

Spadia News



Úvodní slovo



Vážené kolegyně a kolegové,

vydání našeho občasníku SPADIA News, které právě držíte v rukou, je obsáhlejší než obvykle. Je to tím, že se v našich laboratořích snažíme přinášet novinky a zdokonalovat stávající služby a zároveň vás o všem informovat. Proto jsme do tohoto čísla zařadili abstrakty přednášek našich kolegů, které budou v následujících týdnech prezentovat na pracovním dni SPADIA LAB 2015 na osmi místech regionu, kde naše společnost aktivně působí. Již třetím rokem organizujeme tuto akci, která je zaměřena zejména na střední zdravotnický personál, ale věříme, že řada prezentací by mohla být zajímavá i pro lékaře.

Na konci minulého roku jsme vám zaslali dotazníky, které byly cílené na vaši spokojenost s naší prací. Předně vám chci poděkovat za to, že jste si udělali čas na vyplnění tohoto dotazníku a také, že jste nám ho poslali zpět k vyhodnocení (viz. grafy na vloženém listu). Kromě pozitivní odezvy na naši práci vám zejména děkuji za vaše konkrétní připomínky k našemu servisu. Právě konkrétní podněty jsou nejcennější, protože nám umožňují rychlou a cílenou reakci. Velkou většinu z nich jsme již vyřešili nebo je řešíme.

Opakovaně se v úvodníku zaměřuji na využívání nových informačních technologií v komunikaci s naší laboratoří. V případě, že budete chtít využívat kromě elektronického zasílání výsledků i naše další služby, rozhodně se neváhejte obrátit na naše oddělení informačních technologií (www.medivis.cz)

Z novinek v laboratoři bych vás chtěl upozornit na

- zavedení přesnější analýzy pertuse a parapertuse pomocí imunoblotu do rutinní praxe (informace oddělení imunologie, RNDr. Lochman)
- zavedení Liquid Based Cytology (LBC) v laboratoři BenLabor, což předpokládám přivítají gynekologové. Výhodou tohoto postupu je možnost z jednoho odběru provést i vyšetření HPV (informace MUDr. Benčík, BenLabor)
- zavedení stanovení dihydrotestosteronu (DHT) a dalších steroidních hormonů, kyseliny metylmalonové a antiepileptik nové generace metodou hmotnostní spektroskopie (informace oddělení instrumentálních metod, Mgr. Loučka)

Vážení kolegové, jsme rádi, že jste si k péči o vaše pacienty vybrali právě naši laboratoř a věřím, že i kolektiv naší laboratoře bude pro vás naplňovat slogan: „**SPADIA vaše jistota v laboratoři**“.

Přeji vám do nadcházejících jarních dnů NE jarní únavu, ale naopak energii a optimismus, které toto období přináší.

Za kolektiv SPADIA LAB

Martin Radina

Imunohematologická vyšetření v naší laboratoři

Mgr. Petra Simprová, RNDr. Radana Slezáková, Dagmar Lysková, Mgr. Petra Vavrošová, laboratoř hematologie

Imunohematologie studuje interakce imunitního systému a krve, z diagnostického pohledu jde především o detekci antigenů krevních buněk a protilátek proti nim. Objevení principů imunohematologie na začátku 20. století umožnilo rozvoj celého transfuzního lékařství a všech oborů souvisejících s transfuzí. Mezi rutinně využívaná imunohematologická vyšetření patří stanovení krevní skupiny a Rh faktoru v systému ABO/RhD, které lze případně doplnit o určení antigenů dalších krevně skupinových systémů. Tato základní vyšetření jsou zpravidla indikována u pacientů s perspektivou možné potřeby transfuze, u těhotných žen, novorozenců a samozřejmě u dárců krve. Pro bezchybnou interpretaci výsledků imunohematologických vyšetření je důležité dbát na nezaměnitelnou identifikaci pacienta, zachování dostatečného množství odebraného vzorku, správné označení a transport vzorku a úplné a správné

údaje v žádance. V průběhu gravidity žen, ale i jako součást předtransfúzního vyšetření je neméně významný screening nepravidelných antierytrocytárních protilátek. V případě pozitivního výsledku se přistupuje k identifikaci protilátek a jejich titraci. Stanovení titru potencionálně klinicky významných specifických nepravidelných protilátek pomáhá k predikci těhotenství, která jsou v riziku HON. (hemolytické onemocnění plodu a novorozence)

K jednotlivým vyšetřením v naší laboratoři je používán systém sloupcové aglutinace, většinu testů provádí automat WaDiana Compact. Spektrum laboratorních metod doplňuje přímý antiglobulinový test (PAT) či jiná sérologická vyšetření. Vzhledem k významu imunohematologické diagnostiky je nutné dodržet stanovenou preanalytickou fázi, která může zabránit fatálním důsledkům.



Jak na alkohol

Mgr. Peter Loučka, Mgr. Magdalena Rajska, Ing. Jakub Minář, laboratoř biochemie oddělení instrumentálních metod

Alkohol (ethanol) je po tisíce let konzumován ve formě alkoholických nápojů. Působení ethanolu závisí na tom, jak je lidský organizmus zvyklý ho přijímat a jaká je jeho celková tělesná hmotnost, proto je jeho dávkování velice relativní. V malých dávkách ethanol krátkodobě způsobuje euforii a pocit uvolnění, ve větších pak depresi, ztrátu koordinace pohybů těla (působením na mozeček), sníženou vnímavost, prodloužení reakce a útlum rozumových schopností, případně i agresivitu.

Následkem dlouhodobé konzumace alkoholu dochází ke změnám hodnot biochemických parametrů a krevního obrazu. Můžeme pozorovat zvýšení hodnot GGT (často kombinováno se zvýšeným ALT), ALP, bilirubinu, kyseliny močové, cholesterolu, triacylglycerolů, gamaglobulinů, cholinesterázy. Mezi nespecifické hodnoty také řadíme IgA, ALT a AST. U alkoholika bývá poměr enzymů AST:ALT nad 2. Snížené koncentrace nalézáme u kyseliny listové a thiaminu (vitamin B1). Mezi odchylky v krevním obrazu patří makrocytární anémie, trombocytopenie, zvýšený střední objem erytrocytů (MCV). Následkem dysfunkce vytváření srážecích faktorů játry je porucha srážlivosti krve.

Nejčastěji využívaným vyšetřením pro záchyt konzumace alkoholu je stanovení *ethanolu v krvi nebo v dechu*. K dispozici je ovšem řada dalších parametrů, které lze rutinně využít pro průkaz nadměrné a dlouhodobé konzumace alkoholu a pro monitorování abstinence v průběhu odvykací léčby – *karbohydrát-deficientní transferin (CDT) v séru, ethylglukuronid (EtG) a ethylsulfát (EtS) v moči*.

Ethylglukuronid (EtG) a ethylsulfát (EtS) jsou přímé metabolity etanolu, které vznikají v těle enzymatickou

konjugací etanolu s kyselinou glukuronovou, resp. sulfátem. Etanol je prokazatelný v moči jen několik hodin po požití (8-12 h), zatímco EtG lze zjistit po dobu až 80 hodin a EtS až 30 hodin po požití etanolu nebo po vdechování jeho par. EtG a EtS je tedy možno použít jako citlivé diagnostické markery požití alkoholu během předchozích 1-3 dní nebo k monitorování abstinence léčených alkoholiků. K výhodám EtG a EtS patří, že se jedná o stabilní netěkavé sloučeniny. EtG a EtS vznikají v játrech a jsou vylučovány do moče. Koncentrace EtG v moči může být snížena činností bakterií obsahujících beta-glukuronidázu, proto je lépe posílat k analýze vzorek čerstvé moče uchovaný v chladu. EtS tomuto procesu nepodléhá, proto je výhodné stanovit oba parametry současně. Protože EtG a EtS vznikají rozdílnými metabolickými pochody, jejich současné stanovení zvyšuje diagnostickou senzitivitu při monitoringu alkoholového abúzu.

Karbohydrát-deficientní transferin (CDT) je v současné době nejvíce specifický biochemický marker pro detekci nadměrné a dlouhodobé konzumace alkoholu a pro monitorování abstinence v průběhu léčby. CDT roste po nadměrné konzumaci alkoholu ($\geq 50 - 80$ g etanolu/den) v období dvou nebo více týdnů. Při následné abstinenci dochází k navození fyziologické hodnoty během 2-3 týdnů (v závislosti na délce a intenzitě předchozí konzumace alkoholu). Tato relativně dlouhá doba umožní odhalit nedodržení abstinence. Přesnou diferenciální diagnostiku poskytne současné stanovení CDT+GGT+MCV.

.. pokračování na str. 3



.. pokračování ze str. 2

Karbohydrát-deficientní transferin (CDT) je v současné době nejvíce specifický biochemický marker pro detekci nadměrné a dlouhodobé konzumace alkoholu a pro monitorování abstinence v průběhu léčby. CDT roste po nadměrné konzumaci alkoholu ($\geq 50 - 80$ g eta-

nolu/den) v období dvou nebo více týdnů. Při následné abstinenci dochází k navození fyziologické hodnoty během 2-3 týdnů (v závislosti na délce a intenzitě předchozí konzumace alkoholu). Tato relativně dlouhá doba umožní odhalit nedodržení abstinence. Přesnou diferenciální diagnostiku poskytne současné stanovení CDT+GGT+MCV.



	Primární vzorek	Cut-off	Doba odezvy
Ethanol	Srážlivá krev (těsně uzavřená zkum.)	0,2 ‰	24 hodin / statim 2 hodiny
CDT	Srážlivá krev	1,9 ‰	2x týdně (st, pá)
Ethylglukuronid	Náhodný vzorek moči	0,1 mg/l	1 týden
Ethylsulfát	Náhodný vzorek moči	0,1 mg/l	1 týden

Kultivační vyšetření moči

Mgr. Petra Bystroňová, laboratoř klinické mikrobiologie

Infekce močových cest (IMC) je druhým nejčastějším infekčním onemocněním v populaci. Do jednoho roku věku jsou IMC častější u chlapců, poté prevalence u mužů klesá, až v seniorském věku se opět prevalence zvyšuje a je stejná jako u žen. Od jednoho roku života po seniorský věk jsou IMC dominantním onemocněním ženské populace. Hlavním vyvolatelem IMC je, zejména u ženské části populace, *Escherichia coli*. Velmi často se v této souvislosti uplatňují zejména kmeny hemolytické, které bývají mnohdy i vybaveny faktory napomáhajícími jejich uchycení a udržení se na sliznici močového ústrojí i navzdory proudu moče. *Escherichia coli* zodpovídá za 70 – 80% všech močových infekcí.

Druhým nejčastějším agens, způsobujícím IMC, jsou zástupci rodu *Enterococcus*, jmenovitě druhy *E. faecalis* a *E. faecium*. Velmi častým vyvolatelem uroinfekcí, zejména pak u žen, je *Streptococcus agalactiae*, mohou se zde však uplatnit i jiné druhy beta-hemolytických streptokoků, včetně *Streptococcus pyogenes*.

U pacientů dlouhodobě katetrizovaných, zpravidla s těžkým základním onemocněním, se hojně uplatňují jako původci močových infekcí další gramnegativní bakterie (např. *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Pseudomonas*). Obdobně se mohou u osob s porušenou imunitou vyskytnout uroinfekce způsobené různými stafylokoky, a to nejen *Staphylococcus aureus*, ale také *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*.

Původce IMC lze spolehlivě prokázat ve vzorcích moči, 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: k potvrzení nebo vyloučení IMC, ke kontrole účinnosti terapie, k úpravě léčby, k odlišení infekcí sexuálně přenosných s podobnými klinickými příznaky.

Správný odběr a skladování moči zásadním způsobem ovlivňuje výsledek kultivace. Při nesprávném odběru a skladování dochází k pomnožení bakterií ve vzorku a hrubému zkreslení výsledku.

K mikrobiologickému vyšetření se odebírá do sterilní zkumavky střední proud nejlépe ranní moči, po důkladném omytí zevního ústí uretry. Zcela zásadní pro výsledek kultivačního vyšetření je uchování a transport vzorku při teplotě 4 - 6°C. Skladování při pokojové teplotě může vést k pomnožení kolonizujících bakterií a výsledkům neodpovídajícím skutečné hodnotě bakteriurie. S výhodou lze v ordinaci praktického lékaře použít URİKULT - transportní a zároveň kultivační půdu inokulovanou smočením do vzorku moče. Tuto po odběru uchováváme při pokojové teplotě, event., máme-li možnost, umístíme ji do doby transportu do termostatu při 37 °C.

Interpretace kvantity ve vzorku moči spontánně vymočené: patogen v množství 10^5 a více v 1ml moči je signifikantní bakteriurie, patogen v množství 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 provádí u všech vzorků močí automatickou analýzu pomocí analyzátoru UF-1000i firmy Sysmex. Automatická analýza je založena na fluorescenční průtokové cytometrii. Analyzátor UF-1000i využívá průtokovou cytometrii k analýze částic, které obsahuje moč. Princip analýzy je schematicky znázorněn na obr. č. 1. Moč je nasáta do komůrky, která je vyplněna našecí tekutinou.

.. pokračování na str. 4

.. pokračování ze str. 3

Hydrodynamická fokusace nutí jednotlivé částice pohybovat se pouze v centrální části vodního paprsku, který vychází z komůrky. Díky tomu částice procházejí ohniskem zdroje excitačního světla (laser). Částice jsou zbarveny fluorescenčním barvivem. Po ozáření paprskem excitačního světla dojde k emisi fluorescence a rozptylu světla. Pulzy světla jsou detektorem (fotodiody) převáděny na pulzy elektrického proudu. Lineární zesilovače zesilují elektrické pulzy z jednotlivých detektorů. Výsledkem analýzy je histogram a scattergram jednotlivých měřených částic.

Analyzuje se výška, amplituda a další faktory čelního rozptylu světla, bočního rozptylu světla a fluorescenční signál. Rozptyl světla odráží velikost a povrchové vlastnosti buněk. Emitovaná fluorescence z obarvených částic moči zobrazuje kvantitativní vlastnosti buněk, intracelulární znaky a vlastnosti nukleových kyselin.

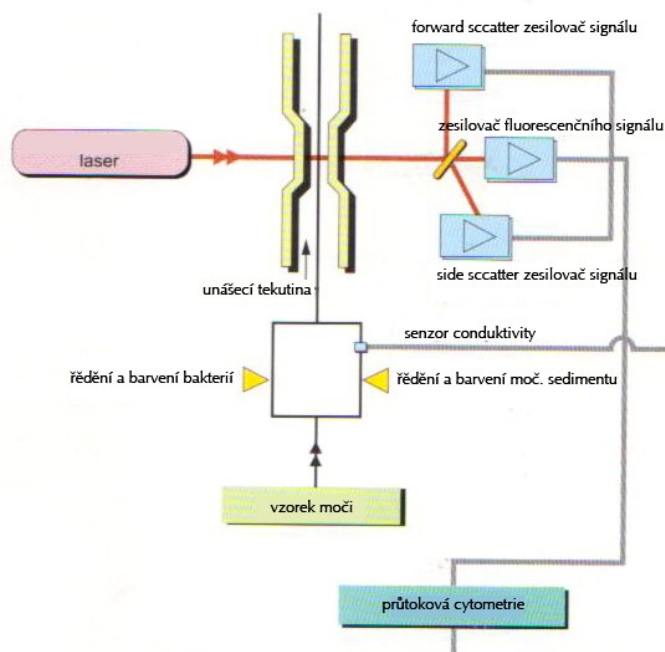
Přístroj je schopen částice obsažené v moči roztřídit do těchto frakcí: červené krvinky, bílé krvinky, epitelie, válce, bakterie, patologické válce, hlen, malé kulaté buňky, kvasinky, krystaly, spermie. Z čelního rozptylu, bočního rozptylu světla a fluorescence se získají informace o velikosti buňky, stavu povrchu. Jednotlivé frakce jsou roztříděny dle charakteristik signálu každé jednotlivé měřené částice. Výsledky měření se zobrazují v hodnotách na μl a graficky v scattergramech. Pro automatickou analýzu je potřebné minimální množství moči 5ml.

Hodnocené elementy pro určení negativity či pozitivitu výsledku z mikrobiologického hlediska jsou: leukocyty, bakterie a kvasinky. Při naměřených hodnotách u leukocytů $<10/\mu\text{l}$, u bakterií $<100/\mu\text{l}$ a při nulovém zachytu kvasinek je moč považována za negativní. Negativní moč se dále nekultivuje a výsledek je uzavřen v den doručení materiálu do laboratoře. Jako pozitivní výsledek je označen vzorek moči, ve které je překročen jakýkoliv hodnocený element. Tento vzorek moči se dále kultivuje 24 hodin při 37°C na chromogenní půdě. Následující den se provádí hodnocení nárůstu bakteriálních kolonií a jejich identifikace nebo izolace, v případě smíšeného nárůstu. Při výskytu 3 a více bakteriálních kmenů je nález hodnocen jako polybakteriální a je nutno odběr opakovat. Moč odebraná z permanentního močového katetru a katetrizovaná moč se kultivuje i v případě negativního mikroskopického nálezu a identifikují se všechny narostlé mikroorganismy, toto je nutné označit na žádance.

V případě signifikantního výskytu bakterií odpovídajících za IMC je dalším krokem stanovení antibiogramu. U ambulantních pacientů je provedeno kvalitativní vyšetření citlivosti mikroorganismů na antibiotika. Lůžkovým zařízením provádíme kvantitativní vyšetření citlivosti mikroorganismů na antibiotika.

Nedílnou součástí uzavření výsledku automatické analýzy moči jsou komentáře:

Mikroskopicky signifikantní bakteriurie neprokázána. –



Obrázek č. 1: schéma analýzy vzorku moči v průtokovém cytometru UF-1000i

negativní moč

Mikroskopicky prokázána možná signifikantní bakteriurie. Doporučujeme hodnotit dle klinického stavu a antibiologické terapie. – cytometricky bakteriurie prokázána nebo jsou hraniční hodnoty, ale kultivační výsledek často žádný nárůst (častý případ u pacientů v průběhu nebo po ukončení antibiologické léčby).

Mikroskopicky signifikantní bakteriurie prokázána. – cytometricky i kultivačně prokázána signifikantní bakteriurie

Vzhledem k nízké hodnotě leukocytů se pravděpodobně nejedná o signifikantní bakteriurii – cytometricky leukocyty pod $10/\mu\text{l}$ a bakterie $>100/\mu\text{l}$, jedná se většinou o špatný odběr, často u polybakteriálních nálezů, špatné omytí pacienta před odběrem – splach z okolí vyústění uretry

Charakter materiálu neumožňuje automatickou analýzu moče. – hustá moč, moč s tzv. pískem, jiný odběr – suchý tampón

Vyšetření pomocí automatického analyzátoru 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 pozitivity se výsledky uzavírají během 24 – 72 hodin.



Výhody nových imunoblotů v laboratorní diagnostice pertuse a chlamydií

Mgr. Lucie Fědorová, Bc. Veronika Černá, Mgr. Miroslava Jindřichová, Bc. Lucie Myslíková, laboratoř imunologie a sérologie

Imunoblotovací techniky patří mezi multiplexové techniky. Multiplexové techniky jsou laboratorní metody, které dovolují stanovovat několik až několik desítek analytů v jedné reakční nádobce nebo na jedné reakční ploše. Westernblotové techniky (WB) používají jako antigenní substrát elektroforeticky rozdělený a nabíjený antigenní extrakt, line-blot (LB) a dot-blot (DB) techniky přesně definované, vysoce purifikované, nejčastěji rekombinantní antigeny a jejich komponenty. Oproti klasickým, nejčastěji a běžně používaným jednoanalytovým technikám jsou tyto metody výhodnější, potřebujeme-li ve vzorku stanovit více než 3 analyty, protože je pak celé stanovení nejen méně pracné pro laboratoř, ale je i levnější a spotřebuje se méně analyzovaného vzorku. Dosud se používaly imunoblotovací techniky (metody) především ke confirmaci výsledků klasických jednoanalytových metod.

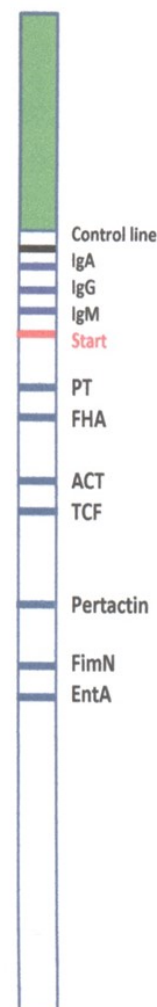
Od února 2015 začaly laboratoře Spadia nabízet novou line imunoblotovou (IB) metodu pro současnou diferenciální diagnostiku bordetelových infekcí dovolující diferenciální diagnostiku infekcí způsobených *B.pertussis* a *B.parapertussis* pomocí rekombinantních, vysoce purifikovaných antigenů těchto mikrobu již jako základní vyšetření, poněvadž je mnohem přesnější a specifitější než dosud používané ELISA a IFA techniky, zahrnuje také stanovení protilátek proti pertusovému toxinu a pro uživatele nepřináší vyšší náklady než dosud používané diagnostické schéma. Vyšetření je nabízeno podle doporučení Evropské skupiny pro pertusi (EU Pertstrain group) z r. 2011 rutinně ve třídě IgG a IgA, je však možné provést je i ve třídě IgM. Klasické ELISA a IFA techniky zůstávají v nabídce

laboratoře jako doplnění a confirmace ve sporných případech.

Od února 2015 je nabízen také line-blot pro současnou diferenciální diagnostiku infekcí způsobených *Ch.pneumoniae*, *Ch.trachomatis* a *Ch.psittaci*, který nahrazuje dosud prováděné westernbloty (WB), které musely být prováděny navíc vždy zvlášť pro *Ch.pneumoniae*, *Ch.trachomatis* a pro *Ch.psittaci* nebyly dostupné. Pro uživatele i laboratoř se tak tato diagnostika opět výrazně zefektivňuje a zkvalitňuje.

Výsledky obou IB jsou vydávány jako celkové zhodnocení nálezu pro daného mikroba (pozitivní/hraniční/negativní), pro jednotlivé antigeny pak v indexech positivity (IP), kde jako hraniční jsou považovány IP v rozmezí 0,6 – 1,4. Jak již bylo řečeno, nákladově pro lékaře tento nový diagnostický přístup nepřináší vyšší náklady než dosud používané diagnostické schéma, naopak tuto diagnostiku zefektivňuje.

Na nových připravovaných žádankách již budou tyto nové metody zaneseny, na dosud používaných žádankách si jejich provedení můžete vyžádat v okénku Poznámka jako IB pertuse IgG IgA, popř. IgM a IB chlamydie IgG nebo IgA, ale budete-li zaškrtnout na stávajících žádankách klasické požadavky na vyšetření *Bordetella pertussis* IgG, IgA a IgM a *Bordetella parapertussis*, budou vám místo nich prováděny automaticky. U chlamydiových infekcí nahradí nové IB dosud nabízené WB.



Význam cytogenetického vyšetření u hematologických malignit moči

RNDr. Jiří Sobotka, Mgr. Vladimíra Holubová, Mgr. Pavla Mičková, Mgr. Michaela Fedorová, Mgr. Marie Kývalová, laboratoř lékařské genetiky

V roce 1960 pánové *Nowel* a *Hungenford* identifikovali specifickou chromozomovou aberaci u pacienta s chronickou myeloidní leukémií (CML). Jednalo se o malý akrocentrický chromozom skupiny G, který byl podle místa objevu nazván „Philadelphský chromozom Ph1“. Teprve v roce 1972 *Rowleyová* odhalila, že Phi-

ladelphský chromozom vzniká důsledkem reciproké translokace t(9;22)(q34;q11). Byla tak popsána první specifická chromozomová aberace v souvislosti s hematologickou malignitou.

.. pokračování na str. 6

.. pokračování ze str. 5

Tento objev inicioval další rozsáhlý výzkum, jehož dnešním výsledkem jsou tisíce popsaných chromozomových aberací u celého spektra nádorových onemocnění krve. V souvislosti s těmito aberacemi byly popsány nádorové supresorové geny a onkogeny, které stojí na počátku mnohastupňového nádorového procesu. Hlavní úlohou cytogenetického vyšetření u pacientů s onkohematologickým onemocněním je detekovat chromozomové aberace jako jsou delece, duplikace, translokace a další. Některé z nich jsou tzv. primární, specifické pro daný typ leukémie/lymfomu, které napomáhají při správném určení diagnózy, jiné jsou sekundární, tyto jsou většinou známkou progresu onemocnění. Většina specifických aberací má tedy diagnostický význam. Jiné tzv. prognostické aberace, vypovídají o prognóze pacienta a zařazují ho do dobré nebo špatné prognostické skupiny. Některé aberace přímo určují způsob tzv. cílené léčby pacienta. Když klon s detekovanou specifickou aberací, která je přítomna u pacienta

v době diagnózy, po jeho úspěšné léčbě vymizí, hovoříme o cytogenetické remisi onemocnění. Znovuobjevení klonu, často i s dalšími sekundárními aberacemi, je známkou relapsu- návratu onemocnění.

Pro detekci chromozomových aberací využíváme klasické cytogenetické vyšetření – stanovení karyotypu, i již dnes běžné metody molekulární cytogenetiky. Standardně využíváme diagnostiku aberací metodou fluorescenční in situ hybridizace (FISH), která pomocí fluorescenčně značené DNA sondy detekuje na chromozomech nebo v buňkách určitý typ delece, duplikace nebo translokace.

Shrnutí: Cytogenetické vyšetření se dnes stalo nedílnou součástí spektra hematologických vyšetření u pacientů s hematologickou malignitou. Nález chromozomové aberace u pacienta s hematologickou malignitou stanovuje nebo upřesňuje jeho diagnózu, lze podle něho předpovědět pravděpodobný vývoj onemocnění, či přímo určit jeho cílenou léčbu, můžeme podle něj monitorovat úspěšnost léčby či blížící se návrat onemocnění.



Diagnostika monogenně dědičných chorob

Mgr. Magdalena Martinková, laboratoř lékařské genetiky

Monogenně dědičné choroby vznikají jako následek mutace v jediném genu a jejich ovlivnění vnějším prostředím je minimální.

Prezentace přiblíží problematiku diagnostiky monogenně dědičných chorob, kterou provádí laboratoř lékařské genetiky.

- Základní genetická terminologie a rozdělení genetických chorob s klasickou mendelovskou dědičností.
- Nejznámější příklady autosomálně dominantních

i autosomálně recesivních onemocnění a možnosti jejich vyšetření v laboratořích.

- X vázané choroby.
- Metodika (Pro molekulární diagnostiku se používá množství různých metod, které se neustále rozvíjí a jejich počet stoupá).
- Materiál pro DNA analýzu.
- Genetické poradenství a genetická prevence.



Příčiny infertility z pohledu genetika

MUDr. Věra Hůrková, Centrum lékařské genetiky, Frýdek-Místek

Potíže s otěhotněním řeší v současné době 13 až 15 procent párů a toto číslo, bohužel, narůstá. Jako infertilní označujeme pár, u kterého je neúspěšná snaha o přirozené otěhotnění delší než jeden rok. Zatímco dříve byl důvod potíží s otěhotněním spíše na straně ženy, v současné době je až u 50 procent mužů z infertilních párů nalézán patologický spermiogram.

Příčin infertility, potíží s otěhotněním, může být celá řada. Jde především o faktory anatomické (například neprůchodnost vejcovodů), endokrinologické (endometrióza, či hormonální poruchy dozrávání oocytů, porucha funkce štítné žlázy a podobně), imunologické (protilátky proti spermiím, pozitivita autoimunitních protilátek, atd.) a také může jít o příčinu genetickou.

Z genetického hlediska jsou nejčastější příčinou reprodukčních potíží chromozomální aberace. Z tohoto důvodu se dělá u páru vždy vyšetření karyotypu. U mužů s oligo (snížené množství spermií) či azoospermií (úplné chybění spermií v ejakulátu) bývá nalézán patologický karyotyp v 5 až 6 procentech. Nejčastěji jde o aberace pohlavních chromozomů – v asi čtyřech procentech se jedná především o Klinefelterův syndrom, u zhruba 1,5 procenta případů jde o aberaci autozomů (robertsonské či reciproké translokace).

U žen bývá nejčastější genetickou příčinou reprodukčních potíží také aberace pohlavních chromozomů (především jde o Turnerův syndrom a jeho mozaiky), ale příčinou může být samozřejmě i aberace autozomů, stejně jako u mužů.

.. pokračování na str. 7

.. pokračování ze str. 6

Vyšetření karyotypu je velmi důležité, protože případná translokace může vést nejen k potížím s otěhotněním, ale i k opakovaným potratům či neúspěšným pokusům o IVF. Bohužel, může být i zvýšené riziko narození velmi závažně postiženého dítěte.

Pokud se takováto odchylka najde, lze párům nabídnout v rámci IVF vyšetření pomocí preimplantační genetické diagnostiky embrya (PGD), kdy se následně ženě implantují pouze embrya bez translokace či s balancovanou formou translokace, která nemá dopad na vývoj plodu a dítěte.

V případě, že je u muže nalezena těžká oligo či azoospermie, je nutné i vyšetření takzvaných azoospermických faktorů – jde o geny na Y chromozomu, které jsou zodpovědné za vývoj spermií. Mutace v oblasti AZFa, AZFb či AZFc bývá nalézána u asi 15% mužů s azoospermii a u 5 až 10% mužů s oligozoospermii.

Také je popsána jednoznačná souvislost mezi obstrukcí vas deferens (ta vede k obstrukční azoospermii u mužů) a cystickou fibrózou. Cystická fibróza je nejčastěji geneticky přenášené onemocnění v naší populaci. Nosičem je každý 25. až 30. člověk. Jedinec, který nese jednu mutaci, je zdravý. Samotné onemocnění se projeví v případě, že člověk zdědí 2 mutace (1 od kaž-

dého rodiče). 95 procent mužů s cystickou fibrózou je neplodných pro oboustranné chybění vas deferens. Cystická fibróza je onemocnění, kdy ve většině případů dochází k závažnému postižení plic a zažívacího traktu, a tím i k výraznému zkrácení délky života. Kromě této klasické cystické fibrózy však máme i atypickou (mírnou) formu cystické fibrózy, kdy postižení plic může být minimální a hlavním příznakem je porucha plodnosti. Bylo zjištěno, že u mužů s vrozenou obstrukcí vas deferens je prokázána přítomnost 2 mutací genu CFTR v 19 procentech a jedné mutace (přenašečství CF) až ve 47 procentech případů.

Genetická konzultace a vyšetření jsou v současné době u párů, které řeší potíže s otěhotněním, jednoznačně doporučovány ještě před prvním IVF cyklem. V případě, že se genetická příčina infertility prokáže, je možné páru nabídnout metody k minimalizaci rizika narození postiženého dítěte a výraznému zvýšení šance na otěhotnění cestou asistované reprodukce. Genetickou konzultaci včetně výše uvedených vyšetření (včetně mnohých dalších, o která se celý postup rozšiřují podle rodokmenové analýzy a dalších zdravotních potíží) zajišťuje Centrum lékařské genetiky ve Frýdku – Místku. Důležitou informací je i to, že je vyšetření plně hrazeno z veřejného zdravotního pojištění.



Virové hrozby digitální éry

Roman Šimíček, Josef Pargač, oddělení IT

Za několik posledních let se kyberkriminalita stala opravdu výnosným odvětvím. Dokonce bychom mohli hovořit o tom, že jen několik odvětví funguje tak dobře, jako právě obchod s odcizenými daty a škodlivým kódem obecně. Každý den vznikne přes dvě stě tisíc nových hrozeb, jejichž cílem jsou uživatelská data, hesla a citlivé informace obecně – e-maily, kontakty, databáze zákazníků, přístupy do internetového bankovníctví. Mohlo by se zdát, že se jedná o informace, které jsou ostatním lidem k ničemu. Většinu informací lze poměrně jednoduše prodat, nebo využít k přímým krádežím peněz z účtů napadených osob.

Uplynulý rok 2014 potvrdil, že útočníci dokáží reagovat velmi pružně, a cílit na správné skupiny lidí. Ukázali, že umí tvořit velmi efektivní phishingové e-maily, které v kombinaci se škodlivým kódem připravily mnoho uživatelů o velké množství peněz. Scénář byl velmi jednoduchý – rozeslat e-maily se smyšlenými pohledávkami, exekucemi, objednávkami zboží atp. - a pak už jen přesvědčit uživatele, aby spustili škodlivou přílohu. Pokud se uživatel nechá přesvědčit, přílohu otevře a spustí, získají útočníci přístup k informacím, které v počítači má – hesla, dokumenty, přístupy do banky a do jiných systémů. Stejně jednoduše pak dokáží uživatele přesvědčit, aby si nainstaloval škodlivou aplikaci do mobilu. Díky ní se pak útočníci dostanou k ověřovacím SMS – nic už nebrání v krádeži peněz.

Při používání počítače a mobilních zařízení je zkrátka

nutné používat zdravý rozum, a zařízení chránit ověřeným a spolehlivým řešením. Pro partnery laboratoře SPADIA LAB máme připravené antivirové řešení za zvýhodněných podmínek.



Elektronická laboratorní žádanka není Yetti

RNDr. Lubor Stančík, Ph.D., Ing. Jan Krístek, Martin Kusý, DiS., Ing. Jakub Minář

Elektronická laboratorní žádanka je dalším krokem ke zkvalitnění komunikace mezi laboratoří a jejími klienty tentokrát ve směru klient – laboratoř. Elektronická laboratorní žádanka zrychluje a zkvalitňuje přenos informací mezi lékařem požadujícím vyšetření a laboratoří, která toto vyšetření provádí. Zabudované kontrolní mechanismy odstraňují celou řadu chyb, ke kterým u laboratorní žádanky dochází, ať už při jejím vystavení nebo při jejím zpracování. Díky přímé návaznosti na registr pacientů daného lékaře často odpadá nutnost zdlouhavého vyplňování nacionální pacienta s rizikem chyby zejména v identifikaci pacienta a plátce péče, ordinace vyšetření je pak urychlena možností ukládat si ustálené kombinace požadavků s volbou okamžitého vložení do žádanky. Automatická kontrola formální správnosti kódu diagnózy eliminuje i tento častý zdroj chyb v laboratorních žádankách. Při případné plné integraci elektronické žádanky do lékařského software je práce s elektronickou žádankou ještě jednodušší.

Na straně laboratoře pak takto vyhotovený požá-

davek na vyšetření přichází v elektronické podobě a jeho automatizované zpracování snižuje riziko chyby způsobené lidským faktorem. Technologie čárových kódů pak tuto chybu zcela vylučuje.

Ve většině případů je tento způsob práce dostupný pouze v rámci informačních systémů lůžkových zařízení, která provozují rovněž laboratorní komplement, a žádanky tak typicky putují pouze uvnitř počítačové sítě daného zařízení.

Systém Virtuallab díky využití webového rozhraní přenáší tuto možnost do ambulantní sféry a umožňuje pracovat s elektronickou žádankou nezávisle na informačním systému daného zdravotnického zařízení. Virtuallab je příkladem úspěšného použití elektronické komunikace v praxi, kde se sice o této formě komunikace často hovoří jako o usnadnění mnoha činností (datové schránky, propojení státních registrů, elektronická zdravotní knížka, elektronický recept, atd.), ale realita je v mnoha případech zcela odlišná.



Kontakty

Příjem materiálu:	+420 599 524 800, 802 +420 739 342 298
Odběrová místnost:	+420 599 524 801
Laboratoř biochemie:	+420 599 524 803 +420 739 342 300
Laboratoř hematologie:	+420 599 524 804 +420 739 342 299
Laboratoř imunologie a sérologie:	+420 599 524 805 +420 599 524 815 +420 599 524 816 +420 739 342 301
Laboratoř biochemie OIM:	+420 599 524 806
Laboratoř mikrobiologie:	+420 599 524 809 +420 599 524 819 +420 599 524 820 +420 739 342 302
Lab. molekulární biologie	+420 595 530 232 - 234
Cytogenetická laboratoř:	+420 595 530 235 - 236
Ben Labor	+420 597 011 293 +420 721 512 237
IT oddělení:	+420 556 794 120
Další kontakty:	http://ww.spadia.cz