

VIROLOGICKÁ DIAGNOSTIKA: MOŽNOSTI SÚČASNEJ VIROLOGICKEJ DIAGNOSTIKY NA SLOVENSKU Z VIROLOGICKÉHO POHĽADU

Mária Borsányiová, Zdenka Sobotová, Renáta Kissová, Cyril Klement, Shubhada Bopegamage

Práca predkladá prehľad diagnostických metód vo virológii a ich využitie na Slovensku. Má poskytnúť lepšiu orientovanosť medicínskych pracovníkov v jednotlivých metodikách, ich princípoch a využití pri diagnostike vírusových infekcií. Rozvoj molekulárnych technológií značne napomohol vývoj nových molekulárno-biologických metód, ktoré zohrávajú v diagnostike, popri klasických metódach, nezastupiteľné miesto. Spoznanie princípov jednotlivých metodík pomôže klinickým pracovníkom rozšíriť ich doterajšie poznatky virologickej diagnostiky, lepšie ozrejmiť výpovednú hodnotu výsledku virologického vyšetrenia a jeho vplyvu na liečbu pacienta.

Kľúčové slová: vírusy, diagnostika, metodiky

VIROLOGICAL DIAGNOSIS: POTENTIALS OF THE CURRENT VIROLOGICAL DIAGNOSIS IN SLOVAKIA FROM THE VIROLOGICAL VIEW

The work presents an overview of methods applied in virological diagnostics and their implementation in Slovakia. It provides general orientation in different methodologies, principles and their application in the diagnosis of viral infections to the medical personnel. The development of molecular technologies greatly progressed the use of these methods in diagnostics, which play an important irreplaceable role parallel to conventional methods. Knowledge of the principles of these methodologies will help clinicians expand their existing knowledge of the virological diagnosis, to clarify the predictive value of virological test results and their impact on patient treatment.

Key words: viruses, diagnostics, methods

Interná med. 2012; 12 (7-8): xxx-xxx

Infekčné ochorenia sú dôsledkom patologických procesov zapríčinených rôznymi patogénnymi agensmi. Po predbežnom diagnostikovaní ochorenia a zaslaní odobratej vzorky do virologického laboratória presný etiologický agens odhalí až laboratórne vyšetrenie. Klasické virologické testy v pokuse o izoláciu vírusov sú technicky aj časovo náročné, vyžadujú dlhší inkubačný čas (replikácia vírusu v infikovaných bunkách), výsledky vyšetrenia sú dostupné za 10-14 dní. Veľký pokrok v diagnostike vírusových infekcií nastal rozpracovaním a zavedením moderných molekulárnych metód, ktoré dokážu rýchlejšie poskytnúť výsledok (5-24 hod. v závislosti od použitej metodiky), no nedokazujú vírus ako infekčný agens, poukazujú len na jeho prítomnosť v skúmanej vzorke. Interpretácia výsledkov virologických vyšetrení vyžaduje spoluprácu klinického lekára s virológom. Komplexný pohľad je často dôležitejší než samotný výsledok testu, preto etiologickú úlohu zisteného agensa treba zvažovať a vyhodnocovať s ohľadom na klinický priebeh a epidemiologickú súvislosť ochorenia. Pre úspešnú aplikáciu virologickej laboratórnej diagnostiky je nevyhnutná priama spolupráca klinického pracoviska s laboratóriom.

Úspešná virologická diagnostika predpokladá správny odber a transport materiálu. Miesto odberu a druh odobratej vzorky závisia od klinického obrazu, poznatkov o patogenéze predpokladaných vírusov, štádia ochorenia a dynamiky tvorby imunitnej odpovede. Počas inkubačnej doby a v prvých štádiách objavenia sa klinických príznakov je úspešnosť izolácie vírusu najväčšia, v neskoršom období stúpa hladina protilátok špecifických pre vírus. Optimálny odber predpokladá zaslanie materiálu na izoláciu vírusu

(z miesta, kde predpokladáme najväčšie množstvo vírusu) najneskôr do 5.-6. dňa od prepuknutia príznakov ochorenia, ako aj vzorku akútneho séra (detekcia protilátok triedy IgM). Druhá vzorka séra sa odoberie v štádiu rekonvalescencie (o 2-3 týždne neskôr) na dôkaz významného vzostupu protilátok triedy IgG špecifických pre vírus. Preprava materiálu by mala byť čo najrýchlejšia, prípadne treba zabezpečiť suché chladenie skúmavky v rozmedzí 4-12 °C⁽¹⁾. Územne príslušné okresné alebo krajské mikrobiologické pracovisko poskytne dôležitú informáciu o odbere a transporte vzorky ako aj o tom, kam je vzorku potrebné zaslať.

Laboratórna diagnostika vírusových infekcií (LDVI) je priama a nepriama podľa toho, či dokazujeme priamo vírus (alebo jeho časti – antigény, nukleovú kyselinu) alebo imunitnú odpoveď organizmu vyvolanú prítomnosťou vírusu. *Priama diagnostika* predstavuje izoláciu a identifikáciu vírusu na vnímavom detekčnom systéme (v bunkovej kultúre, na zvieratách alebo kuracích embryách); priamu detekciu vírusového antigénu alebo jeho nukleovej kyseliny (NK); *nepriama diagnostika* sa opiera o dôkaz protilátkovej odpovede organizmu na infekčný agens.

Priamy dôkaz vírusov. LDVI sa zakladá predovšetkým na dôkaze prítomnosti vírusu vo vzorke klinického materiálu. Možností priameho dôkazu vírusov je niekoľko: dôkaz a) morfológicky typických častíc (elektrónová mikroskopia); b) infekčného agensa (izolácia vírusu); c) vírusových antigénov (sérologickými metódami); d) nukleovej kyseliny vírusu (molekulárno-biologické metódy)⁽²⁾.

Elektrónová mikroskopia (EM) má svoje nezastupiteľné miesto predovšetkým pri diagnostike vírusov, ktoré sa nedarí kultivovať, majú charakteristický tvar viriónu a pre

ktoré nie sú dostupné vhodné imunologické testy. V EM sa pozorujú tiene povrchových štruktúr vírusov vo vzorke. Výhodou tejto metódy je rýchlosť uskutočnenia, veľké zväčšenie (umožňuje pozorovať objekty menšie ako 2 µm), veľké rozlíšenie (0,1 nm) a veľká hĺbka ostrosti (niekoľko mm). Najviac sa EM uplatnila pri detekcii vírusov v extraktoch stolíc pri identifikácii potenciálnych vírusových patogénov spôsobujúcich akútne gastroenteritidy. Nevýhodou je potreba veľkého množstva morfológicky nepoškodených viriónov (nízka citlivosť) a nízka špecifita (veľkosť a tvar objektov).

Izolácia vírusu s následnou identifikáciou je „zlatým štandardom“, zaraďuje sa ku klasickým metódam LDVI. Pod izoláciu vírusu rozumieme jeho zachytenie a pomnoženie na vhodných objektoch za účelom jeho identifikácie. Pôvodne sa dali vírusy zachytiť len na zvieratách (dnes sa používajú len v odôvodnených prípadoch pod prísny dohľadom etickej komisie), neskôr sa zaviedli kuracie embryá (KE)⁽³⁾. K zvieratám používaným na diagnostické účely patria myši, cicajúce myšky, morčatá. Izolácia mnohých vírusov sa značne zjednodušila kultiváciou na bunkových kultúrach (ľudského alebo živočíšneho pôvodu). Bunky sa kultivujú v jednovrstvách (monolayeri) v štandardizovaných výživných roztokoch s obsahom séra (teľacie alebo konské) a antibiotík na upravenom sklenenom alebo plastickom povrchu. Vo virologickej diagnostike sa používajú 3 druhy bunkových kultúr: primárne, diploidné a stabilizované. Práca s nimi vyžaduje dodržiavanie prísnych sterilných podmienok (laminárny box s vertikálnym prúdením sterilného vzduchu)^(2,4).

Monolayer bunkovej kultúry sa infikuje klinickým materiálom. Inkubácia vírusu na bunkách trvá zvyčajne 24-48 hod. pri 37 °C, pri niektorých pomaly rastúcich vírusoch (napr. cytomegalovírus) treba čakať aj 7-30 dní. Vírus sa po namnožení nachádza vnútri buniek, ako aj vo výživnom médiu. Najčastejšie sa prítomnosť vírusu v bunkovej kultúre prejaví cytopatickým efektom (CPE), ktorý sa sleduje v inverznom optickom mikroskope. Ide o charakteristické zmeny v infikovaných bunkách, vyvolané pôsobením vírusu („marginácia chromatinu“ na vnútornej strane jadrovej membrány, zaguľacovanie a oddeľovanie buniek od podložky, zhľukovanie buniek do nepravidelných útvarov, tvorba mnohojadrových a mnohobunkových útvarov, tvorba intranukleárných alebo cytoplazmatických inklúzií).

Po izolácii vírusu nasleduje identifikácia izolátu sérotypizáciou, najčastejšie v teste *neutralizácie vírusu (VNT)*. Princípom je neutralizácia infekčnosti vírusu známym sérotypovo špecifickým antisérom. Pre vysoký počet sérotypov ľudských vírusov je použitie monovalentných antisér nepraktické, časovo náročné a drahé. Celý proces typizácie sa značne zjednodušil zavedením medzinárodne štandardizovaných príslušných špecifických antisér používaných v zmesi (pool) alebo individuálne⁽⁵⁾. Zmesi identifikačných sér sú zostavené tak, aby na základe ich výsledkov vo VNT bolo možné spoľahlivo rozpoznať sérotyp testovaného vírusu. VNT je vysokošpecifická kvantitatívna metóda, ktorá sa často využíva aj na dôkaz protilátok neutralizujúcich

vírus v sére. V prípade reakcie (známeho vírusu so špecifickou protilátkou v sére) dôjde k neutralizácii vírusových častíc, ktoré po vyočkovaní na vnímavý detekčný systém nevyvolajú charakteristický CPE hodnotený mikroskopicky. Titer protilátok neutralizujúcich vírus sa udáva ako prevrátená hodnota najvyššieho riedenia séra, ktoré si ešte zachováva antivírusovú aktivitu v polovici infikovaných kultúr (laboratórných zvierat alebo KE).

Na kvantitatívne vyjadrenie infekčnosti vírusov slúži *titrácia vírusov*. Stanovuje sa vzostupným riedením (obvykle 10-násobným) vírusového materiálu na vnímavý detekčný systém, vyjadruje najmenšie množstvo vírusovej suspenzie schopné v 50% infikovaných bunkových kultúr (laboratórných zvierat alebo KE) vyvolať pre vírus typickú špecifickú reakciu. Prítomnosť vírusov môžeme dokázať aj tvorbou plakov. Plak vzniká ako voľným okom viditeľný dôsledok rozmnožovania jednej aktívnej vírusovej častice za predpokladu, že jej potomstvo sa šíri z bunky do bunky (potreba použitia pevného média).

K rýchlym a špecifickým metódam LDVI patrí *detekcia vírusových antigénov* imunologickými technikami. *Test imunofluorescencie (IF)* sa používa na detekciu antigénu v bunkách a tkanivách infikovaných vírusom prostredníctvom špecifickej protilátky konjugovanej s fluorescenčným farbivom. Krátkovlnné UV svetlo excituje niektoré farbivá (fluochrómy) tak, že emitujú viditeľné svetlo s dlhšou vlnovou dĺžkou, ktoré sa pozoruje vo fluorescenčnom mikroskope ako svetielkovanie. Na fixované bunky sa navrství označená špecifická antivírusová protilátka (priama metóda), alebo pri nepriamej metóde imúnne antivírusové sérum (primárna protilátka), ktoré sa po inkubácii odstráni, a pridá sa konjugát (sekundárna protilátka) proti gamaglobulínu živočíšneho druhu, z ktorého pochádza primárna protilátka (nepriama metóda). Kvalita výsledku závisí od odobratia a spracovania materiálu, ako aj od špecifickosti použitého antiséra. Amplifikácia signálu pri nepriamej IF svedčí o väčšej senzitivite testu^(4,6).

ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) je jednou z najpoužívanejších techník v LDVI. Princípom je reakcia antigénu vo vzorke s protilátkou označenou enzýmom (viazanou na imunosorpčný povrch). Po odstránení nenviazaného antigénu sa pridá špecifická antivírusová protilátka, neskôr protilátka proti predchádzajúcej (značená enzýmom). Reakcia sa po pridaní chromogénneho substrátu zviditeľní farebnou zmenou a vyhodnotí sa spektrofotometricky. Tento test môže byť s obmenou použitý aj na testovanie protilátok v sérach. Na mikrotitračnú platničku je tentoraz viazaný špecifický antigén, na ktorý sa navrství testované sérum. Prítomnosť naviazaných protilátok sa deteguje pomocou značených protilátok.

RIA (radio-immuno assay) má rovnaký princíp ako ELISA, jeden z komponentov je však označený rádioizotopom, najčastejšie rádioaktívnym jódom (¹²⁵I), a výsledok reakcie (imunokomplexy) sa meria gamapočítacom. Metóda je citlivá, umožňuje určiť aj veľmi malé množstvo vírusových antigénov a môže sa použiť aj ako alternatívna metóda detekcie protilátok pomocou protilátky označenej ¹²⁵I. Táto

metóda sa využíva len v špeciálne upravených laboratóriách na prácu s rádioaktívnymi látkami.

V *hemaglutinačnom teste* sa využíva väzba viriónov (prostredníctvom vírusového hemaglutinínu) na receptory erytrocytov. Schopnosť niektorých vírusov zhlukovať červené krvinky sa môže využiť na zistenie prítomnosti a množstva vírusov v určitej suspenzii. Za hemaglutinačný titer vírusu považujeme posledné (najvyššie) riedenie vírusu, ktoré ešte aglutinovalo erytrocyty. Špecifická protilátka viazaná na vírus inhibuje hemaglutinačnú schopnosť vírusu. Na titráciu hemaglutinačno-inhibičných protilátok sa používa test inhibície hemaglutinácie (HIT). HIT je vhodný na detekciu tak protilátok, ako aj antigénu^(2,7).

Hemadsorpcia je jav príbuzný hemaglutinácii. Aj zdanlivo nezmenené bunky, v ktorých sa rozmnožil vírus, dokážu adsorbovať na svoj povrch erytrocyty. Na bližšie určenie infekčného agensu sa používa známe antisérum v teste zábrany hemadsorpcie⁽²⁾.

Metóda imunodifúzie využíva schopnosť vírusových antigénov (aj protilátok) voľne difundovať v agarózovom géli. Je to klasická metóda detekcie bielkovinových komponentov viriónov, ktoré reagujú so špecifickým antisérom. Difundovať môže jedna zložka (jednoduchá difúzia) alebo obidve (dvojitá difúzia) pričom v mieste stretu vznikne po zafarbení voľným okom viditeľná precipitačná línia (imunokomplexy).

Na dôkaz vírusových antigénov slúžia aj *imunochromatografické súbavy*, v ktorých vyšetovaná vzorka putuje po membráne, ktorá obsahuje špecifickú antivírusovú protilátku. V prípade viazania antigénu na špecifickú protilátku dochádza k viditeľnej reakcii⁽²⁾. Výhodou je jednoduché použitie, preto sa s úspechom používajú aj v terénnych podmienkach (ambulancie lekárov, terénne štúdie a pod.).

Pri *latexovej aglutinácii* sú na povrchu latexových granúl viazané špecifické protilátky, ktoré v prítomnosti špecifických vírusových antigénov aglutinujú (rýchle vizuálne hodnotenie). Výhodou je rýchlosť (niekoľko minút), pri hodnotení ale je treba brať do úvahy nižšiu senzitivitu i špecifickosť testu.

Na detekciu *vírusových NK* v klinických vzorkách sa zaviedli *hybridizačné techniky*. Pomocou *in situ* hybridizácie sa napríklad úspešne deteguje vírusová NK v bioptických vzorkách. Ako sonda, t.j. úsek NK so sekvenciou báz, ktorá hybridizuje výlučne s určitou sekvenciou hľadanej vírusovej NK, sa používa rádioaktívne alebo nerádioaktívne značená vírusová NK. V prípade dvojláknovej DNK (dsDNK) musí dôjsť v procese denaturácie k rozvoľneniu vlákien, aby diagnostická sonda mohla rozpoznať komplementárnu sekvenciu NK na báze hybridizácie. Vytvorí sa nové značené dvojlátko NK.

Veľký pokrok v LDVI znamenalo rozpracovanie a zavedenie metód *polymerázovej reťazovej reakcie (PCR)*. Metóda umožňuje namnožiť (amplifikovať) špecifický úsek NK, a tak detegovať aj nepatrné množstvo vírusovej NK vo vzorke⁽³⁾. Princípom je cyklická enzymatická syntéza vybraných úsekov ohraničených primermi (dva odlišné syntetické oligonukleotidy komplementárne k templátovému

vláknou NK), protismerne na oboch matriciach NK. Pred kopírovaním DNK treba oddeliť obidve vlákna dvojitej závitnice (denaturácia). Cyklicky sa opakujú tri kroky: **1.** denaturácia dvojláknovej NK, **2.** hybridizácia – pripojenie primerov a **3.** polymerizácia – syntéza nových vlákien. Nasleduje vizualizácia nasynetizovaných fragmentov NK, najčastejšie elektroforézou v agarózovom géli. Pri vírusovej RNK treba najprv pripraviť jej DNK kópiu použitím enzýmu reverzná transkriptáza (zabezpečí dosynetizovanie komplementárneho vlákna). Ďalší postup PCR kombinovanej s reverznou transkriptázou (RT-PCR) je identický so štandardnou PCR.

Novšou metódou umožňujúcou presne zmerať množstvo počiatočných, ako aj novosynetizovaných kópií DNK fragmentov, je „real-time PCR“ (skutočný priebeh PCR v čase). Vo viacerých krajinách je už zavedená v rámci LDVI. V budúcnosti bude pri diagnostike zohrávať svoje nezastupiteľné miesto *sekvencia NK*, ktorá sa v súčasnosti využíva pri detekcii a štúdiu mutácií genómov vírusov⁽¹⁾. Pomerne novou metódou je *multiplex PCR*, ktorá umožňuje identifikovať naraz niekoľko mikroorganizmov vo vzorke metódami PCR.

Nepriama diagnostika. Z ekonomického aspektu a jednoduchosti prevedenia v rutínnej diagnostickej praxi spočíva ťažisko diagnostiky niektorých vírusových infekcií v sérologickej diagnostike. Markerom aktuálnej infekcie (súčasnej alebo nedávnej) je sérokonverzia alebo stanovenie signifikantného (najmenej 4-násobného) vzostupu titra typovo-špecifických protilátok v akútnej a rekonvalescentnej vzorke séra (s 2-3-týždňovým odstupom odberu), či stanovenie prítomnosti IgM protilátok špecifických pre vírus, prípadne pri neuroinfekciách porovnanie hladiny protilátok v sére a likvore. Protilátky neutralizujúce vírus pretrvávajú obvykle po celý život. Okrem spomenutých testov (VNT, ELISA, HIT, RIA) sa zisťuje humorálna imunitná odpoveď organizmu na príslušný vírusový antigén v sérach a iných telových tekutinách aj v ďalších testoch. V *reakcii väzby komplementu (KFR)* sa meria spotreba komplementu pri tvorbe imunokomplexov. V prípade pozitívnej reakcie sa komplement viaže na vzniknuté komplexy antigén – protilátka a hemolytický systém (senzibilizované baranie erytrocyty) ostane nehemolyzovaný. Negatívna reakcia sa prejaví hemolýzou (voľný komplement sa viaže na hemolytický systém).

Metóda *western blot* je veľmi citlivá a špecifická metóda. Elektroforeticky separované vírusové antigény imobilizované na pevný matrix (napr. nitrocelulózovú membránu) umožňujú detegovať špecifické protilátky proti jednotlivým zložkám komplexného vírusového antigénu. Po pridaní vzorky séra a značenej protilátky sa vzniknutý imunokomplex znázorni pridaním substrátu za vzniku farebnej reakcie.

LDVI klasickými metódami je časovo náročná a pre väčšinu laboratórií nedostupná. V kombinácii s molekulárno-biologickými metódami sú vhodnou alternatívou, umožňujúcou rýchlejšie poskytovanie výsledku vyšetrenia ošetrojúcemu lekárovi, a tým prispievajú ku kvalitnejšej starostlivosti

Tabuľka 1. Možnosti virologickej diagnostiky vírusových ochorení niektorých súkromných a štátnych laboratórií na Slovensku

Vírusy:	Vyšetrenie
Herpetické vírusy	
Vírus Epsteinov-Barrovej	anti-EBV (VCA) IgM/IgG/IgA, anti-EBV (EBNA) IgG, anti-EBV EA IgM/IgG, anti-EBV – heterofilné protilátky IM test; PCR (kvalitatívne, kvantitatívne)
Cytomegalovírus	anti-CMV IgM/IgG, anti-CMV IgG avidita; PCR (kvalitatívne, kvantitatívne)
Vírus herpes simplex typ 1, 2	anti-HSV-1/2 IgM, anti-HSV-1/2 IgG; PCR (kvalitatívne, kvantitatívne)
Vírus varicella-zoster	anti-VZV IgM/IgG; PCR (kvalitatívne, kvantitatívne)
Ľudský herpetický vírus 6	PCR
Ľudský herpetický vírus 8	PCR
Hepatitída	
Vírus hepatitídy A	anti-VHA IgM, celkové protilátky
Vírus hepatitídy B	HBsAg, anti-HBs, anti-HBc IgM, anti-HBc total, anti-HBe/HBeAg; PCR, kvantitatívne stanovenie DNA
Vírus hepatitídy C	anti-HCV; PCR (kvalitatívne, kvantitatívne), genotypizácia HCV
Vírus hepatitídy E	V prípade potreby možnosť základnej diagnostiky
Respiračné infekcie	
Vírus chrípky A	anti-influenza A IgM/IgG/IgA; dôkaz antigénu, izolácia a identifikácia, PCR
Vírus chrípky B	anti-influenza A IgM/IgG/IgA; dôkaz antigénu, izolácia a identifikácia, PCR
Vírus parainfluenzy	anti-parainfluenza IgM/IgG/IgA (sérotypy 1,2,3)
Respiračný syncytiálny vírus	anti-RSV IgM/IgG; PCR, dôkaz antigénu,
Adenovírus	anti-adenovírus IgM/IgG; dôkaz antigénu, PCR
Vírus lymfocytárnej choriomeningitídy	anti-LCMV protilátky
Gastrointestinálne infekcie	
Enterovírusy (polio-, coxsackie-, ECHO-)	anti-EV IgM/total; izolácia a identifikácia, PCR
Rotavírusy	dôkaz antigénu, PCR
Norovírus (Norwalk-like)	dôkaz antigénu, PCR
Astrovírusy	dôkaz antigénu, PCR
Arbovírusy	
Vírus kliešovej encefalitídy	anti-VKE IgM/IgG
Hantavírus (Puumala a Hantaan)	anti-hantavírus IgM/IgG
Iné vírusy	
Vírus imunodeficiencie ľudí	anti-HIV-1/2/0, anti-HIVp24Ag, anti-HIV-1/2 western blot, súčasný dôkaz Ag a Abs, PCR (kvalitatívne, kvantitatívne), testovanie polymorfizmu koreceptora HIV CCR5
Ľudské papilomavírusy	PCR, hybridizácia, HPV skrining a HR genotyp
Polyomavírusy (BK, JC)	PCR (kvalitatívne, kvantitatívne)
Parvovírus B19	PCR
Vírus rubeoly	anti-rubeola IgM/IgG; izolácia a identifikácia, PCR
Vírus osýpok	izolácia a identifikácia, PCR
Vírus parotitídy	anti-parotitída IgM/IgG; izolácia a identifikácia, PCR

Zoznam povinne hlásených prenosných ochorení, podozrení na ochorenia a nosičstiev choroboplodných mikroorganizmov je v prílohe č. 5 k zákonu č. 355/2007 Z. z.⁽¹⁵⁾
***legenda:** IgM - imunoglobulín triedy M, IgA - imunoglobulín triedy A, IgG - imunoglobulín triedy G, Abs - protilátky, Ag - antigén, Hr - high risk, HBs - povrchový antigén Vírusu hepatitídy B "surface", HBc - dreňový antigén Vírusu hepatitídy B "core", HBe - antigén Vírusu hepatitídy B "e", IM - infekčná mononukleóza, HIV - Vírus imunodeficiencie ľudí

ti o pacienta. V priloženej tabuľke (**tabuľka 1**) sú uvedené súčasné možnosti LDVI niektorých súkromných a štátnych laboratórií na Slovensku⁽⁸⁻¹⁴⁾. Je dôležité, aby si zdravotnícky personál a pracovníci diagnostických laboratórií uvedomili nevyhnutnosť spolupráce v hlásení/zasielaní biologických vzoriek zistených daných infekčných ochorení do príslušných NRC/úradov verejného zdravotníctva, ktoré spolupracujú s rôznymi nadnárodnými referenčnými laboratóriami Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO) v rámci rôznych globálnych surveillance programov.

Literatúra

- Rajčáni J. Diagnostika vírusových ochorení. In: Rajčáni J, Čiampor F. Lekárska virológia. Bratislava: Veda 2006; 221-239.
- Virologické laboratórny metódy. In: Votava M a kolektív. Lekárska mikrobiológia, vyšetrovací metódy. Brno: NEPTUN 2010; 359-410.
- Keith RJ. Lennette's laboratory diagnosis of viral infections (4th Edition). Essex, UK: Informa Health Care 2010.
- Stančeková. Laboratórna diagnostika vírusových ochorení. In: Žemla J, Čiampor F, Leššo J. Všeobecná virológia. Bratislava: Slovak Academic Press 1995; 189-204.
- Leyland DS, French MLV. Virus isolation and identification. In: Lennette EH, Halonen P, Murphy FA. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases. Principles and Practice. Volume II. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1988; 39-59.
- Robinson JP, Sturgis J, Kumar GL. Immunofluorescence. In: Kumar GL, Rubbeck L. Pathology, IHC staining methods Education guide (5th Edition). Carpinteria, California: Daco North America 2009; 61-65.

Adresa pre korešpondenciu:

Mgr. Mária Borsányiová, PhD.
 Slovenská zdravotnícka univerzita, Laboratórium pre enterovírusy
 Limbová 14, 833 03 Bratislava
 e-mail: maria.borsanyiova@szu.sk

RNDr. Zdenka Sobotová, CSc.,
 Úrad verejného zdravotníctva SR, Bratislava

doc. MUDr. Cyril Klement, CSc.
 RNDr. Renáta Kissová, PhD.
 Regionálny úrad verejného zdravotníctva, Banská Bystrica

doc. RNDr. Shubhada Bopegamage, CSc.
 Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava

- Mistriková J, Stančeková M. Základné laboratórne techniky používané vo virológii. Univerzita Komenského Bratislava 1997.
- <http://www.hpl.sk/main.php?go=ponuka-hpl/ponuka-vysetreni/mikrobiologia/mikrobhumanna/virol>
- <http://www.synlab.com/synlab-slovakia.html>
- http://www.alphamedical.sk/files/documents/zoznam_vy%C5%A1etren%C3%AD_am.pdf
- http://www.klinickabiochemia.sk/download/ziaadanky/ziaad_mikrob.pdf
- <http://www.cytopathos.sk/sluzby/molekularna-genetika/diagnostika.html>
- <http://www.szu.sk/index.php?id=111&menu=85&kgid=167&idpart=4&idp=2>
- http://www.uvzsr.sk/index.php?option=com_content&view=article&id=115:odbor-lekarskej-mikrobiologie&catid=36:organizana-truktura&Itemid=57
- Zbierka zákonov č. 355/2007, časť 154, str. 2469, www.zbierka.sk.