



Úvodní slovo

Vážení kolegové,

otevíráte další vydání našeho občasníku Spadia News. Je období prázdnin, tedy období dovolených a relativního klidu. Dovolil jsem si použít slovo „relativní“, protože klid a pohoda nevládne zejména na naší politické scéně. Věřme, že tyto politické rošády nepostihnou naše zdravotnictví ČR.

V aktuálním čísle se dozvíte o diferenciální laboratorní diagnostice EBV, o anti Mülleriánském hormonu (AMH), o karbohydrát deficientním transferinu (CDT), o preanalytické fázi laboratorního vyšetřování, o novinkách z našeho oddělení jakosti.

Je jisté, že chyby se dělaly, dělají a budou se dělat. S rozvojem laboratorních technologií, zejména automatizace, se chybovost samotného analytického procesu snížila na minimum. Největší podíl na chybovosti v laboratořích má preanalytická fáze laboratorního vyšetření, kdy do tohoto procesu patří volba vhodných vyšetření, příprava pacienta před samotným odběrem, volba správných zkumavek, samotný odběr biologického materiálu, správné množství krve, správné vyplnění žádanky včetně všech potřebných parametrů, pokud jsou známe, např. objem moči, datum a čas odběru, tělesné parametry, ap., skladování odebraného materiálu, transport vzorků. Stručný souhrn pravidel preanalytické fáze najdete ve sdělení dále.

Opakovaně se na tomto místě zmiňuji o informačních technologiích (IT). Jsem přesvědčen, že budou získávat stále větší důležitost, zejména s nutností většího elektronického propojení mezi jednotlivými zařízeními. Toto samozřejmě „větří“ i softwarové společnosti, které se snaží získat dominantní podíl na trhu, a potom diktovat ceny za samotný software, ale hlavně nejrůznější poplatky prakticky za všechno. SPADIA LAB má vlastní IT oddělení a mnozí z vás využívají bezplatně náš softwarový produkt VirtualLab. Tento program umožňuje komunikaci mezi laboratořemi a ordinacemi, ale taky obráceně, tj. mezi ordinacemi a laboratořemi pomocí elektronické žádanky. Elektronická žádanka vám umožní evidovat vaši indukci do laboratoře. Pokud budete mít o tento produkt, který je součástí VirtualLabu a je rovněž poskytován zdarma, zájem, tak kontaktujte naše IT oddělení.

S přáním pěkných letních měsíců za kolektiv SPADIA LAB

Martin Radina
ředitel

Vydávání výsledkové zprávy přímo pacientům

Ing. Janíčková R., oddělení řízení kvality

Vydávání výsledkové zprávy pacientům je v souladu se zákonem č.372/2011 Sb. v platném znění, zákon o zdravotních službách.

Výsledkové zprávy budou vydávány pacientům na základě následujících podmínek:

- 1) Na žádance je lékařem písemně uvedeno, že výsledkovou zprávu si „osobně“ vyzvedne pacient. Výsledek je vydán na základě předložení průkazu totožnosti (občanský průkaz, řidičský průkaz, cestovní doklad).
- 2) Vydávání výsledkové zprávy pacienta jiné osobě (např. manžel, druh, u seniorů jejich děti) – výsledek je vydán na základě předložení plné moci pacienta a průkazu totožnosti osoby (občanský průkaz, řidičský průkaz, cestovní doklad), která výsledkovou zprávu vyzvedává. Vzor „Plné moci“ uveden na www.spadia.cz nebo bude k dispozici na daném odběrovém místě.
- 3) Vydávání výsledkové zprávy nezletilých pacientů rodičům resp. zákonným zástupcům – výsledek je vydán na základě předložení průkazu totožnosti (občanský průkaz, řidičský průkaz, cestovní doklad) zákonného zástupce a průkazu zdravotního pojištění nezletilého.

end

AMH (Anti-Müllerian hormon)

Mgr. Michal Richter, laboratoř biochemie

Anti-Müllerian hormon (AMH), dříve nazývaný Müllerian Inhibiting Substance, patří do rodiny transformujícího růstového faktoru beta (TGF- β). Jedná se o glykoprotein tvořený dvěma podjednotkami o molekulové hmotnosti 72 kDa. AMH hraje zásadní roli v diferenciaci plodů mužského pohlaví. Jeho tvorba probíhá prenatálně i postnatálně v Sertoliho buňkách varlat. V prenatálním období zajišťuje potlačení vývoje Müllerova vývodu, ze kterého se vyvíjí ženské pohlavní orgány. Postnatálně zůstává koncentrace AMH vysoká až do puberty, s dozráváním Sertoliho buněk jeho tvorba klesá a v dospělosti je hladina nízká.

U žen produkce AMH začíná až perinatálně s mírným zvýšením s nástupem puberty a klesá k neměřitelným hodnotám v menopauze. AMH je produkován ve vaječnicku granulózovými buňkami uvnitř Graafova folikulu. Vysoká koncentrace inhibuje stimulaci růstu těchto folikulů folikulostimulačním hormonem a dále inhibuje na FSH nezávislý výběr primordiálního folikulu. Pokud by AMH při folikulogenezi chyběl, docházelo by k neustálé přeměně folikulů na zralé a množství folikulů by se předčasně vyčerpalo.

Bylo zjištěno, že koncentrace AMH je přímo úměrná počtu antrálních folikulů a je lepším indikátorem ovariální rezervy než FSH, inhibin B nebo estradiol měřené 3. den cyklu. Navíc se jeho koncentrace v průběhu cyklu významně nemění. Koncentrace AMH v krvi ženy tedy závisí na počtu vajíček. Čím je žena starší, tím méně

vajíček má k dispozici a tím je i nižší koncentrace AMH. Koncentrace AMH je tedy velmi cenným prognostickým ukazatelem, zda se žena stále nachází v období optimální fertility nebo zda její schopnost otěhotnět již klesá.

Další klinické využití AMH je široké – uplatňuje se v diagnostice předčasné nebo opožděné puberty u chlapců, v některých případech poruch biosyntézy testosteronu, diagnostice a léčbě nádorů z granulózových buněk, sledování nástupu a průběhu menopauzy. Největší využití je v oblasti asistované reprodukce, kde se uplatňuje především v odhadu ovariální rezervy, diagnostice skrytého předčasného ovariálního selhávání, v individualizaci léčby a v diagnostice a sledování pacientek se syndromem polycystických ovárií. Tyto pacientky mají koncentrace AMH 2 – 3x vyšší.

Pomocí AMH lze také odhalit ženy se špatnou nebo zanedbatelnou odpovědí na hormonální stimulaci, u kterých hrozí ovariální hyperstimulační syndrom. Z hladin AMH lze při asistované reprodukci spočítat, jaká bude odezva vaječnicků a jaká je šance na úspěšné otěhotnění.

Vyšetření AMH provádíme v naší laboratoři jednou týdně metodou ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay).

Referenční rozmezí: 1,0 – 6,8 ng/ml.

end

Preanalytická fáze laboratorního vyšetření

RNDr. Lubor Stančík, laboratoř biochemie

Preanalytická fáze je období do zahájení laboratorního vyšetření, které nemá přesně definovaný počátek. V tom nejširším slova smyslu lze do preanalytické fáze zahrnout následující činnosti

- indikace vyšetření
- příprava pacienta
- odběr biologického materiálu
- skladování a transport materiálu, včetně preanalytických úprav vzorku.

Příčiny ovlivňující výsledek laboratorního vyšetření při těchto činnostech označujeme jako zdroje preanalytické variability. Můžeme se s nimi setkat

- před odběrem biologického materiálu
- při odběru biologického materiálu
- mezi odběrem biologického materiálu a analýzou

Preanalytické vlivy jsou významné a řadu z nich lze minimalizovat.

Neovlivnitelné faktory preanalytické variability u pacientů

- **Kolísání koncentrace analytu v rámci cyklických variací** (cirkadiánní, infradiánní, ultradiánní)
- **Pohlaví, rasa a věk.** Rozdíly v koncentracích, aktivitách nebo počtech komponent mezi pohlavími se mění s věkem. Rozdíly jsou dány především hormonálním vybavením a habitem (větší svalová hmota u většiny mužů a z toho vyplývající rozdíly závislých ukazatelů). V době pohlavní zralosti mohou být rozdíly maximální, v raném věku a ve stáří se mohou rozdíly stírat. Příliv migrantů způsobil v posledních letech zpeřnění dosud relativně homogenní kavkazské populace v České republice, což je rovněž nutné brát v úvahu. U krevního srážení hraje důležitou roli i zralost jaterního parenchymu (novorozenci) a změna koagulační rovnováhy (změna D-dimerů ve vyšším věku).
- **Gravidita** je mimořádným zdrojem mechanismů, které vedou ke změnám koncentrací, aktivit nebo počtu komponent. Jedná se například o změnu produkce hormonů, zvýšení produkce vazebných proteinů, zvýšení plazmatického objemu, zvýšení glomerulární filtrace, zvýšení objemu moče, atd.

.. pokračování na str. 3

.. pokračování ze str. 2

Ovlivnitelné faktory preanalytické variability u pacientů

- **Fyzická zátěž** před odběrem biologického materiálu
- **Vliv diety, resp. vliv hladovění**
- **Vliv léků**, které se uplatňují v preanalytické fázi více mechanismy: indukce jaterních enzymů (barbituráty a fenytoin), interference s analytickým principem (amiodaron ovlivňuje stanovení tyroidálních hormonů, interakce (beta-laktamy a aminoglykosidy), zvýšení estrogenní aktivity (hormonální antikoncepce, dochází ke zvýšení vazebných proteinů pro tyroxin, kortizol, zvyšuje se SHBG, snižuje se hladina proteinu S, je rezistence na aktivovaný protein C, zvyšuje se hladina von Willebrandova faktoru), kortikoidy způsobují leukocytózu, asparagináza snižuje fibrinogen, faktory IX, X, XIII, valproát snižuje von Willebrandův faktor, faktor VIII, faktor IX. Antagonisté K vitamínu snižují hladinu K-dependentních faktorů.
- **Mechanické trauma**, kdy příkladem může být zvýšení plazmatické koncentrace PSA po digitálním vyšetření prostaty, po jízdě na kole nebo při obstipaci, zvýšení myoglobinu, CK, AST a ALT po svalovém traumatu včetně opakovaných intramuskulárních injekcí, zvýšení ALT tlakem dělohy ve vysokém stupni gravidity. Do této skupiny lze řadit také mechanickou hemolýzu erytrocytů po maratónském běhu, u chodců na dlouhých tratích nebo při chlopenních vadách. Patří sem i extrakorporální oběh a popáleniny. Mechanické trauma rovněž zvyšuje hladiny fibrin/fibrinogen degradačních produktů (FDP, D-dimerů).
- **Stres**, který zvyšuje renin, aldosteron, somatotropin (GH), katecholaminy, kortikotropin (ACTH), kortizol, glukagon, paratyryl, prolaktin a další hormony. V rámci stresu se mění i koncentrace dalších analytů: cholesterol po akutním infarktu myokardu klesá během 24 hodin a dosahuje snížení o 60 % proti výchozí hodnotě a opětovné zvýšení je otázkou řady týdnů. Mírný stres ale může koncentraci cholesterolu zvýšit. U nemocných v intenzivní péči může klesat produkce hypofyzárních hormonů a aldosteronu. Významným stresem je probuzení, proto například odběr krve na stanovení koncentrace prolaktinu je možné provést 3 hodiny po probuzení. Pooperační stres snižuje tyroidální hormony, snižuje transferin a sekundárně zvyšuje feritin. Dochází k vzestupu faktoru VIII, von Willebrandova faktoru, leukocytů – relativní neutrofilie, lymfopenie.

Zdroje variability při odběru

- **Načasování odběru krve**: speciální problematiku, kdy načasování odběru je klíčové, tvoří funkční testy a monitorování farmakoterapie. Při monitorování léků je nutné čas odběru určit s ohledem na poločas eliminace léků. U léků s krátkým poločasem (poločas v desítkách minut, například aminoglykosidová antibi-

otika) jeden odběr nestačí, je nutné odebrat v čase předpokládaného peaku a v čase před další dávkou, nebo vícekrát pro určení plochy pod křivkou. U léků s delším poločasem (více hodin až dnů) postačuje obvykle odběr před další dávkou. Je nutné počítat s tím, že steady-state se dosahuje po 6 – 7 poločasech.

- **Poloha při odběru**: ve vzpřímené pozici stoupá hydrostatický tlak a dochází k přesunu vody a iontů z plazmy do intersticia se zvýšením proteinů a krevních elementů, které kapilární stěnou neprocházejí. Výsledkem je nejen zahuštění plazmy, ale také tzv. posturální stres, aktivace sympatiku a osy renin-angiotenzin-aldosteron s příslušnou fyziologickou odpovědí. Rozdíl v koncentraci proteinů ve vzpřímené poloze proti poloze vsedě po dobu 15 minut je 5 až 8 %. Rozdíl mezi polohou vstaje a vleže se udává kolem 10, ale i 20 %. Vzestup se týká i látek na proteiny vázaných (kalcium, cholesterol), lipoproteinů, hormonů (kortizol, tyroxin), léků atd. Pro zajištění standardních podmínek odběru krve z loketní žíly je vhodné pro stanovení většiny analytů zajistit polohu vsedě po dobu 15 minut před odběrem, delší interval se doporučuje například u natriuretických peptidů (20 – 30 minut), pro vyšetření osy renin-angiotenzin-aldosteron je nutný noční odpočinek vleže bez jakékoli změny polohy před odběrem.
- **Výběr místa odběru krve**: nevhodná je strana, na které byla provedena mastektomie (lymfostáza), místo s hematomem, velkými jizvami, paže se zavedenou infúzí.
- **Použití turniketu**: naložení turniketu nad místem odběru sice usnadní odběr venózní krve dilatací žíly, ale vede k ovlivnění kvality vzorku. Již po jedné minutě se do intersticia přesune významné množství vody s ionty a výsledkem je zvýšení početní koncentrace elementů, zvýšení koncentrace proteinů a látek na buňky a proteiny vázaných. Po třech minutách naložení turniketu stoupá koncentrace proteinů o 5 až 8 %, po 15 minutách stoupá koncentrace proteinů až o 15 %. Dalším důsledkem přiložení turniketu jsou metabolické změny hemostázy (uvolnění tkáňového faktoru a aktivace hemostázy). Pro některá vyšetření, např. agregace trombocytů, je dokonce doporučení krev nechat nakapat, aby se zamezilo aktivaci. V ischemizované tkáni končetiny se zvyšuje produkce laktátu a protonu, které se po uvolnění turniketu dostávají do žíly a jsou příčinou zvýšení koncentrace těchto látek. Pokud je vůbec nutné turniket používat, neměla by doba naložení turniketu přesáhnout 15 sekund, v žádném případě však 1 minutu. Je-li turniket naložen před odběrem za účelem volby místa vpichu, lze ho pro vlastní odběr použít nejméně po dvou minutách uvolnění. Odběry před a po stažení paže se naproti tomu využívají k vyšetření fibrinolýzy.
- **Vliv cvičení paží při naloženém turniketu**: vede ke zvýšení draselného kationtu v plazmě. Cvičení („pumpování“) se obecně při odběru venózní krve nedoporučuje.

.. pokračování na str. 4

.. pokračování ze str. 3

- **Hemolýza** je jednou z nejčastějších příčin ovlivnění výsledku laboratorních vyšetření, která se uplatní uvolněním látek z hemolyzovaných erytrocytů i analytickou interferencí vlivem změněného zabarvení plazmy
- **Vliv protisrážlivých činidel**, zásadní chybou je volba nevhodného protisrážlivého činidla (při použití heparinu nelze vyšetřit koagulaci) a nebo nedodržení poměru mezi krví a protisrážlivým činidlem, protisrážlivá činidla se specificky mohou uplatnit také při stanovení osmolality a dalších analytů
- **Kontaminace dezinfekčním činidlem** přichází v úvahu při kapilárním odběru krve, při kterém je plocha kontaminovaná kůže v dostatečném kontaktu s kapkou kapilární krve. Týká se to zejména odběru kapilární krve na pH.
- **Kontaminace intersticiální tekutinou**, ke které dochází při odběru kapilární krve punkcí kůže (prst, ucho, patička), pokud je kapilární krev vypuzována nadměrným tlakem v okolí punkce. Intersticiální tekutina neobsahuje proteiny (a samozřejmě ani krevní elementy), takže při kontaminaci dochází k diluci proteinových komponent a komponent vázaných na proteiny. Jediným vhodným způsobem je volné odtékání kapilární krve do odběrového zařízení (kapiláry).
- **Kontaminace infuzí**: obecně se nedoporučuje provádění odběru z katatru určeného pro infúzní terapii. Kontaminace infuzí se obvykle projeví atypickým, často několikanásobným zvýšením těch analytů, které byly v infúzi ve vysoké koncentraci, diluci analytů s typickou koncentrací v plazmě, vzácněji interferencí s analytickou metodou (týká se zejména kontaminace infúzně podávanými léky). Tyto problémy se rovněž týkají koagulačních vyšetření. Pro prevenci těchto obtíží je jediným bezpečným způsobem odběr žilní krve z opačné končetiny nebo opačné strany, než je zaveden katétr infúze. Po transfúzi lze nalézt zvýšení folátu a feritinu. Po transfúzi rovněž dojde ke zkreslení výsledku vyšetření krevního obrazu.

Zdroje variability mezi odběrem a analýzou

- **Vliv srážení**: během koagulace krve uvolňují trombocyty draselný kationt, takže koncentrace draselného kationtu v séru je o 0,2 až 0,3 mmol/l vyšší než koncentrace v plazmě. Fosfáty v séru jsou vyšší o 0,06 mmol/l než plazmě (příčina není jasná). Pozdní tvorbu fibrinu v separovaném séru odstraňuje použití aktivátorů srážení. I jen částečně vysrážený vzorek (špatný poměr protisrážlivých činidel, aktivace koagulace) zkresluje až znemožňuje vyšetření parametrů krevního obrazu včetně diferenciálního rozpočtu a krevního srážení
- **Vliv gelových separátorů** Úkolem separačního gelu je vytvořit při centrifugaci přepážku mezi krevními elementy a sérem či plazmou a usnadnit tak jeho zpracování. Mezi kritické vlastnosti gelu patří absorpce nebo adsorpce analytů (jedná se například o léky jako tricyklická antidepresiva, antiarytmika nebo nízkomolekulární látky jako jsou peptidové hormony), které způsobují falešně snížené koncentrace v séru nebo plazmě.
- **Vliv separace elementů**: vhodná je centrifugace při 1000 – 1500 g po dobu 10 minut při 20 – 25 °C, při 1000 – 1500 g po dobu 10 minut při 2 – 8 °C (osteokalcin, PTH, kortikotropin, natriuretické peptidy, další), axiální centrifugace (zkrácení času centrifugace). U vyšetření hemostázy volíme centrifugaci, ev. další postupy v závislosti na tom, zda k vyšetření potřebujeme plazmu bohatou na destičky (PRP - 10 minut při 150 až 250 g) nebo plazmu chudou na destičky (PPP - 10 až 15 minut při 2500 g) nebo plazmu bezdestičkovou.
- **Ostatní vlivy** (skladování, vliv teploty, vliv pH moče, vliv transportu, změna v čase a další) jsou popsány u jednotlivých analytů v laboratorní příručce SPADIA Lab. Můžeme sem také zařadit problematiku chybně vyplněných žádánek a nekorektně popsaných zkumavek se vzorky. Tuto komplikaci lze elegantně vyřešit použitím elektronické laboratorní žádanky a tiskem štítku na zkumavku. SPADIA Lab nabízí svým klientům pro tyto účely komplexní systém elektronické laboratorní komunikace Virtuallab.

Volně dle encyklopedie laboratorní medicíny pro klinickou praxi č.10 a příručky pro preanalytickou fázi laboratoří Linbach.

end

Využití fluorescenční průtokové cytometrie v mikrobiologické diagnostice infekcí močových cest

Mgr. Hana Zagorová, laboratoř klinické mikrobiologie

Infekce močových cest (IMC) je druhé nejčastější onemocnění v komunitě, na které lékař předepisuje antibiotickou terapii. Při IMC dochází k bakteriální kolonizaci epitelu sliznice močových cest a pomnožování bakterií v jednom či více orgánech močového traktu s rizikem průniku do okolí

i do krve. IMC je častější u žen a u pacientů imunosuprimovaných a imunodeficitních. IMC by měla být potvrzena nálezem signifikantní bakteriurie.

.. pokračování na str. 5

.. pokračování ze str. 4

Neléčená nebo špatně léčená perzistující infekce vede ke komplikacím a ke zhoršování funkce ledvin.

Původce infekcí močových cest lze spolehlivě prokázat ve vzorcích moče odebraných při první návštěvě pacienta s příznaky nemoci močových cest před nasazením antibiotika. Po ukončení léčby, případně při přetrvávajících potížích, se vyšetření opakuje. Výsledky bakteriologického vyšetření jsou nezbytné: ke kontrole účinnosti terapie, k úpravě léčby, k odlišení infekcí sexuálně přenosných s podobnými klinickými příznaky (např. infekce chlamydiemi).

Stanovení signifikantní bakteriurie je významná bakteriurie v definovaném množství spontánně vymočené nebo jednorázově vycévkované moči. Odebírá se střední proud moče po řádném omytí zevního ústí uretry. Minimální množství vzorku je 5ml (menší množství nelze zpracovat na analyzátoru). Vzorek by měl být do dvou hodin po odběru transportován do laboratoře, po delší dobu se vzorek skladuje při 4°C (chladničková teplota). Interpretace kvantity ve vzorku moči spontánně vymočené: patogen 10^5 a více v 1ml moči je signifikantní bakteriurie, patogen 10^4 v 1 ml moči je ještě fyziologické množství u žen, suspektní u mužů, malých dětí, v graviditě, při riziku pyelonefritidy a abscesu ledviny.

Oddělení klinické mikrobiologie zavedlo automatickou analýzu vzorků moči pomocí analyzátoru UF-1000i firmy Sysmex. Automatická analýza je založena na fluorescenční průtokové cytometrii. Přístroj je běžně používán pro hodnocení močového sedimentu v biochemických laboratořích. Naše laboratoř využívá bakteriologický mód pro předkultivační vyšetření vzorků moči při diagnostice močových infekcí. Hodnotí se počet bakterií a leuko-



cytů, doplňkovým parametrem jsou erythrocyty. Analyzátor stanovuje i množství kvasinek ve vyšetřovaném vzorku. Vyšetření má vysokou negativní předpovědní hodnotu, díky které lze rychle vyloučit přítomnost močové infekce. Negativní výsledky jsou k dispozici týž den od doručení vzorku do laboratoře. V případě positivity se vzorek kultivuje při 37°C 18-24 hodin na krevním agaru a McConkeyho agaru. Původce infekce je následně identifikován pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF a stanovuje se citlivost na antibiotika.

Naše laboratoř tak může nabídnout v současnosti nejrychlejší způsob mikrobiologické diagnostiky původců močových infekcí. To vede ke zkvalitnění péče zejména u malých dětí a chronicky nemocných pacientů. Vyšetření také vede k úsporám nákladů pro zdravotnická zařízení, protože je rychle vyloučena přítomnost močové infekce a není zbytečně předepisována antibiotická terapie. O předběžné výsledky si lze volat na telefonní čísla: 599 524 809, 555 534 058, 555 534 059.

end

Stanovení alfa-1-mikroglobulinu v moči

Ing. Jakub Minář, laboratoř biochemie

Plazmatický glykoprotein z rodiny lipofilních transportních proteinů lipokalinů, patří mezi volně filtrovatelné nízkomolekulární bílkoviny, jejichž koncentrace v plazmě a glomerulárním ultrafiltrátu se neliší a které jsou z 99,9 % resorbovány v tubulárních buňkách. tč. nejčastěji vyšetřovaný bílkovinný marker postižení tubulární resopce bílkovin při diagnostice tubulointersticiálních lézí ledvin.

Role v metabolismu

Není známá. In vitro inhibuje antigenní stimulaci lymfocytů, vykazuje mitogenní účinek na lymfocy-

ty, lze soudit, že by mohl ovlivňovat imunoregulační, resp. imunomodulační procesy. Po navázání alfa-1-mikroglobulinu na hem dochází k odštěpení C-terminálního tetrapeptidu a postupné biodegradaci komplexu. Inhibuje adhesi bakterií na povrchy polymerů, a tím iniciální fázi vzniku nefrolitiázy.

.. pokračování na str. 6

.. pokračování ze str. 5

Referenční intervaly

2-10 mg/d, jen jako volný alfa-1-mikroglobulin. Denní exkrece je rozdílná podle pohlaví a věku s maximem ve čtvrtém a pátém deceniu u mužů, šestém a sedmém u žen.

Analytická metoda

Imunoturbidimetrie. Výhodou je stabilita alfa-1-mikroglobulinu v moči, při změnách pH a teploty a relativně vysoká koncentrace ve srovnání s koncentrací dříve často používaného stanovení beta-2-mikroglobulinu. Stanovení provádíme denně.

Použití pro klinické účely

Resorpce bílkovin v tubulech se uskutečňuje adsorptivní endocytózou. Resorpce jednotlivých bílkovin je rozdílně intenzivní, není však selektivní v

tom smyslu, že by se při resorpci jednotlivé bílkoviny vázaly na pro ně specifické receptory. Rozdíly v resorpci jednotlivých bílkovin jsou podmíněny jejich rozdílnou afinitou k receptorům. Tím lze vysvětlit vznik (sekundární) tubulární proteinurie při izolovaném zvýšení koncentrace jedné volně filtrovatelné bílkoviny v ultrafiltrátu (v praxi nejčastěji při exkreci volných lehkých řetězců imunoglobulinů).

Předpokládá se, že adsorpční afinita membránových receptorů pro volně filtrovatelné nízkomolekulární plazmatické bílkoviny je velmi vysoká, pro albumin nižší; jejich poměrná resorpce je odhadována na 99,97 %, pro albumin na méně než 90 %. Při poškození tubulární resorpce je proto vzestup exkrece volně filtrovatelných bílkovin významně vyšší než vzestup exkrece albuminu

end

Infekční mononukleóza a její diagnostika

RNDr. Ivo Lochman, laboratoř imunologie a sérologie

Infekční mononukleóza (IM), nazývaná hovorově kvůli cestě přenosu také „nemoc z líbání“, je infekční, široce rozšířené onemocnění vyvolané virem Epstein-Barrové (EBV), který patří mezi herpes viry. Je si zapotřebí uvědomit, že infekce herpes viry je většinou celoživotní. Většina lidí je exponována EBV již v dětském věku, kdy onemocnění probíhá zcela bezpříznakově nebo s příznaky podobnými chřipce. Klinicky se manifestuje nejčastěji u adolescentů a mladých lidí. Ve věku kolem 40 let si již cca 90% populace vytvořilo proti EBV imunitu. Onemocnění vyžaduje obvykle minimální terapii a odeznívá samo.

U většiny případů IM je klinická diagnostika založena na výskytu charakteristické triády: horečka, faryngitida a lymfadenopatie trvající 1 – 4 týdny. Z laboratorních vyšetření se v krevním obrazu nachází normální nebo jen mírně zvýšený počet leukocytů, ale v diferenciálním rozpočtu bývá zvýšený celkový počet lymfocytů a v krevním nátěru se nachází více než 10% charakteristických atypických lymfocytů. Ze sérologických testů bývá pozitivní test na heterofilní protilátky nejlépe v Davidsohnově nebo Paul-Bunnelově modifikaci. Jsou-li testy na heterofilní protilátky negativní, je zapotřebí provést další laboratorní testy, aby bylo možno odlišit EBV infekci od jiných infekcí vykazujících symptomy podobné IM vyvolaných např. cytomegaloviry, adenoviry nebo *Toxoplasma gondii*. Přestože laboratorní testy nejsou vždy zcela spolehlivé a nacházíme v nich jak falešně pozitivní, tak falešně negativní výsledky, v případě diagnos-

tiky EBV infekce jsou ve většině případů specifické a přesné. Přesto interpretace jejich výsledků není jednoduchá. Poněvadž průběh EBV infekce je poměrně rychlý, nemá testování párových vzorků velký smysl, poněvadž u nich nelze očekávat velké změny ve výsledcích. Efektivní laboratorní diagnostika může být provedena z jednoho vzorku séra získaného z krve odebrané v akutní fázi onemocnění současným stanovením protilátek proti několika EBV specifickým antigenům. Ve většině případů, ne však vždy, tak lze také rozlišit nebo potvrdit, zda jde o osobu vnímavou pro EBV infekci, postiženou probíhající EBV infekcí, osobu, která infekci prodělala někdy v minulosti anebo jde o reaktivaci onemocnění u již infikované osoby. Jedná se o stanovení protilátek proti těmto EBV specifickým antigenům: kapsidovému antigenu viru (VCA), tzv. časnému antigenu (EA) a jaderným antigenům (EBNA) v imunoglobulinových třídách IgG a IgM. Zvláště jsou-li testy na heterofilní protilátky negativní a klinické symptomy ukazují na IM, je vhodné použít kombinaci těchto 4 vyšetření: IgM a IgG protilátky proti VCA, IgM proti EA a IgG proti EBNA. IgM proti VCA se objevují záhy po infekci virem a mizí během 4 – 6 týdnů. IgG proti VCA se objevují v akutní fázi onemocnění s vrcholem ve 2. – 4. týdnu od jejího počátku.

.. pokračování na str. 7

.. pokračování ze str. 6

Pak pomalu klesají, ale přetrvávají po celý život. IgG proti EA se objevují v akutní fázi a zpravidla klesají až na nedetekovatelné koncentrace po 3 – 6 měsících. Asi 20% zdravých lidí bez jakýchkoliv příznaků EBV infekce však může mít tyto protilátky po celý život. U nich se předpokládá, že někdy v minulosti prodělali infekci EBV, aniž by byla diagnostikována. Protilátky proti EBNA stanovené enzymovými imunometodami (EIA) se objevují po několika týdnech po vypuknutí onemocnění a přetrvávají po celý život. Z výše řečeného vyplývá, že interpretace laboratorních výsledků musí být prováděna komplexně a měl by ji provádět zkušený lékař, který má také přístup k celému klinickému obrazu a anamnéze pacienta.

Většina jedinců, kteří přicházejí do kontaktu s jedinci, kteří onemocněli IM, byla již dříve infikována virem Epstein-Barrové (EBV) a nehrozí u nich riziko, že u nich IM propukne. Přenos EBV vyžaduje navíc intimní kontakt pomocí slin infikované osoby. Přenos viru vzdušnou cestou nebo krví není obvyklý. Inkubační období, tj. doba mezi infikováním a objevením se symptomů onemocnění, se pohybuje mezi 4 – 6 týdny. Nemocní IM mohou přenášet infekci i po několik týdnů. Přesto nejsou doporučována žádná preventivní opatření nebo pokusy o izolaci viru, poněvadž virus se nachází často i ve slinách zdravých lidí, kteří mohou šířit virus čas od času po celý život. Proto je téměř nemožné přenosu zabránit.

Je důležité uvědomit si, že symptomy charakteristické pro IM vyvolanou EBV jen zřídka přetrvávají déle než 4 týdny. Trvají-li déle, jde o onemocnění, které se často nazývá chronická EBV infekce. Takovou infekci je však laboratorně velmi obtížné validně prokázat.

Laboratorní diagnostika infekční mononukleózy v laboratořích Spadia Lab., a.s.

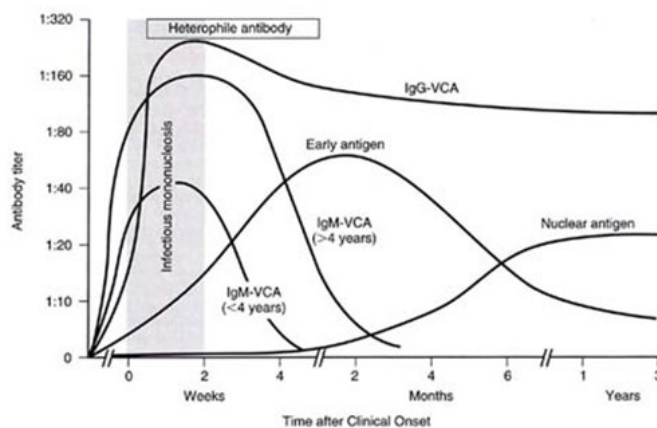
Základním sérologickým vyšetřením při podezření na IM je vyšetření heterofilních protilátek (protilátek proti cizorodým krvinkám). Koncentrace (titry) těchto protilátek vzrůstají rychle během prvních čtyřech týdnů onemocnění a pak rychle klesají.

Falešně pozitivní nálezy bývají nalézány jen u velmi malého procenta pacientů a falešně negativní u 10-15% pacientů, převážně dětí mladších deseti let. Ne všechny heterofilní protilátky jsou však specifické pro infekční mononukleózu. Specifičnost testu se výrazně zvýší, provádí-li se v tzv. Davidsohnově modifikaci.

Laboratoře Spadia Lab, a.s. nabízejí pro diagnostiku IM test pomocí detekce a stanovení heterofilních protilátek test podle Paul-Bunella (používá ovčí erythrocyty), test podle Ericsona (používá hovězí erythrocyty) a vlastní mikromodifikaci Davidsohnova testu s koňskými erythrocyty, kterým nahrazuje zatím používaný IM AVITEX test firmy OMEGA. Podobně jako IM AVITEX test firmy OMEGA, je i test na detekci heterofilních protilátek proti koňským erythrocytům možné provádět ve statimové formě, tzn., pokud vzorek doručíte do laboratoře v době jejího provozu a na žádance budete mít vyznačeno Statim s udáním telefonního čísla nebo e-mailu, na který Vám má být výsledek nahlášen, stane se tak do 30 min. po zaregistrování vzorku laboratoří.

Laboratoře Spadia Lab, a.s. nabízejí v rámci komplexní diagnostiky IM také vyšetření specifických protilátek proti EBV a atypických lymfocytů v krevním nátěru.

Z EBV specifických protilátek jsou to protilátky proti VCA ve třídě IgG i IgM, protilátky proti EA ve třídě IgG a proti EBNA ve třídě IgG i IgM. U protilátek proti VCA ve třídě IgG nabízejí v případě pozitivity i vyšetření jejich avidity, které může ukazovat na dlouhodobou stimulaci imunitního systému jedince EBV (vysoká avidita) nebo jen stimulaci krátkodobou EBV (nízká avidita). Séra pro sérologická vyšetření jsou skladována cca 1 týden po jejich získání a během této doby si lze telefonicky na lince **599 524 805** kdykoliv během pracovní doby vyšetření, která se ukážou dodatečně jako potřebná, doobjednat.



podle Jenson H. et al: In Manual of Clin.Lab.Immunology, 5th edition, 1997, pp. 634-43

end

Spinální svalová atrofie – odhalování přenašečů

MVDr. Zuzana Dindová, oddělení lékařské genetiky

V laboratoři lékařské genetiky jsme nově zavedli vyšetření – Stanovení počtu kopií genů SMN1 a SMN2 metodou MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification). Vyšetření metodou MLPA umožňuje odhalit delecí případně duplikaci genů, a tím možných přenašečů spinální svalové atrofie.

Spinální svalová atrofie (Spinal Muscular Atrophy - SMA) je dědičné neuromuskulární onemocnění charakterizované degenerací předních míšních rohů vedoucí k symetrické svalové slabosti a atrofii. Postižené jsou neurony, které zodpovídají za vědomé pohyby svalů, jako např. běhání, pohyby hlavy a polykání. Za onemocnění zodpovědné geny SMN1 a SMN2 se nacházejí na dlouhém raménku pátého chromozomu a normálně se vyskytují v počtu dvou kopií. Oba geny kódují stejný

protein, ale rozdíl v jednom nukleotidu v exonu 7 genu SMN2 způsobí, že gen SMN2 v porovnání s genem SMN1 je jen z 10-15% schopný produkovat funkční SMN protein (survival motor neuron protein). Více než 95% SMA pacientů vykazuje homozygotní delecí exonu 7 genu SMN1. Heterozygotní delece exonu 7 genu SMN1 indikuje přenašečství SMA. Počet kopií genu SMN2 je variabilní, neovlivňuje status přenašečství, má ale vliv na klinický projev nemoci. Čím více kopií genu SMN2, tím lehčí fenotyp. Onemocnění se vyskytuje přibližně u 1 novorozence z 6000 narozených a asi 1 osoba ze 40 osob je přenašečem nemoci. SMA je po Duchenově svalové dystrofii druhé nej-

Přehled typů SMA onemocnění a jejich průvodních znaků

Typ onemocnění	Rozlišovací znaky	Vždy přítomné znaky	Variabilní znaky a poznámky
SMA I. typu	<ul style="list-style-type: none"> od narození hypotonický, časté dýchací obtíže nikdy sám nesedí bez opory manifestace obtíží do 6 měsíců úmrť u časné akutní formy zpravidla do 2-3 let 	<ul style="list-style-type: none"> těžká postupující slabost, ušetření mimického svalstva chybějící reflexy od počátku onemocnění neurogenní EMG autosomálně recesivní dědičnost 	<ul style="list-style-type: none"> deformace skeletu CK elevace
SMA II. typu	<ul style="list-style-type: none"> kombinace nástupu v pozdějším věku, pomalejší progresse sedí sám, staví se, nikdy sám nechodí bez opory začátek obtíží mezi 6.-24. měsícem dožívají se 20-50 let (podle péče) 	<ul style="list-style-type: none"> relativně pomalu postupující progresse reflexy od počátku nízké neurogenní EMG autosomálně recesivní dědičnost 	<ul style="list-style-type: none"> fascikulace kyfoskolióza, deformity DK dýchací obtíže třes rukou CK elevace zřídka
SMA III. typu	<ul style="list-style-type: none"> kombinace nástupu v pozdějším věku, pomalé progresse a slabosti pletencového svalstva chodí bez opory začátek obvykle až ve školním věku (ale i dříve) 	<ul style="list-style-type: none"> pomalou narůstající slabost pletencového svalstva, postupné horšení chůze i vstávání ze země nízké reflexy, později nevybavné neurogenní EMG autosomálně recesivní dědičnost 	<ul style="list-style-type: none"> slabost mimických svalů fascikulace připomíná myopatický syndrom
SMA IV. typu	<ul style="list-style-type: none"> začátek po 30. roce věku velmi pomalá progresse 	<ul style="list-style-type: none"> proximální i distální formy postižení různé typy dědičnosti 	

Autor: www.zdn.cz

častější neuromuskulární onemocnění, je to také druhá nejčastější příčina úmrtnosti kojenců na autosomálně recesivní onemocnění.

Genetické vyšetření spinální svalové atrofie se provádí pro potvrzení případně vyloučení onemocnění u pacienta. Dále před plánovaným rodičovstvím u osob s pozitivní rodinnou anamnézou a jejich partnerů pro odhalení případných přenašečů SMA a stanovení míry rizika přenosu onemocnění na potomstvo.

V naší laboratoři se vyšetření provádí z nesrážlivé periferní krve (s EDTA, citrátem), kterou je třeba doručit do laboratoře co nejdříve po odběru, nejlépe do 24 hodin.

end

Kontakty	Příjem materiálu: +420 599 524 800	Laboratoř biochemie: +420 599 524 803
	Laboratoř mikrobiologie: +420 599 524 809	IT oddělení: +420 556 794 120
Nová telefonní čísla :		
Lab. molekulární biologie	+420 595 530 232 - 234	Cytogenetická laboratoř: +420 595 530 235, 236
Další kontakty:	http://ww.spadia.cz	