

Algoritmus laboratorního vyšetření biologických vzorků získaných od pacienta 16letého a mladšího s podezřením na nový typ těžké akutní hepatitidy nejasné etiologie –aktualizace k 12.5.2022

Vzhledem k závažnosti onemocnění je nutné, aby pacientovi byla provedena **základní diferenciálně diagnostická vyšetření**, včetně vyloučení infekcí známými primárně hepatotropními viry, **ve zdravotnickém zařízení, které mu poskytuje zdravotní péči**. Vyšetření v místě klinické péče je vždy rychlejší a obvykle optimálnější z hlediska řešení akutního problému. Zdravotnické zařízení by se mělo řídit doporučením ECDC (viz <http://www.szu.cz/tema/prevence/narust-pripadu-tezke-akutni-hepatitidy-nezname-etologie-u>).

Některá specializovaná laboratorní vyšetření podle aktuálně mezinárodně platného výčtu (viz tabulka) však mohou být rutinně nedostupná. SZÚ je schopno je strukturovaně provést podle míry pravděpodobnosti účasti jednotlivých mikrobiálních agens na klinickém stavu pacienta.

Výběr pacienta, postup při vyšetření a spolupráce se SZÚ

- A) pacient **splňuje case definici podle ECDC** (viz <https://www.ecdc.europa.eu/en/default/files/documents/Hepatitis-of-unknown-origin-Reporting-Protocol.pdf>)

Zkrácená Case definice:

Potvrzený případ: nepoužívá se

Pravděpodobný případ: osoba ve věku 16 let a mladší s projevy akutní hepatitidy (vyloučena etiologie VHA, VHB, VHC, VHD a VHE) s hodnotami AST nebo ALT > 500 IU/l (tj. > 8,5 μ kat/l)

Případ v epidemiologické souvislosti: osoba s projevy akutní hepatitidy (vyloučena etiologie VHA, VHB, VHC, VHD a VHE) jakéhokoliv věku, která je blízkým kontaktem zachyceného „Pravděpodobného případu“

- B) **přehled doporučených diferenciálně diagnostických vyšetření** podle doporučení ECDC (viz <http://www.szu.cz/tema/prevence/narust-pripadu-tezke-akutni-hepatitidy-nezname-etologie-u>) je uveden v následující tabulce:

Tabulka

Typ biologického materiálu	Metoda	Patogen
Krev (nesrážlivá v EDTA)	Sérologie	Hepatitida A, B, C, D*, E, cytomegalovirus (CMV), Epstein-Barrové virus (EBV), <i>Varicella</i> , HIV, SARS-CoV-2 anti-S (antiS1, anti S1-RBD), SARS-CoV-2 anti-N, adenoviry
	Sérologie	<i>Brucella spp</i> , <i>Bartonella henselae</i> , <i>Borrelia burgdorferi</i> (pokud je to epidemiologicky vhodné)
	Kultivace bakterií	V případě klinické indikace např. horečka, podle nastavených postupů pro bakteriální diagnostiku
	Izolace na tkáňových kulturách	Adenoviry, CMV, EBV, HSV, viry chřipky (jen v případě pozitivní PCR detekce)

	PCR**	Adenoviry, enteroviry, CMV, EBV, HSV, HHV6 a 7, parechoviry, hepatitida A, C, E
	<i>Toxikologický screening</i>	<i>Kapalná chromatografie/Hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením (LC/HRMS)</i> <i>Plynová chromatografie/Hmotnostní spektrometrie (GC/MS)</i> <i>Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICPMS), v případě kontrolní studie</i>
Stěr z horních cest dýchacích (nasopharynx + oropharynx v kombinaci)	PCR	Screening respiračních virů pomocí multiplex PCR včetně virů chřipky A/B a subtypů/linií, adenovirů, parainfluenzy 1 - 4, rhinovirů, respiračního syncytiálního viru A/B, metapneumoviru A/B, bocavirů 1-3, enterovirů, rhinovirů, sezónních koronavirů a SARS-CoV-2, případně herpetických virů (CMV, EBV, HSV, HHV6 a 7)
	Kultivace bakterií/izolace virů	Streptokoky skupiny A, viry chřipky A/B, RSV, ADV, EV, SARS-CoV-2 (izolace virů pouze v případě pozitivní PCR detekce)
Stolice	PCR	Screening pomocí multiplex PCR pro detekci norovirů, enterovirů, rotavirů, astrovirů, sapovirů
	PCR	Střevní bakteriální patogeny vč. <i>Salmonella sp.</i> (pokud se PCR používá pro screening)
	Kultivace bakterií	<i>Campylobacter, Salmonella, Shigella, E.coli 0157, případně 026, 0103, 0111 a 0145.</i>
	Izolace na tkáňových kulturách	Adenoviry, enteroviry, rotaviry
Moč	PCR	Leptospiry, legionely
	Kultivace bakterií	V případě klinické indikace podle nastavených postupů pro bakteriální diagnostiku
	<i>Toxikologický screening</i>	<i>ICPMS</i>

* Hepatitida D se testuje pouze při průkazu hepatitidy B;

** Včetně záznamu hodnoty Ct.

Doplňující poznámky k některým vyšetřovaným markerům

- 1) základní screening pro vyšetření virových hepatitid. VHB: HBsAg a anti-HBc, VHC: anti-HCV, VHA: anti-HAV IgM a anti-HAV IgG, VHE: anti-HEV IgM a anti-HEV IgG, VHD: anti-HDV
- 2) pro ucelenou diferenciální diagnostiku je vhodné zvážit vyšetření moči na přítomnost leptospir, legionel a CMV, i tento materiál je možné zaslat s komentářem do SZÚ

- 3) pro průkaz Shiga toxin-produkující *E. coli* (STEC) je ideální zaslání vzorku **stolice**. Možné je také zaslání vyizolovaných čistých kmenů *E. coli*, a to zejména séroskupiny O26, O55, O103, O111, O145 a O157. Kromě těchto séroskupin je vhodné zaslat pro podrobnější analýzu jakékoliv kmeny *E. coli* získané od těchto pacientů, optimálně reprezentativní kmeny různých morfologických typů.

C) Laboratorní vyšetření v SZÚ

Biologické vzorky od všech takto nemocných dětí (podle popisu v bodech D-F) je třeba doručit **do SZÚ co nejdříve po vyslovení podezření** na hepatitidu neznámé etiologie v souladu s doporučeními ECDC.

Zároveň s nimi je vždy nutné doručit aktuálně kompletní dokumentaci provedených vyšetření včetně informace o testu (název), který byl pro dané vyšetření použit.

1) Povinné vyšetření v SZÚ

Elektronová mikroskopie (ELMI)

2) Ostatní diferenciatně diagnostická vyšetření k vyloučení infekční etiologie

PCR, genotypizace, sekvenace bakteriálních a virových agens, izolace viru

D) Primární klinické materiály určené k vyšetření a k zaslání do SZÚ

- 1) **Stolice na virologické vyšetření (4 x 1cm³) – ve sterilní zkumavce**
- 2) **Stolice na bakteriologické vyšetření (1x 1 cm³) – ve sterilní zkumavce bez média**
- 3) **Plná nesrážlivá krev EDTA 2-3 ml u malých dětí do 10 let, 5-9 ml u dětí starších 10 let**
- 4) **Stěr z horních cest dýchacích (HCD, nasopharynx + oropharynx v kombinaci)**
Materiály musí být zaslány ve virologickém transportním médiu, fyziologickém roztoku s ATB nikoli v lyzačním či inaktivačním médiu.

E) Sekundární materiály určené k vyšetření v SZÚ – čisté bakteriální kmeny podle doporučení ECDC (viz tabulka)

F) Podmínky transportu do SZÚ

Klinické vzorky se nesmějí mrazit, musí být doručeny do 24 hodin od odběru při **teplotě 2-8°C do SZÚ pouze v pracovních dnech mezi 7 až 14 hodinou (budova 4, zvonek „chřipka“)**. **Vždy musí být doručena krev, stolice i výtěr z HCD. Zároveň se vzorky musí být doručena dokumentace s výsledky již provedených vyšetření**

G) Souhrn základních požadovaných informací uvedených v dokumentaci k zasílanému vzorku do SZÚ

- 1) kompletní dokumentace epidemiologická, klinická a laboratorní s diagnostickým závěrem
- 2) výsledky dosud provedených vyšetření
- 3) údaje o předchozím/ch onemocnění covid-19 (datum, závažnost)
- 4) u dětí starších 5 let údaje o vakcinaci proti SARS-CoV-2 (datum, typ vakcíny, šarže)