **Točka "cut off"**

- **KVALITATIVNO:** pozitivno / negativno

- **KVANTITATIVNO:** jedinice prema napatku proizvođača:
 - OD (ekstinkcija)
 - Index (ratio)
 - VE (value ELISA)
 - IU/mL
 - U/mL
 - AU/mL
 - titar

ODREĐIVANJE STAROSTI INFEKCIJE

- PRAĆENJE TITRA PROTUTIJELA U PARNIM SERUMIMA
- TESTOVI AVIDNOSTI IgG
 - **AVIDNOST** = čvrstoća veze antigena i protutijela
 - protutijela **veće** avidnosti javljaju se **kasnije** tijekom infekcije
 - promjena niske avidnosti u visoku unutar 6 mjeseci!

TUMAČENJE SEROLOŠKOG NALAZA

KLINIČAR ↔ MIKROBIOLOG

VAŽNI ČIMBENICI ZA INTERPRETACIJU SEROLOŠKIH NALAZA

- vrijeme oduzimanja uzorka
- nespecifični poticaji imunog odgovora
- ukrižene reakcije
- anamnestički odgovor

Vrijeme oduzimanja uzorka

- Parni uzorci
 1. akutni serum
 2. rekonvalescentni serum
- SEROKONVERZIJA
- PORAST TITRA PROTUTIJELA
- POJAVA SPECIFIČNIH IgM PROTUTIJELA

Nespecifični poticaj

- POLIKLONSKA AKTIVACIJA LIMFOCITA B
 - daje stvarne pozitivne rezultate

Ukrižene reakcije

- ZAJEDNIČKE ANTIGENE DETERMINANTE
 - npr.
 - HSV-1 vs. HSV-2
 - mumps vs. parainfluenca
 - HHV-6 vs. CMV

Anamnestički odgovor

- POTICANJE REAKTIVACIJE IMUNOSNOG ODGOVORA
 - proizvodnja protutijela za ranije upoznat antigen
 - “original antigenic sin”*

RAZLOZI LAŽNO NEGATIVNIH SEROLOŠKIH REZULTATA

- VRIJEME UZIMANJA UZORAKA
 - prije stvaranja specifičnih protutijela
- KOMPETICIJA IgM i IgG za vezna mjesta na nosaču
 - IgM lažno negativan u suvišku IgG
- LOKALNE INFEKCIJE (npr. genitalni HSV, *C.trachomatis*)
- REKURENTNA INFEKCIJA HSV
 - nema porasta titra protutijela
- IMUNONEKOMPETENTNI
 - imunokompromitirani koji ne razvijaju porast protutijela ili do porasta dolazi sporo - djeca

RAZLOZI LAŽNO POZITIVNIH SEROLOŠKIH REZULTATA

- ANTIGLOBULINI (reumatoidni faktor IgM)
- UKRIŽENA REAKTIVNOST
- POLIKLONSKA AKTIVACIJA LIMFOCITA B
- NEKVALITETAN UZORAK
 - ikteričan, hemoliziran, lipemičan, kontaminiran
- Anamnestički odgovor
- Transplacentarni prijenos
- Transfuzije

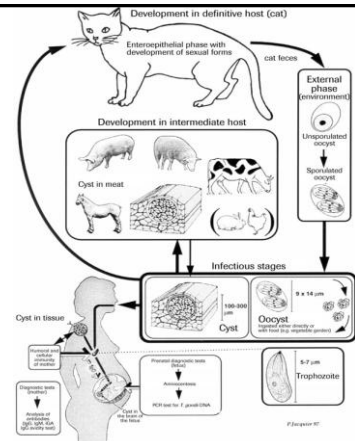
EVALUACIJA TESTOVA

- OSJETLJIVOST (%)
 - $\text{Stvarno pozitivni} / (\text{stvarno pozitivni} + \text{lažno negativni}) \times 100$
- SPECIFIČNOST (%)
 - $\text{Stvarno negativni} / (\text{stvarno negativni} + \text{lažno pozitivni}) \times 100$
- POZITIVNA PREDIKTIVNA VRIJEDNOST (%)
 - $\text{Stvarno pozitivni} / (\text{stvarno pozitivni} + \text{lažno pozitivni}) \times 100$
- NEGATIVNA PREDIKTIVNA VRIJEDNOST (%)
 - $\text{Stvarno negativni} / (\text{stvarno negativni} + \text{lažno negativni}) \times 100$

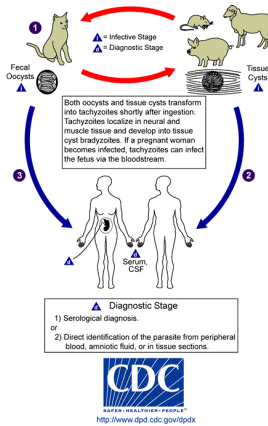
KATEGORIZACIJA RUTINSKIH METODA U VIROLOŠKOJ DIJAGNOSTICI

Virus	Kultura stanica	Izravna dijagnostika (EIA, aglutinacija)	Mikroskop (EM, DFA, imunohistokemija)	DNA/RNA	Imunosni odgovor
Arbo (KME)	C	D	C	B	A
CMV	A	D	B	B	A
EBV	D	D	B	B	A
Parvo B19	D	C	C	A	A
Mumps	A	C	B	B	A
Rubela	B	D	C	B	A
Morbili	B	C	B	B	A
HSV	A	B	A	B	B
VZV	A	D	A	C	B
Adeno	A	A	B	C	B
Influenza	A	A	A	C	B
Parainfluenza	A	C	A	C	C
RSV	A	A	A	C	C
Entero	A	D	D	A	C
HHV-6	C	C	C	B	C

D I J A G N O S T I K A T O K S O P L A Z M O Z E



T O K S O P L A Z M O Z A



Serološka dijagnostika toksoplazmoze

- Neizravna dijagnostika – detekcija protutijela
- IMUNOSNI ODGOVOR
- Osnovna i najpouzdanija uz pravilnu interpretaciju!

Toxoplasma gondii IgM

- Javljaju se rano - unutar jednog tjedna nakon početka infekcije
- Obično nestaju unutar 6-9 mjeseci nakon infekcije
- Mogu perzistirati više od 18 mjeseci
- Perzistiraju predugo (godinama) da bi bili dobar indikator recentne infekcije!
- IgM u novorođenčadi **retestirati** nakon 7-10 dana – prijelaz od majke pri porodu !?
 - poluvrijeme života IgM = 3-5 dana

Toxoplasma gondii IgG

- Javljaju se kasnije, postepeno rastu
- Vrh oko 2-5 mjeseci nakon početka kliničkih simptoma
- Pokazatelj imunosti
- **Praćenje dinamike protutijela** pomaže u određivanju vremena infekcije
- **TESTOVI AVIDNOSTI IgG**
 - promjena niske avidnosti u visoku unutar 6 mjeseci!

Toxoplasma gondii IgA

- Pojava oko 5 dana nakon IgM
 - Nestaju kad IgG počine padati, nešto ranije nego IgM
 - Obično nestaju nakon 6-12 mjeseci
 - Perzistira mjesecima (do više od 1 godine)
- kontroverze je li IgA pouzdaniji indikator konatalne infekcije nego IgM (?)

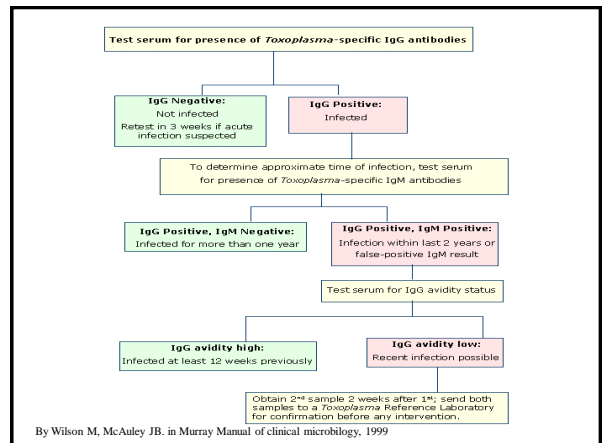
SEROLOŠKA DIJAGNOSTIKA TOKSOPLAZMOZE - I

- Određivanje protutijela IgM, IgG, IgA, (IgE)
- **Metode:**
 - Enzimski imunotest (EIA, ELISA)
 - Imunosorbentni aglutinacijski test (ISAGA)
 - Imunofluorescencija (IFA)
- Izražavanje testova – jedinice:
 - internacionalne jedinice, titar, indeks, vrijednost optičke gustoće

□ TEST AVIDNOSTI PROTUTIJELA IgG

SEROLOŠKA DIJAGNOSTIKA TOKSOPLAZMOZE - II

- Sabin – Feldmanov dye test
 - test bojanja tahizoita metilenom
 - Tahizoiti izgube afinitet za metilensko modrilo u prisutnosti protutijela IgG
- Indirektna hemaglutinacija (IHA)
- RVK



Serološka dijagnostika toksoplazmoze

- Negativan IgM i/ili IgG isključuje **akutnu** toksoplazmozu
 - U akutnoj infekciji oba moraju biti prisutna!
- Ako je screening IgG pozitivan treba napraviti IgM
- Kod sumnje na akutnu infekciju uzorke poslati u **referentni centar** za dijagnostiku toksoplazmoze
 - IgA (IgE), test avidnosti protutijela

Interpretacija nalaza komercijalnih seroloških testova za *T.gondii* I-III

IgG	IgM	Nalaz i/ili interpretacija za odrasle
Negativno	Negativno	Nema serološke potvrde infekcije s toksoplazmom.
Negativno	Granično	Moguće rana faza akutne infekcije ili lažno pozitivno. Uzeti novi serum – ako je drugi serum opet isti vjerojatno nema infekcije s toksoplazmom.
Negativno	Pozitivno	Moguće akutna infekcija ili lažno pozitivno. Uzeti novi serum – ako je drugi serum opet isti vjerojatno lažno-pozitivno.

Interpretacija nalaza komercijalnih seroloških testova za *T.gondii* II-III

IgG	IgM	Nalaz i/ili interpretacija za odrasle
Granično	Negativno	Neodređeno. Uzeti novi serum za testiranje ili retestirati prvi na IgG s drugim tipom testa.
Granično	Granično	Neodređeno. Uzeti novi serum za testiranje IgM i IgG.
Granično	Pozitivno	Moguće akutna infekcija s toksoplazmom. Uzeti novi serum za testiranje IgM i IgG. Ako je rezultat drugog seruma isti ili IgG postane pozitivan, poslati oba seruma u referentni laboratorij na dodatna testiranja.

Interpretacija nalaza komercijalnih seroloških testova za *T.gondii* III-III

IgG	IgM	Nalaz i/ili interpretacija za odrasle
Pozitivno	Negativno	Infekcija s toksoplazmom prije više od godinu dana.
Pozitivno	Granično	Infekcija toksoplazmom vjerojatno prije više od godinu dana ili lažno pozitivna reakcija IgM. Uzeti novi serum za testiranje IgM. Ako je rezultat drugog seruma isti, oba seruma treba poslati referentni laboratorij na dodatna testiranja.
Pozitivno	Pozitivno	Moguće nedavna infekcija unutar zadnjih 12 mjeseci ili lažno pozitivna reakcija IgM. Poslati uzorak u referentni laboratorij na dodatna testiranja.

Dokaz konatalne toksoplazmoze

- Potvrđena akutna toksoplazmoza tijekom trudnoće
- Dokaz parazita - PCR, kultivacija
- Protutijela IgM u fetalnoj krvi
 - Potvrditi nalaz u novom uzorku nakon jednog tjedna
- IgG prolaze transplacentarno, dok IgM i IgA ne prolaze
- U 20-30% inficiranih fetusa ne mogu se dokazati IgM, ni IgA
 - Kontrola UZV
 - rane promjene mozga (hidrocefalus, kalcifikati), jetre (povećanje, kalcifikati, ascites)

RAZLIKOVANJE AKUTNE OD KRONIČNE TOKSOPLAZMOZE

- **Nemoguće iz jednog uzorka seruma!**
- Praćenje dinamike titra protutijela
- Test avidnosti IgG
- Direktna dijagnostika – PCR, kultivacija uzročnika

Lyme boreliozna (LB)



UZROČNIK

Borrelia burgdorferi sensu lato:

Borrelia burgdorferi sensu stricto

Borrelia afzelii

Borrelia garinii

Borrelia spielmanni

Borrelia lusitaniae

Borrelia bissettii

Borrelia valaisiana

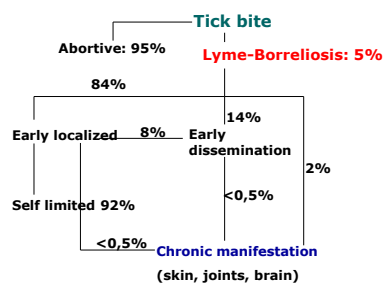
Kliničke manifestacije LB

- **LB JE MULTISISTEMNA UPALNA BOLEST!**
- Simptomi raznoliki, nespecifični:
 - upućuju na borelije
 - potpuno nespecifični
- Često diferencijalno dijagnostički nejasno
- ~64% pacijenata s LB se ne sjeća ugriza krpelja!

Lyme borelioza (LB)

- Povezana s genospecijesom koji uzrokuje bolest
- *Borrelia afzelii*: kožne manifestacije (ACA)
 - *Borrelia garinii*: neuroborelioza
- *Borrelia burgdorferi* sensu stricto: artritis

Lyme borelioza (LB)



Daghofer, 2005.

LB faza 1.

- 5-40 dana (najčešće 10 dana)
- Kožna manifestacija:
 - Erythema (chronicum) migrans (EM);
 - Lymphadenosis cutis benigna (borelijski limfocitom)
- Opći simptomi: “flu-like” bolest, mialgija, artralgija

LB faza 2.

- Rana diseminacija: 2-12 tjedana
 - Karditis
 - Neuroborelioza - Bannwarthov sy. – meningo-poliradikuloneuritis
 - Artritis

LB faza 3.

- Kronične manifestacije: 6-12 mjeseci
 - Dermatoborelijoza: *Acrodermatitis chronica atrophicans* (ACA)
 - Neuroborelijoza:
 - ACA - *associated mono(poly)-neuritis*;
 - progresivni encefalomijelitis
 - Artritis: *Mono (poly-) arthritis*

DIJAGNOSTIKA LB

- **KLINIČKA SLIKA** - tipične kliničke manifestacije
- **MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA**
 - IZRAVNA
 - KULTIVACIJA, IZOLACIJA
 - PCR
 - NEIZRAVNA
 - SEROLOŠKO TESTIRANJE

SEROLOŠKI TESTOVI

- Određivanje specifičnih IgM i IgG protutijela
- **Uzorci:** serum, likvor, sinovijska tekućina

Nastanak specifičnih protutijela u LB ovisi o:

- fenotipskim karakteristikama borelija
- različitoj antigenskoj strukturi borelija
- različitoj geografskoj rasprostranjenosti borelija
- sposobnosti bolesnika da reagira na infekciju

***Borrelia burgdorferi* IgM**

- Pojava nekoliko tjedana nakon početka bolesti
- Vrh nakon 3-6 tjedana
- Pad nakon 6 mjeseci
- Moguća perzistencija godinama nakon terapije
- Ne mora biti znak akutne infekcije!

***Borrelia burgdorferi* IgG**

- Pojava nekoliko tjedana nakon IgM
- 4-6 tjedana nakon infekcije $\geq 90\%$ pacijenata ima prisutna IgG
- Vrh 5 mjeseci do 7 godina nakon početka bolesti
- Spori pad titra protutijela

IMUNOSNI ODGOVOR NA *B. burgdorferi* sensu lato

- Javlja se relativno **kasno** - nekoliko tjedana do nekoliko mjeseci nakon infekcije
 - protutijela IgM nakon 3-6 tjedana
 - protutijela IgG od 6. tjedna do nekoliko mjeseci kasnije
- Kod nekih pacijenata imunosni odgovor se **ne razvija**
 - imunosna nereaktivnost bolesnika na infekciju
 - slabi ili spori reaktori
- Specifična protutijela **nisu protektivna**
 - dijagnostičko značenje
- Prisutna u zdravih osoba

Metode određivanja specifičnih protutijela IgM i IgG nakon infekcije *B. burgdorferi* sensu lato

- Imunoenzimski test (EIA)
- Imunofluorescentni test (IFA)
- Imunoblot test (Western blot (WB))
- Testovi hemaglutinacije

Serološki testovi

- Nisu standardizirani
- Specifičnost i osjetljivost je različita
- **Testovi se razlikuju prema:**
 - vrsti borelije, odnosno soju unutar vrste od kojeg se pripravlja antigen
 - načinu pripreme antigena
 - cijela borelija
 - pročišćeni borelijski antigeni
 - rekombinantni antigeni
 - metodi testiranja

Kriteriji serološke dijagnostike prema Centers for Disease Control (CDC)

- Serološka dijagnostika u dva koraka
- Sve reaktivne i granične rezultate EIA ili IFA treba dodatno testirati imunoblot (WB) testom
- Ako je nalaz WB negativan, reaktivne EIA/IFA testove treba interpretirati kao lažno pozitivne!

BORELIOZA NIJE SEROLOŠKA DIJAGNOZA

• TIPIČAN SEROLOŠKI NALAZ ZA LB FAZA 1.

- IgG negativno, IgM pozitivno
- AT detektirana u 20-50%

• ALI:

- Protutijela se mogu pojaviti kasno
- IgM se uopće ne mora pojaviti (oprez: reinfekcije)
- IgM može biti pozitivan mjesecima (ekstremno godinama) čak i nakon uspješne antibiotske terapije
- Ustrajno negativan IgG mogući je pokazatelj uspješnosti terapije faze 1.

LYME BORELIOZA

TIPIČAN SEROLOŠKI NALAZ ZA LB FAZA 2.

- IgG (slabo) pozitivan, IgM pozitivan
- AT detektirana u 70-90 %

•ALI:

- IgG mogu ostati negativna
 - rijetko; većinom u djece s parezom facialis
- IgM može biti negativan (kao u reinfekciji)
- Neuroboreliozu treba dijagnosticirati jedino u paru likvor/serum
- Likvor/ serum indeks koji upućuje na intratekalnu produkciju AT može biti pozitivan unatoč adekvatnoj terapiji
- Porast titra IgG može se dogoditi i tijekom terapije

BORELIOZA JE KLINIČKA DIJAGNOZA

TIPIČAN SEROLOŠKI NALAZ ZA LB FAZA 3.

- IgG visoki titar, IgM pozitivan ili negativan
– AT detektirana u gotovo 100%

• Negativan IgM može još uvijek značiti progresivnu fazu borelioze

• !!! Visoki IgG bez kliničkih simptoma nije indikacija za antibiotsku terapiju

HUMANI HERPESVIRUSI

OZNAKA	VIRUS	PODOBITELJ	BOLESTI
HHV-1	Herpes simplex virus - 1 (HSV-1)	α_1	Gingivostomatitis, herpes labialis, keratokonjunktivitis, encefalitis, genitalni herpes
HHV-2	Herpes simplex virus - 2 (HSV-2)	α_1	Genitalni herpes, neonatalne infekcije, meningitis, gingivostomatitis, herpes labialis
HHV-3	Varicella zoster virus (VZV)	α_2	Vodene kozice, zoster
HHV-4	Epstein-Barr virus (EBV)	γ_1	Infektivna mononukleoza (IM); Burkittov limfom; nazofaringealni karcinom; limfoproliferativne bolesti, XLP; T-stanični limfom; Hodgkinov limfom
HHV-5	Cytomegalovirus (CMV)	β_1	Asimptomatska infekcija; IM; retinitis; infekcije u imunokompromitiranih; konatalne infekcije
HHV-6	Human herpesvirus - 6 (HHV-6)	β_2	Mononukleoza; roseola infantum (Exanthema subitum)
HHV-7	Human herpesvirus - 7 (HHV-7)	β_2	Mononukleoza?; roseola infantum; pyitiasis rosea?
HHV-8	Human herpesvirus - 8 (HHV-8, KSHV)	γ_2	Kaposiev sarkom; multicentrična Castelmanova bolest; primarni efluzijski (tekuci) limfom (PEL)

Epstein-Barrov virus (EBV)

- **VCA (viral capsid antigen)**
 - VCA IgM pojava u 2-3 tjednu infekcije
 - VCA IgG pojava 4-7 tjedana nakon pojave simptoma; perzistira doživotno
- **EA-D (early antigen diffuse)**
 - EA-D IgG vrh u 3. tjednu
 - prisutni tijekom replikacije virusa
- **EBNA (EBV nuclear antigen)**
 - marker prijelaza akutne u rekonvalescentnu fazu (6-12. tjedan); uglavnom perzistiraju doživotno

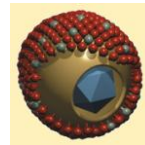
EBV

- **PRIMARNA INFEKCIJA**
 - AKUTNA FAZA
 - “PROLAZNA” SUBAKUTNA FAZA
 - REKONVALESCENTNA FAZA
- **RANIJA (PROŠLA) INFEKCIJA**
- **REAKTIVACIJA**

Serološki status u EBV infekciji

VCA IgM	VCA IgG	EA-D IgG	EBNA IgG	EBV infekcija
-	-	-	-	EBV negativan
-	+	-	+	Ranija (prošla) EBV infekcija
-/+ [#]	+ [#]	+ [#]	+ [#]	
+	+	+	-	Primarna EBV infekcija (akutna faza)
+	-	+/-	-	
+	+	+	+	Primarna EBV infekcija (prolazna faza)
-	+	-	-	Primarna EBV infekcija (rekonvalescentna faza)
-	+	+	+	
-/+ [#]	+ [#]	+ [#]	+ [#]	Reaktivacija EBV infekcije

Cytomegalovirus (CMV)



• Anti-CMV IgM

- Pojava 3-4 dana nakon infekcije
- Pad nakon nekoliko tjedana i dalje sporo kroz 4-6 mjeseci
- Trajanje do 8 mjeseci, a u transplantiranih do 2 godine

• Anti-CMV IgG

- Pojava 1 tjedan nakon pojave IgM

Problemi interpretacije serološkog nalaza u CMV infekciji

- **RAZLIKOVANJE PRIMARNE I SEKUNDARNE INFEKCIJE**
 - Reaktivacija može inducirati IgM
- **HETEROTIPNI IMUNI ODGOVOR**
 - ukrižena reaktivnost
- **INDUKCIJA POLIKLONOG IMUNOSNOG ODGOVORA LIMFOCITA B**

Serološka dijagnostika HSV

• PRIMARNA INFEKCIJA

- **SEROKONVERZIJA** – kasno, nakon 2-3 tjedna
 - Zajednički epitopi između HSV-1 i HSV-2 rezultiraju ukriženom reaktivnosti protutijela
 - Rekombinantni antigeni u testovima

• REKURIRAJUĆE INFEKCIJE

- **NEMA POUZDANE SEROLOŠKE METODE !!**
- **NAJČEŠĆE NEMA ZNAČAJNE PROMJENE TITRA PROTUTIJELA !!**

Anti-HSV IgM

- Neonatalna HSV infekcija
- Recentna primarna genitalna infekcija trudnice

– CNS infekcije

- Molekularna dijagnostika !!!
- Određivanje protutijela u likvoru, iako se IgM javljaju kasno

Varicella zoster virus (VZV)

• Anti VZV IgM

- Pojava 2-5 dana nakon simptoma
- Vrh 8-11 dana kasnije
- Pad unutar nekoliko tjedana nakon smirivanja simptoma
- ~Trajanje ~3 mjeseca

Varicella zoster virus (VZV)

• Anti-VZV IgG

- Pojava 4-6 dana nakon simptoma
- Vrh 4-8 tjedana kasnije
- Postepeni pad tijekom nekoliko godina
- Doživotno prisutna u niskom titru

Varicella zoster virus (VZV)

• Anti-VZV IgA

- Pojava 3-5 dana nakon početka osipa
- Trajanje 1-3 tjedna nakon smirivanja osipa; povišen 1-2 mjeseca; postepeni pad
- Obično nedetektabilna 4 mjeseca nakon smirivanja infekcije
- ~ 10% odraslih može imati detektabilnu nisku razinu IgA
- **Značajan pokazatelj reaktivacije VZV !**