

# Spadia News



## Úvodní slovo

Vážené kolegyně, vážení kolegové,

Vánoce jsou opět za dveřmi a s nimi také čas na novinky z naší laboratoře a krátké bilancování.

Končící rok byl bohatý na události. Bohužel ty pozitivní byly v menšině. Po více než dvou letech covidového života s mnoha restrikcemi jsme se naučili s virem koexistovat a vypadá to, že už nepředstavuje vážné riziko pro jednotlivce ani společnost. Stala se z něj běžná respirační infekce. Můžeme konečně žít společenský život bez omezení. Další pozitivní událostí byla vlna solidarity s ukrajinskými uprchlíky. Důležitost pomoci bližnímu si člověk uvědomuje i s ohledem na probíhající adventní období.

Tento rok přinesl také mnoho nejistoty. Bezpečnostní, ekonomické a energetické. Konflikt ve východní Evropě aktuálně nehrozí rozšířením do dalších zemí, ale s jeho důsledky v podobě ekonomického poklesu a vysoké inflace se budeme muset vyrovnávat i v následujících letech.

V laboratoři se těžiště naší práce vrátilo zpět od covidových testů k obvyklému spektru vyšetření. Nabídku testů rozšířilo oddělení molekulární biologie o některé další původce sexuálně přenosných onemocnění. Oddělení biochemie je vybaveno novým, rychlým automatem na provádění elektroforéz krevního séra. Toto vyšetření je schopno s malými finančními i časovými nároky odhalit celou řadu onemocnění, především mnohočetný myelom.

V listopadu jsme se zapojili do celosvětové akce Movember. Samoplátcům jsme za sníženou cenu nabídli vyšetření PHI jako screeningový test na rakovinu prostaty. Statistické vyhodnocení proběhlých testů je součástí tohoto čísla Spadia News.

Posílili jsme také naše obchodní oddělení, abychom zlepšili komunikaci s lékaři a mohli vám poskytovat kvalitnější podporu.

Na konci léta jsme koupili budovu polikliniky v Hodoníně. Chtěli jsme zachovat nabídku zdravotních služeb praktických lékařů, ambulantních specialistů, lékárny i laboratoře s odběrovým místem pro všechny obyvatele této oblasti.

Závěrem chci popřát krásné prožití Vánoc vám i vašim blízkým. Také vše nejlepší do nového roku, hlavně zdraví a hodně štěstí.

Mgr. Lukáš Garčic, zdravotní ředitel

### Kontakty:

#### Spadia Ostrava

Zelená linka centrální laboratoře: 800 100 329

Zelená linka mikrobiologie: 800 666 444

#### Spadia Praha

Zelená linka centrální laboratoře: 800 898 898

Zelená linka mikrobiologie: 800 655 655

#### Spadia Brno

Zelená linka centrální laboratoře: 800 100 052

Zelená linka mikrobiologie: 800 465 465

Ben Labor, s.r.o. 597 011 293

Damier s.r.o. 595 539 270 - 271

Spadia Nový Jičín 737 275 910

## Movember – vyšetření PHI

Mgr. Lukáš Garčic, oddělení biochemie

Movember je každoroční celosvětová akce zaměřená na zvyšování povědomí o zdraví mužů. Zvláštní pozornost je věnována podpoře zdravého životního stylu a osvětě mužských onemocnění, zejména rakoviny varlat a prostaty. Název akce je odvozen z anglických slov pro knír (moustache), který si nechávají účastníci narůst, a názvu měsíce listopad (November), ve kterém akce probíhá.

S výjimkou minulých dvou let ovlivněných covidovými restrikcemi se akce pravidelně účastníme. Ve spolupráci s firmou Beckman Coulter, jejichž analyzátoři a diagnostika pro tento účel využíváme, nabízíme možnost testování na karcinom prostaty za zvýhodněných podmínek pro širokou veřejnost.

Karcinom prostaty je celosvětově nejčastější nádorové onemocnění mužů po rakovině kůže. V České republice se jedná o třetí nejčastější nádorové onemocnění. Prostata je malá žláza, která u mužů obkružuje horní část močové trubice. Nádor, který se vyvíjí v prostatě, může zůstat lokalizovaný (celý nádor je uvnitř prostaty) po mnoho let a může způsobovat jen minimální, sotva rozpoznatelné potíže. Ve většině případů je karcinom prostaty pomalu rostoucí a příznaky onemocnění se objevují, až když se karcinom zvětší natolik, že zužuje močovou trubici. Typicky se pak objevují potíže, jako je časté močení (především v noci), slabý či přerušovaný proud moči. Nicméně však většina těchto potíží může být způsobena i jinými onemocněními, jako jsou benigní hyperplazie prostaty, infekce močových cest, akutní zánět prostaty či pohlavně přenosné nemoci.

Pro výpočet PHI (index zdravé prostaty) se využívají tyto testy:

- PSA celkový (celkový prostatický specifický antigen)
- PSA volný (volná frakce PSA)
- [-2]proPSA (frakce PSA produkovaná zj. nádorovými buňkami)

V listopadu jsme zaznamenali 85 % nárůst stanovení PHI vzhledem k předchozím měsícům. Nejpočetnější testovanou věkovou kategorií jsou obvykle muži ve věku 60 až 70 let. V průběhu akce Movember byli nejčetnější skupinou muži zhruba o 10 let mladší. Není proto překvapivé, že i medián výsledků PHI byl nižší o více než 20 % než v jiných měsících. Vyšetřit se totiž nechalo více mladších, zdravých mužů.

	říjen	listopad
<b>věk (medián)</b>	68	59
<b>PHI (medián)</b>	35,9	28,4

Test PHI je vhodné provést, pokud se výsledky celkového PSA pacienta pohybují v „šedé zóně“. Tj. nad horní referenční mezí pro daný věk do hodnoty ca 10 µg/l. Výsledky testu mohou rozlišit, zda je zvýšení způsobeno karcinomem nebo z jiné příčiny a zabránit tak zbytečnému provedení biopsie prostaty.



## Rozšířili jsme spektrum PCR vyšetření o stanovení dalších původců sex. přenosných nemocí

MVDr. Zuzana Dindová, laboratoř molekulární biologie

Výskyt sexuálně přenosných nemocí (STD) je v současné době naprosto běžným jevem. Některé nemoci jsou rozšířeny **celosvětově**, bez výhrad (syfilis, kapavka, lidský papilomavirus, HIV), jiné byly dlouho vázány na **endemické oblasti** (obvykle tropická a subtropická oblast) a do České republiky se dostaly prostřednictvím „sexuální turistiky“.

Mezi takovéto „exotické“ nemoci patří i pohlavní nemoc – **měkký vřed (ulcus molle, chancroid)**. Původcem měkkého vředu je gramnegativní kokobacil **Haemophilus ducreyi**. Kultivačně se jedná o poměrně náročnou bakterii, **jako většina původců STD**.

**Ulcus molle** byl poprvé od **syfilis** klinicky odlišen v roce 1852 Leonem Bassereau a v roce 1890 poprvé Augusto Ducrey identifikoval agens – **Haemophilus ducreyi**.

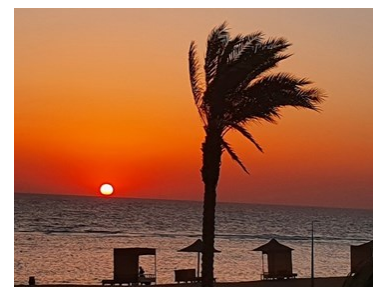
V minulosti byl **ulcus molle** rozšířen po celém světě. Se zvyšující se kvalitou zdravotnických služeb, antibiotické léčby a preventivních aktivit se jeho výskyt v rozvinutých zemích snížil. Zatímco se globální prevalence výrazně snížila, největší výskyt chancroidu stále zůstává

v **chudých zemích Afriky, v Asii, Latinské Americe a Karibské oblasti** a je příčinou **ulcerativních infekcí genitálu a anogenitální oblasti**. V České republice je zaznamenán **od roku 2017**.

Infekce se přenáší **nechráněným pohlavním stykem, orálním i análním sexem**. V endemických oblastech je v dětské populaci popisován také přenos přímým kontaktem s projevy na kůži i extragenitálně (bérec apod.).

Inkubační doba je **2 – 14 dní**. V místě vstupu **Haemophilus ducreyi** se objeví červená papula rychle se rozpadající v **hnisavě povleklý, bolestivý vřed**. Přenos na okolní dosud nepostíženou kůži nebo sliznici je snadný a vede ke vzniku mnohočetných lézí.

*pokračování na str. 3*



*pokračování ze str. 2*

Lymfatické cévy dránují postiženou oblast do spádové uzliny, objevuje se lymfangoitida a supurativní lymfadenitida. Hojení, bez pomoci celkově podaných antibiotik, je velmi pomalé.

S ohledem na významnou podobnost anebo shodu klinického nálezu je k určení původce onemocnění **výhodně použít testů umožňujících detekci více původců zároveň.**

Diferenciálně diagnosticky přichází v úvahu nádorová onemocnění (karcinom penisu), *Treponema pallidum* (syfilis), infekce HSV2, *Chlamydia trachomatis* (lymphogranuloma venereum), kvasinková nebo bakteriální infekce.

Na Oddělení molekulárně – biologických metod jsme do panelu sexuálně přenosných nemocí **nově doplnili PCR vyšetření: *Haemophilus ducreyi*, *Streptococcus agalactiae* (GBS) a *Candida albicans*.**

Vyšetření se provádí **z jednoho odběru** a umožňuje stanovení více patogenů zároveň, **celkem 14.**

**Materiálem k vyšetření** je sěr z pochvy/cervix, sěr z uretry, moč.

Více informací ohledně vyšetření a složení STD panelů najdete na [www.spadia.cz](http://www.spadia.cz).

Případné dotazy zodpovíme na tel. č. 595 539 125 – 126.



## Nový biochemický analyzátor pro vyšetření ELFO bílkovin séra

Mgr. Michal Richter, laboratoř klinické biochemie

Od prosince tohoto roku používá biochemická laboratoř v Ostravě nový automatický analyzátor Capillars 3 Octa pro vyšetření elektroforézy bílkovin séra. Tento plně automatizovaný analyzátor od firmy Sebia pracuje na principu kapilární elektroforézy ve volném roztoku. Při elektroforéze bílkovin séra dochází vlivem elektrického pole k separaci proteinů dle izoelektrických bodů jednotlivých bílkovin. Separované bílkoviny tvoří celkem 6 frakcí, které jsou přímo detekovány fotometricky na konci kapiláry. Systém má 8 kapilár, umožňujících analýzu 8 vzorků současně, a tedy rychlejší provedení vyšetření.

Indikací k vyšetření elektroforézy bílkovin jsou suspektní monoklonální gamapatie, monitorování léčby monoklonální gamapatie a diagnostika akutních a chronických infekcí. Monoklonální gamapatie je onemocnění způsobené proliferací jediného klonu plazmatických nebo lymfoplazmoidních buněk, které produkují homogenní imunoglobulin (M-komponentu, paraprotein) a/nebo jeho strukturální komponenty, nejčastěji lehké řetězce. Proliferace jednoho klonu má maligní nebo potenciálně maligní charakter. Tvorba monoklonálního imunoglobulinu je charakteristická pro lymfoproliferační syndromy: mnohočetný myelom, Waldenströмова makroglobulinemie, primární amyloidóza a MGUS (potenciálně maligní onemocnění označované jako monoklonální gamapatie ne-

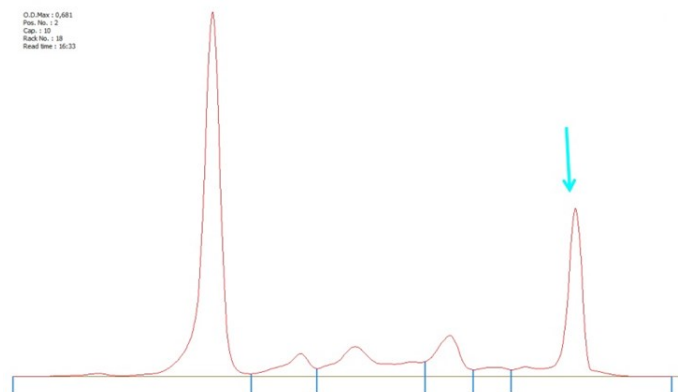


Analyzátor Capillars 3 Octa

jasného významu).

Nález monoklonálního imunoglobulinu může předcházet klinickým symptomům u pacientů s mnohočetným myelomem. Počet myelomových buněk musí být aspoň  $5 \times 10^9$ , aby produkce monoklonálního imunoglobulinu byla detekovatelná elektroforetickým vyšetřením. Další vzestup počtu nádorových buněk, přesahující  $2 - 5 \times 10^{11}$ , vede pak ke klinickým projevům nemoci. Růstová aktivita těchto nádorů bývá v počátečních fázích nízká a klinické projevy tak předchází bezpříznakové období, trvající několik měsíců až let. Během tohoto období je mnohočetný myelom diagnostikován pouze u 15 – 20 % pacientů. Většinou se jedná buď o vedlejší náhodné nálezy při elektroforetickém vyšetření z jiných důvodů, nebo při pátrání po příčinách vysoké hladiny celkové bílkoviny či vysoké sedimentace. Příznaky mnohočetného myelomu jsou velmi různorodé. Nejčastěji se nemoc projevuje multiorgánovým postižením označovaným jako „CRAB“ – hyperkalcémie, renální postižení, anémie a kostní postižení.

V případě nálezu monoklonálního imunoglobulinu při elektroforéze bílkovin séra provede laboratoř imunofixační elektroforézu k typizaci monoklonálního imunoglobulinu.



Elektroforeogram pacienta s monoklonálním imunoglobulinem



## Protilátky proti VlsE proteinu jako možný parametr úspěšné léčby borreliózy

RNDr. Adéla Uhrová, laboratoř imunologie a sérologie

Lymeská borrelióza (LB) je nejčastější infekční onemocnění přenášené vektory. Je způsobena gram-negativní bakterií komplexu *Borrelia burgdorferi sensu lato*.

Z hlediska diagnostiky se nabízí možnosti přímého stanovení specifické DNA patogenu pomocí molekulárních metod, z výsledků vyšetření však nejsme schopni rozlišit DNA živých a mrtvých *Borrelia*, proto nemůžeme potvrdit aktivní infekci ani posoudit úspěšnost ATB léčby. Kultivace se také v rutinní praxi nevyužívá, a to z důvodu finanční i časové náročnosti metody.

Klasickým postupem průkazu LB je nepřímá diagnostika specifických protilátek v séru či mozkomíšním moku, která probíhá ve dvou krocích. V první fázi je vzorek vyšetřován metodou CLIA či ELISA. Pozitivní výsledky jsou v druhém kroku potvrzovány Western blotem s náhledem na přítomnost protilátek konkrétních antigenů, včetně VlsE.

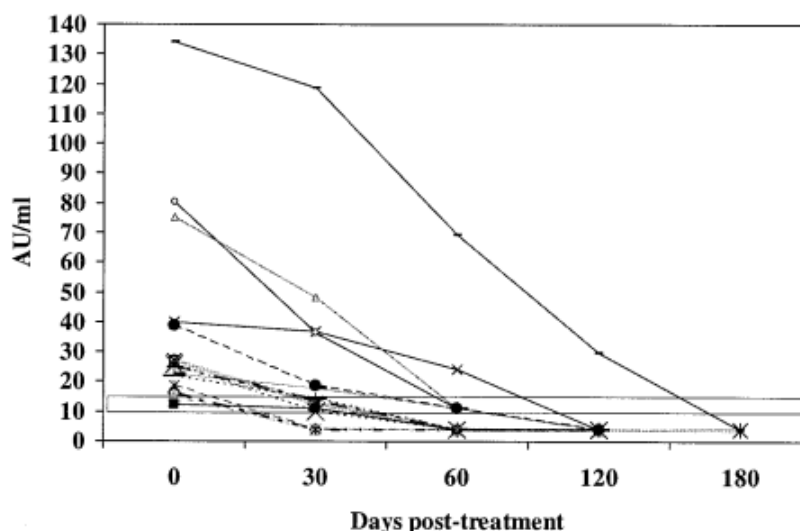
IgG protilátky proti VlsE, povrchovému lipoproteinu, jsou významným indikátorem rozvinuté infekce LB. Rozlišujeme tři základní části antigenu: chráněná část, která slouží jako kotva v bakteriální membráně a transmembránová doména, a pak variabilní a konstantní část. Jak už název napovídá, variabilní část je značně proměnlivá díky rekombinaci, a je tak maskovaná vůči zásahu imunitního systému. Teprve mrtvá *Borrelia* dokáže prezentovat celý VlsE antigen včetně konstantní (nevariabilní) části – v literatuře se setkáváme také s označením IR6, C6.

V naší laboratoři využíváme k screeningu metodu chemiluminiscence (CLIA) s magnetickými kuličkami potáhlými rekombinacním antigenem VlsE pro třídu IgG a OspC pro IgM. Pozitivní výsledky potvrzujeme Western blotem. V laboratorní praxi jsme však narazili na případ, kdy pacient měl v minulosti prokázány protilátky proti *Borrelia* v třídě IgG testem CLIA i WB, avšak při kontrolním odběru po 5 měsících byly výsledky CLIA negativní. Rozhodli jsme se pacienta kontrolně otestovat pomocí WB, který vyšel pozitivní v nativních antigenech a v průkazu VlsE negativní. Touto problematikou se zabývali také vědci z Univerzity v

Bologni nebo Univerzita Tulane ve Spojených státech, kdy si všimli trendu, že pacienti úspěšně léčení ATB často vykazují v opakovaných testech po 6 měsících od záchytu onemocnění nepřítomnost VlsE specifických protilátek v séru, přestože přetrvávala přítomnost nativních antigenů *Borrelia*. U pacientů rezistentních na léčbu LB zůstal titr protilátek poměrně konstantní.

V Bologni sledovali 15 pacientů, kteří byli na začátku studie pozitivní ve třídě IgG a byla jim předepsána antibiotická léčba. Z obrázku č.1 je patrné, jak se koncentrace protilátek měnila v čase. U všech pacientů koncentrace IgG, založená na testech s VlsE antigenem, klesla pod hodnotu 10 AU/ml, tedy byly negativní. Důležitou poznámkou je, že všichni měli časně diagnostikovanou LB. Ve studii M. Peltomaa, do které byli zapojeni pacienti s časnou i pozdní LB, výsledky tak optimistické nebyly. Některým pacientům v séru setrvaly protilátky i po zjevné eradikaci *Borrelia* antibiotiky. Jako možný důvod uváděli vytvoření paměťových T i B buněk u pozdní LB.

Tímto fenoménem bychom se chtěli zabývat také v našich laboratořích a posoudit, zda úspěšná léčba má vliv na přítomnost VlsE protilátek v séru s cílem poskytnout ošetřujícím lékařům komplexnější informace o Lymeské borrelióze.



Citace k obrázku:

MARANGONI, Antonella and co. A Decrease in the Immunoglobulin G Antibody Response against the VlsE Protein of *Borrelia burgdorferi Sensu Lato* Correlates with the Resolution of Clinical Signs in Antibiotic-Treated Patients with Early Lyme Disease. *Clinical and Vaccine Immunology* [online]. 2006, 13(4), 525-529 [cit. 2022-11-21]. ISSN 1556-6811.