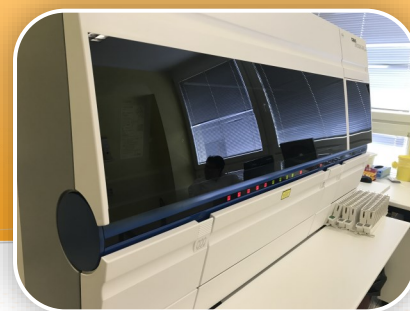


Spadia News



Úvodní slovo

Vážené kolegyně, vážení kolegové,

blíží se prázdniny a chceme vás, ještě před odjezdy na dovolenou, informovat o novinkách z naší laboratoře.

Jedním z hlavních témat končícího jara je vstoupení v platnost *Obecného nařízení na ochranu osobních údajů*, neboli GDPR. Toto nařízení se týká každého, kdo shromažďuje nebo zpracovává osobní údaje občanů EU, tedy i všech poskytovatelů zdravotní péče. V ČR bohužel stále ještě nebyl schválen prováděcí zákon, který bude upravovat GDPR na národní úrovni a tudíž některé z požadavků GDPR se mohou ještě měnit. Na našich stránkách máme zveřejněno prohlášení o *Dodržování pravidel ochrany osobních údajů*, kde deklarujeme, že naše laboratoř pracuje v souladu s požadavky GDPR. Pro Vaši spolupráci s laboratoří je to postačující, není potřeba dalších smluv. Je možné, že budeme muset upravit některé činnosti, které pro vás vykonáváme, protože chceme pracovat v souladu s platnou legislativou, ale zároveň vám nechceme zbytečně komplikovat život.

Jedním z medicínských témat tohoto jara je „epidemie“ spalniček. Dodavatelé diagnostik nebyli na tuto možnost připraveni a zpočátku docházelo ke zbytečným prodlevám ve vydávání výsledků. V současnosti, i díky novému výkonnějšímu ELISA automatu na oddělení imunologie, provádíme vyšetření na spalničky každý den. Tomuto tématu je věnován i jeden z článků tohoto čísla.

Pokračujeme také v přednáškové činnosti. V květnu proběhl v Ostravě seminář pro lékaře věnovaný interpretaci imunologických výsledků, v červnu tradičně organizujeme s FN Ostrava dvou-denní Pracovní dny laboratorní medicíny v Žermanicích.

SPADIA LAB je laboratoř, která investuje nemalé prostředky do vzdělávání svých zaměstnanců, ale i do technologických novinek. Zejména se jedná o již zmíněný plně automatický ELISA robot, na oddělení genetiky jsme zakoupili nový sekvenátor NextSeq, který je první v klinických laboratořích na Moravě. Díky těmto přístrojům nadále zlepšujeme kvalitu a rychlost prováděných vyšetření.

Vážené kolegyně, vážení kolegové, blíží se prázdniny a s nimi i doba dovolených. Přeji vám za celý kolektiv SPADIA LAB příjemné prožití letních měsíců, vydařenou dovolenou a zasloužený odpočinek s rodinou a přáteli.

Za kolektiv SPADIA LAB

Lukáš Garčic

Statistické vyhodnocení hladiny vitamínu D u našich pacientů

RNDr. Lubor Stančík, Ph.D., Mgr. Lukáš Garčic, laboratoř klinické biochemie

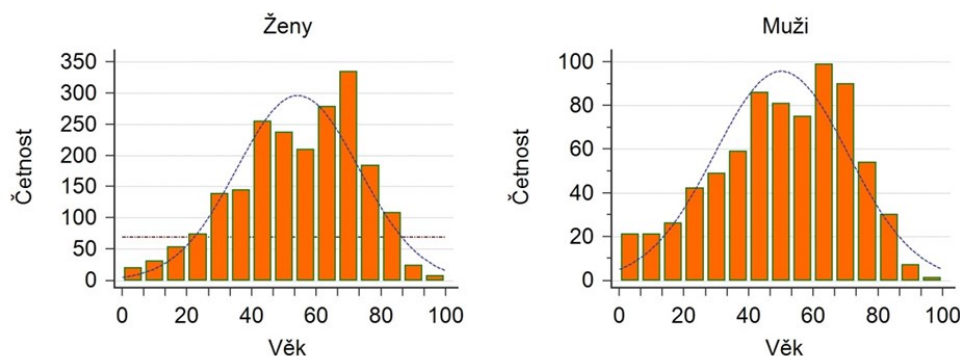
Vitamin D patří do skupiny v tučích rozpustných vitaminů. Je tvořen skupinou biologicky aktivních látek (kalciferolů), které organismus získává potravou nebo účinkem slunečního záření.

V současnosti je deficitem vitamínu D v Evropě ohroženo až 30–50% populace. Za rizikový faktor se považuje „moderní“ způsob života, kdy díky velkému množství času trávenému v budovách a používání krémů s ochranným UV faktorem významně klesla expozice slunečnímu záření. Studie uvádí, že velmi výrazným nedostatkem vitamínu D na konci zimy trpí asi 85% obyvatel, u skupiny seniorů je to až 95%.

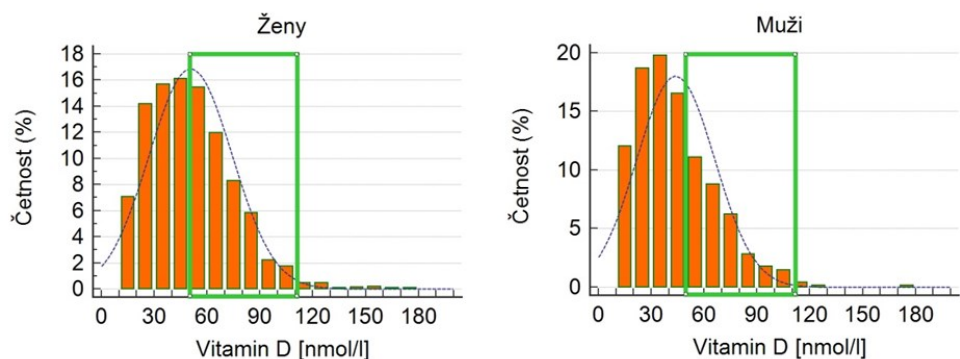
V průběhu měsíce března roku 2018 provedly laboratoře SPADIA Lab 2838 stanovení celkového vitamínu D. Bylo vyšetřeno 2097 žen a 741 mužů.

Výsledky našich měření jsou v souladu s výsledky zahraničních studií. Více než polovina ženské populace a dvě třetiny mužské populace má na konci zimy snížené hodnoty vitamínu D, což představuje rizikový faktor pro rozvoj mnoha onemocnění (zj. osteoporózy, kardiovaskulárních onemocnění a diabetu mellitu). Výsledky pro věkovou kategorii nad 70 let se od celkových výsledků příliš neliší.

Věkové složení



Zjištěné hladiny vitamínu D



Zelený obdélník označuje oblast normálních hodnot

Souhrnná statistika

	Ženy	Muži
Počet	2097	741
Věk od	0	0
Věk do	97	97
Věk průměr	54	50
Věk medián	56	52
Vitamin D průměr [nmol/l]	55,7	53,9
Vitamin D medián [nmol/l]	52	47,8
% Normálních hodnot	46	32
% Nízkých hodnot	53	67
% Vysokých hodnot	1	1



Diagnostika spalniček v laboratořích Spadia Lab

RNDr. Ivo Lochman, CSc., RNDr. Julius Lupač, laboratoř imunologie a sérologie

Spalničky jsou vysoce nakažlivé virové onemocnění vyvolávané spalničkovým virem. Spalničkový virus (Measles virus, Morbillivirus) je RNA virus, který patří do čeledi paramyxovirů a je přenosný pouze člověka na člověka. Aby mohl přežít, potřebuje mít v okolí nakaženého jedince další vnímavé jedince. Čerstvě virem spalniček infikovaní jedinci vykazují širokou škálu klinických projevů od charakteristických mírných, které samy postupně vymizí až po závažné, které mohou končit smrtí. Většinou se však imunitní systém postižených jedinců dokáže s infekcí virem spalniček vyrovnat a u jedince, který spalničky prodělal, se opakované setkání se spalničkovým virem, pokud není jeho dávka příliš velká, neprojeví žádnými nebo jen nevýznamnými klinickými projevy. Při masivní opakované infekci nemusí být však jeho při primární infekci vybudované ochranné mechanismy dostačující. Očkování proti spalničkám, které nahrazuje přirozenou infekci, zvyšuje práh vnímavosti vůči infekci, která má klinické projevy, díky vytvořené imunitní paměti podobně jako při přirozené infekci. Zde si je však zapotřebí uvědomit, že obranyschopnost jedince vůči infekci není dána jen specifickou imunitou, jejíž součástí je i tvorba protilátek, ale že primární imunitní odpověď je vždy nespecifická, bez účasti protilátek a že i ta má svou paměť. Protilátky jsou jen jedním z nástrojů adaptivní specifické imunity, která následuje po nespecifické primární odpovědi.



Aby byla populace efektivně chráněna před atakami spalničkového viru, je nezbytné, aby se její proočkovanost pohybovala alespoň mezi 90 - 95%. Díky očkování se podařilo v mnoha zemích, včetně ČR v letech 1980 – 2016, spalničky téměř eliminovat. V současné době, kdy je očkování proti spalničkám dobrovolné, klesla proočkovanost v ČR pod 90% a to, společně se zvýšenou migrací obyvatel ze zemí s nízkou proočkovaností a vysokým výskytem spalniček, způsobuje současný zvýšený výskyt tohoto onemocnění u nás.

Nejjednodušším a nejdostupnějším laboratorním vyšetřením ukazujícím na status jedince vůči viru spalniček je vyšetření protilátek proti tomuto viru. IgM protilátky ukazují na výskyt akutní infekce, IgG protilátky na pravděpodobnou úroveň obranyschopnosti vůči možné následné infekci. Pro tato vyšetření se odebírá normální srážlivá krev, která musí být do laboratoře doručena do 24 hod. po odběru. Při podezření na spalničky mají nejvyšší výpovědní hodnotu séra získaná z krve odebrané 7. – 10. den po výsevu exantému. Až u 30% nemocných nemusí být totiž v prvních třech dnech IgM protilátky detekovatelné. Pokud chceme infekci potvrdit pomocí vzestupu koncentrace IgG protilátek, pak je druhý vzorek optimální odebrat 2 – 3 týdny, nejméně však 10 dní po odběru akutního vzorku.

... pokračování na str. 4

... pokračování ze str. 3

Laboratoře Spadia Lab stanovují protilátky proti viru spalniček ELISA metodou. Výsledky jsou vydávány v indexech positivity (IP), což je poměr mezi ve vzorku nalezenou a hraniční koncentrací protilátek (cut off), která je považována za minimální ochrannou. Vzorky s $IP < 0.8$ jsou hodnoceny jako negativní, vzorky s $IP \geq 0,8$ až $< 1,1$ jako hraniční (výsledek je nehodnotitelný) a vzorky s $IP \geq 1,1$ jako pozitivní, a to jak ve třídě IgG tak IgM. Cut-off hodnota IgG protilátek ($IP = 1$) je při tom 250 IU/l.

V současné době jsou tato vyšetření prováděna denně a podle povahy vzorku k nim mohou být a jsou připojovány vhodné komentáře. Předpokládá se, že osoby s jasně prokazatelnou koncentrací IgG protilátek proti viru spalniček, tj. s $IP > 1,1$ by měly být vůči infekci tímto virem chráněny, pokud není infekční dávka viru příliš vysoká.

Podrobné informace o spalničkách a jejich diagnostice najdete na

<http://www.szu.cz/tema/prevence/spalnicky>



Mykologická vyšetření laboratoře SPADIA

Mgr. Martina Novotná a RNDr. Darina Jirásková, PhD., laboratoř klinické mikrobiologie

Lékařská mykologie se dostává do centra pozornosti stále širšího spektra medicinských oborů a právě toto byl důvod, proč se v letošním roce ostravská laboratoř klinické mikrobiologie rozšířila o oddělení samostatné mykologické laboratoře.

Jejími klienty jsou jak dermatologické kliniky a ordinace, tak nemocniční oddělení s problematikou systémových mykóz a potřebou rychlé diagnostiky včetně účinné antimykotické terapie.

Komplex vyšetření poskytovaných laboratořemi Spadia se tak vedle již zavedených imunologických metod (stanovení galaktomananu v BAL a séru) a molekulárně genetických metod (diagnostika vláknitých hub a *Pneumocystis jirovecii* metodou PCR) rozšířil o nezástupitelnou kultivační diagnostiku zahrnující mikroskopii, identifikaci etiologických agens a stanovení citlivosti k vybraným antimykotikům.

Laboratoř mykologie má k dispozici nově vybavené prostory s biohazardním boxem, fluorescenčním mikroskopem a identifikačním systémem MALDI-TOF s rozšířenou databází vláknitých hub. S ohledem na spektrum imunoalterovaných pacientů hematologického oddělení FNO nabízíme možnost cílení mykologické hemokultivace.

Mykotická agens vyžadují určitá specifika zpracování biologického materiálu, kultivace a identifikace.

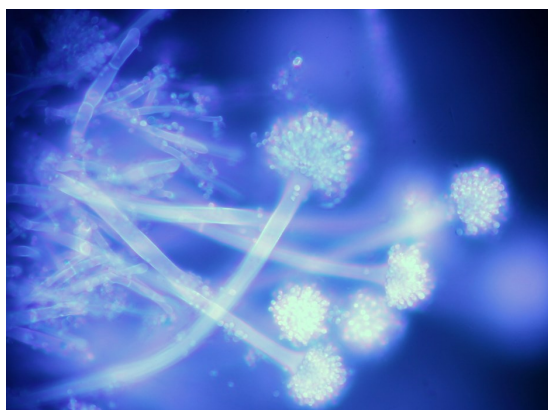
Nepostradatelnou technikou, která dává první informaci v předběžném určení možné houbo-

vé etiologie je mikroskopie. Na ní navazující kultivace umožňuje detekci a identifikaci původců mykóz a stanovení citlivosti k antimykotikům. Délka inkubace kvasinek je několik dnů, vláknité houby vyžadují přibližně týden, přičemž podmínkou identifikace je jejich sporulace. Dermatofytické houby rostou v řádu několika týdnů.

Testování citlivosti k antimykotikům uzavírá mykologické vyšetření a je podstatné pro úspěšnou eradikaci houbových agens. Podle závažnosti nálezu můžeme nabídnout jak kvalitativní, tak kvantitativní (MIC) stanovení citlivosti pro lokální i systémová antimykotika.

Společnou žádanku pro všechna nabízená mykologická vyšetření najdete na stránkách laboratoře www.spadia.cz.

Veškeré dotazy rády zodpovíme na telefonním čísle 595 539 103.



Obr. *Aspergillus flavus*, fluorescenční mikroskopie



Test blastické transformace lymfocytů – nová metoda s Ki-67

Mgr. Kamila Kutějová, laboratoř imunologie a sérologie



Detekce lymfocytární aktivace je jedním z klíčových vyšetření v laboratořích klinické imunologie. Výsledky se uplatňují v diagnostice imunodeficitů, v transplantologii (akutní rejekce), u infektů (virových, bakteriálních...), autoimunitních onemocnění, on-

kologii... Nejčastěji se hodnotí aktivace T-lymfocytů. Obrazem funkční aktivity B-lymfocytů je především produkce imunoglobulinů (IgG, IgM, IgA), popř. adekvátní odpověď v podobě produkce protilátek po očkování.

Lymfocyty lze aktivovat specifickými antigeny (tetanus, varicella, pneumococcus, candida), ale nevýhodou je stimulace pouze malého množství specifických lymfocytů a nutná přítomnost monocytů a dendritických buněk v kultuře. Polyklonální aktivátory stimulují nezávisle na specifitě TCR. Mezi nejčastěji používané polyklonální mitogeny patří **Phytohemagglutinin - PHA** (fazole zahradní), **Concanavalin A - ConA** (Jack Bean) a **Pokeweed mitogen - PWM** (Líčidlo americké).

Cytometrických metod k detekci proliferace je několik. Naše laboratoř využívala doposud měření celkové DNA (barvení DNA propidium jodidem). Nově jsme zavedli metodu měření intracelulárního aktivačního markeru Ki-67.

Ki-67 (proliferating cell associated protein) je jaderný protein, který má roli v buněčném dělení. Je intenzivně studovaný v souvislosti s proliferací nádorových buněk. Je exprimovaný během všech aktivních fází buněčného dělení, není exprimovaný v klidové fázi. Je to specifický a kvantitativní indikátor proliferace. Výhodou této metody je její jednoduché provedení. K buňkám v kultuře není zapotřebí nic přidávat. Umožňuje současné stanovení dal-



ších antigenů a navíc tato metoda dobře koreluje s ostatními cytometrickými metodami pro měření proliferační aktivity lymfocytů. Je tedy více validní než metoda celkového měření DNA. Lymfocyty jsou stimulovány mitogenem PHA, což je hlavní stimulátor T-lymfocytů.

Vzhledem k nutnosti 72hod inkubace jsou vzorky (krev odebrána do heparinu) pro BTL (blastická transformace lymfocytů) zpracovávány v pondělí, úterý, středu a pátek.



Syndrom fragilního X chromozómu (FRAXA, syndrom Martin-Bell)

Mgr. Magdaléna Martinková, laboratoř molekulární biologie

Syndrom fragilního X chromozómu je po Downově syndromu druhou nejčastější příčinou mentální retardace u mužů.

Jelikož se jedná o genetický defekt na chromozomu X, postihuje tento syndrom častěji chlapce - kteří mají za normálních okolností chromozom X pouze jeden. Syndrom se ovšem může do jisté míry projevit i u žen a navíc má prokázanou tendenci (vzhledem k typu mutace) k závažnějším projevům v budoucích generacích.

Jedná se o onemocnění projevující se mentální retardací často spojenou s dysmorfickými rysy (protáhlý obličej s výraznou bradou a velkýma odstávajícíma ušima), u mužů se vyskytuje makroorchidismus (abnormální zvětšení varlat). U postižených bývají popisovány různě závažné poruchy chování, jako jsou poruchy učení, autismus, hyperaktivita. Fenotypická manifestace u prepubertálních mužů je poměrně nespecifická a variabilní, což znesnadňuje klinickou diagnostiku. Postiženy mohou být také ženy, přibližně polovina nosiček plné mutace má mírnou až střední formu mentální retardace.

Příčinou a tedy **kauzální mutací je expanze tripletů CGG ve *FMR1* genu (oblast Xq27.3, lokus FRAXA), která je doprovázena abnormální metylací a inaktivací *FMR1* genu.**

Molekulárně genetické vyšetření *FMR1*, které provádíme u nás v laboratoři molekulární biologie, stanoví počet tripletů CGG a kategorizuje nález **alel na normální, alela v šedé zóně, premutace, plná mutace.** Tato kategorizace normálních až

patologických nálezů je v přímé souvislosti se závažností fenotypového projevu.

Molekulárně-genetické vyšetření genu *FMR1* je lékařem požadováno v případech:

1. pacienta s mentální retardací, opožděným vývojem, autismem s fyzikální a behaviorální charakteristikou syndromu fragilního X chromozómu
2. příbuzných pacientů se syndromem fragilního X
3. příbuzných pacientů s blíže neurčenou mentální retardací
4. mužů a žen starších 50 let s progresivní cerebelární ataxií (nesouměrnost pohybů a špatná koordinace) a intenzivním tremorem (třesením) u kterých jiné běžné příčiny ataxie byly vyloučeny
5. ženy s nejasnou příčinou POI – předčasného ovariálního selhání a ovariální dysfunkce
6. prenatalního vyšetření u přenašeček syndromu fragilního X chromozómu.



Kontakty:

Spadia Ostrava:

Zelená linka centrální laboratoře: 800 100 329
Zelená linka mikrobiologie: 800 666 444
Příjem materiálu: 595 539 150 - 151

Spadia Praha

Zelená linka centrální laboratoře: 800 898 898
Zelená linka mikrobiologie: 800 655 655
Příjem materiálu: 595 539 200 - 203

Spadia Brno

Zelená linka centrální laboratoře: 800 100 052
Zelená linka mikrobiologie: 800 465 465

Ben Labor, s.r.o. 597 011 293
721 512 237

Damier s.r.o. 595 539 270 - 271
603 587 153