

Spadia News



Jak je to s laboratořemi v roce 2014?



Vážené kolegyně, vážení kolegové,

chtěl bych vám velmi stručně odpovědět na otázku v nadpisu, neboť se stále setkávám s názory, že není lepší odbornost, týkající se peněz, než jsou laboratoře. Tento názor je prezentován nejen zdravotními pojišťovnami, ale také samotnými lékaři, našimi kolegy.

Celosvětový trend je, že laboratoře dělají stále více práce za méně peněz. Je to zcela jistě na jedné straně důsledek nebyvalého rozvoje laboratorní medicíny za posledních 20 let a na druhé straně snahou všech vlád na světě uřídit neustále stoupající náklady na zdravotní péči.

Do běžného rutinního provozu se dostávají nová, vysoce specifická vyšetření, která umožňují stanovit diagnózu nebo prognózu průběhu onemocnění našim pacientům ve velmi krátké době. Tato vyšetření jsou však pochopitelně dražší – dodavatelské firmy (nadmárodní korporace) určitě nemůžeme považovat za samaritány a tudíž rostou náklady jednak na přístroje, ale hlavně na diagnostické soupravy a jiný spotřební materiál.

Na druhé straně barikády stojí plátcí a je jedno zda se jedná o zdravotní pojišťovny nebo přímo pacienti, resp. klienty. Zejména u zdravotních pojišťoven zaznamenáváme tak trochu zastavení času, kdy tyto instituce by nejráději neplatily nic navíc ve srovnání s 90. léty minulého století. Laboratorní komplement je společně s lázněmi, segment zdravotní péče, kterému před 5 lety klesly úhrady přibližně o 30%, ale na rozdíl od lázní nemůžeme čekat žádnou kompenzaci.

Regulace, jak na straně lékařů, tak na straně laboratoří, způsobuje významnou „obezřetnost“ týkající se nákladů na indukovanou péči. Tato „obezřetnost“ neboli omezování indukované péče se v mnoha případech může dostat k bodu, kdy se neomezují tzv. zbytné výkony, ale kdy si již nebudeme moci s čistým svědomím říct, že nepoškodíme pacienta.

Seznam výkonů (SV) se v podstatě od začátku 90. let minulého století nezměnil a pravděpodobně není nyní v silách ministerstva zdravotnictví, pojišťoven a zejména odborných společností s tímto stavem něco udělat. Proto i v současném SV existují mnohé nespravedlnosti v platbách za zdravotní výkony mezi jednotlivými odbornostmi, ale taky v rámci konkrétní odbornosti.

Laboratoře patří mezi zdravotnická zařízení s relativně velkým obrátem, což je způsobeno zejména velkou koncentrací zdravotní péče do jednoho místa. Díky růstu nákladů na početný personál, spotřební materiál, diagnostické soupravy, moderní technologie, akreditace a na další služby jako je například svoz materiálu a na druhé straně snižováním úhrad od zdravotních pojišťoven, rozhodně nemůžeme o laboratořích říkat, že dostávají významně vyšší úhrady ve srovnání s ostatními segmenty zdravotní péče. **Laboratoře dlouhodobě čerpají z celého rozpočtu zdravotnictví přibližně 4% všech financí. Pro vaši informaci např. praktičtí lékaři dostávají přibližně 6% a ambulantní specialisté 10% rozpočtu celého zdravotnictví (viz. graf)**

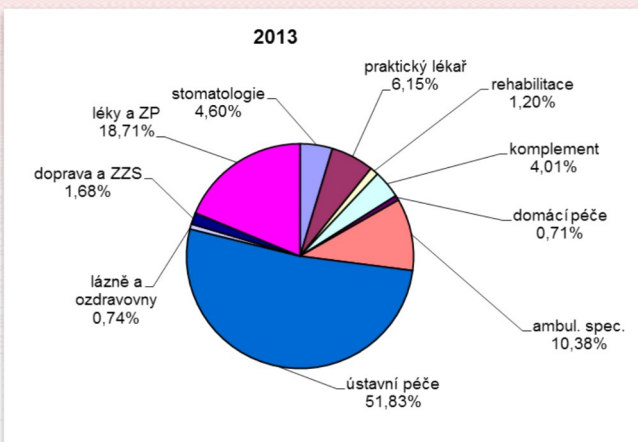
Co je nového v laboratořích SPADIA LAB? Během letních měsíců jsme téměř po roční přípravě změnili celý informační systém v laboratoři (ten dosavadní již kapacitně nestačil našim potřebám). Není to jednoduché rozhodnutí, ale ještě složitější je samotná realizace. Laboratorní informační systém (LIS) je velmi složitý a drahý software, který lze do určité míry modifikovat. Zdůrazňuji „do určité míry“, což určitě na základě vašich připomínek budeme průběžně dělat. Týká se to zejména výsledkových listů,

které mají v nastavení určitá omezení. V komplexních laboratořích našeho typu je obtížné vyhovět všem našim kolegům, protože jedna skupina chce dostávat průběžně všechny hotové výsledky a druhá chce dostat výsledky až jsou všechny hotové. Velmi rychlé řešení této schizofrenní situace je plně využití elektronického přenosu výsledků, kdy jsou přístupné všechny výsledky, jak je postupně uvolňujeme z laboratoře.

V průběhu prázdnin jsme se dohodli s laboratoří Ben Labor na spolupráci a tímto spojením se naše laboratoře staly zcela komplexní, protože laboratoř Ben Labor doplnila naše portfolio o cytologie a histologie.

Vážení kolegové, velmi si vážíme naší vzájemné spolupráce a věříme, že jsme schopni splnit prakticky všechny vaše požadavky v oblasti laboratorní medicíny a to i v nelehkých podmínkách našeho zdravotnictví.

Za kolektiv SPADIA LAB Martin Radina



Diagnostika monoklonálních gamapatií

Mgr. Kateřina Andelová, laboratoř biochemie

Diagnóza monoklonální gamapatie (dále jen MG) představuje heterogenní soubor onemocnění doprovázený proliferací diferencovaných B lymfocytů produkujících elektroforeticky a imunologicky homogenní monoklonální protein (tzv. paraprotein, M-Ig), detekovatelný v séru a/nebo moči. Monoklonální protein je nejčastěji tvořen kompletní molekulou imunoglobulinu s těžkým řetězcem jedné třídy (G, A, M, D, E) a současně jedním antigenním typem lehkého řetězce (K, L). Minoritním nálezem jsou monoklonální proteiny tvořené pouze fragmenty imunoglobulinových molekul (tzv. volné lehké řetězce K/L), vzácněji pak izolované těžké řetězce (G, A, M). Základní klasifikace monoklonálních gamapatií je uváděna jako maligní monoklonální gamapatie (mnohočetný myelom MM, plazmocytom, Waldenströмова makroglobulinémie, onemocnění z těžkých řetězců, AL amyloidóza, jiné lymfoproliferativní onemocnění) a monoklonální gamapatie nejasného významu představující benigní nozologické jednotky.

Mnohočetný myelom

Mnohočetný myelom představuje hematologické onemocnění charakterizované nekontrolovanou proliferací B-lymfocytů produkujících elektroforeticky a imunologicky homogenní monoklonální protein detekovatelný v séru a/nebo moči a s různým stupněm orgánového poškození. Mnohočetný myelom (dále jen MM) je dle incidence 3 nejfrekventovanější zhoubný novotvar mízní a krvevorné tkáně v ČR (ÚZIS, 2012). Diagnóza MM se často klinicky manifestuje celkovou slabostí, poklesem hmotnosti, nespecifickými bolestmi skeletu, poruchou renální funkce, projevy anémie a/nebo opakovanými a dlouhodobými infekty. Velmi často jsou u nemocných s MM pozorovány patologické laboratorní nálezy při náhodném vyšetření a to: trvale zvýšená sedimentace erytrocytů, hyperkalcémie a elevace celkové bílkoviny s celkovými projevy hyperviskozního syndro-

mu.

Základní diagnostický algoritmus zahrnuje laboratorní vyšetření pro lékaře prvního kontaktu, při suspektním podezření na MM jsou indikovány zobrazovací metody, morfologická a další specializovaná vyšetření (FISH apod.) prováděna v hemato-onkologických centrech. Základní laboratorní vyšetření, která potvrzují dg. MM: krevní obraz, sedimentace erytrocytů, elektroforéza séra a moče/24 hod, imunofixační stanovení a typizace PP, volné lehké řetězce K/L – FLC, S_CB, S_Ca, S_Krea, S_beta₂mikroglobulin, kvantifikace Ig (A,G,M), U_BJ. Algoritmus vyšetření podle České myelomové skupiny uvádí Tab. 1.

Pro klinickou praxi je důležitá diferenciace mezi asymptomatickým (v dřívější terminologii též indolentní, doutnající) a symptomatickým MM, přičemž symptomatický MM je indikací pro urgentní zahájení léčebné strategie při současném výskytu orgánového poškození (CRAB systém: Ca ≥ 2,75 mmol/l, Krea > 177 μmol/l, Hemoglobin < 100 g/l, kostní změny). Uvedená kritéria sumarizuje Tab. 2. Podrobný popis léčebné strategie MM specifikuje doporučení České myelomové skupiny, dostupné z: www.myeloma.cz.

Monoklonální gamapatie nejasného významu (MGUS)

Monoklonální gamapatie nejasného významu (dále jen MGUS) představuje nejčastěji se vyskytující typ MG, přičemž nejsou splněna diagnostická kritéria maligní monoklonální gamapatie. MGUS bývá asociován s mnohočetným myelomem vzhledem k postupné transformaci do mnohočetného myelomu. Základní klasifikaci MGUS sumarizuje Tab. 3.

.. pokračování na str. 3

Tab. 1 Iničiální algoritmus vyšetření u MM

Screeningové testy pro dg. MM (lékař prvního kontaktu)	Testy, které mohou dg. MM konfirmovat	Testy k posouzení velikosti myelom. masy a prognózy	Testy k posouzení orgánového poškození MM	Speciální vyšetření
KO, FW	Aspirát kostní dřevě a histopatologie KD, včetně imunohistochemie a průtokové cytometrie	Cytogenetické vyšetření KD a FISH vyšetření	KO	Imunohistologie a multiparametrická průtoková cytometrie
Na, K, Cl, Ca, Urea, Krea, KM, Alb, CB	IMx séra při pozitivitě ELFO	Kvantifikace PP v séru a moči	Urea, Krea (eGF), Ca, Alb	VB ₁₂ , Folát, FLC, viskozita séra
ELFO séra/moče	Volné lehké řetězce K/L – FLC	Ca, Alb, beta ₂ -mikroglobulin	LDH, CRP	DEXA
Kvantifikace IgG, IgA, IgM			Kvantifikace IgG, IgA, IgM	Histologické vyšetření na AL amyloidózu
RTG skeletu	Radiologické, příp. MR vyšetření skeletu	Radiologické, příp. MR vyšetření skeletu		Celotělová MR, CT, PET-CT, MIBI skeletu

Zdroj: doporučení České myelomové skupiny – Diagnostika a léčba mnohočetného myelomu, s. 19.

.. pokračování ze str. 2

Tab. 2 Iničiální algoritmus vyšetření u MM

Asymptomatický MM	Symptomatický MM
koncentrace PP v séru ≥ 30 g/l a počet klonálních plazmocytů v KD ≥ 10 %	je přítomen PP v séru a/nebo moči (bez specifikace koncentrace)
	v KD jsou přítomny klonální plazmocyty, příp. jsou tyto potvrzovány biopsií tkáně
není přítomno poškození orgánů či tkání myelomem (včetně kostních ložisek) a nejsou jiné symptomy	je přítomno poškození orgánů nebo tkání – CRAB
	Symptomatický nesekreční MM prokázána infiltrace KD klonálními plazmocyty, bez průkazu PP (ale patologický poměr K/L - FLC), přítomny známky orgánového poškození

Zdroj: doporučení České myelomové skupiny – Diagnostika a léčba mnohočetného myelomu, s. 23.

Při pozitivní confirmaci diagnózy MGUS je nutné určení dynamiky onemocnění a rizika transformace do mnohočetného myelomu. Česká myelomová skupiny ve svém doporučení diferencuje osoby s MGUS do 4 rizikových skupin, jejich charakteristiky uvádí Tab. 4. Správné určení míry rizika transformace je základem optimálního diagnostického přístupu s doporučenou frekvencí sledování.

Diagnostika MGUS je založena na vstupním screenin-
govém panelu vyšetření, který je totožný s diagnostikou mnohočetného myelomu a zahrnuje vyšetření krevního obrazu, S_Ca, S_Krea, ELFO, IMx, volné lehké řetězce kappa/lambda - FLC, IgG, IgA, IgM. Výjimkou je nižší frekvence kontrolního vyšetření a absence radiologického vyšetření skeletu a aspirace kostní dřeně. Tato vyšetření jsou však indikována při suspektním podezření na maligní transformaci do MM či jiného B-lymfoproliferativního nádorového onemocnění.

Další nemoci ze skupiny maligních monoklonálních gamapatií

Ze skupiny ostatních maligních monoklonálních gamapatií lze jmenovat Waldenströmovu makroglobulinémii a AL amyloidózu.

Tab. 4 Iničiální algoritmus vyšetření u MM

Riziková skupina	Relativní riziko	Absolutní riziko ve 20 letech trvání MGUS	Frekvence kontrol
Nízké riziko (c M-Ig < 1,5 g/l, IgG subtyp, FLC normální poměr K/L)	1,0	5,0 %	12 – 18 měsíců od 2 roku sledování
Nízké až střední riziko (1 faktor z nízkého rizika je abnormální)	5,4	21 %	6 – 12 měsíců od 2 roku sledování
Střední až vysoké riziko (2 faktory z nízkého rizika jsou abnormální)	10,1	37 %	4 – 6 měsíců od 2 roku sledování
Vysoké riziko (3 faktory z nízkého rizika jsou abnormální)	20,8	58 %	2 – 4 měsíce od 2 roku sledování

Zdroj: doporučení České myelomové skupiny – Diagnostika a léčba mnohočetného myelomu, s. 87.

Tab. 3 Základní klasifikace

- Benigní MG: IgA, IgG, IgM, IgD a vzácné izolované volné lehké řetězce
- Maligní MG: asociované s nádorovými stavy z buněk neprodukcujících M-Ig
- Multiklonální gamapatie (biklonální, triklonální)
- Idiopatická BJ-proteinurie

Zdroj: doporučení České myelomové skupiny – Diagnostika a léčba mnohočetného myelomu, s. 86.

Waldenströmová makroglobulinémie je definována přítomností infiltrace kostní dřeně lymfoplazmocytárním lymfomem a přítomností monoklonálního imunoglobulinu typu IgM v periferní krvi. Klinické projevy nemoci jsou asociovány s hyperviskózním syndromem, projevujícím se při koncentraci PP nad 30 g/l.

U nemocných často pozorujeme kryoglobulinémii, tj. kryoprecipitaci proteinů v cévním řečišti při poklesu tělesné teploty pod fyziologické rozmezí. Pro stanovení diagnózy m. Waldenström je žádoucí provedení trepanobiopsie KD s histologickým vyšetřením a základní panel vyšetření při podezření na monoklonální gamapatii (viz. MM a/nebo MGUS).

AL amyloidóza prezentuje heterogenní skupinu onemocnění vyznačující se postižením většiny orgánů a tkání organismu. Primární podstatou onemocnění je extracelulární ukládání nerozpustných fibrilárních proteinů, tzv. amyloidu. Vzhledem k podobnosti strukturálního uspořádání amyloidových fibril, tyto vykazují podobnou barvitelnost v histologickém preparátu. Klasifikace AL amyloidózy vychází z identifikace proteinů tvořících amyloidové fibrily.

.. pokračování na str. 4

.. pokračování ze str. 3

Z hlediska výskytu je nejčastějším typem zastoupena **systémová AL amyloidóza (70 %)**. Klinické projevy mohou být velmi variabilní, vzhledem k postižení orgánů. Nejčastější projevy se manifestují s renálním a srdečním postižením, v době stanovení diagnózy má většina nemocných prokazatelné postižení alespoň 2 orgánů. Přehled vyšetření nezbytných pro určení diagnózy systémové amyloidózy sumarizuje Tab. 5.

Určitým příslibem v laboratorní diagnostice může být trvale zvýšená koncentrace sérového amyloidu A (SAA), které zatím nefiguruje v žádném z doporučení. Léčebná strategie AL amyloidózy zohledňuje rozsah postižení orgánů a zahrnuje rychlou eliminaci tvorby amyloidových lehkých řetězců a úplnou eliminaci patologického buněčného klonu, blíže doporučení České myelomové skupiny.

Analytické aspekty hodnocení koncentrace PP

Koncentraci paraproteinu (PP) vyhodnocujeme denzitometricky z výsledků elektroforézy sérových proteinů pomocí kvantifikace celkové bílkoviny, která je určující pro výslednou hodnotu PP. Koncentrace PP je vydávána na výsledkové zprávě v g/l na 0 desetinných míst. Limitujícími faktory korektního vyjádření koncentrace jsou následující stavy:

- V oblasti gama-globulinů pozorován atypický stín imitující PP, avšak na polyklonálním pozadí, které stěžuje kvantifikaci PP. Výsledek vyjádřen jako odhadovaná koncentrace < 1,0 g/l.

Tab. 5 Přehled vyšetření pro diagnostiku systémové amyloidózy

<p>Všichni nemocní</p> <p><i>Tkáňová biopsie</i> – cílená/necílená biopsie orgánů (barvení konžskou červení)</p> <p><i>Vyšetření krve a kostní dřeně</i> – vyšetření kompletního KO, vyšetření kostní dřeně (aspirační a bioptické)</p> <p><i>Biochemické vyšetření séra</i> – ALP, GGT, Bil, Krea (eGF), Alb, KM, troponin, NT-proBNP, ELFO, IMx, S_FLG (vykazují vysokou diagnostickou validitu pro diagnostiku při negativním nálezu PP při standardní elektroforéze)</p> <p><i>Vyšetření moče/24 hodin</i> - proteinurie/24 hod, imunofixace moče</p> <p><i>Vyšetření srdce</i> – RTG hrudníku, EKG, echokardiografie, ABPM</p> <p>Výběrová indikace dle klinického stavu</p> <p>UZ (CT) jater a sleziny, MRI srdce, spirometrie plic, EMG, endoskopie GIT, vyšetření stolice na tuky, prealbumin, hladina karotenu v séru</p>
--

Zdroj: doporučení České myelomové skupiny – Diagnostika a léčba systémové AL amyloidózy, s. 8.

- PP přítomen mimo gama-zónu globulinů (v oblasti alfa2 – beta). V tomto případě bude PP kvantifikován jako celé zóna, kde se PP vyskytuje, přičemž je uvedena poznámka, že tento výsledek může být nadhodnocen vlivem ostatních proteinů v dané zóně. U těchto případů je vhodné doplňkové stanovení kvantifikace sérových imunoglobulinů IgG, IgA a IgM.



Laboratorní diagnostika pertuse

RNDr. Ivo Lochman, Csc., laboratoř imunologie a sérologie

Černý kašel (dávivý kašel, pertuse) je infekční bakteriální onemocnění, které vyvolává bakterie *Bordetella pertussis* (Bp). Nemoc se přenáší kapénkovou infekcí. Infekce je nebezpečná především v raném dětském věku, kdy ještě nejsou vyvinuty dobře všechny obranné mechanismy imunitního systému a může být i smrtelná. Proto je vakcinace proti pertusi zařazena do základních očkovacích schémat již v časném dětském věku.

Bp lne k řasinkám epitelálních buněk respiračního traktu a produkuje toxiny, které je paralyzují. To vyvolává zánět respiračního traktu a překáží čištění plicních sekretů.

Zlatou metodou pro laboratorní diagnostiku pertuse je kultivace. Je sice 100% specifická, ale citlivost (záchyt) mikroba touto technikou je v praxi poměrně nízký (12 – 60%). Je to dáno především tím, že odběr vzorků pro kultivaci musí být proveden nejpozději do 2 týdnů po výskytu klinických příznaků dávivého kašle, jinak je již většinu mikrobů kultivačně neprokazatelný, i když klinické příznaky přetrvávají. Také náročnost na správný odběr vzorku z nosní dutiny, jeho transport i samotná kultivace, jejíž výsledky u pozitivních vzorků jsou známy obvykle nejdříve do tří dnů a negativita vzorků může být

potvrzena až po 12 dnech, jsou náročné, a proto se v praxi kultivační metody uplatňují jen zřídka.

PCR je ale rychlý test s poměrně vysokou citlivostí (70-90%) a specifičností (86-100%). Prokazovaný mikroorganismus nemusí být již viabilní, odběr může být tedy proveden i záhy po zahájení antibioterapie, nejpozději však do 4 týdnů po výskytu kašle. Odebírá se výtěr ze zadního nosohltanu nebo nosohltanový výplach. PCR metody jsou dnes již sice také dobře dostupné, ale měly by být podle doporučení CDC používány jen jako doplněk ke kultivaci a nenahrazovat ji. Nejsou zatím dobře standardizovány a mohou poskytovat falešně pozitivní výsledky. Některé PCR testy nedokážou diferencovat mezi jednotlivými druhy bordetel.

Nejdostupnější a nejčastěji prováděna jsou tak v laboratorní diagnostice pertuse sérologická vyšetření. Odebírají se buď párová séra (co nejdříve po výskytu symptomů a pak po 4-6 týdnech) nebo lze použít jen jedno sérum (nejdříve 2 týdny, ideálně 4-8 týdnů po výskytu kašle). Bohužel, zatím ani sérologická diagnostika není dobře standardizovaná.

.. pokračování na str. 5

.. pokračování ze str. 4

Může však být využívána také i po zahájení antibioterapie. Slouží však spíše jen k zpětnému potvrzení diagnózy. Udává se, že vyšetření pomocí párových sér má citlivost 90-92% a specifickou 73-100%, vyšetření z jednoho vzorku citlivost 36-76% a specifickou až 99%.

Evropská skupina pro pertusi (EU Pertstrain group) vydala v r. 2011 doporučení pro sérologickou diagnostiku černého kašle, v něm se praví:

Protilátky proti Bp mohou být detekovány/stanovovány pomocí ELISA nebo multiplexovými metodami. Jako cílové struktury pro protilátky využívají tyto techniky purifikované nebo směsné antigeny, z nichž specifický pro Bp je jen pertusový toxin (PT). Interpretace výsledků může být založena buď na výsledcích vyšetření párových vzorků, nebo i na výsledcích vyšetření jednoho vzorku. Pro každou z těchto eventualit by měly být používány různé hranice positivity (cut-off). V sérologické diagnostice pertuse by se měly dodržovat tyto zásady:

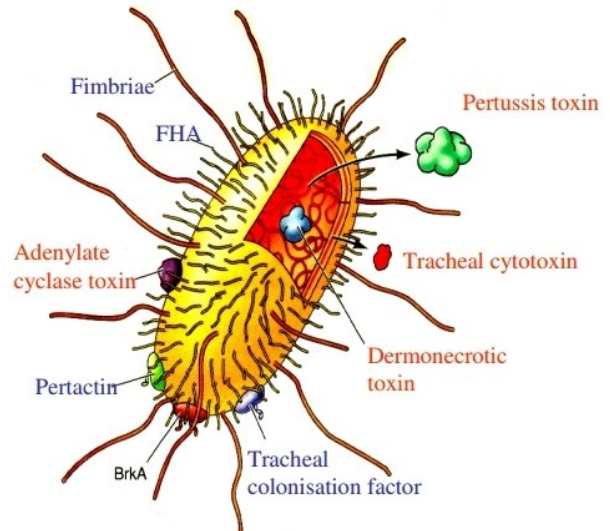
- i. ELISA a multiplexové imunoanalytické metody by měly používat jako antigen purifikovaný nedetoxikovaný PT, měly by mít co nejširší lineární závislost koncentrace protilátek proti tomuto antigenu a výsledky by měly být vyjadřovány kvantitativně v mezinárodních jednotkách na mililitr (IU/ml).
- ii. Měly by být použity jeden nebo dva cut-off podle toho, zda je interpretován výsledek jednoho vyšetření nebo párového vyšetření, který by se měl pro IgG protilátky pohybovat mezi 50 – 100 IU/ml. Během jednoho roku po aplikaci acelulární vakcíny (aP) však nemohou být výsledky sérologických metod interpretovány validně.
- iii. Stanovování anti-PT ve třídě IgA by mělo být využíváno při vyšetřování párových vzorků jen při nejasných výsledcích stanovení anti-PT ve třídě IgG, nebo když není dostupný druhý vzorek (není provedeno párové vyšetření).

Tato skupina nedoporučuje:

- i. Používání jiných antigenů v rutinní diagnostice, poněvadž nejsou pro Bp specifické.
- ii. Mikroaglutinaci, poněvadž je málo citlivá.
- iii. Imunoblotovací metody, poněvadž jejich výsledky nelze kvantifikovat.
- iv. Jiné metody, jako je komplement-fixace (CF) nebo nepřímá imunofluorescence (IFA), poněvadž jsou málo citlivé a málo specifické.

Domníváme se, že se s některými z těchto závěrů a doporučení EU Perstrain group se dá polemizovat. Laboratoře Spadia se proto výše uvedenými zásadami řídí s těmito dvěma výjimkami:

- i. Skupina na jedné straně doporučuje mezi metody stanovující protilátky pro PT kromě ELISA i multiplexové metody, mezi něž patří i imunoblotovací metody, které ale následně nedoporučuje,



Převzato z Alison Weiss, ASM News, 1997

poněvadž je údajně nelze kvantifikovat. Dnes se ale imunoblotovací metody kvantifikovat dají a poněvadž i tyto metody používají jako cílové antigeny standardizované pertusové antigeny, včetně PT, představují dnes efektivní a dobře dostupnou cestu jak monitorovat nejen specifickou infekce (stanovování protilátek proti PT a jeho komponentám), ale i intenzitu celkové zánětlivé odpovědi, které odpovídají většinou lépe koncentrace protilátek proti antigenům, které nejsou pro Bp specifické, jako je např. filamentózní heamaglutinin (FHA). Proto Laboratoře Spadia nabízejí v diagnostice pertuse i tyto metody.

- ii. Podobně jako u ostatních infekčních onemocnění jsou i v diagnostice pertuse udávány výsledky v indexech positivity (IP), což je poměr mezi ve vzorku naměřenou koncentrací protilátky a cut-off (hranicí positivity) měřenou u PT v IU/ml, u ostatních antigenů většinu v pracovních jednotkách (AU/ml). Pro lékaře-kliniky se tak stává interpretace výsledků jednodušší. Nemusí si pamatovat řadu normálních hodnot pro různé metody udávaných v jednotkách pro ně příslušných a i srovnávání výše positivity výsledků různých metod je jednodušší.

Labratoře Spadia nabízejí pro diagnostiku pertuse tato vyšetření:

- i. Stanovení celkových protilátek proti B.pertussis ve třídě IgG a IgA pomocí ELISA
- ii. Stanovení protilátek proti pertusovému toxinu ve třídě IgG a IgA pomocí ELISA
- iii. Stanovení protilátek proti pertusi pomocí imunoblotu ve třídě IgG a IgA (PT, FHA, ACT)

Dále nabízejí stanovení protilátek proti infekčním agens, které často mohou s infekcí Bp koincidovat a mají řadu podobných antigenních struktur, především *Bordetella parapertussis* a *Haemophilus influenzae*.



Stanovení antiepileptik v séru

Mgr. Petra Prochazková, laboratoř biochemie

Úvod

Epilepsie patří mezi nejčastěji se vyskytující neurologické nemoci. V současné době epilepsií trpí 0,5 % populace a v ČR je touto nemocí postiženo kolem 100 000 obyvatel. V závislosti na typu nemoci je aplikována buď monoterapie, nebo kombinace jednotlivých léků (polyterapie). V poslední době se na trhu objevila antiepileptika tzv. III generace, která jsou více selektivní a mají menší potenciál k nežádoucím účinkům a interakcím s další medikací. Některá antiepileptika z „nové generace“ jsou používány i pro další indikace jako např. léčbu neuropatické bolesti.

Účinné látky antiepileptik

Gabapentin společně s **pregabalinem** jsou strukturální analogy kyseliny γ -aminomáselné a nejenže jsou předepisovány k potlačení epileptických záchvatů, jsou také indikovány k léčbě neuropatické bolesti. Obě látky jsou schopné se vázat na $\alpha 2\text{-}\delta$ jednotky napěťově řízených kalciových kanálů v centrální nervové soustavě. Ve skutečnosti jsou ale mezi molekulami významné rozdíly, jak ve stavbě molekuly, tak i účinků vazby na $\alpha 2\text{-}\delta$ jednotky a také farmakokinetice.

Lacosamid se používá k přídatné léčbě parciálních záchvatů se sekundární generalizací nebo bez ní u dospívajících a dospělých pacientů trpících epilepsií. Lacosamid selektivně moduluje pomalou inaktivaci (řádově vteřiny až minuty) napěťově řízených sodíkových kanálů a díky tomu stabilizuje hyperexcitabilní neuronové membrány. Tento způsob pomalé inaktivace je odlišný od ostatních antiepileptik, která také působí na sodíkové kanály, ale řádově v milisekundách, tzv. rychlá inaktivace. Pomalé inaktivace může být využito k posílení nedostatečně účinné léčby obvyklými antiepileptiky.

Vigabatrin se vyskytuje jako racemická směs - R a S optických izomerů, přičemž R enantiomer je farmakologicky aktivní. Používá se k léčbě rezistentní parciální epilepsie se sekundární generalizací i bez ní a také k monoterapii infantilních spasmů, také známé jako Westův syndrom, u pediatrických pacientů. Vigabatrin

je ireverzibilní inhibitor GABA-transaminázy (GABA-T), která je primárně zodpovědná za katabolismus kyseliny γ -aminomáselné. Inhibice GABA-T vede tedy ke zvyšování koncentrace kyseliny γ -aminomáselné v mozku.

Zonisamid představuje širokospektrální antiepileptikum s komplexním mechanismem působení. Používá se jednak při monoterapii dospělých a také při přídatné léčbě pediatrických pacientů. Zonisamid je inhibitorem napěťově řízených sodíkových kanálů. Tato inhibice blokuje na neuronech opakované výboje akčních potenciálů. Podobný mechanismus působení mají i další antiepileptika např. lamotrigin nebo karbamazepin. Nicméně zonisamid blokuje napěťově ovládané vápníkové kanály T-typu na neuronech a tím snižuje oscilace.

Rufinamid je indikován při léčbě Lennox-Gastautova syndromu u pacientů od 4 let. Rufinamid efektivně potlačuje neurologickou hyperexcitabilitu a prodlužuje inaktivaci sodíkových kanálů.

Metody stanovení antiepileptik

Literatura uvádí několik metod, kterými je možné stanovit antiepileptika, jako např. spektrofotometrie nebo kapalinová chromatografie s fluorescenční detekcí. Tyto metody ale vyžadují poměrně časově náročnou pre-analytickou přípravu vzorků, což je pro klinickou praxi nevýhodné.

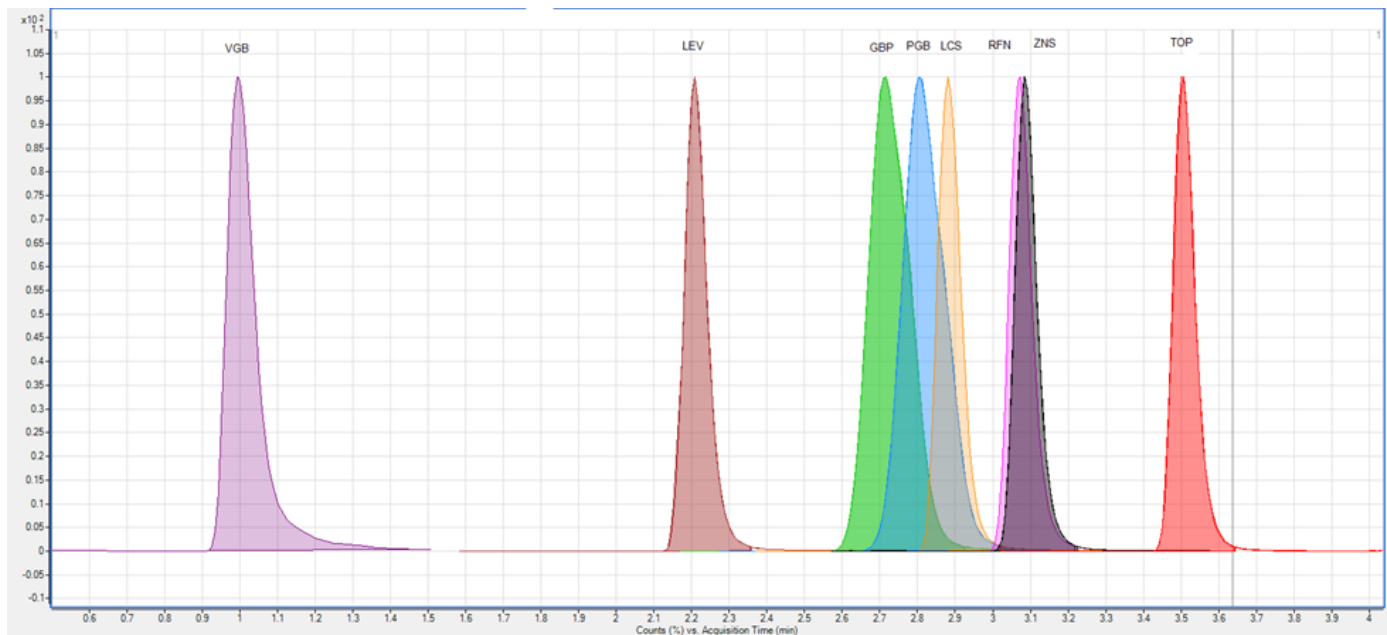
V návaznosti na požadavky lékařů byla laboratoří Spadia Lab, a.s. vyvinuta jednoduchá, rychlá a citlivá metoda na stanovení účinných látek antiepileptik, konkrétně na gabapentin, lacosamid, pregabalin, vigabatrin, zonisamid a rufinamid (viz. Obr. 1). Tato metoda je založená na ultra-vysokoučinné kapalinové chromatografii s tandemovou hmotnostní detekcí, která se v současné době řadí mezi jednu z nejcitlivějších separačních metod určených ke kvantitativnímu stanovení. V porovnání s metodami uvedenými výše je navíc podstatně rychlejší jak ve fázi přípravy vzorku tak při samotné analýze jednotlivých látek.

.. pokračování na str. 7

Účinná látka	Obchodní název	T _{max} [hod]	T _{1/2} ~ [hod]	Dosažení ustáleného stavu [dny]	Dolní mez [mg.l ⁻¹]	Horní mez [mg.l ⁻¹]
Gabapentin	APO-GAB, Gabagama, Gabanox, Gabapentin Aurobindo, Gabapentin Orion, Gabapentin Teva, Gabator, Gordius, Grimodin, Neurontin	2-3	5-9	1-2	2	20
Lacosamid	Vimpat	0,5 - 4	13	3	1	10
Pregabalin	Lyrica, Pregabalin pfizer	1 - 2,5	5 - 7	1 - 2	<	10
Vigabatrin	Sabril	1 - 2	5 - 8	1 - 2	0,8	36
Zonisamid	Zonegran	2 - 5	50 - 70	9 - 12	10	40
Rufinamid	Inovelon	4 - 6	6 - 10	2 - 3	5	30

Tabulka 1: Základní profil antiepileptik

.. pokračování ze str. 6



Obr 1.: Ukázka výsledného chromatogramu: Závislost normalizované intenzity [%] jednotlivých látek na retenčním čase [min]. VGB – vigabatrin, LEV – levetiracetam, GBP – gabapentin, PGB – pregabalin, LCS – lacosamid, RFN – rufinamid, ZNS – zonisamid, TOP – topiramát.

U většiny antiepileptik se u jednotlivých pacientů objevuje výrazná variabilita ve farmakokinetice, proto je důležité kontrolovat hladinu léků individuálně – tzv. terapeutické monitorování léčiv (TDM).

Základní údaje o odběru vzorku

Antiepileptika jsou stanovována v séru. K odběru není vhodné používat zkumavky se separačním gelem

z důvodu možné absorpce léčiv na gel. Odběr krve u pacienta by měl být proveden před ranní dávkou léku, nebo by měly být provedeny dva odběry – před užitím a za 2 hodiny po užití. Na žádanku je potřeba uvést údaje o dávkování, čas odběru, čas užití poslední dávky, další užívané léky, hmotnost a výšku pacienta.

Sérum je stabilní 1 týden při teplotě 2 – 8 °C a 3 měsíce při teplotě – 20 °C.



Konsolidace informačních systémů ve SPADIA Lab

RNDr. Lubor Stančík, Ph.D., laboratoř biochemie



V polovině měsíce července se po několikaměsíčních přípravách uskutečnila výměna laboratorního informačního systému v laboratořích klinické biochemie, hematologie a imunologie. Tato oddělení nyní používají stejný informační systém jako laboratoře lékařské genetiky, cytogenetiky a mikrobiologie. Jinými slovy řečeno celá diagnostická laboratoř nyní pracuje s jediným laboratorním systémem a to OPEN LIMSem od pardubické společnosti STAPRO.

Nový systém nahradil svého předchůdce zejména z důvodu dosažení hranic jeho kapacity, protože SPADIA Lab se v uplynulých dvou letech významně rozrostla, jak díky novým pobočkám, tak také z důvodu zvýšeného zájmu o její služby v oblasti laboratorní medicíny.

OPEN LIMS ve SPADIA Lab i nadále zachovává koncept jednotné databáze, takže lékař i pacient může získat informace o laboratorním vyšetření na kterémkoliv pracovišti SPADIA Lab bez ohledu na to, kde bylo vyšetření fyzicky provedeno.

Nový informační systém posiluje princip osobní zodpovědnosti v souladu s normou ISO 15189 a využívá dvoustupňový systém kontroly výsledků, čímž se opět významně snižuje riziko laboratorních chyb. Mnohé rutinní činnosti, které bylo dosud nutno provádět manuálně, uskutečňuje nový systém automaticky a šetří tak čas laboratorního personálu.

Systém rovněž využívá dokonalejší kontrolní mechanismy při ověřování identifikace pacienta a brání tak problémům vznikajícím např. při zápisu rodného čísla, které sice splňuje podmínku modulo 11, ale neodpovídá věku pacienta.

.. pokračování na str. 8

.. pokračování ze str. 7

Dalším plánovaným krokem rozvoje centrálního příjmu je scanování laboratorních žádanek s automatickým zařídováním k příslušnému záznamu v databázi. Do budoucna tak odpadne zdoluhavé vyhledávání v archivu a případné spory o tom, zda bylo dané vyšetření požadováno či nikoliv, rychle vyřeší jediný stisk tlačítka myši.

OPEN LIMS je plně kompatibilní se systémem Virtuallab, který SPADIA zdarma poskytuje svým klientům, a to jak v oblasti elektronického přenosu laboratorních výsledků, tak i elektronických laboratorních žádanek, které pro soukromý ambulantní sektor SPADIA provozuje jako bezmála jediná klinická laboratoř v České republice. Ke komunikaci se používá datový standard MZ ČR (DASTA) ve verzích 2, 3 a 4, což zaručuje prakticky stoprocentní slučitelnost se všemi informačními systémy nemocnic i ambulancí.

Nové výsledkové listy umožňují sdělit lékařům větší množství informací díky rozsáhlým možnostem konfigurace jejich grafické podoby, včetně barevného odlišení pato-

logických nálezů. A je zde také možnost automatického zaslání kopie výsledkové zprávy dalšímu pracovišti, pokud takové požadující lékař určí.

V plánu je rozdělení klientů do tzv. tiskových skupin, což v praxi bude znamenat, že výsledkový list se vytiskne na tom pracovišti SPADIA, z kterého jsou výsledky pro daného lékaře nejlépe fyzicky dostupné, což zajistí rychlejší informovanost také pro lékaře, kteří elektronickou komunikaci nevyužívají.

Přestože přípravě implementace OPEN LIMS byla věnována maximální pozornost – byly optimalizovány toky vzorku jednotlivými úseky laboratoře, překonfigurováno několik desítek automatických analyzátorů, znovu nastaven systém přístupových práv a odpovědností, atp. – některé úpravy logicky vyplynou až z déleodobého chodu systému. A i dlouhodobě pracující informační systém se neustále vyvíjí a upravuje. Chtěli bychom vás proto požádat o jistou schovávavost a zároveň zpětnou vazbu tak, abychom mohli vše nastavit k oboustranné spokojenosti. Připomínky můžete sdělovat kterýmkoliv komunikačním kanálem SPADIA Lab.



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