

Po nejisté zimě pomalu přichází jaro a s ním nová síla a energie. Nechme se unavit velkým množstvím práce, které toto období přináší. Pojd'me si popřát neutuchající radost a chuť do života, protože to jaru prostě patří.

Mgr. Helena Tomšíková



Sekundární imunodeficiencie – dosud málo řešený problém klinické péče



Stavy imunitní nedostatečnosti, imunodeficiencie, jsou definovány jako situace, kdy obranné mechanismy člověka nemají dostatečné kapacity chránit jedince před infekcemi způsobenými obligátními, ale i oportunními infekčními agens. Imunodeficiencie členíme vzásadě na primární, které jsou způsobeny rozmanitými vrozenými genovými poruchami a sekundární, které nemají genový základ a jejich příčinou jsou různé patologie v průběhu života. Prevalence primárních imunodeficiencí je velmi nízká. Klinicky se prezentují v časných fázích života jako život ohrožující stavy. Jejich klinická i laboratorní diagnostika je zajištěna. Oproti tomu prevalence sekundárních imunodeficiencí je v populaci velmi vysoká. Až na výjimky, kterými může být např. syndrom získané imunodeficiencie AIDS, který je způsoben infekcí virem HIV-1, je nemocným se sekundárními imunodeficiencemi zatím věnována malá pozornost. Pro úvahy, které cílí na patogenezi sekundárních imunodeficiencí, musíme připomenout jejich základní příčiny. Klinicky nejvýznamnější jsou nádorová onemocnění a léčba cytostatiky či radiační terapie. Z velmi heterogenní množiny nádorových onemocnění jsou projevy sekundární imunodeficiencie nejvýraznější u pacientů s hematologickými ne-

mocemi, tj. akutními leukémiemi, BNHL lymfomy, jinými lymfoproliferacemi i u nemocných s mnohočetným myelomem. Důvod je zřejmý. U těchto nemocných nádorové bujení postihuje samotné hematopoetické elementy, tj. buněčné součásti imunity. V léčbě hematologických nemocných jsou používány velmi agresivní léčebné režimy, které negativně ovlivňují kostní dřeň, zdroj imunitních buněk. Výjimkou již nejsou ani transplantace autologních kmenových buněk, či alogenní transplantace. Tyto postupy jsou spojeny s výraznou sekundární imunodeficiencí. Nemocní s těmito diagnózami trpí obvykle alespoň přechodně poškozením kostní dřeně. To se projevuje jako snížená schopnost tvořit funkčně kompetentní granulocyty. Těžká granulocytopenie je život ohrožující stav, který je v současnosti našťastí již možné terapeuticky ovlivnit aplikací rekombinantních růstových faktorů G-CSF. Snížená kapacita imunity u hematologicky nemocných má navíc za následek vysokou vnímavost k oportunním, především virovým infekcím, jakými je např. *Varicella zoster*, který tyto nemocné může usmrtit. Akutní leukémie a jejich komplexní léčba je zajišťována v klinických centrech. Na rozdíl od toho péče o běžné hematologické malignity, včetně chronické lymfatické leukémie (CLL) není obvykle na této úrovni dostupná. Přitom je dobře doloženo, že u většiny těchto nemocných je laboratorně prokazatelná snížená tvorba protilátek, která může vést ke zvýšené

Témata obsahu:

Sekundární imunodeficiencie
– dosud málo řešený problém
klinické péče

20 let od založení společnosti
MeDiLa

Elektroforéza

Ambulance praktických lékařů
a hygienické předpisy

Aktuality

Elektronickou verzi Bulletinu
naleznete na www.axis-cz.cz
a www.medila.cz

20 let laboratorních služeb

Rok 2015 je pro společnost MeDiLa spol. s r.o. jubilejní, bude si připomínat 20 let od svého založení v březnu 1995. Společnost AXIS bude rovněž slavít, v letošním roce dosáhne „plnoletosti“ – tedy 18tých narozenin. Věříme, že uplynulé roky práce obou společností v laboratorní medicíně přinesly dostatek zkušeností, které se promítají do úrovně služeb a vedou při plánování dalšího rozvoje. K historii, současnosti i budoucnosti obou laboratoří se budeme po celý rok obracet na stránkách Bulletinu, při seminářích a dalších příležitostech.

Ing. František Šturm, Ph.D.

náchylnosti vůči běžným infekcím. Tyto infekce výrazně snižují kvalitu života. Protilátková imunodeficiencie může být úspěšně klinicky ovlivněna v těžších případech substitucí intravenózními imunoglobuliny, v lehčích případech alespoň aplikací intramuskulárních imunoglobulinových preparátů. Nádory jiného původu a jejich léčba jsou rovněž provázány známkami imunitní nedostatečnosti. Není však dostatek údajů, které by doložily pozitivní efekt imunointervencí.

Samostatnou kapitolou sekundárních imunodeficiencí, kterou řeší specializovaná pracoviště, jsou otázky oslabení imunity u nemocných po transplantaci orgánů. Alogenní transplantace jsou zatíženy rizikem rejekce štěpu. Součástí dlouhodobých léčebných režimů u transplantovaných pacientů jsou složité kombinace různých imunosupresivních a protizánětlivých preparátů. Jejich vhodnými kombinacemi podávanými v kontextu klinických potřeb je obvykle nalezena pro pacienta přijatelná rovnováha potřebné imunosuprese při zachování přijatelné úrovně obranyschopnosti.

Intenzivní péče, která je poskytována nejvážněji nemocným z různých příčin, včetně pooperačních stavů, je z velké části zaměřena na zvládnutí systémové zánětové odpovědi (SIRS), která se může vyvinout, pokud není léčebně zvládnuta, do orgánové dysfunkce, či až do systémového selhání. Dynamika zánětlivé reakce je velmi individuální. Vychází z genetické dispozice konkrétního nemocného, odráží zákroky, které k ní vedly a také terapeutické zásahy. Je dobře prokázáno, že u většiny nemocných je

možné laboratorními postupy prokázat nedostatečnost jak buněčných, tak humorálních složek imunity. S ohledem na dynamiku stavu je jedinou možností, jak intervenovat ve vybraných případech, aplikace imunoglobulinů.

Jednou z lékových skupin, které jsou v medicíně nejčastěji využívány, jsou glukokortikoidy. V největší míře a v nejvyšších dávkách jsou podávány nemocným s imunopatologickými nemocemi, u kterých dominuje poškozující zánět. Dlouholeté klinické zkušenosti s podáváním kortikoidů vedou k takové aplikaci, kdy pro pacienta jednoznačně převažují pozitivní účinky glukokortikoidů nad negativními vedlejšími účinky, které zahrnují mimo jiné i funkce imunity. Dobře vedená kortikoterapie, zvláště krátkodobě podaná, by neměla být příčinou snížení obranyschopnosti pacienta. Problémem může být dlouhodobé podávání, které jednoznačně vykazují negativní vliv na obranyschopnost. Tyto problémy s léčbou sekundárních imunodeficiencí spojených s imunopatologickými stavy jsou dále akcentovány u stále častěji používané tzv. „biologické terapie“. Ta spočívá v podání monoklonálních protilátek nebo rekombinantních cytokinů nemocným s agresivními formami imunopatologických nemocí. Aplikace biologické terapie, zvláště neutralizace TNF u nemocných s revmatoidní artritidou, Crohnovou nemocí, či psoriázou, významně oslabí antiinfekční imunitu a může vést k exacerbaci latentní tuberkulózy.

Je zcela běžné, že zvláště v dětském věku, ale jistě i v dospělosti, se lékaři setkávají s nemocnými, kteří mají v porovnání s ostatními zvýšenou náchylnost

k infekčním komplikacím. Těmto nemocným je právem věnována klinická pozornost, která spolu s běžně dostupnými laboratorními testy imunity, které zahrnují leukocyty, diferenciální KO, stanovení aktivity komplementu, stanovení hladin hlavních tříd a podtříd imunoglobulinů a velmi často i určení základních parametrů buňkami zprostředkované imunity, tj. relativní i absolutní počty celkových CD3+ T lymfocytů, pomocných CD4+, cytotoxických CD8+ T lymfocytů, CD19+ B lymfocytů, CD56+ NK buněk, včetně základních parametrů fagocytózy, tj. ingesční kapacity a oxidačních vzplanutí granulocytů, umožní lékaři kompletní diferenciálně diagnostickou rozvahu. V dětské populaci takto mohou být zachyceny primární imunodeficiencie. Dále častěji je však v dětské populaci zvýšená vnímavost k infekcím způsobena opožděným vyžíváním imunitní soustavy nebo jsou spojeny s nedostatečnou výživou. U dospělých lze takto identifikovat primární imunodeficienci CVID, která, pokud není léčena, představuje pro nemocné výrazné riziko. V indikovaných případech lze v dětské i dospělé populaci u nemocných s klinickými příznaky sekundární imunodeficiencie doložené laboratorním nálezem vyzkoušet účinky bakteriálních imunomodulátorů. V současnosti nejsou k dispozici s výjimkou isoprinosinu modulatory, které by cílily na T lymfocytární systém. Jednoznačně nejúčinnější léčbou je v indikovaných případech terapie imunoglobuliny.

*Prof. RNDr. Jan Krejssek, CSc.
Ústav klinické imunologie a alergologie*

Elektroforéza I.

Elektroforéza bílkovin séra byla a je i nadále zařazována jako jeden ze screeningových testů. Její význam je primárně ve screeningu přítomnosti monoklonální bílkoviny (M-gradientu), ale slouží i pro posouzení aktivity řady zánětlivých onemocnění.

Elektroforéza (ELFO) je založena principiálně na pohyblivosti nabitých částic v elektrickém poli stejnosměrného proudu. Stanovované látky musí mít charakter iontů nebo amfolytů. Bílkoviny mají povahu amfolytů tj. mohou nabývat kladného i záporného náboje podle povahy a charakteru pufru, ve kterém se pohybují. Pohyblivost jednotlivých

bílkovin je tedy ovlivněna jak velikostí náboje, tak velikostí molekuly bílkoviny a vlastnostmi prostředí, ve kterém dělení probíhá tzn. pH prostředí - pufru, jeho iontové síle, napětí a procházejícím stejnosměrným proudem.

Pro ELFO se využívá negativně nabitých molekul bílkovin v alkalickém pufru (pH 8,6) a jejich pohybu k anodě. Vzhledem k tomu, že albumin vykazuje největší negativní náboj, pohybuje se kanodě nejrychleji. Elektroforéza může probíhat na nejružnějších nosičích, historicky nejstarší byl chromatografický papír, dnes se nejčastěji používá

acetátocelulózových folií nebo agarózový gel. Pomocí takto uspořádané ELFO se bílkoviny séra rozdělí na 5-6 frakcí: albumin a 4-5 globulinových frakcí tj. alfa1-, alfa2-, beta (beta1- a beta2-) globuliny a gama-globuliny. Frakce globulinů jsou tvořeny skupinou bílkovin s přibližně stejnou elektroforetickou pohyblivostí molekul.

Podle použitého nosiče je dále možné např. provádět ELFO na polyakrylovém gelu (PAGE) nebo tzv. SDS elektroforézu s dodecylsulfátem nebo tzv. isoelektrické fokusace, dvojrozměrné a kapilární elektroforézy, afinitní elektroforéza atd.

Jako základní screeningový test v ELFO bílkovin séra se dnes používá nejčastěji ELFO na agarosovém gelu. ELFO je možné provádět vřadě biologických materiálů např. v moči, v likvoru atd.

Referenční hodnoty jednotlivých elektroforetických frakcí bílkovin v % resp. v jednicích (poměrové číslo) a kvantitativně v g/l (hodnoty se mírně liší dle výrobce):

Frakce bílkovin séra	Koncentrace v %/resp. 1	Koncentrace v g/l
albumin	55-69	35-44
Alfa1-globuliny	1,5-4	1-3
Alfa2-globuliny	8-13	5-8
Beta-globuliny	7-15	4-10
Gama-globuliny	9-18	5-12

Hodnocení elektrofézy probíhá jako vizuální a denzitometrická kvantifikace jednotlivých frakcí s udáním relativního zastoupení jednotlivých frakcí, je vhodné i vydání grafického záznamu (elektroforegramu) a popis obrazu formou slovního hodnocení.

Charakteristiky jednotlivých frakcí bílkovin:

Zóna prealbuminu

V zóně se pohybuje pouze prealbumin, frakce je slabá. Prealbumin je negativní marker zánětu a nutriční parametr, kdy v obou případech se snižuje.

Zóna albuminu

Albumin tvoří širokou přesně ohraničenou zónu, která dominuje svou kon-

centrací na ELFO bílkovin. Vzhledem k nejmenší molekule je albumin nejobyblivější, proto se pohybuje nejvíc ve směru dělení a nachází se nejdále od startu ELFO. Při snížení koncentrace albuminu pod 30 g/l je i vizuálně patrné oslabení frakce. Vzácnou abnormitou je geneticky podmíněná odchylka- tzv. bisalbuminémie, která je projevem heterozygotní formy, na ELFO se jedná o výskyt zdvojené frakce albuminu.

Interzóna mezi albuminem a alfa1-globuliny

Slabé homogenní zabarvení v této zóně je podmíněno přítomností alfa1-lipoproteinů i alfa1-kyselého glykoproteinu (orosomukoid), který se však velmi málo barví.

Zóna alfa1-globulinů

V této zóně se pohybuje především alfa1- antitrypsin. Vzhledem k možné genetické variabilitě může zóna mít změněnou pohyblivost. V rámci zánětlivých onemocnění dochází k jejímu zvýraznění.

Zóna alfa2-globulinů

V této zóně migrují 2 bílkoviny- alfa2-makroglobulin a haptoglobin, který může mít až 6 fenotypů s různou ELFO pohyblivostí.

Interzóna alfa2- a beta-globulinů

Za přítomnosti hemolýzy vzorku zde migrují komplexy hemoglobin- haptoglobin, které vytvářejí samostatný gradient, který může imitovat atypický gradient.

Interzóna beta1- beta2-globulinů

Zde migruje imunoglobulin IgA a beta-lipoproteiny.

Zóna beta2-globulinů

V zóně migruje C3 složka komplementu.

Zóna gama-globulinů

Zóna je vytvářena imunoglobuliny- a to IgG (4 podtřídy). Zvýšení IgG se projevuje zvýrazněním zóny se vzestupem koncentrace gama-globulinů. Vzóně gama-globulinů migrují rovněž imunoglobuliny IgM.

Klinické využití ELFO bílkovin séra:

Jako zcela zásadní se jeví indikace ELFO bílkovin séra při záchytu hyperproteinémie (S_{CB}>90 g/l), kdy se jedná o zachycení stavů s výskytem paraproteinu tj. monoklonálního imunoglobulinu (Mlg). ELFO bílkovin séra proto indikujeme pro průkaz paraproteinémie.

U dysproteinémie se jedná o změnu koncentrace a kvalitativního složení jednotlivých bílkovin v séru. Dysproteinémie může být jak hereditární, tak i poztrátová (ledviny- proteinurie, kůže – popáleniny, rozsáhlé záněty nebo střevno- exsudativní enteropatie) nebo v důsledku poruch proteosyntézy (játra- např. cirhóza nebo malnutrice s nedostatečným příjmem bílkovin). Význam stanovení je i u zánětlivých onemocnění zejména chronického charakteru. Koncentrace frakcí bílkovin séra je závislá na poměru mezi jejich syntézou a odbouráváním či vylučováním. Při změně koncentrace frakcí bílkovin dochází ke změně poměru mezi albuminy a globuliny tzv. A/G koeficientu, který normálně dosahuje hodnoty 1,5 – 2.

MUDr. Jana Doležalová

Ambulance praktických lékařů a hygienické předpisy

Praktické lékařství je obor lékařské péče zaměřený zejména na primární péči o pacienty a na záležitosti rodinné medicíny. Jeho odborné zaměření spočívá v péči o pacienty s více zdravotními potížemi a komplikacemi.

Zdravotnický personál je povinen v zájmu prevence vzniku a šíření nozokomiálních nákaz a profesionálních onemocnění dodržovat určité hygienické zásady, které musí být v souladu s platnou legislativou. V tomto případě se jedná o prováděcí vyhlášku č. 306 /2012 Sb., o podmínkách předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a o hygienických požadavcích na provoz zdravotnických

zařízení a ústavů sociální péče k zákonu č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů. Dále je to zákon č. 185/2001 Sb., o odpadech a o změně některých dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů. Při ošetrovatelské péči se postupuje dle metodického návodu – Hygiena rukou při poskytování zdravotní péče (věstník MZD částka 5/2012).

Kontrola hygienicko - epidemiologického režimu v ordinaci se opírá o provozní protiepidemický řád, který je vypracován a schválen dle platné legislativy.

Zaměstnanec orgánu ochrany veřejného zdraví (OOVZ) oznámí kontrolované osobě předmět státní kontroly a prokáže se platným služebním průkazem. Je oprávněn vyžádat k předložení některé doklady, smlouvy (provozní protiepidemický řád, smlouvy na praní zdravotnického prádla a likvidaci odpadů). Při provádění dozoru se kontrola zaměří zejména na dodržování § 15 a § 17 zákona 258/2000 Sb., tj. hygienické požadavky na příjem a ošetřování pacientů v ordinaci lékaře. Pracovník „hygieny“ zkontroluje desinfekční přípravky, jejich množství a střídní, způsob použití, uložení a expiraci. Podívá se na pracovní plochy, které mají

být vyčleněny podle charakteru vykonávané činnosti. Dále si všímá předepsaných ochranných pracovních prostředků (plášť, rukavice aj.) dle charakteru vykonávané činnosti. Sleduje mytí rukou a hygienickou desinfekci, kterou musí provést zdravotničtí pracovníci vždy po kontaktu s infekčním materiálem a to po každém jednotlivém zdravotnickém výkonu u jednotlivých fyzických osob, vždy před ošetřením pacienta a po manipulaci s biologickým materiálem nebo kontaminovanými předměty, včetně použitého prádla a nebezpečného odpadu virucidním desinfekčním přípravkem. Na pracovišti musí být k utírání rukou používán pouze jednorázový ručník, který musí být uložený v krytém zásobníku. Velmi důležité je také dodržování zásad aseptické manipulace se sterilními pomůckami a nástroji, dekontaminace pomůcek a prostředí.

Velká pozornost je věnována problematice uložení, třídění a likvidace infekčního

(nebezpečného) odpadu, který v ordinacích praktických lékařů vzniká. Veškerý odpad se v ambulanci musí ihned třídit a separovat do vhodných obalů a denně se odnášet z pracoviště. Nebezpečný (specifický) odpad musí být označen na obalu katalogovým číslem, druhem odpadu, datem a místem původu. Dělí se na ostrý odpad - 180101 N* (použité jehly a stříkačky vcelku - bez krytek, sklo atd.), ukládá se do pevnostěnného nepropustného obalu - bez další manipulace. Dále na infekční odpad -180103 N* (kontaminovaný biologickým materiálem - spalitelný), který se ukládá do určených nádob s vloženým PVC vakem. Odpad se z ambulance odstraňuje denně. Maximální doba mezi shromážděním odpadu a jeho konečným odstraněním jsou 3 dny. Skladování nebezpečného odpadu je možné po dobu 1 měsíce v mrazicím nebo chlazeném prostoru při teplotě maximálně 8° C před jeho konečným odstraněním. Likvidace odpadů musí být zajištěna smluvně odbornou firmou.

V květnu roku 2013 byl nahlášen případ drobného poranění kontaminovanou jehlou v ordinaci praktického lékaře. Jednalo se o poranění prstu u uklízečky, která manipulovala s infekčním odpadem. Při hygienické kontrole na místě samém bylo zjištěno, že ostrý infekční odpad byl v ordinaci ukládán do uzavřené pevnostěnné nádoby dle platné legislativy. Nicméně posléze bylo zjištěno, že odpad je z této nádoby přesypáván do PVC vaku. Tím došlo při jeho manipulaci k popíchnutí kontaminovanou jehlou.

Je zřejmé, že nedodržováním hygienických předpisů může dojít k závažnému poškození zdraví nebo ohrožení života pacientů a zvýšené nemocnosti zdravotníků.

Michaela Kodrasová
Krajská hygienická stanice
Jihomoravského kraje se sídlem v Brně

AKTUALITY

Na zátěžové testy s příchutí!

Naši pacienti, kterým je indikován zátěžový test oGTT mají nyní nově možnost výběru ze tří příchutí zátěžové dávky (roztoku) - pomeranč, višně, limetka. Zátěžové dávky neobsahují konzervační prostředky a jsou nealergenní.

Na zátěžové testy se lze objednat

Elektronickou rezervaci k provedení zátěžového testu oGTT nabídnou v krátkém čase obě laboratorní centra. V centru MeDiLa již tato možnost existuje prostřednictvím webové stránky <https://www.webdiar.cz/medila> nebo telefonicky na bezplatné lince 800 737 305. Centrum AXIS tuto možnost inten-

zivně připravuje, prozatím je možné odstavit se k provedení oGTT v kterýkoliv pracovní den mezi 7 – 8 hod. O zavedení možnosti elektronické rezervace budete neprodleně informovat.

Delší provozní doby laboratoří

Obě laboratorní centra – AXIS i MeDiLa, mají nyní delší provozní dobu. Odběry a příjem materiálu statimových vzorků je nyní od 6:15 do 14:00 hodin, výdej výsledků těchto statimových vyšetření je do 1 hodiny od odběru. Odběry a příjem materiálu se prodlužuje až do 15:30, výsledky běžných laboratorních vyšetření vzorků, přijatých po 14 hod. budou vydávány následující pracovní den.

Sensitivní stanovení Troponinu I

Laboratorní centrum MeDiLa zavedlo od 27. ledna sensitivní stanovení Troponinu I. Platí nová rozhodovací hodnota cut off 0,50 ng/ml (původně 1,50 ng/ml). Došlo tedy ke zvýšení citlivosti uvedeného parametru. Stanovení Troponinu I je možné v séru i v plazmě. Indikací k tomuto vyšetření (cTnl) je diferenciální diagnostika akutního koronárního syndromu (AKS) pro zjištění nekrozy např. u AIM. Test je rovněž určen pro stratifikaci rizika pacienta s AKS.

Ing. František Šturm, Ph.D.

MeDiLa
LABORATOŘE

AXIS - CZ
Hradec Králové, s.r.o.

Pardubice, Štrossova 239, 530 03 Pardubice - areál „Veteriny“
www.medila.cz; tel. 800 737 304; +420 463 033 243, e-mail: pardubice@medila.cz

Hradec Králové, II. poliklinika, Slezské předměstí, Bratři Štefanů 895
www.medila.cz; tel. 800 737 305; +420 493 033 030, e-mail: hradec.kralove@medila.cz

AXIS - CZ Hradec Králové, s.r.o.
Poliklinika III, Třída Edvarda Beneše 1549, Hradec Králové, PSČ 500 12
www.axis-cz.cz; e-mail: info@axis-cz.cz
tel. 800 611 611; +420 495 260 374; +420 606 636 023; +420 495 260 373