

# Spadia News



## Úvodní slovo

Vážené kolegyně, vážení kolegové,

dostává se k vám další vydání laboratorních novin SPADIA News. V tomto našem občasníku vás informujeme o nových metodách, přístrojích a technologiích, které v laboratoři zavádíme. Zároveň přinášíme praktické informace o jednotlivých metodách, preanalytické fázi a interpretaci výsledků. Domníváme se, že ke kompletnímu laboratornímu servisu patří i kvalitní informační servis.

Začátkem června proběhl poslední ze série letošních seminářů pro zdravotní sestry. Je to obdoba SPADIA News naživo. Semináře proběhly celkem na sedmi místech a všude byla naplněna maximální kapacita přednáškového sálu. Celkem se zúčastnilo 540 kolegů, zejména sestřiček. Jsme rádi, že máme možnost se s vámi setkat a prodiskutovat věci pracovní a někdy i osobní. Děkuji za vaši účast a svým kolegům za výbornou organizaci a vysokou úroveň odborného programu.

První polovina roku byla ve znamení přípravy na akreditaci a následných auditů ČIA, které úspěšně proběhly na jednotlivých pracovištích SPADIA LAB. Prokázali jsme vysokou kvalitu našich laboratorních metod i odborných znalostí pracovníků laboratoře.

Koncem června proběhla aktualizace laboratorní příručky na našich internetových stránkách. Byly aktualizovány údaje o vyšetřeních i referenčních mezích. Pro lékaře, kteří využívají program eŽpráva se nám podařilo zprovoznit tvorbu a přenos elektronických žádanek pro naši laboratoř.

Do tohoto čísla SPADIA News jsme zařadili články o protilátkách proti TSH receptoru, změně referenčních mezích vyšetření progesteronu a kyseliny listové, přehledu PCR metod na pracovišti mikrobiologie, laboratorní diagnostice alergií a stanovení hladin vitamínů.

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 mnoho slunečných dní s rodinou a přáteli.

Za kolektiv SPADIA LAB

Lukáš Garčic

## Stimulační protilátky proti TSH receptoru (TSI)

Ing. Jakub Minář, laboratoř klinické biochemie

Vážená paní doktorko, vážený pane doktore,

sdělujeme Vám tímto, že jsme v laboratoři Spadia zavedli novou unikátní metodu k přesné a správné diagnostice Gravesovy nemoci - stimulační protilátky proti TSH receptoru (TSI). Hypertyreóza postihuje 35 miliónů osob na celém světě. Nejčastější příčinou je Gravesova nemoc. Gravesova nemoc je autoimunitní onemocnění způsobené přítomností protilátek, které se vážou na TSH receptory na tyreoidálních buňkách a stimulují neregulovanou produkci hormonů štítné žlázy. Její diagnostika je obvykle založena na starších typech stanovení protilátek proti TSH receptoru (TRAK), které však stanovují jak stimulující tak blokující protilátky. Přitom blokující protilátky vedou naopak k hypotyreóze. Stanovení TSI je tak první přesný a správný test, který detekuje pouze stimulační protilátky proti TSH receptoru. Indikace k vyšetření: Gravesova nemoc – diagnostika, diferenciální diagnostika a monitorování terapie, potvrzení Gravesovy oftalmopatie, predikce neonatální hypertyreózy. Výsledky stanovení ze séra vydáváme denně. Cut off hodnota je 0,55 IU/l.



## Laboratoř klinické biochemie - novinky a důležitá upozornění

RNDr. Kateřina Andelová, laboratoř klinické biochemie

Laboratoř klinické biochemie si Vás dovoluje informovat o změnách, která jsou v platnosti od 1. 6. 2016. V rámci zvýšení kvality poskytované péče zavádí Diagnostická laboratoř novou výpočtovou metodu pro odhad glomerulární filtrace (eGF) na podkladě stanovení sérového kreatininu: **odhad GF podle rovnice CKD-EPI**, která nahrazuje výpočet podle rovnice MDRD. Výpočtová metoda odhadu GF podle CKD-EPI vychází ze čtyř proměnných: sérový kreatinin, věk, pohlaví a rasová příslušnost, výsledek je přepočten na standardní povrch těla (1,73 m<sup>2</sup>). Výpočet CKD-EPI je preferován národními společnostmi a mezinárodními organizacemi (společné doporučení České nefrologické společnosti a České společnosti klinické biochemie, Kidney Disease – Improving Global Outcomes). S platností od 9. 6. 2016 je výpočet eGF dle CKD-EPI automaticky vydáván na výsledkovém listě při zadání požadavku stanovení sérového kreatininu. Rovnice MDRD se od uvedeného data ruší. Formát výsledkové zprávy ve tvaru: výpočet CKD-EPI (eGF).

### Indikace k vyšetření:

- klasifikační marker stupně závažnosti renálního poškození,
- výpočet není vhodný využívat u gravidních žen a u dětí (u pediatrické populace je doporučováno používat rovnici podle Schwartze s nutností znalosti výšky dítěte).

**Hodnotící meze:** kategorie CKD (chronické onemocnění ledvin) podle eGF. Není-li přítomno renální poškození, kategorie G1 a G2 nesplňují kritéria CKD (Tab. 1).

Rovněž Vás informujeme, že od 1. 6. 2016 **došlo k úpravě referenčního rozmezí pro kvantitativní stanovení progesteronu a kyseliny listové v krvi**. Důvodem změny je přechod na novou generaci diagnostických souprav, ve kterých výrobce deklaruje použití inovovaných pracovních reagensů. V souladu s dokumentací výrobce diagnostické soupravy jsou od uvedeného data v platnosti následující referenční intervaly (platné pro 95 % populace).

Tab. 1 Kategorie CKD podle eGF

Kategorie	Rozmezí	Interpretace eGF
G1	GF ≥ 1,5 ml/s/1,73 m <sup>2</sup>	normální / vysoká GF
G2	GF = 1,00 – 1,49 ml/s/1,73 m <sup>2</sup>	mírně snížená GF
G3a	GF = 0,75 – 0,99 ml/s/1,73 m <sup>2</sup>	středně snížená GF
G3b	GF = 0,50 – 0,74 ml/s/1,73 m <sup>2</sup>	středně snížená GF
G4	GF = 0,25 – 0,49 ml/s/1,73 m <sup>2</sup>	výrazně snížená GF
G5	GF < 0,25 ml/s/1,73 m <sup>2</sup>	renální selhání

### PROGESTERON

<b>Muži</b>	0,159 – 0,474 nmol/l
<b>Ženy</b>	
Folikulární fáze	0,181 – 2,840 nmol/l
Ovulační fáze	0,385 – 38,10 nmol/l
Luteální fáze	5,820 – 75,90 nmol/l
Postmenopauza	0,159 – 0,401 nmol/l
1. trimestr	35,00 – 141,0 nmol/l
2. trimestr	80,80 – 264,0 nmol/l
3. trimestr	187,0 – 681,0 nmol/l

### KYSELINA LISTOVÁ

Muži, ženy 4 – 11 let	19,50 – 85,40 nmol/l
Muži, ženy 12 – 19 let	11,30 – 61,60 nmol/l
Muži, ženy 20 – 65 let	8,83 – 60,80 nmol/l
Muži, ženy > 65 let	12,70 – 103,8 nmol/l

Laboratoř klinické biochemie nově disponuje plně automatizovaným systémem pro provádění elektroforéz na agarózovém gelu **Interlab G26 Easy Fix**. Analyzátor umožňuje separaci a identifikaci sérových i



močových proteinů (vč. Bence Jones), typizaci monoklonálních imunoglobulinů a identifikaci izoenzymů ALP, včetně denzitometrického vyhodnocení. V této souvislosti bude postupně docházet ke korekci referenčního rozmezí (při přechodu metodiky na nový analyzátor) – výsledky elektroforéz jsou vždy individuálně hodnoceny, úprava referenčního rozmezí bude aplikována v interpretačním komentáři k výsledku vyšetření.

V případě dotazů a připomínek kontaktujte pracovníky Laboratoře klinické biochemie, pracoviště Ostrava na tel.: 599 524 803.



## Nově prováděná PCR vyšetření v Laboratoři klinické mikrobiologie

MVDr. Silvia Balušíková, laboratoř molekulární biologie

Laboratoř klinické mikrobiologie zahrnuje od září 2015 i oddělení molekulárně-biologických metod, které původně organizačně patřilo pod Laboratoř lékařské genetiky. Naše oddělení molekulárně - biologických metod si dalo za cíl nejen rozvoj nových vyšetření pro extrahumánní, resp. mikrobiální genom, ale zároveň zlepšit spolupráci s lékaři různých oborů a navázat na bakteriologická, virologická a mykologická vyšetření, které se rutinně provádějí v Laboratoři klinické mikrobiologie a tím zvýšit komplexnost a kvalitu diagnostiky. Nyní můžeme nabídnout řadu nových vyšetření, resp. panelů, které se budou do budoucna dále rozvíjet a aktualizovat. Nově jsme rozšířili vyšetření pohlavně přenosných nemocí, kde jsme ke standardně prováděným a vysoce frekventním vyšetřením na *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* a *Ureaplasma species* zahrnující *U. parvum* et *urealyticum*, zavedli i stanovení **DNA *Trichomonas vaginalis***.

Z panelů vyšetření, které oddělení nově provádí patří:

**Herpetický panel**, kde jsme schopni kvalitativně i kvantitativně vyšetřit **DNA *Cytomegalovirus*, *Herpes simplex virus 1/2*, *Varicella-Zoster virus* a *Epstein-Barr virus***, které vyšetřujeme z plné krve odebrané do EDTA, moče a likvoru. Vyšetření CMV stanovujeme i ze stolice a u pásového oparu, tedy VZV i stěry

z puchýřků. Kvantitativní diagnostiku provádíme pouze z liquidních (tekutých) materiálů.

**Respirační panel** se o PCR metody postupně rozrůstá, přičemž momentálně se naše spolupráce s mikrobiologií projevila zavedením PCR vyšetřením kvasinky ***Pneumocystis jirovecii*** a plísní ***Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger* a *A. terreus***, které vyšetřujeme zejména z materiálů jako je BAL, sputum, ale i mozkomíšní mok. Tento panel se brzo rozroste o další vyšetření ***Bordetella pertussis/parapertussis/bronchiseptica*** a o vyšetření **atypických pneumónií**, které budou zahrnovat ***Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* a *Legionella pneumophila***.

A jelikož je před námi sezona výletů v přírodě a tím spojené zvýšené riziko nakažení se nebezpečnou boreliózou, tak nově provádíme i vyšetření na ***Borrelia burgdorferi***, které vyšetřujeme z krve odebrané do EDTA, moče a likvoru.

Všechna vyšetření jsou neustále aktualizována i na webových stránkách Spadia Lab, a.s. - [www.spadia.cz](http://www.spadia.cz), kde si můžete v případě zájmu vytisknout i aktuální žádanku s prováděnými metodami a specifikovaným odběrovým materiálem.

MVDr. Silvia Balušíková, oddělení molekulárně-biologických metod LKM, tel: 595 539 125- 127



## Alergologická diagnostika v laboratořích Spadia

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

Laboratorní diagnostika alergií je prováděna v současné době především stanovením celkového a alergen-specifických IgE, popř. dalších sérologických markerů souvisejících s alergickou reakcí (ECP, tryptáza). Méně často jsou využívány buněčné testy, které měří aktivaci basofilů periferní krve po inkubaci s alergeny pomocí exprese aktivačních znaků na jejich povrchu (basotesty) a testy měřící uvolňování leukotrienů z leukocytů po inkubaci s alergeny (CAST). Předpokládá se, že hlavním zdrojem uvolněných leukotrienů jsou basofily. Aktivace basofilů však nemusí probíhat jen přes IgE receptory. Hlavně ve frankofonních zemích se využívají testy, které měří přímo množství histaminu uvolněného do inkubačního media po inkubaci naředěné plné krve vyšetřovaného jedince s alergeny (HRA – histamine release assays). V posledních letech se stalo populárním v souvislosti s diagnostikou histaminové intolerance (HIT) také stanovení aktivity a koncentrace diaminoxidázy (DAO) v séru, jako hlavního extracelulárního enzymu, který eliminuje do tkání uvolněný nebo dodaný (např. potravinami) histamin. Stanovení

celkového IgE je dnes natolik zvládnuto, že akreditované metody dávají prakticky shodné výsledky, ač jsou prováděny různými diagnostiky a různými technikami. Naopak stanovení alergen-specifických IgE dnes však ještě nelze standardizovat. To způsobuje, že výsledky získané diagnostiky různých firem se mohou lišit. Proto je doporučováno, aby, pokud nalezený výsledek nesouhlasí s anamnézou, bylo vyšetření provedeno jinými diagnostiky. Výsadní postavení díky patentovanému povrchu kalíšků (CAP), v nichž probíhá stanovení, má FEIA CAP metoda firmy Phadia, která je klinicky ve srovnání s ostatními na trhu dostupnými metodami klinicky nejcitlivější. V případě, že lékař potřebuje stanovit ve vzorku u pacienta více jak 3 alergeny, je ekonomicky výhodné použít multiplexové metody, které obvykle nabízejí stanovení sp.IgE proti vybraným sadám až 20 alergenů. Použití rekombinantních a vysoce purifikovaných nativních alergenů a jejich komponent v dg sp.IgE pomáhá ke standardizaci vyšetření a objasnění některých reaktivit, které pomocí běžných alergenů nelze získat.

.. pokračování na str. 4

.. pokračování ze str. 3

Laboratoře Spadia nabízejí stanovení sp.IgE pomocí diagnostik firem Fooke (široká nabídka alergenů a jejich směsí – náhrada za dříve používaná diagnostika RISA/Doverton), Phadia (CAP – „zlatý standard“ v dg sp.IgE) a multiplexovou imunoblotovací metodou firmy Euroimmun (4 různé panely po 20 alergenech). Dostupná je také diagnostika proti 50 nejběžnějším rekombinantním nebo vysoce purifikovaným komponentám alergenů. Komplexní seznam alergenů pro všechna nabízená vyšetření je k dispozici odborným ambulancím, které je využívají.

Stanovení koncentrace ECP a tryptázy není dnes také ještě standardizováno, a proto je nutno počítat s tím, že pomocí diagnostik různých firem můžeme dostávat různé výsledky. Laboratoře Spadia nabízejí stanovení těchto dvou analytů diagnostiky firmy Phadia. Stanovení DAO začalo být populární v ČR v souvislosti s prevencí a léčbou histaminových intole-

rancí (HIT) způsobených potravinami v r. 2011. Předpokládá se, že aktivita DAO v séru koreluje s aktivitou DAO, které mohou uvolnit buňky střevní sliznice. V současné době je nabízena na našem trhu jen jedna souprava na stanovení koncentrace DAO v séru a jedna souprava na stanovení aktivity DAO v séru. Předpokládalo se, že stanovení aktivity a koncentrace DAO spolu úzce souvisí a že stanovení DAO v séru pomůže v diferenciální diagnostice HIT. To se ale na rozsáhlejších souborech pacientů zatím nepotvrdilo. Stanovení aktivity DAO v séru je logicky správnější než stanovení její koncentrace. Stanovení aktivity DAO v séru zajišťují laboratoře Spadia ve spolupracující laboratoři. V souvislosti s diagnostikou HIT ověřují laboratoře Spadia v současné době test na stanovení histamin-degradační aktivity (HDA) séra, který by byl alternativou stanovení DAO a odpovídal by lépe na otázku, která by měla být v souvislosti s HIT alergology pokládána, a to: Jak rychle dokáže sérum pacienta eliminovat uvolněný histamin?

## Vitamíny

Mgr. Peter Loučka, laboratoř klinické biochemie, oddělení instrumentálních metod

Lidská strava obsahuje kolem čtyřiceti esenciálních nutrientů, které mohou být rozděleny do čtyř základních skupin: na nutrienty energetického metabolismu, esenciální aminokyseliny, minerály spolu se stopovými prvky a vitamíny. Vitamíny jsou definovány jako skupina organických sloučenin esenciálních pro metabolismus, které organismus nedovede sám syntetizovat a podobně jako další esenciální nutrienty musí být dodávány organismu dietou.

Rozdělují se obvykle podle rozpustnosti ve vodě na vitamíny rozpustné ve vodě (B1-thiamin, B2-riboflavin, B3-niacin, B5-kys. pantothenová, B6-pyridoxin, B7-biotin, B12-kobalamin, C-kys. askorbová, M-kys. listová) a vitamíny rozpustné v tucích (A, E, D, K).

Vzhledem k nerozpustnosti ve vodě mohou být vitamíny rozpustné v tucích akumulovány v tukových tkáních a jejich nadměrný příjem může vést k hypervitaminóze. Vitamíny rozpustné ve vodě se ukládají zpravidla v malých množstvích a jejich přebytek se vylučuje močí.

Funkce jednotlivých vitamínů v buněčném metabolismu je závislá na jejich chemickém složení. Kromě toho vita-

míny vystupují jako induktory proteinových biosyntéz a v neposlední řadě fungují jako redoxní agens. Vitamíny rozpustné ve vodě fungují v řadě případů jako koenzymy a tím umožňují katalytickou funkci mnoha enzymů.

Chronicky insuficientní stav je nepochybně rizikovým faktorem. Některé vitamínově deficitní stavy jsou charakterizovány symptomy, které mohou být diagnostikovány zcela jasně. Obvykle se jedná o výraznou insuficienci v příjmu jednoho nebo více vitamínů v průběhu delšího časového období. V průmyslových oblastech jsou deficitní vitamínové stavy jen výjimečné, ale i zde se mohou vyskytnout v některých populačních skupinách, jako jsou důchodci, -nácitělí, alkoholici, těhotné nebo kojící ženy.

Většina vitamínů je velmi citlivá na nejrůznější fyzikální a chemické vlivy (světlo/UV, teplota, oxidační/redukční agens, kyseliny/zásady, ionty kovů). **Z pohledu dodržení podmínek preanalytické fáze před vyšetřením jsou důležité především ochrana vzorků před světlem, resp. UV zářením a dodržování teploty transportu a skladování vzorků.** Nejméně stabilní z tohoto pohledu je vitamín C, který vyžaduje zpracování materiálu do 3 hodin po odběru.

V tabulce níže jsou uvedeny vitamíny rutinně vyšetřované v laboratoři SPADIA LAB, a.s., podrobné informace o stabilitě jsou dostupné v naší laboratorní příručce na stránkách [www.spadia.cz](http://www.spadia.cz).

Vitamin	Materiál	Metoda	Provádí se
B1 - thiamin	plná krev (EDTA)	HPLC-FD	1x za 14 dní
B2 – riboflavin	plná krev (EDTA)	HPLC-FD	1x za 14 dní
B6 - pyridoxin	plazma (EDTA)	HPLC-FD	1x za 14 dní
B12 - kobalamin	sérum, plazma (heparin)	ECLIA	denně
Aktivní B12	sérum	CLIA	denně
C - kyselina askorbová	sérum	HPLC-UV/VIS	1x týdně
Kyselina listová	sérum, plazma (heparin)	ECLIA	denně
Kyselina listová-ery	plná krev (EDTA, heparin)	ECLIA	denně
A	sérum, plazma (EDTA)	HPLC-UV/VIS	1x týdně
D celkový	sérum, plazma (EDTA, heparin)	ECLIA	denně
25-OH-D3	sérum (nepoužívat zkum. s gelem)	LC-MS/MS	1x týdně
25-OH-D2	sérum (nepoužívat zkum. s gelem)	LC-MS/MS	1x týdně
E	sérum, plazma (EDTA)	HPLC-UV/VIS	1x týdně