

Preanalytická fáze laboratorních vyšetření

Součástí správného odběru je i dodržení kvalitní administrativní části. Začíná dotazem na jméno osoby, které se materiál odebírá ...

více str. 3



Nová genetická vyšetření v onkohematologii

Laboratoř molekulární biologie nabízí vyšetření, které zjednoduší a zpřesní diagnostiku pacientů s myeloproliferativním onemocněním ...

více str. 3

LABORATORNÍ NOVINY



Plně aktuální seznam akreditovaných metod naleznete na webových stránkách jednotlivých laboratoří.

17/2021

Váš partner v laboratorní medicíně

COVID-19 (SARS-CoV-2) a možnosti diagnostiky

Již rok se celý svět potýká s pandemií vyvolanou jedním z koronavirů (SARS-CoV-2). S tím, jak se virus celosvětově šířil se objevovaly i nové diagnostické testy. V současné době se používají dvě skupiny testů. První z nich prokazuje, zda má jedinec v danou chvíli virus na sliznicích (PCR nebo antigenní testy). Druhá skupina podává zpětný přehled o tom, zda se člověk s virem setkal (protilátky proti SARS-CoV-2). Aktuálně (k 1.3.2021) Vaše laboratoře s.r.o. nabízejí následující testy.

PCR test

- tento typ testů je výrazně přesnější než antigenní testy
- provádí se z výtěru z nosohltanu
- výsledky jsou k dispozici do 48 hodin od dodání vzorku do laboratoře
- odběry na RT-PCR testy provádíme pouze v našich odběrových místech pro COVID
- na vyšetření je nutno se předem objednat (viz <https://www.vasselaboratore.cz/covid>)
- u indikovaných pacientů (zaslaní lékařem nebo hygienickou stanicí) hrají vyšetření zdravotní pojišťovna
- samoplátcí (1310 Kč provedení testu + 200 Kč odběr + 200 Kč lékařské potvrzení)

Antigenní testy

- provádí se z výtěru z nosohltanu
- výsledky jsou k dispozici do několika hodin
- odběry na antigenní testy provádíme pouze v našich odběrových místech pro COVID
- na vyšetření je nutno se předem objednat (viz <https://www.vasselaboratore.cz/covid>)
- zdravotní pojišťovna hraří (jednou za tři dny) vyšetření osobám, které splňují následující požadavky: mají zdravotním pojištěním v ČR a neproděli onemocnění COVID-19 v předchozích 90 dnech
- samoplátcí (350 Kč)

Test na protilátky

- provádí se odběr žilní krve
- vyšetřují se protilátky IgG a IgM
- výsledky jsou nejpozději do dvou pracovních dnů
- na odběr můžete přijít bez objednání do jakékoliv odběrové místnosti společnosti Vaše laboratoře s.r.o. (<https://www.vasselaboratore.cz/kontakty>)
- pojišťovna proplácí vyšetření indikovaná infektoLOGY, hematology nebo imunology
- samoplátcí (750 Kč)

Aktuální informace o vyšetřeních na SARS-CoV-2 najdete na našich internetových stránkách <https://www.vasselaboratore.cz/>.



Vážená paní doktorko, pane doktore,

dovoluji mi, abych Vás co nejrůzněji pozdravil a zároveň Vám představil další díl naší nepravděpodobné, ale dlouhodobé tiskoviny, které jsme před mnoha lety dali snad poměrně vypovídající název „Laboratorní noviny“. Když jsem na podzim roku 2020 psal úvodník pro předešlé číslo našich Laboratorních novin, tak jsem svůj stručný sloupek nazval Doba koronavirová. V té době jsem já, stejně jako naprostá většina našich spoluobčanů, pevně věřil, že by se život během několika málo měsíců mohl vrátit do poměrů, které jsme všichni znali před březnem 2020. Bohužel realita je jiná a tak i toto vydání Laboratorních novin s sebou přináší, krom jiného, také další informace, které se týkají testování Covidu-19 v našich laboratořích.

Současná doba je opravdu plná paradoxů a v mnoha aspektech také lidského neštěstí a utrpení.

K těm paradoxům se zcela určitě řadí také fakt, že laboratorní medicína, která je nesmírně rozsáhlým medicínským oborem se zejména v médiích jakoby smrškla na problematiku covidu. Téměř se mi zdá, že toto vnímání pomalu přejímají i oficiální státní struktury a do určité míry i zdravotní pojišťovny. Situaci způsobenou koronavirem trpí celá společnost, ale pro některé obory lidské činnosti je tato doba naprosto ubíjející a zničující, stejně jako pro tisíce našich spoluobčanů, pro které covid znamenal těžké onemocnění, mnohdy s fatálními následky.

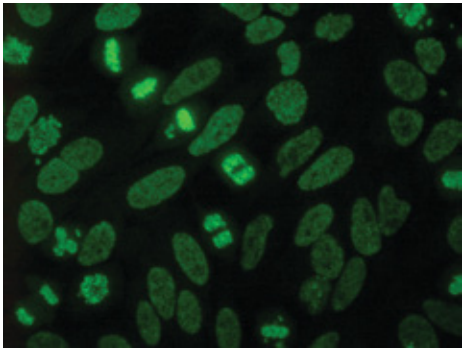
Pevně věřím, že až budu psát úvodník pro další číslo našich Laboratorních novin, tak už nebude covid hlavním tématem a že se postupně budeme vracet k normálnímu způsobu života. Přes všechny obtíže současných dnů Vám přeji pozitivní mysl a co nejvíce hezkých dnů.

RNDr. Jaroslav Loucký, Ph.D.

jednatel společností skupiny **vasselaboratore.cz**

Mgr. Petra Šišková, Ph.D., MUDr. Hana Štroblová

Protilátky proti DFS70 samostatná jednotka ANA



Vyšetření ANA (dříve také ANF) protilátek je dnes rutinní záležitostí každé imunologické laboratoře. Zlatým standardem jejich detekce je nepřímá fluorescence na substrátu buněčné linie HEp-2 (human epithelial) buněk. K již dříve popsaným „klasickým“ obrazům homogenní, zrnité, centromerové, a dalších fluorescencí přibyl v posledních 20 letech nový obraz (viz obrázek výše). Oficiálně je popisován jako jemně zrnitá fluorescence interfázního jádra s heterogenní velikostí, distribucí a intenzitou záření zrn a se silně zářícím zrnitým chromatinem. V mikroskopu má chromatinová destička často mírně rozšířené konce (připomíná činku) a její obraz vyvolává asociaci s popcornem – velká, jakoby nafouklá zrna. Poprvé byl tento obraz popsán v r. 1994, ale podrobněji byl charakterizován až v r. 2000 Ochsem a kol. Antigen vyvolávající tvorbu protilátek, které na HEp-2 buňkách tvoří zmíněný typ fluorescence, byl popsán jako DFS70 (dense fine speckled; velikost asi 70 kD). Byl popsán jako součást komplexu RNA polymerázy II. Paralelně izolovala skupina kolem Shinohary z epitelálních buněk lidské oční čočky protein, který pojmenovali LEDGF/p75 (lens derived growth factor), aby se posléze ukázalo, že se o růstový faktor nejedná a že je identický s DFS70.

Nadále se můžeme setkávat s oběma názvy tohoto proteinu, obvykle v závislosti na tom, zda publikuje autor zabývající se autoimunitními chorobami nebo badatel základního výzkumu. Během dalších studií se zjistilo, že protein DFS70/LEDGF je koaktivátorem stresem indukované transkripce. Je exprimován ubikvitně, nicméně s různou intenzitou v různých tkáních.

Zajímavým poznatkem je, že interaguje s integrázou viru HIV-1 a usnadňuje tak integraci virové DNA do hostitelského chromatinu.

Protilátky proti DFS70 jsou primárně typu IgG a jsou nalézány poměrně často jak u nemocných, tak zdravých lidí. Byly sledovány řadou autorů se značně rozdílnými výsledky. Příčin tohoto stavu je zřejmě více – bude mezi ně patřit velikost testovaných souborů, schopnost správně identifikovat fluorescenční obraz, různé principy detekce protilátek a také různá citlivost a specifita testovacích souprav.

Podle review Ortiz-Hernandezové a kol. z r. 2020 se frekvence výskytu těchto protilátek výrazně neliší mezi zdravými jedinci a pacienty s autoimunitními chorobami a v dosavadních studiích se pohybuje v rozmezí 0 – 11%. U zdravých jedinců se obvykle jedná o izolovaný výskyt, kdežto u pacientů s autoimunitními chorobami jsou současně přítomny další specifické ANA protilátky. Také u pacientů s jinými než autoimunitními chorobami jsou anti-DFS70 nalézány obvykle izolovaně. Jsou pozorovány častěji u chronických zánětlivých chorob a malignit (např. Ca prostaty), nicméně nebyla zatím nalezena jasná klinická asociace s diagnózou či prognózou těchto chorob.

V r. 2020 byla publikována také velká multicentrická čínská studie, která detekovala 0,8% a-DFS70 pozitivních jedinců ve skupině 4234 zdravých lidí a 1,7% a-DFS70 pozitivních ve skupině 34417 pacientů s různými chorobami. Pozitivita a-DFS70 nevyučovala zcela diagnózu autoimunitního onemocnění, nicméně podíl těchto pacientů byl ve skupině a-DFS70 pozitivních dospělých nižší než ve skupině pacientů ANA pozitivních s jiným typem fluorescence. Navíc, ve většině případů (85%) nešlo o izolovanou pozitivitu a-DFS70, ale byly přítomny i další ANA. U dětí byl podíl autoimunitních chorob ve skupině a-DFS70 pozitivních vyšší, ovšem testovaná skupina zahrnovala jen 40 dětí. Ve shodě s obecně vyšším podílem autoimunity u žen byl u nich i vyšší podíl a-DFS70 pozitivity; tento rozdíl byl výraznější v dospělém věku (> 18 let). Zajímavým zjištěním v této studii je, že ve skupině a-DFS70 pozitivních pacientů s autoimunitním onemocně-

ním nejčastější diagnózou dospělých byly spontánní potraty (28%) a u dětí juvenilní idiopatická artritida (22,5%). Studie ovšem konstatovala i výrazné etnické rozdíly ve frekvenci a-DFS70, takže jejich poznatky nelze zřejmě jednoduše přenášet na evropskou populaci.

V naší laboratoři detekujeme ANA nepřímou fluorescencí a dále můžeme protilátky specifikovat metodou imunoblotu, včetně a-DFS70. Některé protilátky (a-ds DNA, a-nukleosomy, a-SS-A, a-SS-B) kvantifikujeme také metodou ELISA.

V období od 10.11. 2017 do 9.2. 2021 jsme provedli celkem 199 imunoblotů (ANA profil) a a-DFS70 jsme na nich pozorovali ve 23 případech (11,6%). Ve shodě s literaturou a obecně vyšší frekvenci autoimunitních chorob u žen jsme tento nálezn pozorovali u 18 žen (9,0%) a u 5 mužů (2,5%). Věkové rozpětí bylo velmi široké (bez ohledu na pohlaví): 8 – 72 let, s mediánem 50 let. Medián ale spíše odpovídá střednímu věku osob, přicházejících k lékařům řešit své zdravotní obtíže, než typickému věku tvorby protilátek. U většiny nálezů (20/23; 87%) šlo o izolovanou a-DFS70 pozitivitu, ve 3 případech (13,0%) byly současně detekovány další ANA protilátky. V případech izolované positivity šlo vesměs o silně pozitivní nález (16/20; 80,0%), s typickým obrazem v nepřímé imunofluorescenci. Silná pozitivita anti-DFS70 na HEp-2 buňkách může nicméně maskovat slabší pozitivitu jiného antigenu, proto doporučujeme nález vždy konfirmovat metodou imunoblotu.

RNDr. Ivana Burešová, RNDr. Pavol Bologna

Literatura: Ortiz-Hernandez et al. Twenty years of reasearch on the DFS70/LEDGF autoantibody–autoantigen: many lessons learned but still many questions. Autoimmunity Highlights 2020: 11:3

Bing Zheng et al. Anti-DFS70 Antibodies Among Patient a Healthy Population Cohorts in China: Results From a Multicenter Training Program Showing Spontaneous Abortion and Padiatric Systemic Autoimmune Rheumatic Diseases Are Common in Anti-DFS70 Positive Patiens. Frontiers in Immunology 2020:11

Lipoprotein (a) v laboratoři MZ-BIOCHEM

Od 1.1.2021 jsme začali v laboratoři MZ-Biochem v Uherském Hradišti stanovovat Lipoprotein (a) (Lp (a)).

Lp (a) se podobá částicím LDL-cholesterolu, liší se od nich specifickou bílkovinou navázanou disulfidickým můstkem – apolipoproteinem (a). Apolipoprotein (a) je vysoce homologní s plazminogenem a jeho fyziologický význam není dosud znám.

Lp (a) je lipoprotein bohatý na cholesterol, který je syntetizován v játrech nezávisle na triacylglycerolu, a nemá na něj vliv věk ani strava. Několik vzájemně nesouvisejících studií ukázalo, že Lp(a) je nezávislým prospektivním rizikovým faktorem pro koronární onemocnění srdce. Zvýšená hladina lipoproteinu (a) je považována za velmi citlivý parametr pro vývoj onemocnění koronárních cév, bez závislosti na ostatních plazmatických lipoproteinech. Lipoprotein (a) by měl být měřen spolu s celkovým cholesterolem, HDL-cholesterolem a LDL-cholesterolem, jakož i triacylglyceroly, aby mohlo být posouzeno celkové riziko aterosklerózy. Měření Lp(a) by mělo být podle společnosti European Atherosclerosis Society doporučeno u vybraných případů s vysokým rizikem kardiovaskulárního onemocnění a u pacientů s výskytem časných kardiovaskulárních onemocnění v rodině.

Stanovení Lp (a) je obtížně standardizovatelné, hlavním problémem správné detekce je velký polymorfismus apolipoproteinu (a), způsobený variabilním počtem opakování kringle IV v genu Lp (a). V molekule apolipoproteinu (a) bývá 10 až více jak 50 opakování kringle IV (každý kringle IV se skládá ze 114 aminokyselin). To způsobuje, že velikost apolipoproteinu (a) je v rozmezí 187 – 662 kDa.

Námi používaná metoda stanovení od firmy Roche je nezávislá na velikosti apo(a) a standardizovaná podle referenčního materiálu IFCC SRM2B. Hodnota koncentrace Lp(a) v tomto materiálu byla přiřazena použitím 2 různých stanovení ELISA, na základě monoklonálních protilátek specifických pro 2 různé unikátní epitopy přítomné v apolipoproteinu (a).

Hladina Lp(a) je silně ovlivněna dědičnými faktory a liší se mezi etnickými skupinami. Běžně se používá koncentrace Lp(a) 30 mg/dL jako cut-off, tato hodnota odpovídá 75. percentilu u referenční bělošské mužské populace. Zvýšené hladiny Lp(a) lze nalézt u většiny etnických skupin, s nejnižšími hodnotami u bělochů a Asiatů. Medián hladin Lp(a) u černochů a Indů ze severních oblastí je 2-4krát vyšší než u bělochů.

Na stanovení Lp(a) je potřeba odebrat krev do zkumavky s akcelerátorem srážení a doručit ji do 4 hodin od odběru do laboratoře. Stanovení provádíme denně, výsledky by měly být k dispozici nejpозději následující pracovní den.

Mgr. Jana Janatová

Nedílnou součástí laboratorního vyšetření je mimo jiné i správná preanalytická fáze.

Součástí správného odběru je i dodržení kvalitní administrativní části. Začíná dotazem na jméno osoby, které se materiál odebírá. Nestačí se zeptat, takže ani nemusí postřehnout, na co se ho kdo ptá nebo může také špatně slyšet. Každý odebraný materiál se dává do předem označené zkumavky nebo jiné nádoby. Označení musí být jednoznačné a čitelné (příjmení, jméno, RČ nebo alespoň datum narození). Samozřejmostí je i správné vyplnění žadanky včetně data a času odběru, užívání antikoagulačních léků, razítka a podpisu ordinujícího lékaře. O čitelnosti a správnosti vyplněných údajů nemluvě.

Odběr krve se zpravidla provádí po 12 hodinovém lačnění, ale za dodržení pitného režimu. Při odběru je nutno uplatňovat zásady správného postupu.

- dezinfekci nechat zaschnout
- dlouho paži neškrtit, nečvítit
- jakmile krev začne do zkumavky téct, škrtilko uvolnit
- krev odebírat podle doporučeného pořadí zkumavek (srážlivá krev, citrátová krev, EDTA krev)
- dodržuje se předepsaný objem odebrané krve, to je nejdůležitější při odběru krve na koagulace, kde opravdu musí být dodržen poměr krve a citrátu
- zkumavky se po odběru několikrát otočí a uloží se do svislé polohy při pokojové teplotě
- silné třepání zkumavkami může způsobit hemolýzu vzorku, a ta má negativní vliv na výsledky
- odebrané vzorky se co nejdříve odnášejí nebo odvázejí do laboratoře za teploty 15 - 25°C

V laboratoři se zkontrolují údaje na vzorcích a žadance, při nejasnostech se telefonuje ordinujícímu. Materiálu je přiřazen nezaměnitelný čárový kód, pod kterým se s ním dál pracuje. Neoznačené nebo špatně odebrané vzorky se odmítnou, nevyšetřují, zaevidují do LIMS a skutečnost se oznámí ordinujícímu.

Pro biochemická vyšetření se krev zcentrifuguje a po separaci analyzuje. Už v této chvíli lze u vzorků séra pozorovat změny, které mohou ovlivňovat měření jednotlivých parametrů. Jedná se hlavně o lipémii a hemolýzu. Ikterické vzorky až tak analýzu neovlivňují, ale upozorní na patologii.

Tyto změny lze měřit pomocí tzv. sérových indexů, u kterých si můžete přečíst v příspěvku Mgr. Jany Janatové.

Co způsobuje lipémii?

- nedodržení doporučeného lačnění
- porucha metabolismu lipidů
- a třeba i větší konzumace piva

Hemolýza má více příčin

- nezaschlá dezinfekce místa vpichu
- dlouhé škrcení paže
- cvičení
- odběr příliš tenkou jehlou
- v případě odběru do stříkačky příliš rychlé přepřehování do zkumavek nebo dokonce přes jehlu
- silné třepání zkumavkami
- uložení čerstvě odebrané krve do lednice
- zcela výjimečně může u patologických stavů docházet k hemolýze in vivo

Preanalytická fáze laboratorních vyšetření

Analytický proces mohou ovlivnit také některé léky, ale to už se těžko na příčinu divného výsledku přijde.

Správná preanalytická fáze se netýká jen odběru krve. I při odběru jiného materiálu musí být v pořádku administrativní část.

Odběr ranní moče se provádí po zevní čistě a odebírá se střední proud. Moč by měla být do laboratoře doručena do dvou hodin od vymočení.

Kvantitativní stanovení některých analytů v moči se dělá většinou ve sbírané moči nejlépe za 24 hodin, není-li to možné, tak za 12 hodin. Detailní postup sběru moče má každá laboratoř v laboratorní příručce na svém webu.

Na některá speciální vyšetření je potřeba sbíranou moč konzervovat. Informace a konzervační prostředek dodá laboratoř.

K vyšetření FOB – hemoglobinu ve stolici je také nutný správný odběr. Ke každé zkumavce je přiložen návod. Špatně odebraný vzorek nelze vyšetřit.

Výtěry a vzorky na mikrobiologická vyšetření také vyžadují správnou preanalytiku, ale protože se v naší laboratoři nezpracovávají, není jejich odběr ve sdělení řešen.

RNDr. Marie Pavlíková

Co také zaznělo na pracovní schůzi České společnosti alergologie a klinické imunologie na téma Covid-19 dne 11.2. 2021

Dle sdělení prof. MUDr. Martyiny Vašákové je jednoznačným rizikovým faktorem obezita – typickým pacientem je XXL muž středního věku s výraznou abdominální obezitou. Nemoc se závažnými příznaky probíhá jako imunopatologická reakce, takže nestačí eliminovat virus, ale je potřeba modulovat imunitní reakci. Součástí léčby je vždy také antikoagulační terapie. **Astma není asociováno ani s horším průběhem, ani s vyšší mírou hospitalizace, ani s vyšší mortalitou na covid-19; naopak vysoce rizikovi z tohoto hlediska jsou pacienti s CHOPN a karcinomem plic.**

Dle sdělení prof. MUDr. Anny Šedivé jsou intenzivně zkoumány příčiny heterogenního průběhu covid-19. Jednou z příčin závažného průběhu nemoci se zdají být deficity v receptorech pro interferony a také přítomnost autoprotiilátek proti interferonům I. třídy – hlavně IFN alfa a lambda. IFN lambda patří mezi nověji popsané interferony spíše s lokálním účinkem, patřící do první linie obrany proti virům. Výskyt autoprotiilátek proti těmto imunomediátorům je dle prof. Šedivé dosud neznámým fenoménem.

Paní profesorka se také věnovala již dobře popsanému **MIS-C** (multisystem inflammatory syndrome in children; popisovaný také jako Kawasaki-like syndrom). Při něm jsou různé tělní orgány (srdce, plíce, ledviny, mozek, kůže, oči, GIT) postiženy zánětem a syndrom je provázen horečkou a různými nespecifickými symptomy jako jsou bolesti břicha, zvracení, průjem, bolest v krku, začervenání očí a výrazná únava. Zdá se, že pro syndrom je typická přítomnost různých autoprotiilátek, včetně protiilátek proti endoteliím, ale i dalších (anti Ro-60, Ro-52, ad.)

Prof. Ing. Peter Šebo se věnoval především vakcinaci. Vyvíjena je po celém světě **řada vakcín na několika různých principech** – RNA vakcíny, adenovirové vakcíny, vakcíny s inaktivovaným virem, na bázi proteinů nebo umělých virových částic. Bohužel jen několik málo z nich již bylo schváleno pro klinické použití; většina je zatím ve stadiu vývoje. Náskok mezi nimi mají zvláště RNA vakcíny, především proto, že byly již dříve klinicky využívány v onkologii.

RNDr. Ivana Burešová

Nová genetická vyšetření v onkohematologii diagnostika chronické myeloproliferativní neoplázie (MPN)

Laboratoř molekulární biologie nabízí vyšetření, které zjednoduší a zpřesní diagnostiku pacientů s myeloproliferativním onemocněním. Současná klasifikační kritéria WHO*) doporučují sledování dalších změn u JAK2 (V617F) negativních pacientů. Do velkých (hlavních) diagnostických kritérií pro esenciální trombocytémii (ET) a primární myelofibrózu (PMF) je zahrnuta přítomnost JAK2, MPL nebo CALR mutace (viz tabulka). Pomocí metody MLPA lze najednou detekovat základní mutaci V617F a dále 2 nejčastější mutace v exonu 12 genu JAK2, mutaci W515L/K v genu pro trombopoetický receptor (MPL gen) a dvě nejčastější frameshift mutace v exonu 9 genu pro kalretikulín (CALR gen), a to 52-bp delece - typ1 a 5-bp inserce - typ2.

Kalretikulín je hlavní chaperonový protein v endoplazmatickém retikulu, který se významně podílí na regulaci signální transdukce. Mutace genu CALR vedou ke konstitutivní aktivaci signální dráhy, takže jsou přímým spouštěčem expanze linie megakaryocytů. Detekce mutací CALR genu rovněž slouží jako pomocný prognostický marker, jsou totiž spojeny s příznivou změnou u MPN oproti mutacím JAK2 (V617F) a MPL. Nemocní s ET a přítomnou CALR mutací mají nižší riziko tvorby sraženin než JAK2 nebo MPL pozitivní. Naproti tomu u pacientů s PMF je negativní nálezkem mutací v genu CALR, JAK2 (V617F) a MPL (tzv. triple negative) spojen s kratší dobou přežití a horší prognózou.

Přehled výskytu mutací jednotlivých genů u myeloproliferativní neoplázie (MPN) (frekvence v %)

	JAK2 (V617F)	JAK2 (exon12)	MPL	CALR
PV	95-100	3-5	0	0
ET	50-65	0	3-5	25
PMF	40-70	0	5-10	35

PV – polycytémia vera, **ET** – esenciální trombocytémie, **PMF** – primární myelofibróza

Pozn.: mutace v exonu 12 genu JAK2 u V617F negativních pacientů mají odlišný histopatologický obraz (bližší idiopatické erytrocytóze než PV) i rozdílné hodnoty KO

**) Barbui T. et al.: The 2016 WHO classification and diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms: document summary and in-depth discussion. Blood Cancer Journal 2018, 8:15.*

V případech zájmu o toto rozšiřující vyšetření prosím kontaktujte Laboratoř molekulární biologie: email: zemanek@vaselaboratore.cz, telefon: 602 592 024

Mgr. Michal Zemánek, Ph.D.

Využití měření sérových indexů v laboratořích klinické biochemie

Až 80% všech chyb, které se vyskytnou v průběhu vyšetřování biologického materiálu, vzniká během preanalytické fáze. Informace k této problematice jsou rozebírány v samostatném článku RNDr. Pavlíkové. Zde bychom Vám rádi co nejvíce přiblížili problematiku sérových indexů a jejich měření ve vzorcích séra nebo plazmy.

Klinické vzorky séra nebo plazmy mohou obsahovat určité množství hemoglobinu v důsledku hemolýzy, zvýšenou hladinu bilirubinu způsobenou jaterním nebo hemolytickým onemocněním nebo zákal (lipemií) zejména vlivem zvýšené hladiny triacylglycerolů. Tyto tři složky mohou v některých biochemických testech interferovat. Interference způsobené hemolýzou, chylotitou a ikerickým zbarvením vzorku představují dlouhodobý problém, který ovlivňuje kvalitu výsledků vydávaných laboratořemi klinické biochemie. Z kvantitativního i kvalitativního hlediska se ze jmenovaných interferencí nejvíce uplatňuje hemolýza. Incidence hemolýzy kolísá v širokém intervalu 1–20% podle zdravotnického zařízení odebírajícího vzorek. Hemolýza je definována jako uvolnění hemoglobinu a dalších intracelulárních látek z erytrocytů do plazmy po poškození buněčné membrány. Může se vyskytovat jak in vivo, tak in vitro. Více než 98% hemolýz je in-vitro původu a jejich příčiny lze hledat v odběru, zacházení se vzorkem nebo transportu vzorku.

Mechanismy působení hemolýzy in vitro jsou 3:

- Uvolnění hemoglobinu a dalších intracelulárních látek do séra či plazmy, které vede ke zvýšené koncentraci analytů (ALT, AST, LD, Mg, P, K) či k tzv. zředovacímu efektu – snížení koncentrace (glukóza, bilirubin, ALP, Na, Cl).
- Chemická interference volného hemoglobinu nebo strukturálních proteinů, enzymů, lipidů a jiných látek obsažených v erytrocytech při analytické reakci (např. ovlivnění koncentrace CK způsobené reakcí intracelulární adenylátkinázy).
- Spektrofotometrická interference způsobující zvýšení naměřené absorpce nebo změnu hodnoty blanku, zejména při vlnových délkách, kdy hemoglobin silně absorbuje.

Uvedené vlivy se navzájem mohou kombinovat a způsobovat tak nepřehlednou, složitou a těžko definovatelnou situaci.

Vizuální kontrola vzorků je málo citlivá a nespolehlivá a je nahrazována objektivním měřením hodnoty sérových indexů u vzorků séra a plazmy na biochemických analyzátořech. Toto měření zahrnuje zředění vzorku izotonickým fyziologickým roztokem a následné měření při různých vlnových délkách. Naměřené hodnoty absorpce se dosadí do předprogramovaných vzorců pro příslušné indexy a vypočte se jejich hodnota v jednotkách vhodných pro danou interferující látku. Jednotlivé laboratoře mohou vydávat sérové indexy v různých jednotkách (konvenční nebo SI) anebo také jako kvalitativní interpretaci (1+, 2+, ...).

Přepočtové faktory mezi jednotkami a meze pro kvalitativní interpretaci uvádějí následující tabulky.

INTERFERENT	KONVENČNÍ JEDNOTKA	KONVERZNÍ FAKTOR	SI JEDNOTKA
Bilirubin	mg/dL	17.1	μmol/L
Hemoglobin	mg/dL	0.01	g/L
Triglyceridy	mg/dL	0.01129	mmol/L
Intralipid	mg/dL	0.01	g/L

KVALITATIVNÍ VYJÁDRĚNÍ	BILIRUBIN KONVENČNĚ - mg/dL (SI - μmol/L)	HEMOGLOBIN KONVENČNĚ - mg/dL (SI - g/L)	TRIGLYCERIDY KONVENČNĚ - mg/dL (SI - mmol/L)
(Blank)	<2.0 (<34.2)	<30 (<0.30)	<50 (<0.57)
1+	2.0–3.9 (34.2–68.3)	30–99 (0.30–0.99)	50–99 (0.57–1.12)
2+	4.0–9.9 (68.4–170.9)	100–199 (1.00–1.99)	100–149 (1.13–1.69)
3+	10.0–19.9 (171.0–341.9)	200–499 (2.00–4.99)	150–199 (1.70–2.25)
4+	≥20 (≥342.0)	≥500 (≥5.00)	≥200 (≥2.26)

Příbalové letáky jednotlivých dodavatelů reagentů pro biochemické metody obsahují kvantitativní údaje indikující rozsah této interference. Na jejich základě nastavujeme do laboratorního informačního systému (LIS) pravidla, podle nichž se u vzorků se zvýšenými hodnotami sérových indexů hodnotí, zda jsou výsledky validní a lze je vydat. Výsledky nespĺňující nastavená kritéria jsou automaticky nahrazeny textem „nelze stanovit“.

V následující tabulce uvádíme u několika metod vliv interferentů na výsledek. Hodnoty jsou specifické pro reagentie od firmy Abbott, které používáme ve zlincké biochemické a hematologické laboratoři. Hodnoty se pro jednotlivé dodavatele mohou lišit, a proto jsou nastavení v LIS specifická pro každou laboratoř dle jejího dodavatele reagentů.

Stanovení	Hemoglobin		Bilirubin		Triglyceridy	
	Hladina interferentu v g/L	% chyby	Hladina interferentu v μmol/L	% chyby	Hladina interferentu v mmol/L	% chyby
Albumin	7.5	8.6	1026	-1.5	10	9.5
AST	0.62	5.7	1026	-8.1	62.5	3.9
Celkový bilirubin	20	1.0	nelze uvést	nelze uvést	10	1.0
Kreatinin*	10	-7.1	445	-16.1 ↓	6	-14.0 ↓
GGT	2.5	-8.4	257	7.5	20	3.2
Draslík	1	9.1	1026	0	20	2.2

* Kreatinin (enzymatické stanovení)

Interference testu přesahující odchylku ± 10% jsou označeny tučně se šipkou označující směr rušení.

Literatura:

- Beňovská M., Dastych M., Čermáková Z., Tůmová J. Preanalytické interference a praktické využití sérových indexů. *Klin. Biochem. Metab.*, 18 (39), 2010, No. 3, p. 144–148
- Bunešová M., Blažková J., Coufal P., Friedecký B., Kapustová M., Kotrbatý J., Malina P. Doporučení k převzetí biologického materiálu klinickou laboratoří. *Klin. Biochem. Metab.*, 19 (40), 2011, No. 2, p. 128–130.
- Aplikační protokol Abbott. *Sample interference indices, saline protocol hemolysis (H), icterus (I) and lipemia (L). G2-9525/R01, Prosinec 2011.*
- Abbott endogenous HIL interference guide. *First Edition, January 2021.*

Mgr. Jana Janatová, RNDr. Václav Malínek

Skupina společností Vašelaboratoře.cz
e-mail: vaselaboratoře@vaselaboratoře.cz
web: www.vaselaboratoře.cz

© Copyright 2021 - Vašelaboratoře.cz

Vaše laboratoře s.r.o.
U Lomu 638, 760 01 Zlín
tel.: 577 001 637
fax: 577 001 637
vaselaboratoře@vaselaboratoře.cz

MZ-BIOCHEM s.r.o.
U Lomu 638, 760 01 Zlín
tel.: 577 001 994
mobil: 601 575 237
email: info@mz-biochem.cz

Lab Med spol. s.r.o.
U Pošty 14, Brno 62500
tel.: 547 218 006
547 218 005
email: labmed@labmed.cz

Medeor laboratoře
nám. Přerov. povstání 1, Přerov
tel.: 581 204 721
581 203 722
email: info@medeorlaboratoře.cz

MDGK-plus s.r.o.
Karásek 1767/1, Brno-Řečkovice
tel.: 544 211 693
email: info@mdgk.cz

Klinická biochemie
Svitavy, s.r.o.
Nádražní 1285/7, Svitavy
tel.: 461 533 444
email: svitavy@biochemie-svitavy.cz