

BULLETIN

Informace pro lékaře a zdravotníky



Milí čtenáři,
prosluněné jarní dny, které mají
tu zázračnou moc opíjet člově-
ka dávkou optimismu a hřejivé
pohody jsou předzvěstí blížícího

se léta. Také už cítíte ten závan
čerstvé energie? Také se už tě-
šíte na dlouhé teplé letní večery,
které vybízejí k posezení s rodi-
nou a přáteli nebo na společně
strávenou dovolenou? Přeji vám,
abyste ten svůj oddychový čas
strávili podle svých představ.
S úctou

RNDr. Soňa Fekete Ph.D.
bioanalytik, AXIS – CZ s.r.o.

Témata obsahu

Gestační diabetes mellitus

Novinky v mikrobiologických
vyšetřeních

Spalničky mezi námi

PŘÍLOHA – Západonilská
horečka v České republice

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

Gestační diabetes mellitus - změnilo se něco v roce 2019?

Problematicke gestačního diabetu (GDM) je věnována část pravidelně v lednu vycházejícího doporučení Americké diabetologické asociace (ADA) (leden 2019, Diabetes Care Volume 42, Supplement 1). Doporučení nepřináší zásadní změny v porovnání s předchozím doporučením z roku 2018, spíše upřesňuje a jednoznačně definuje pojmy. Doporučení České společnosti klinické biochemie, které bylo publikováno v roce 2016 v časopise Klinická biochemie a metabolismus a také Doporučený postup screeningu, gynekologické, perinatologické, diabetologické a neonatologické péče 2017" (http://www.diab.cz/dokumenty/DP_GDM_2017.pdf) je v podstatě v souladu s novým doporučením ADA.

Poznámky k Doporučení ADA 2019

Diagnostika DM

GDM byl v minulosti definován jako jakýkoli stupeň intolerance glukózy poprvé zjištěný v průběhu gravidity, bez ohledu na to, jaká byla situace před graviditou a po ní. Tato definice nebyla příliš přesná a nezohledňovala dostatečně rostoucí počet nediagnostikovaných diabetiček 2. typu v populaci. Je tedy

opodstatněné testovat ženy s rizikem DM 2. typu již při první prenatální vizitě při použití standardních diagnostických kritérií (tabulka 1) k odhalení diabetiček, které otěhotněly.

Podstatná a nová poznámka v materiálech ADA z ledna 2019 bere ohled na analytickou a biologickou variabilitu stanovení glukózy a HbA_{1c}: pokud není přítomna jednoznačná hyperglykémie, je pro stanovení diagnózy rozhodující zjištění dvou abnormálních výsledků

z jednoho vzorku (glukóza a HbA_{1c}) nebo ve dvou různých vzorcích (dva různé odběry ve dvou různých dnech).

Ženy s diagnostikovaným diabetem dle standardních kritérií jsou hodnoceny jako DM 2. typu, nebo vzácně DM 1. typu, nebo monogenní diabetes. To znamená, že měly preexistující, pregestační diabetes.

Této problematice se krátce věnuje i doporučení České gynekologické

Tabulka 1 - Standardní kritéria diagnózy diabetu

Kritérium	Cut-off hodnota pro diabetes mellitus	Poznámka
Koncentrace glukózy v plazmě žilní krve nalačno	7,0 mmol/l a více	Pojmem nalačno se míní hladovění po dobu minimálně 8 hodin
Koncentrace glukózy v plazmě žilní krve za 2 hodiny od zátěže v rámci během oGTT	11,1 mmol/l a více	Provedení oGTT podle WHO, 75 g glukózy
Klinické známky hyperglykémie nebo hyperglykemické krize a náhodná koncentrace glukózy v plazmě žilní krve	11,1 mmol/l a více	
HbA _{1c} (glykovaný hemoglobin)	48 mmol/mol a více	ADA specifikuje návaznost metody, podobně v Evropě je nutné respektovat metrologickou návaznost metody IFCC

a porodnické společnosti, České diabetologické společnosti a České neonatologické společnosti ČLS JEP (dále doporučení ČDS). DM (zjevný diabetes mellitus) splňuje u těhotné ženy kritéria pro diagnostiku diabetu používaná pro běžnou populaci (koncentrace glukózy v plazmě žilní krve nalačno nad 7 mmol/l, nebo ve 120. minutě oGTT nad 11,1 mmol/l).

Diagnostika GDM

Gestační diabetes mellitus je ten, který je diagnostikován poprvé ve druhém, nebo třetím trimestru, který není ani preexistující DM 1. typu nebo DM 2. typu. Diagnostická kritéria, která se používají v druhém trimestru, nelze jednoduše použít v prvním trimestru, protože kritéria pro glukózu nalačno (fasting plasma glucose) nebo oGTT se zátěží 75 g glukózy pocházejí z dat IADPSG (The International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups) a jsou odvozena z dat získaných ve druhém trimestru. Ženy s diagnostikovaným gestačním diabetem by měly být intervenovány a celoživotně sledovány.

Studie HAPO (multinárodní studie, sledováno 23 tisíc žen) prokázala kontinuální zvyšování rizika se stoupající koncentrací glukózy, bez existence jednoznačného cut-off ve 24. až 28. týdnu gravidity. Pro většinu komplikací neexistuje prahová hodnota rizika. Tyto výsledky vedly k úvahám o dvou možných strategiích:

- Jednokroková strategie: standardní oGTT se 75 g glukózy.
- Dvoukroková strategie: počáteční screening s 50 g glukózy (bez nutnosti být nalačno) s následujícím druhým krokem vyžadujícím lačnění a se zátěží 100 g glukózy u žen s pozitivním screeninem.

Obě strategie, používající různá diagnostická kritéria, budou identifikovat různé stupně maternálního a fetálního rizika; mají také mezi experty zastánce i odpůrci.

Jednokroková strategie:

Jednokroková strategie vychází z doporučení IADPSG, založených na cut-off hodnotách ze studie HAPO. Cut-off hodnoty odpovídají 1,75 násobku rizika celkové studované populace těhotných žen. V poměrně nové studii Loweho a kolektivu z roku 2018 se ukázalo, že pokud by byly ženy diagnostikovány podle těchto kritérií, pak měly po 11letém sledování po ukončení gravidity 3,4x vyšší riziko rozvoje prediabetu a DM 2. typu a měly také obézní děti. Diagnostikované ženy by tedy mohly profitovat z preventivních a terapeutických opatření, pokud by u nich byl GDM podle cut-off hodnot jedнокrokové strategie diagnostikován.

Jednokroková strategie je plně akceptována i v České republice, dle obou zmíněných doporučení.

Dle doporučení ČDS probíhá screening GDM ve dvou fázích:

- I. fáze do 14. týdne gravidity,
- II. fáze ve 24. až 28. týdnu gravidity

Screening je indikován u všech těhotných, u kterých nebyla diagnostikována porucha metabolismu glukózy již pregestačně. Organizuje ho gynekolog, vyšetření koncentrace glukózy v plazmě žilní krve se provádí v akreditované laboratoři.

V tomto bodě se česká doporučení liší od doporučení ADA. V první fázi se pracuje s hodnotou cut-off 5,1 mmol/l již ve 14. týdnu gravidity – tento krok v doporučení ADA není.

Diagnostický postup a hodnocení v I. fázi (14. týden gravidity)

- Koncentrace glukózy nalačno < 5,1 mmol/l, v normě, žena podstoupí druhou fázi ve 24. až 28. týdnu.
- Glykémie nalačno \geq 5,1 mmol/l, vyšetření je nutné opakovat co nejdříve, v následujících dnech; pokud je koncentrace glukózy 5,1 – 6,9 mmol/l, je stanovena diagnóza GDM a žena je odeslána na diabetologii, pokud je koncentrace glukózy 7 mmol/l a více, je diagnostikován DM a žena je odeslána na diabetologii.
- Glykémie nalačno \geq 5,1 mmol/l a opakovaná glykémie < 5,1 mmol/l, doporučeno je provedení oGTT se zátěží 75 g glukózy.

Diagnostický postup a hodnocení ve II. (24. – 28. týden gravidity)

Indikace: všechny těhotné ženy s negativním výsledkem v I. fázi screeningu (i ženy, které I. fázi screeningu z nějakého důvodu nepodstoupily).

Metoda: tříbodový oGTT se 75 g glukózy, a to vždy za standardních podmínek: vyšetřuje se koncentrace glukózy v plazmě žilní krve, odebraná do zkumavky s antiglykolytickým činidlem (fluorid sodný + EDTA + citrát sodný) za dodržení podmínek preanalytické fáze (první odběr po 12 hodinovém lačnění, tři dny před odběrem standardní stravovací režim, standardní fyzická aktivita). Důvodem k odložení testu je akutní onemocnění.

Diagnostický postup: stanovení koncentrace glukózy nalačno:

- < 5,1 mmol/l, žena podstupuje okamžitě oGTT, zátěž 75 g glukózy, odběr v 60. a 120. minutě testu.
- \geq 5,1 mmol/l, vyšetření je nutné opakovat co nejdříve, v následujících dnech.
- \geq 5,1 mmol/l a opakovaná < 5,1 mmol/l, žena podstupuje oGTT, zátěž 75 g glukózy, odběr v 60. a 120. minutě testu.
- \geq 5,1 mmol/l a opakovaná \geq 5,1 mmol/l, GDM, žena nepodstupuje oGTT.

Hodnocení:

Pokud jsou všechny výsledky v normě

(nalačno < 5,1 mmol/l, v 60. minutě testu < 10,0 mmol/l a ve 120. minutě < 8,5 mmol/l) screening je negativní.

Pokud je překročena alespoň jedna hodnota (nalačno \geq 5,1 mmol/l, nebo v 60. minutě testu \geq 10,0 mmol/l nebo ve 120. minutě \geq 8,5 mmol/l) je diagnostikován GDM a žena je odeslána na diabetologii.

Shrnutí jednokrokové strategie

Jednokroková strategie může zatížit zdravotnický systém a identifikovat větší počet žen s GDM, ale takto diagnostikované ženy a jejich děti z následné péče mohou profitovat. V České republice je akceptována jednokroková strategie screeningu rozdělená na dvě fáze.

Dvoukroková strategie:

V roce 2013 byla v USA doporučena dvoukroková strategie, která má ale řadu variant. Shodným základem je screeningová zátěž s 50 g glukózy bez nutnosti lačnění před vyšetřením a v případě positivity druhá zátěž se 100 g glukózy (nalačno). Shoda se také týká nevhodnosti použití HbA_{1c} jako screeningového testu pro GDM. Tím ale jednotnost končí a varianty jsou dány

- různými hodnotami cut-off pro pozitivitu screeningové zátěže (7,2 nebo 7,5 nebo 7,8 mmol/l),
- různými hodnotícími kritérii pro zátěž 100 glukózy a časy nalačno, za hodinu, za dvě a za tři hodiny,
- různým pohledem na definici positivity po zátěži 100 g – diagnóza GDM se stanoví na základě positivity buď v jednom nebo nejméně ve dvou z hodnotících kritérií.

Různé cut-off hodnoty screeningového testu jsou spojeny s různou senzitivitou a specificitou testu. Hodnota 7,2 mmol/l má senzitivitu 88-99 % a specificitu 66-77 %. Cut-off 7,8 mmol/l má senzitivitu 70-88 % a specificitu 69-89 % (ADA). Je ponechána benevolence při výběru cut-off hodnot, protože čím nižší cut-off je zvolen, tím vyšší je skupina žen s nutností provést zátěžový test se 100 g glukózy.

Zátěž se 100 g glukózy připouští v jednotlivých odběrech také různá hodnocení. Cut-off hodnoty jsou 5,3 mmol/l nalačno, 10 mmol/l za hodinu, 8,6 mmol/l za dvě hodiny a 7,8 mmol/l za tři hodiny (dle Carpenter a Coustan), nebo cut-off hodnoty ve stejných časech odběru 5,8 – 10,6 – 9,2 – 8,0 mmol/l (National Diabetes Data Group, NDDG). Rozdíly vyplývají pouze z matematických přepočtů z původních dat definovaných pro plnou krev a neenzymatické metody stanovení glukózy z let 1979 a 1982. ADA se přiklání k použití nižších diagnostických cut-off (Carpenter – Coustan, 1982).

Žádné z doporučení se ke dvoukrokové strategii v ČR zatím nepřiklání. Ani samotná ADA není v tomto ohledu jed-

notná a v novém doporučení problematiku spíše diskutuje, než konkrétně doporučuje. V současné době nejsou pro jednoznačná stanoviska dostatečná data.

Celkové shrnutí:

V roce 2019 nedochází v diagnostice GDM k zásadním změnám. V ČR platí diagnostické postupy a cut-off hodnoty z let 2016 a 2017. Zůstává v platnosti jednokroková strategie screeningu rozdělená na dvě fáze. Současná data nejsou konzistentní, probíhající studie pravděpodobně přispějí k navržení budoucí optimální strategie. HbA_{1c} lze použít při diagnostice DM (první screeningové vyšetření u žen, které měly preexistující, pregestační, zjevný diabetes s hodnotou koncentrace glukózy nalačno ≥ 7 mmol/l. Hodnota HbA_{1c} ≥ 48 mmol/mol svědčí pro DM. HbA_{1c} ale nelze použít pro diagnostiku GDM ani pro reklasifikaci ve 4. až 6. týdnu po porodu.

MUDr. Janka Franeková, Ph.D.
vedoucí OKB, IKEM Praha

Novinky v mikrobiologických vyšetřeních

Vyšetření protilátek proti spalničkám ve třídě IgM, IgG

Vyšetřování protilátek proti spalničkám bylo v naší laboratoři zavedeno 1. 3. 2019 vzhledem k epidemiologické situaci a nárůstu onemocnění v ČR a ke zvýšené potřebě kontroly hladiny ochranných protilátek (IgG) u osob, které přišly do přímého kontaktu s onemocněním.

Stanovení protilátek proti spalničkám ve třídě IgM a IgG provádíme na analyzátoru LIAISON XL od firmy Diasorin metodou chemiluminiscence. V době epidemie provádíme stanovení pravidelně v pondělí, středu a pátek, statimová vyšetření provádíme denně. Stanovení se provádí v séru.

Meze pro hodnocení u námi prováděných metod jsou:

Pozitivita IgM protilátek $\geq 1,1$

Pozitivita IgG protilátek $\geq 16,5$ AU/ml

Dostatečná hladina ochranných IgG protilátek je $\geq 16,5$ AU/ml.

Laboratorní průkaz spalniček je založen na nepřímém průkazu infekce – vyšetření protilátek v séru (IgM, IgG) a přímém průkazu infekce – vyšetření virové RNA ze stěrů z nazofaryngu metodou PCR (provádí smluvní laboratoř).

Pozitivita IgM protilátek v séru a průkaz virové RNA ve výtěru z nazofaryngu jsou potvrzením onemocnění spalničkami. Všechny vzorky séra s pozitivními IgM protilátkami a vzorky nazofaryngeálních výtěrů s pozitivním nálezem virové RNA jsou odeslány ke konfirmaci do Národní referenční laboratoře pro spalničky v SZÚ v Praze.

Nejvhodnější doba odběru pro sérologický průkaz infekce je mezi 4. až 28. dnem po výsevu exantému, do 72 hod po výsevu exantému může být až 30 % sér falešně negativních.

Nejvhodnější doba pro odběr vzorků pro průkaz virové RNA je co nejdříve po objevení se klinických příznaků, nejpozději do 5. dne od výsevu exantému.

Laboratorní nálezy u vakcinovaných osob těmito kritérii nemusi odpovídat, IgM protilátky mohou být negativní díky rychle stoupající hodnotě IgG protilátek a ze stejného důvodu nemusí

být prokazatelný ani několikanásobný vzestup IgG protilátek v párovém séru a ani přítomnost virové RNA, neboť virus je rychle neutralizován. Z uvedeného plyne, že případ onemocnění spalničkami u vakcinovaných osob může zůstat laboratorně nerozpoznán.

Na druhou stranu ani pozitivita IgM protilátek nemusí být projevem probíhajícího onemocnění, pozitivita IgM protilátek může přetrvávat po vakcinaci – až 6 týdnů, ale i při boosteru existujících IgG protilátek, pozitivita IgM protilátek může být také u jiné probíhající infekce (EBV, Parvovirus B19, HHV6).

Za imunní vůči spalničkám se považují osoby s laboratorně prokázanou pozitivitou IgG protilátek (bez ohledu na výši dosažených hodnot), osoby, které v minulosti spalničky proděly a osoby narozené před rokem 1969, kdy bylo v ČR zavedeno celoplošné očkování.

K vakcinaci osob proti spalničkám se používá živá oslabená trivalentní vakcína Priorix (spalničky, zarděnky, příušnice). Tuto vakcínu lze použít i tzv. profylaktické vakcinaci u osob, které přišly do kontaktu s onemocněním, kdy očkování do 72 hod po expozici může snížit riziko vzniku onemocnění o 90 %.

Změna technologie vyšetřování DNA – HPV, zrušení vyšetřování HPV- LR

Přítomnost určitých typů lidských papilomavirů (HPV) v ženském genitálním traktu je spojována s množstvím chorob, včetně kondylomat, bowenoidní papulosis, cervikální, vaginální a vulvární intraepiteliální neoplazie a karcinomu. Tyto viry jsou převážně přenášeny pohlavní cestou a typy HPV-HR jsou hlavním rizikovým faktorem pro vznik karcinomu cervixu. Karcinom děložního hrdla je celosvětově řazen mezi čtyři nejčastější typy nádorů diagnostikovaných u ženské populace.

Je identifikováno více než 100 typů HPV virů a podle karcinogenity lidských papilomavirů rozlišujeme high-risk HPV (HPV-HR) a low-risk HPV (HPV-LR).

Naše laboratoř doposud pro diagnostiku HPV infekcí používala neamplifikační hybridizační metodu **Hybrid Capture II** od firmy Digene, která rozlišovala pou-

ze rozdělení do skupin HPV-HR typů (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) a HPV-LR typů (6, 11, 42, 43, 44). Nyní dochází ke změně technologie na amplifikační metodu, která umožňuje detekci 24 high-risk typů HPV a typizaci HPV 16, 18 a 45 metodou real-time polymerázové řetězové reakce. HPV 16 a HPV 18 jsou příčinou až 70 % rakoviny děložního hrdla. Nová metoda bude prováděna na pětikanálovém přístroji **croBEE Real-Time PCR System** od firmy GeneProof. Analytická senzitivita testu dosahuje až 745 IU/ml pro HPV16 a 1561 IU/ml pro HPV18. Detekční souprava využívá technologii "hot start" minimalizující nespecifické reakce a zajišťující maximální citlivost. Kit je určen pro in vitro diagnostiku a umožňuje kvalitativní detekce.

Pro detekci HPV je možno použít cervikální stěr, vaginální stěr nebo stěr z penisu. Odběrové soupravy jsou na vyžádání dostupné v laboratoři. Vzorek může být uchováván maximálně 48 hodin při teplotě +2 až +8 °C. Při delším skladování je potřeba všechny vzorky uchovávat zamražené při teplotě -20 ± 5 °C. Dostupnost výsledků do 7 pracovních dnů.

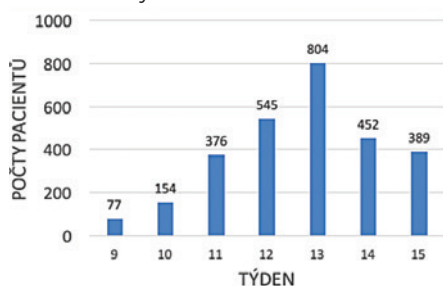
Přínosem provádění HPV screeningu je vyšší citlivost v detekci prekancerózních změn a vyšší ochrana před rozvojem CIN2 a CIN3 prekancerózních lézí a rakoviny děložního hrdla. Podstatnou informací při vyšetřování HPV je výsledek testu pro HPV-HR. Genotypizace HPV má význam zejména pro určení perzistence. Zjištění perzistence HPV-HR během 9 až 21 měsíců napomáhá k odlišení mezi přechodnými a klinicky relevantními HPV infekcemi. U žen s jedním nebo oběma negativními výsledky testování na HPV-HR, v časovém intervalu 9 až 21 měsíců, je riziko rozvoje klinicky významných změn na cervixu nižší. HPV-LR způsobují benigní změny děložního hrdla a genitální bradavice. V souvislosti se screeningem cervikálního karcinomu je testování přítomnosti HPV-LR bezvýznamné a finančně zatěžující. Z tohoto důvodu vyšetření PCR HPV-LR již nebude prováděno.

Mgr. Kateřina Žemličková
vedoucí Laboratorního a diagnostického centra Pardubice, MeDiLa spol. s r.o.

Spalničky mezi námi

Epidemiologická situace onemocnění spalniček zaměstnávala v uplynulých týdnech nejen klinická, ale i laboratorní pracoviště. Naše laboratoře se tak musely vypořádat se skokovým nárůstem požadavků na vyšetření protilátek třídy IgG a IgM z týdne na týden. Svým způsobem se tak naplnilo poselství článku „Spalničky stále aktuální“, autorů MUDr. Hany Zelené a Mgr. Jakuba Mrázka ze Zdravotního ústavu v Ostravě, který jsme zveřejnili v našem Bulletinu v květnu 2018.

Obr. 1.: Počty pacientů vyšetřených v laboratořích AXIS-CZ a MeDiLa na přítomnost protilátek proti spalničkám v 9. až 15. týdnu 2019



Vzhledem k aktuální epidemiologické situaci je Opatřením ministra zdravotnictví ze dne 22. 2. 2019 doporučeno testování zdravotníků. Vedení laboratoří ihned přistoupilo k vyšetřování protilátek proti spalničkám u vlastních zaměstnanců z důvodů zjištění rizika ohrožení onemocněním zdravotnického personálu odběrových center - zdravotních sestřiček a současně i řidičů svozové služby.

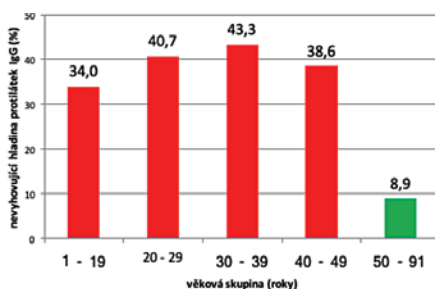
Paralelně s tím se začaly zvyšovat požadavky na stanovení protilátek pro-

ti spalničkám, a to jak od jednotlivců – samoplátců, tak na hromadná vyšetření zaměstnanců společností a institucí, u nichž by případná karanténní opatření vedla k výraznému omezení akceschopnosti pracovních týmů - hasičské záchranné sbory, pracovníci v sociálních službách, příslušníci policejních sborů, záchranáři, zaměstnanci škol a mateřských školek atd.

Celkové počty pacientů vyšetřených na přítomnost protilátek proti spalničkám v 9. až 15. týdnu 2019 jsou znázorněny v obr. 1. Celkem bylo v uvedeném období takto vyšetřeno 2797 pacientů.

Statistické vyhodnocení znázorněné v obr. 2. potvrzuje rozdíl ve výskytu protilátek třídy IgG mezi populací narozenou před r. 1969 (začátek vakcinace) a mladší populací. Za nevyhovující (nízké) hladiny protilátek jsou považovány výsledky stanovení menší než 16,5 AU/ml. Další charakteristiky uvedených vyšetření naleznete v předcházejícím článku „Novinky v mikrobiologických vyšetřeních“.

Obr. 2.: Podíl vyšetřených pacientů s nevyhovující hladinou protilátek třídy IgG



Závěrem:

Dosavadní výsledky vyšetřování na přítomnost postvakcinačních protilátek proti spalničkám u exponovaných skupin obyvatelstva potvrzují obecně udávaná data, že v populaci mladší než 50 let je přibližně 40 % jedinců s nevyhovující hladinou protilátek. V populaci starší než 50 let (před r. nar. 1969), která většinou onemocnění prodělala, má nevyhovující hladiny protilátek pouze 9 % jedinců.

Vyšetřování hladiny protilátek proti spalničkám u exponovaných skupin obyvatelstva považujeme za velmi účelné a zodpovědné vzhledem ke spolehlivému zajištění zdravotní péče a dalších důležitých funkcí státu.

Těší nás, že jsme díky moderní technice a pokročilé organizaci práce mohli včas a kvalitně splnit všechny požadavky na uvedená speciální vyšetření.

MUDr. Jana Doležalová
vedoucí lékař, MeDiLa spol. s r.o.

Aktuality

Laboratoř AXIS – CZ instalovala nové analyzátoře.

Ke stanovení glykovaného hemoglobinu nyní slouží TOSOH G7, který pracuje metodou HPLC. V porovnání s předchozí technikou poskytuje výsledky v kratším čase, s lepší správností a opakovatelností.

Nový močový analyzátor Dirui FUS 1000 poskytuje vyšší standardizaci prováděných vyšetření a kratší čas analýzy. Výsledky vyšetření sedimentu jsou na výsledkových listech již standardně

uváděny v počtech elementů na mikrolitr.

Pokračuje provoz společného Odběrového centra AXIS-CZ a MeDiLa na Ulrichově náměstí. Význam tohoto centra roste, zejména aktuálně v době epidemie spalniček. Připomínáme, že nejen zde, ale i v ostatních odběrových centrech lze požadovat odběry krve za účelem vyšetření protilátek proti původcům spalniček.

Tradiční odborný seminář pro sestry se uskuteční v Hradci Králové 6. listopadu

2019 a již nyní připravujeme zajímavý program.

Dne 2. ledna 2019 převzaly laboratoře MeDiLa provoz odběrového centra na Poliklinice „Bavlna“ ve Veverkově ul. 1631 v Hradci Králové – dříve v rámci společnosti MEDIKA Hradec Králové s.r.o. Odběry krve zde probíhají v pracovní dny od 6:30 do 11:45 hod.

Ing. Mgr. Simona Karmazínová

 **MEDILA**
LABORATOŘE

 **AXIS - CZ**
Hradec Králové, s.r.o.

Pardubice, Štrossova 1931, 530 03 Pardubice - areál „Veteriny“
www.medila.cz; tel. 800 737 304; e-mail: medila@medila.cz

Hradec Králové, II. poliklinika, Slezské předměstí, Bratři Štefanů 895
www.medila.cz; tel. 800 737 305; e-mail: medila@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

BULLETIN - PŘÍLOHA

Západonilská horečka v České republice

Úvod

Virus západonilské horečky (WNV) je významným neurotropním virem přenášeným komáry rodu *Culex*. Byl poprvé izolován v roce 1937 z krve člověka s horečnatým onemocněním na severu Ugandy. Patří do komplexu virů japonské encefalitidy rodu *Flavivirus* a je blízké příbuzný např. virům Usutu, viru japonské encefalitidy a viru St. Louis encefalitidy. Jedná se o obalený ss-RNA virus s nesegmentovaným genomem kódující polyprotein, který se následně štěpí na tři strukturální proteiny (C, M a E) a sedm nestrukturálních proteinů (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B a NS5) uplatňující se v různých fázích virové replikace. V současnosti je známo osm fylogenetických linií viru (Fall et al. 2017), z nichž pouze linie 1 a 2 prokazatelně způsobují lidská onemocnění. Linie 1a se vyskytuje v Evropě, na Blízkém Východě, v Africe a v roce 1999 byla introdukována do Severní Ameriky. Linie 1b se vyskytuje v Austrálii, označuje se názvem Kunjin. Linie 2 byla původně přítomna pouze v subsaharské Africe, od roku 2004 se šíří v Evropě a v současné době zde dominuje. V Evropě se nyní paralelně vyskytují genotypy 1a a 2.

Epidemiologie

Rezervoárem infekce jsou různé druhy ptáků, u nichž dochází k významné virémii, která je většinou asymptomatická a bývá tak zdrojem pro další šíření nákazy prostřednictvím vektorů. Pro některé druhy ptáků, především dravce a krkavcovité, je však WNV vysoce virulentní a nákaza se u nich projevuje hromadnými úhyny v zasažených oblastech. Úhyny ptáků často předcházejí případům infekce u lidí nebo koní. Šířitelé infekce napříč kontinenty jsou viremiciťmi ptáci cestující ze subsaharské Afriky, severní Afriky nebo středního Východu do Evropy. Předpokladem introdukování nákazy v nových lokalitách je schopnost viru přezimovat v nakažených komárech. Člověk a ostatní savci (např. koně) se mohou virem nakazit a onemocnět, ale virémie je u nich jen krátkodobá a nízká, a proto nejsou rezervoárem infekce pro její další šíření. Přenašeči (vektory) infekce jsou komáři rodu *Culex*, v Evropě jsou hlavními vektory *Culex pipiens* a *Culex modestus*, tedy komáři u nás zcela běžní. Rozlišují se dva biotypy *C. pipiens*, z nichž *C. pipiens pipiens* saje přednostně na ptácích a má klíčovou roli v enzootickém cyklu pře-

nosu WNV v populacích ptáků, zatímco *C. pipiens molestus* saje na savcích a v přenosu viru nehraje významnou roli. V přenosu nákazy na člověka a koně se pravděpodobně nejvíce uplatňují hybridy obou biotypů. K přenosu nákazy dochází v období aktivity komárů, tedy od jara do podzimu. Jejich aktivita závisí na průměrných denních teplotách. Nejvíce nákaz je v mírném podnebí pozorováno od července do září.

Výskyt v Evropě

Na základě sérologických studií byla potvrzena cirkulace WNV v Evropě již v 50. letech minulého století (Bardos V. et al. 1959). První hromadný výskyt onemocnění WNV u lidí byl zaznamenán v letech 1962-1963 na jihu Francie (Joubert L. et al. 1970), velká epidemie proběhla v roce 1996 v Rumunsku (Tsai TF et al. 1998). Od té doby jsou případy onemocnění u lidí i koní pravidelně hlášeny z různých států především na jihu Evropy (Sambri V. et al. 2013). V roce 2018 byl v Evropě zaznamenán nebývalý nárůst počtu humánních případů WNV infekce ve srovnání s předchozím obdobím. Případy se začaly objevovat o několik týdnů dříve než v dřívějších sezónách, případy se vyskytly nejen ve známých endemických oblastech, ale i v nových lokalitách a ve státech dosud infekcí nezasažených. K 6. prosinci 2018 bylo v Evropě evidováno 2082 onemocnění WNV u lidí, z toho v zemích EU bylo hlášeno 1503 případů, což představuje pěti násobný nárůst ve srovnání s rokem 2017. 180 osob v Evropě na tuto infekci zemřelo. Nejvíce případů hlásí Itálie (576), Srbsko (415), Řecko (311), Rumunsko (277) a Maďarsko (215). Případy se dále vyskytly v Chorvatsku, Francii, Rakousku, Bulharsku, Turecku, Kosovu, Slovinsku, na Kypru a v České republice (ECDC 2018). V České republice bylo k tomuto datu hlášeno pět autochtonních nákaz včetně jednoho úmrtí a dva případy importovaných nákaz z Řecka a Rakouska.

Situace v České republice

V České republice má výzkum západonilské horečky dlouhou tradici. První případy pravděpodobné infekce WNV u lidí byly zaznamenány již v roce 1997 v souvislosti s rozsáhlými povodněmi, původcem byla pravděpodobně linie WNV-1, jehož přítomnost byla opakovaně potvrzena v populacích komárů *Culex modestus* odchycených v okolí rybníků na jižní Moravě (Hubalek et al. 1999, Rudolf

et al. 2014). Opakovaně byly detekovány specifické protilátky proti WNV u ptáků (Straková et al. 2015) a koní (Sedlák et al. 2014). Od roku 2013 je opakovaně nalézána přítomnost linie WNV-2 u komárů *Culex modestus* a *Culex pipiens* v oblasti rybníků Lednicko-Valtického areálu (Rudolf et al. 2014, Rudolf et al. 2018). První humánní případy s lokálním přenosem byly v ČR potvrzeny až v roce 2018, kdy onemocnělo celkem pět osob neuroinvasivní formou WNV infekce. U jedné osoby onemocnění skončilo úmrtím. Ke všem těmto případům došlo na Jižní Moravě.

Klinické projevy infekce WNV

Nejčastějším způsobem nákazy člověka je bodnutí infikovaného komára. Možnou cestou přenosu je i krevní transfúze nebo transplantace orgánů, z toho důvodu jsou v zasažených oblastech aplikována opatření pro zabránění přenosu. Vzácně lze virus přenést i z matky na plod nebo prostřednictvím mateřského mléka při kojení.

Inkubační doba západonilské horečky se pohybuje mezi 2 až 15 dny. Okolo 80 % nákaz probíhá bezpříznakově. Nejlehčí formou symptomatického průběhu je tzv. západonilská horečka objevující se přibližně u 20 % nakažených. Kromě horečky ji provázejí chřipkovité příznaky jako je bolest hlavy, svalů, kloubů, únava, malátnost, nadměrné pocení, makulopapulózní exantém, zvětšení lymfatických uzlin, bývají i zažívací obtíže jako nevolnost, zvracení, nechutenství a průjem. Všechny tyto příznaky zpravidla odezní bez následků během 3-5 dní. Pouze u méně než 1 % nakažených virus napadá centrální nervový systém. V těchto případech probíhá závažná, neuroinvasivní forma onemocnění. Nejméněší z nich je meningitida, těžší formou jsou meningoencefalitida či myelitida. Tato forma může probíhat i bez horečky nebo dalších symptomů typických pro ostatní formy infekce WNV. Plně rozvinuté neuroinvasivní onemocnění končí smrtelně přibližně v 10 % případů. Těžký průběh a úmrtí jsou častější u starších a imunokompromitovaných osob. (Sejvar JJ et al. 2003, Pervanidou D. et al. 2014)

Laboratorní diagnostika infekcí WNV

Laboratorní diagnostika západonilské horečky je svízelná vzhledem k tomu, že se jedná o virus z čeledi *Flaviviridae*, a v běžně používaných sérologických

testech (ELISA, NIF) se vyskytuje vysoké procento zkřížených reakcí s ostatními flaviviry, např. s virem klíšťové encefalitidy. Vzhledem k tomu, že i klinický průběh je obdobný, nelze vyloučit, že za některými případy sérologicky diagnostikované klíšťové encefalitidy se mohou skrývat případy nepoznané západonilské horečky. Nejspolehlivější diagnostikou je kombinace přímých i nepřímých metod.

Infekci WNV lze prokázat přímým průkazem metodou PCR vyšetřením z krve, mozkomíšního moku nebo moče. Moč se podobně jako i u jiných flavivirů ukazuje jako mimořádně vhodný materiál pro přímý průkaz viru, protože pozitivita virové RNA v moči je delší a virová nálož vyšší než v séru nebo likvoru. Průkaz viru metodou PCR je vhodné pro jednoznačný průkaz a bližší charakterizaci viru konfirmovat sekvenací virové RNA. Srážlivá krev (sérum) a mozkomíšní mok jsou vhodným materiálem k RT-PCR jen v prvním týdnu trvání klinických příznaků, protože virus (resp. virová RNA) se v těchto materiálech vyskytuje jen krátkou dobu. Později lze virovou RNA detekovat v moči nebo v plné EDTA krvi, ve kterých trvá PCR pozitivita dva týdny i déle. Virovou RNA lze prokázat i v bi-optických či sekčních vzorcích mozku nebo míchy.

Negativní výsledek PCR však nevylučuje infekci WNV. Z toho důvodu musíme spoléhat na výsledky sérologické diagnostiky. Pro detekci specifických protilátek využíváme nejčastěji srážlivou krev (sérum), případně plazmu nebo mozkomíšní mok. Vyhledávací metodou je ELISA nebo nepřímá imunofluorescence (NIF), kterými detekujeme protilátky tříd IgG a IgM, případně aviditu IgG. Pozitivní výsledky sérologie je nutno vždy konfirmovat virusneutralizačním testem (VNT) z důvodu častého výskytu zkřížených reakcí s jinými flaviviry, které jsou způsobeny vazbou protilátek na společné epitopy E proteinu flavivirů. Je nutno vyloučit infekci jiným flavivirem a přítomnost zkříženě reagujících protilátek po předchozích vakcinacích (klíšťová encefalitida, žlutá zimnice, japonská encefalitida). Po očkování jsou dlouhodobě přítomny IgG protilátky a IgM mohou přetrvávat až několik měsíců. Obě třídy protilátek mohou zkříženě reagovat v testech ELISA a NIF určených pro diagnostiku WNV infekcí. Dokonce i konfirmační test VNT může vykazovat částečnou zkříženou reaktivitu. Proto pro rozlišení těchto infekcí by měl být proveden paralelně VNT na různé flaviviry, v našich podmínkách alespoň na virus klíšťové encefalitidy a virus Usutu a vzájemným porovnáním títů ve VNT stanovit správnou diagnózu. V nejasných případech je požado-

ván odběr párového séra s odstupem alespoň jednoho týdne, kdy průkazem akutní infekce je sérokonverze nebo minimálně čtyřnásobný vzestup titru neutralizačních protilátek.

Léčba a prevence

Léčba infekcí WNV je pouze symptomatická, jelikož není k dispozici účinné kauzálně působící antivirotikum. Není k dispozici ani vakcína proti WNV. Prevence spočívá především v ochraně před bodnutím komárů, použití repelentů, ochranných sítí do oken a eliminace nádob se stojatou vodou v blízkosti lidských obydlí, ve kterých se vyvíjejí komáři larvy. Pracoviště transfúzní služby v zasažených oblastech by měla v sezóně aktivity komárů zavádět plošné vyšetřování dárců krve metodou přímého průkazu virové RNA. V ostatních oblastech by pak měly být osoby po návratu z regionů s lokálním přenosem vyloučeny z dárčovství po dobu 28 dní.

Závěr

S ohledem na vývoj epidemiologické situace v Evropě a v České republice je nutno západonilskou horečku zahrnout do diferenciální diagnostiky neuroinfekcí, a to i u osob s negativní cestovatelskou anamnézou. Lze předpokládat další šíření této infekce v následujících sezónách i do dalších regionů České republiky, kde se zatím humánní případy nevyskytly. Vzhledem k častým zkříženým reakcím v rámci flavivirů je nutno počítat s tím, že za pozitivní sérologii klíšťové encefalitidy, která je u nás podstatně častější, se může skrývat infekce virem západonilské horečky. Je nutno myslet i na možnost zkřížených reakcí s dalšími flaviviry, např. s virem Usutu. Správná etiologická diagnostika pacientů s neuroinfekcemi je důležitá především z důvodů epidemiologických. Výskyt WNV v ČR má významný dopad také na transfúzní službu z důvodu zavedení nutných opatření k zabránění šíření této infekce krví.

Literatura

Fall G, Di Paola N, Faye M, Dia M, Freire CCM, Loucoubar C, et al. Biological and phylogenetic characteristics of West African lineages of West Nile virus. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017 Nov;11(11):e0006078

Bardos V, Adamcova J, Dedei S, Gjini N, Rosticky B, Simkova A. Neutralizing antibodies against some neurotropic viruses determined in human sera in Albania. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*. 1959;3:277-82.

Joubert L, Oudar J, Hannoun C, Beytout D, Corniou B, Guillon JC, et al. Epidemiology of the West Nile virus: study of a focus in Camargue. IV. Meningo-encephalomyelitis of the horse. *Ann Inst Pasteur (Paris)*. 1970 Feb;118(2):239-47.

Tsai TF, Popovici F, Cernescu C, Campbell GL, Nedelcu NI. West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania. *Lancet*. 1998 Sep 5;352(9130):767-71.

Sambri V, Capobianchi M, Charrel R, Fyodorova M, Gaibani P, Gould E, et al. West Nile virus in Europe: emergence, epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Aug;19(8):699-704.

European Center for Disease Prevention and Control. Weekly updates: 2018 West Nile fever transmission season. Stockholm: ECDC; 2018 [cited 20 September 2018]. Available from: <https://ecdc.europa.eu/en/west-nile-fever/surveillance-and-disease-data/disease-data-ecdc>

Hubalek Z, Halouzka J, Juřicová Z. 1999, West Nile fever in Czech Republic. *Emerg Infect Dis*, 5:594-5

Rudolf I., Bakonyi T., Šebesta O., Peško J., Vencliková K., Mendel J., Betášová L., Blažejová H., Straková P., Nowotny N., Hubálek Z. 2014. West Nile virus lineage 2 isolated from *Culex modestus* mosquitoes in the Czech Republic, 2013: expansion of the European WNV endemic area to the North? *Euro Surveill*. 19 (31):pii=20867.

Straková P., Šikutová S., Jedličková P., Sitko J., Rudolf I., Hubálek Z. 2015. The Common Coot as sentinel species for the presence of West Nile and Usutu flaviviruses in Central Europe. *Res. Vet. Sci*. 102: 159-161.

Sedlák K, Zelená H, Krívda V, Šatráň P. Surveillance západonilské horečky u koní v České republice v letech 2011–2013. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*, 2014;63:307–311.

Rudolf I., Bakonyi T., Šebesta O., Peško J., Vencliková K., Mendel J., Betášová L., Blažejová H., Straková P., Nowotny N., Hubálek Z. 2014. West Nile virus lineage 2 isolated from *Culex modestus* mosquitoes in the Czech Republic, 2013: expansion of the European WNV endemic area to the North? *Euro Surveill*. 19 (31):pii=20867

Rudolf I, Blažejová H, Šebesta O et al. West Nile virus (lineage 2) in mosquitoes in southern Moravia - awaiting the first autochthonous human cases. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*. Spring 2018;67(1):44-6. PubMed PMID: 30157657.

Sejvar JJ, Haddad MB, Tierney BC, Campbell GL, Marfin AA, Van Gerpen JA, et al. Neurologic manifestations and outcome of West Nile virus infection. *JAMA*. 2003 Jul 23;290(4):511-5

Pervanidou D, Detsis M, Danis K, Mellou K, Papanikolaou E, Terzaki I, et al. West Nile virus outbreak in humans, Greece, 2012: third consecutive year of local transmission. *Euro Surveill*. 2014 Apr 3;19(13).

MUDr. Hana Zelená

Mgr. Jakub Mrázek

Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě



Milí čtenáři,
stejně jako většina se i já těším
na příští měsíce, vyplněné pří-
jemným počasím a také časem

stráveným na dovolené u vody,
v lesích, horách, na venkově
nebo u moře či v exotických kra-
jinách. Přeji všem, abyste tento
čas strávili co nejlépe a odpočali
si tak, abyste se rádi vraceli do
ambulancí. To vám přeji za sebe
i za tři desítky našich svozových
řidičů a řidiček, kteří i o prázdni-
nách bezpečně a včas odvezou
cenný biologický materiál k vy-
šetření do našich laboratoří.

Jana Stejskalová
vedoucí úseku dopravy
MeDiLa spol. s r.o.

Témata obsahu

Gestační diabetes mellitus

Novinky v mikrobiologických
vyšetřeních

Spalničky mezi námi

PŘÍLOHA – Západonilská
horečka v České republice

Elektronickou verzi Bulletinu
naleznete na **www.medila.cz**.

Gestační diabetes mellitus - změnilo se něco v roce 2019?

Problematicke gestačního diabetu (GDM) je věnována část pravidelně v lednu vycházejícího doporučení Americké diabetologické asociace (ADA) (leden 2019, Diabetes Care Volume 42, Supplement 1). Doporučení nepřináší zásadní změny v porovnání s předchozím doporučením z roku 2018, spíše upřesňuje a jednoznačně definuje pojmy. Doporučení České společnosti klinické biochemie, které bylo publikováno v roce 2016 v časopise Klinická biochemie a metabolismus a také Doporučený postup screeningu, gynekologické, perinatologické, diabetologické a neonatologické péče 2017 (http://www.diab.cz/dokumenty/DP_GDM_2017.pdf) je v podstatě v souladu s novým doporučením ADA.

Poznámky k Doporučení ADA 2019

Diagnostika DM

GDM byl v minulosti definován jako jakýkoli stupeň intolerance glukózy poprvé zjištěný v průběhu gravidity, bez ohledu na to, jaká byla situace před graviditou a po ní. Tato definice nebyla příliš přesná a nezohledňovala dostatečně rostoucí počet nediodagnostikovaných diabetiček 2. typu v populaci. Je tedy

opodstatněné testovat ženy s rizikem DM 2. typu již při první prenatalní vizitě při použití standardních diagnostických kritérií (tabulka 1) k odhalení diabetiček, které otěhotněly.

Podstatná a nová poznámka v materiálech ADA z ledna 2019 bere ohled na analytickou a biologickou variabilitu stanovení glukózy a HbA_{1c}: pokud není přítomna jednoznačná hyperglykémie, je pro stanovení diagnózy rozhodující zjištění dvou abnormálních výsledků

z jednoho vzorku (glukóza a HbA_{1c}) nebo ve dvou různých vzorcích (dva různé odběry ve dvou různých dnech).

Ženy s diagnostikovaným diabetem dle standardních kritérií jsou hodnoceny jako DM 2. typu, nebo vzácně DM 1. typu, nebo monogenní diabetes. To znamená, že měly preexistující, pregestační diabetes.

Této problematice se krátce věnuje i doporučení České gynekologické

Tabulka 1 - Standardní kritéria diagnózy diabetu

Kritérium	Cut-off hodnota pro diabetes mellitus	Poznámka
Koncentrace glukózy v plazmě žilní krve nalačno	7,0 mmol/l a více	Pojmem nalačno se míní hladovění po dobu minimálně 8 hodin
Koncentrace glukózy v plazmě žilní krve za 2 hodiny od zátěže v rámci během oGTT	11,1 mmol/l a více	Provedení oGTT podle WHO, 75 g glukózy
Klinické známky hyperglykémie nebo hyperglykemické krize a náhodná koncentrace glukózy v plazmě žilní krve	11,1 mmol/l a více	
HbA _{1c} (glykovaný hemoglobin)	48 mmol/mol a více	ADA specifikuje návaznost metody, podobně v Evropě je nutné respektovat metrologickou návaznost metody IFCC

a porodnické společnosti, České diabetologické společnosti a České neonatologické společnosti ČLS JEP (dále doporučení ČDS). DM (zjevný diabetes mellitus) splňuje u těhotné ženy kritéria pro diagnostiku diabetu používaná pro běžnou populaci (koncentrace glukózy v plazmě žilní krve nalačno nad 7 mmol/l, nebo ve 120. minutě oGTT nad 11,1 mmol/l).

Diagnostika GDM

Gestační diabetes mellitus je ten, který je diagnostikován poprvé ve druhém, nebo třetím trimestru, který není ani preexistující DM 1. typu nebo DM 2. typu. Diagnostická kritéria, která se používají v druhém trimestru, nelze jednoduše použít v prvním trimestru, protože kritéria pro glukózu nalačno (fasting plasma glucose) nebo oGTT se zátěží 75 g glukózy pocházejí z dat IADPSG (The International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups) a jsou odvozena z dat získaných ve druhém trimestru. Ženy s diagnostikovaným gestačním diabetem by měly být intervenovány a celoživotně sledovány.

Studie HAPO (multinárodní studie, sledováno 23 tisíc žen) prokázala kontinuální zvyšování rizika se stoupající koncentrací glukózy, bez existence jednoznačného cut-off ve 24. až 28. týdnu gravidity. Pro většinu komplikací neexistuje prahová hodnota rizika. Tyto výsledky vedly k úvahám o dvou možných strategiích:

- Jednokroková strategie: standardní oGTT se 75 g glukózy.
- Dvoukroková strategie: počáteční screening s 50 g glukózy (bez nutnosti být nalačno) s následujícím druhým krokem vyžadujícím lačnění a se zátěží 100 g glukózy u žen s pozitivním screeningem.

Obě strategie, používající různá diagnostická kritéria, budou identifikovat různé stupně maternálního a fetálního rizika; mají také mezi experty zastánce i odpůrce.

Jednokroková strategie:

Jednokroková strategie vychází z doporučení IADPSG, založených na cut-off hodnotách ze studie HAPO. Cut-off hodnoty odpovídají 1,75 násobku rizika celkové studované populace těhotných žen. V poměrně nové studii Loweho a kolektivu z roku 2018 se ukázalo, že pokud by byly ženy diagnostikovány podle těchto kritérií, pak měly po 11letém sledování po ukončení gravidity 3,4x vyšší riziko rozvoje prediabetu a DM 2. typu a měly také obézní děti. Diagnostikované ženy by tedy mohly profitovat z preventivních a terapeutických opatření, pokud by u nich byl GDM podle cut-off hodnot jedнокrokové strategie diagnostikován.

Jednokroková strategie je plně akceptována i v České republice, dle obou zmíněných doporučení.

Dle doporučení ČDS probíhá screening GDM ve dvou fázích:

- I. fáze do 14. týdne gravidity,
- II. fáze ve 24. až 28. týdnu gravidity

Screening je indikován u všech těhotných, u kterých nebyla diagnostikována porucha metabolismu glukózy již pregestačně. Organizuje ho gynekolog, vyšetření koncentrace glukózy v plazmě žilní krve se provádí v akreditované laboratoři.

V tomto bodě se česká doporučení liší od doporučení ADA. V první fázi se pracuje s hodnotou cut-off 5,1 mmol/l již ve 14. týdnu gravidity – tento krok v doporučení ADA není.

Diagnostický postup a hodnocení v I. fázi (14. týden gravidity)

- Koncentrace glukózy nalačno < 5,1 mmol/l, v normě, žena podstoupí druhou fázi ve 24. až 28. týdnu.
- Glykémie nalačno \geq 5,1 mmol/l, vyšetření je nutné opakovat co nejdříve, v následujících dnech; pokud je koncentrace glukózy 5,1 – 6,9 mmol/l, je stanovena diagnóza GDM a žena je odeslána na diabetologii, pokud je koncentrace glukózy 7 mmol/l a více, je diagnostikován DM a žena je odeslána na diabetologii.
- Glykémie nalačno \geq 5,1 mmol/l a opakovaná glykémie < 5,1 mmol/l, doporučeno je provedení oGTT se zátěží 75 g glukózy.

Diagnostický postup a hodnocení ve II. (24. – 28. týden gravidity)

Indikace: všechny těhotné ženy s negativním výsledkem v I. fázi screeningu (i ženy, které I. fázi screeningu z nějakého důvodu nepodstoupily).

Metoda: tříbodový oGTT se 75 g glukózy, a to vždy za standardních podmínek: vyšetřuje se koncentrace glukózy v plazmě žilní krve, odebraná do zkumavky s antiglykolytickým činidlem (fluorid sodný + EDTA + citrát sodný) za dodržení podmínek preanalytické fáze (první odběr po 12 hodinovém lačnění, tři dny před odběrem standardní stravovací režim, standardní fyzická aktivita). Důvodem k odložení testu je akutní onemocnění.

Diagnostický postup: stanovení koncentrace glukózy nalačno:

- < 5,1 mmol/l, žena podstupuje okamžitě oGTT, zátěž 75 g glukózy, odběr v 60. a 120. minutě testu.
- \geq 5,1 mmol/l, vyšetření je nutné opakovat co nejdříve, v následujících dnech.
- \geq 5,1 mmol/l a opakovaná < 5,1 mmol/l, žena podstupuje oGTT, zátěž 75 g glukózy, odběr v 60. a 120. minutě testu.
- \geq 5,1 mmol/l a opakovaná \geq 5,1 mmol/l, GDM, žena nepodstupuje oGTT.

Hodnocení:

Pokud jsou všechny výsledky v normě

(nalačno < 5,1 mmol/l, v 60. minutě testu < 10,0 mmol/l a ve 120. minutě < 8,5 mmol/l) screening je negativní.

Pokud je překročena alespoň jedna hodnota (nalačno \geq 5,1 mmol/l, nebo v 60. minutě testu \geq 10,0 mmol/l nebo ve 120. minutě \geq 8,5 mmol/l) je diagnostikován GDM a žena je odeslána na diabetologii.

Shrnutí jednokrokové strategie

Jednokroková strategie může zatížit zdravotnický systém a identifikovat větší počet žen s GDM, ale takto diagnostikované ženy a jejich děti z následné péče mohou profitovat. V České republice je akceptována jednokroková strategie screeningu rozdělená na dvě fáze.

Dvoukroková strategie:

V roce 2013 byla v USA doporučena dvoukroková strategie, která má ale řadu variant. Shodným základem je screeningová zátěž s 50 g glukózy bez nutnosti lačnění před vyšetřením a v případě positivity druhá zátěž se 100 g glukózy (nalačno). Shoda se také týká nevhodnosti použití HbA_{1c} jako screeningového testu pro GDM. Tím ale jednodušnost končí a varianty jsou dány

- různými hodnotami cut-off pro pozitivitu screeningové zátěže (7,2 nebo 7,5 nebo 7,8 mmol/l),
- různými hodnotícími kritérii pro zátěž 100 glukózy a časy nalačno, za hodinu, za dvě a za tři hodiny,
- různým pohledem na definici positivity po zátěži 100 g – diagnóza GDM se stanoví na základě positivity buď v jednom nebo nejméně ve dvou z hodnotících kritérií.

Různé cut-off hodnoty screeningového testu jsou spojeny s různou senzitivitou a specificitou testu. Hodnota 7,2 mmol/l má senzitivitu 88-99 % a specificitu 66-77 %. Cut-off 7,8 mmol/l má senzitivitu 70-88 % a specificitu 69-89 % (ADA). Je ponechána benevolence při výběru cut-off hodnot, protože čím nižší cut-off je zvolen, tím vyšší je skupina žen s nutností provést zátěžový test se 100 g glukózy.

Zátěž se 100 g glukózy připouští v jednotlivých odběrech také různá hodnocení. Cut-off hodnoty jsou 5,3 mmol/l nalačno, 10 mmol/l za hodinu, 8,6 mmol/l za dvě hodiny a 7,8 mmol/l za tři hodiny (dle Carpenter a Coustan), nebo cut-off hodnoty ve stejných časech odběru 5,8 – 10,6 – 9,2 – 8,0 mmol/l (National Diabetes Data Group, NDDG). Rozdíly vyplývají pouze z matematických přepočtů z původních dat definovaných pro plnou krev a neenzymatické metody stanovení glukózy z let 1979 a 1982. ADA se přiklání k použití nižších diagnostických cut-off (Carpenter – Coustan, 1982).

Žádné z doporučení se ke dvoukrokové strategii v ČR zatím nepřiklání. Ani samotná ADA není v tomto ohledu jed-

notná a v novém doporučení problematiku spíše diskutuje, než konkrétně doporučuje. V současné době nejsou pro jednoznačná stanoviska dostatečná data.

Celkové shrnutí:

V roce 2019 nedochází v diagnostice GDM k zásadním změnám. V ČR platí diagnostické postupy a cut-off hodnoty z let 2016 a 2017. Zůstává v platnosti jednokroková strategie screeningu rozdělená na dvě fáze. Současná data nejsou konzistentní, probíhající studie pravděpodobně přispějí k navržení budoucí optimální strategie. HbA_{1c} lze použít při diagnostice DM (první screeningové vyšetření u žen, které měly preexistující, pregestační, zjevný diabetes s hodnotou koncentrace glukó-

zy nalačno ≥ 7 mmol/l. Hodnota HbA_{1c} ≥ 48 mmol/mol svědčí pro DM. HbA_{1c} ale nelze použít pro diagnostiku GDM ani pro reklasifikaci ve 4. až 6. týdnu po porodu.

MUDr. Janka Franeková, Ph.D.
vedoucí OKB, IKEM Praha

Novinky v mikrobiologických vyšetřeních

Vyšetření protilátek proti spalničkám ve třídě IgM, IgG

Vyšetřování protilátek proti spalničkám bylo v naší laboratoři zavedeno 1. 3. 2019 vzhledem k epidemiologické situaci a nárůstu onemocnění v ČR a ke zvýšené potřebě kontroly hladiny ochranných protilátek (IgG) u osob, které přišly do přímého kontaktu s onemocněním.

Stanovení protilátek proti spalničkám ve třídě IgM a IgG provádíme na analyzátoru LIAISON XL od firmy Diasorin metodou chemiluminiscence. V době epidemie provádíme stanovení pravidelně v pondělí, středu a pátek, statimová vyšetření provádíme denně. Stanovení se provádí v séru.

Meze pro hodnocení u námi prováděných metod jsou:

Pozitivita IgM protilátek $\geq 1,1$

Pozitivita IgG protilátek $\geq 16,5$ AU/ml

Dostatečná hladina ochranných IgG protilátek je $\geq 16,5$ AU/ml.

Laboratorní průkaz spalniček je založen na nepřímém průkazu infekce – vyšetření protilátek v séru (IgM, IgG) a přímém průkazu infekce – vyšetření virové RNA ze stěrů z nazofaryngu metodou PCR (provádí smluvní laboratoř).

Pozitivita IgM protilátek v séru a průkaz virové RNA ve výtěru z nazofaryngu jsou potvrzením onemocnění spalničkami. Všechny vzorky séra s pozitivními IgM protilátkami a vzorky nazofaryngeálních výtěrů s pozitivním nálezem virové RNA jsou odeslány ke konfirmaci do Národní referenční laboratoře pro spalničky v SZÚ v Praze.

Nejvhodnější doba odběru pro sérologický průkaz infekce je mezi 4. až 28. dnem po výsevu exantému, do 72 hod po výsevu exantému může být až 30 % sér falešně negativních.

Nejvhodnější doba pro odběr vzorků pro průkaz virové RNA je co nejdříve po objevení se klinických příznaků, nejpozději do 5. dne od výsevu exantému.

Laboratorní nálezy u vakcinovaných osob těmito kritériím nemusí odpovídat, IgM protilátky mohou být negativní díky rychle stoupajícím hodnotám IgG protilátek a ze stejného důvodu nemusí

být prokazatelný ani několikanásobný vzestup IgG protilátek v párovém séru a ani přítomnost virové RNA, neboť virus je rychle neutralizován. Z uvedeného plyne, že případ onemocnění spalničkami u vakcinovaných osob může zůstat laboratorně nerozpoznán.

Na druhou stranu ani pozitivita IgM protilátek nemusí být projevem probíhajícího onemocnění, pozitivita IgM protilátek může přetrvávat po vakcinaci – až 6 týdnů, ale i při boosteru existujících IgG protilátek, pozitivita IgM protilátek může být také u jiné probíhající infekce (EBV, Parvovirus B19, HHV6).

Za imunní vůči spalničkám se považují osoby s laboratorně prokázanou pozitivitou IgG protilátek (bez ohledu na výši dosažených hodnot), osoby, které v minulosti spalničky proděly a osoby narozené před rokem 1969, kdy bylo v ČR zavedeno celoplošné očkování.

K vakcinaci osob proti spalničkám se používá živá oslabená trivalentní vakcína Priorix (spalničky, zarděnky, příušnice). Tuto vakcínu lze použít i tzv. profylaktické vakcinaci u osob, které přišly do kontaktu s onemocněním, kdy očkování do 72 hod po expozici může snížit riziko vzniku onemocnění o 90 %.

Změna technologie vyšetřování DNA – HPV, zrušení vyšetřování HPV- LR

Přítomnost určitých typů lidských papilomavirů (HPV) v ženském genitálním traktu je spojována s množstvím chorob, včetně konylomat, bowenoidní papulosis, cervikální, vaginální a vulvární intraepiteliální neoplazie a karcinomu. Tyto viry jsou převážně přenášeny pohlavní cestou a typy HPV-HR jsou hlavním rizikovým faktorem pro vznik karcinomu cervixu. Karcinom děložního hrdla je celosvětově řazen mezi čtyři nejčastější typy nádorů diagnostikovaných u ženské populace.

Je identifikováno více než 100 typů HPV virů a podle karcinogenity lidských papilomavirů rozlišujeme high-risk HPV (HPV-HR) a low-risk HPV (HPV-LR).

Naše laboratoř doposud pro diagnostiku HPV infekcí používala neamplifikační hybridizační metodu **Hybrid Capture II** od firmy Digene, která rozlišovala pou-

ze rozdělení do skupin HPV-HR typů (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) a HPV-LR typů (6, 11, 42, 43, 44). Nyní dochází ke změně technologie na amplifikační metodu, která umožňuje detekci 24 high-risk typů HPV a typizaci HPV 16, 18 a 45 metodou real-time polymerázové řetězové reakce. HPV 16 a HPV 18 jsou příčinou až 70 % rakoviny děložního hrdla. Nová metoda bude prováděna na pětikanálovém přístroji **croBEE Real-Time PCR System** od firmy GeneProof. Analytická senzitivita testu dosahuje až 745 IU/ml pro HPV16 a 1561 IU/ml pro HPV18. Detekční souprava využívá technologii "hot start" minimalizující nespecifické reakce a zajišťující maximální citlivost. Kit je určen pro in vitro diagnostiku a umožňuje kvalitativní detekce.

Pro detekci HPV je možno použít cervikální stěr, vaginální stěr nebo stěr z penisu. Odběrové soupravy jsou na vyžádání dostupné v laboratoři. Vzorek může být uchováván maximálně 48 hodin při teplotě +2 až +8 °C. Při delším skladování je potřeba všechny vzorky uchovávat zamražené při teplotě -20 ± 5 °C. Dostupnost výsledků do 7 pracovních dnů.

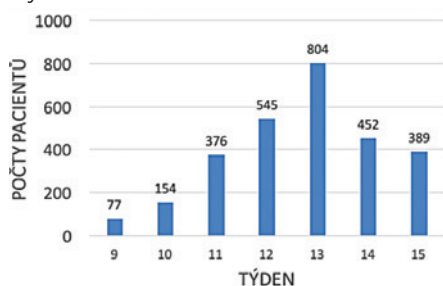
Přínosem provádění HPV screeningu je vyšší citlivost v detekci prekancerózních změn a vyšší ochrana před rozvojem CIN2 a CIN3 prekancerózních lézí a rakoviny děložního hrdla. Podstatnou informací při vyšetřování HPV je výsledek testu pro HPV-HR. Genotypizace HPV má význam zejména pro určení perzistence. Zjištění perzistence HPV-HR během 9 až 21 měsíců napomáhá k odlišení mezi přechodnými a klinicky relevantními HPV infekcemi. U žen s jedním nebo oběma negativními výsledky testování na HPV-HR, v časovém intervalu 9 až 21 měsíců, je riziko rozvoje klinicky významných změn na cervixu nižší. HPV-LR způsobují benigní změny děložního hrdla a genitální bradavice. V souvislosti se screeningem cervikálního karcinomu je testování přítomnosti HPV-LR bezvýznamné a finančně zatěžující. Z tohoto důvodu vyšetření PCR HPV-LR již nebude prováděno.

Mgr. Kateřina Žemličková
vedoucí Laboratorního a diagnostického centra Pardubice, MeDiLa spol. s r.o.

Spalničky mezi námi

Epidemiologická situace onemocnění spalniček zaměstnávala v uplynulých týdnech nejen klinická, ale i laboratorní pracoviště. Laboratoře MeDiLa se tak musely vypořádat se skokovým nárůstem požadavků na vyšetření protilátek třídy IgG a IgM z týdne na týden. Svým způsobem se tak naplnilo poselství článku „Spalničky stále aktuální“, autorů MUDr. Hany Zelené a Mgr. Jakuba Mrázka ze Zdravotního ústavu v Ostravě, který jsme zveřejnili v našem Bulletinu v květnu 2018.

Obr. 1.: Počty pacientů vyšetřených v laboratořích MeDiLa na přítomnost protilátek proti spalničkám v 9. až 15. týdnu 2019



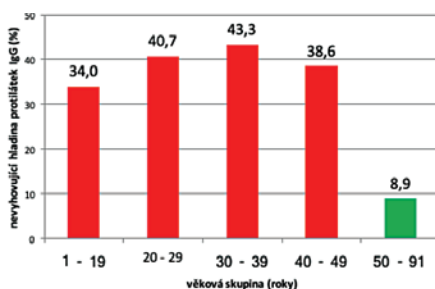
Vzhledem k aktuální epidemiologické situaci je Opatřením ministra zdravotnictví ze dne 22. 2. 2019 doporučeno testování zdravotníků. Vedení laboratoří MeDiLa ihned přistoupilo k vyšetřování protilátek proti spalničkám u vlastních zaměstnanců z důvodů zjištění rizika ohrožení onemocněním zdravotnického personálu odběrových center - zdravotních sestřiček a současně i řidičů svozové služby. Paralelně s tím se začaly zvyšovat požadavky na stanovení protilátek pro-

ti spalničkám, a to jak od jednotlivců - samoplátců, tak na hromadná vyšetření zaměstnanců společností a institucí, u nichž by případná karanténní opatření vedla k výraznému omezení akceschopnosti pracovních týmů - hasičské záchranné sbory, pracovníci v sociálních službách, příslušníci policejních sborů, záchranáři, zaměstnanci škol a mateřských školek atd.

Celkové počty pacientů vyšetřených na přítomnost protilátek proti spalničkám v 9. až 15. týdnu 2019 v laboratořích MeDiLa jsou znázorněny v obr. 1. Celkem bylo v uvedeném období takto vyšetřeno 2797 pacientů.

Statistické vyhodnocení znázorněné v obr. 2. potvrzuje rozdíl ve výskytu protilátek třídy IgG mezi populací narozenou před r. 1969 (začátek vakcinace) a mladší populací. Za nevyhovující (nízké) hladiny protilátek jsou považovány výsledky stanovení menší než 16,5 AU/ml. Další charakteristiky uvedených vyšetření naleznete v předcházejícím článku „Novinky v mikrobiologických vyšetřeních“.

Obr. 2.: Podíl vyšetřených pacientů s nevyhovující hladinou protilátek třídy IgG



Závěrem:

Dosavadní výsledky vyšetřování na přítomnost postvakcinačních protilátek proti spalničkám u exponovaných skupin obyvatelstva potvrzují obecně udávaná data, že v populaci mladší než 50 let je přibližně 40 % jedinců s nevyhovující hladinou protilátek. V populaci starší než 50 let (před r. nar. 1969), která většinou onemocnění prodělala, má nevyhovující hladiny protilátek pouze 9 % jedinců.

Vyšetřování hladiny protilátek proti spalničkám u exponovaných skupin obyvatelstva považujeme za velmi účelné a zodpovědné vzhledem ke spolehlivému zajištění zdravotní péče a dalších důležitých funkcí státu.

Těší nás, že jsme díky moderní technice a pokročilé organizaci práce mohli včas a kvalitně splnit všechny požadavky na uvedená speciální vyšetření.

MUDr. Jana Doležalová
vedoucí lékař, MeDiLa spol. s r.o.

Aktuality

Dne 2. ledna 2019 převzala společnost MeDiLa spol. s r.o. provoz odběrového centra na Poliklinice „Bavlna“ ve Veverkově ul. 1631 v Hradci Králové – dříve v rámci společnosti MEDIKA Hradec Králové s.r.o. Odběry krve zde probíhají v pracovní dny od 6:30 do 11:45 hod.

Dne 1. března 2019 jsme zahájili provoz dalšího odběrového centra - na

Poliklinice Trutnov, v Masarykově domě v Palackého ul. 201. Odběry krve jsou zde prováděny denně od 7:00 do 11:45. Svoz biologického materiálu je zajištěn v 9:00 a 10:30 hod.

Ve dnech 8. – 10. března 2019 došlo k přestěhování kompletního laboratorního provozu MeDiLa do nově zrekonstruovaných prostor v rámci Polikliniky

na Halasově nám. v Brně - Lesné. Řada zájemců si nové prostory prohlédla v rámci Dne otevřených dveří 11. 4. 2019.

David Maršálek
ředitel obchodu a marketingu
MeDiLa spol. s r.o.



Editor: Ing. František Šturm, Ph.D.
Vydává: MeDiLa spol. s r.o.
Adresa: Štrossova 1931,
530 03 Pardubice
E-mail: medila@medila.cz
Web: www.medila.cz

Pardubice, Štrossova 1931, 530 03 Pardubice - areál „Veteriny“
tel. 800 737 304; e-mail: medila@medila.cz

Hradec Králové, II. poliklinika, Slezské předměstí, Bratři Štefanů 895
tel. 800 737 305; e-mail: medila@medila.cz

Brno, Poliklinika Lesná, Halasovo nám. 1, tel. 800 111 210; e-mail: medila@medila.cz

Žamberk, Poliklinika, nám. Gen. Knopa 837, tel. 800 737 306; e-mail: medila@medila.cz

Dačice, areál Nemocnice Dačice, Antonínská 85/II, tel. 800 111 210; e-mail: medila@medila.cz

Turnov, Ohrazenice 285, tel. 800 888 250; e-mail: medila@medila.cz

Tanvald, areál Nemocnice Tanvald, Nemocniční 287, tel. 800 888 770; e-mail: medila@medila.cz

ATB konzultace; pondělí – pátek 10:00 -15:00 tel. 800 737 338

BULLETIN - PŘÍLOHA

Západonilská horečka v České republice

Úvod

Virus západonilské horečky (WNV) je významným neurotropním virem přenášeným komáry rodu *Culex*. Byl poprvé izolován v roce 1937 z krve člověka s horečnatým onemocněním na severu Ugandy. Patří do komplexu virů japonské encefalitidy rodu *Flavivirus* a je blízké příbuzný např. virům Usutu, viru japonské encefalitidy a viru St. Louis encefalitidy. Jedná se o obalený ss-RNA virus s nesegmentovaným genomem kódující polyprotein, který se následně štěpí na tři strukturální proteiny (C, M a E) a sedm nestrukturálních proteinů (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B a NS5) uplatňující se v různých fázích virové replikace. V současnosti je známo osm fylogenetických linií viru (Fall et al. 2017), z nichž pouze linie 1 a 2 prokazatelně způsobují lidská onemocnění. Linie 1a se vyskytuje v Evropě, na Blízkém Východě, v Africe a v roce 1999 byla introdukována do Severní Ameriky. Linie 1b se vyskytuje v Austrálii, označuje se názvem Kunjin. Linie 2 byla původně přítomna pouze v subsaharské Africe, od roku 2004 se šíří v Evropě a v současné době zde dominuje. V Evropě se nyní paralelně vyskytují genotypy 1a a 2.

Epidemiologie

Rezervoárem infekce jsou různé druhy ptáků, u nichž dochází k významné virémii, která je většinou asymptomatická a bývá tak zdrojem pro další šíření nákazy prostřednictvím vektorů. Pro některé druhy ptáků, především dravce a krkavcovité, je však WNV vysoce virulentní a nákaza se u nich projevuje hromadnými úhyny v zasažených oblastech. Úhyny ptáků často předcházejí případům infekce u lidí nebo koní. Šířitelé infekce napříč kontinenty jsou viremiciťmi ptáci cestující ze subsaharské Afriky, severní Afriky nebo středního Východu do Evropy. Předpokladem introdukování nákazy v nových lokalitách je schopnost viru přezimovat v nakažených komárech. Člověk a ostatní savci (např. koně) se mohou virem nakazit a onemocnět, ale virémie je u nich jen krátkodobá a nízká, a proto nejsou rezervoárem infekce pro její další šíření. Přenašeči (vektory) infekce jsou komáři rodu *Culex*, v Evropě jsou hlavními vektory *Culex pipiens* a *Culex modestus*, tedy komáři u nás zcela běžní. Rozlišují se dva biotypy *C. pipiens*, z nichž *C. pipiens pipiens* saje přednostně na ptácích a má klíčovou roli v enzootickém cyklu pře-

nosu WNV v populacích ptáků, zatímco *C. pipiens molestus* saje na savcích a v přenosu viru nehraje významnou roli. V přenosu nákazy na člověka a koně se pravděpodobně nejvíce uplatňují hybridy obou biotypů. K přenosu nákazy dochází v období aktivity komárů, tedy od jara do podzimu. Jejich aktivita závisí na průměrných denních teplotách. Nejvíce nákaz je v mírném podnebí pozorováno od července do září.

Výskyt v Evropě

Na základě sérologických studií byla potvrzena cirkulace WNV v Evropě již v 50. letech minulého století (Bardos V. et al. 1959). První hromadný výskyt onemocnění WNV u lidí byl zaznamenán v letech 1962-1963 na jihu Francie (Joubert L. et al. 1970), velká epidemie proběhla v roce 1996 v Rumunsku (Tsai TF et al. 1998). Od té doby jsou případy onemocnění u lidí i koní pravidelně hlášeny z různých států především na jihu Evropy (Sambri V. et al. 2013). V roce 2018 byl v Evropě zaznamenán nebývalý nárůst počtu humánních případů WNV infekce ve srovnání s předchozím obdobím. Případy se začaly objevovat o několik týdnů dříve než v dřívějších sezónách, případy se vyskytly nejen ve známých endemických oblastech, ale i v nových lokalitách a ve státech dosud infekcí nezasažených. K 6. prosinci 2018 bylo v Evropě evidováno 2082 onemocnění WNV u lidí, z toho v zemích EU bylo hlášeno 1503 případů, což představuje pěti násobný nárůst ve srovnání s rokem 2017. 180 osob v Evropě na tuto infekci zemřelo. Nejvíce případů hlásí Itálie (576), Srbsko (415), Řecko (311), Rumunsko (277) a Maďarsko (215). Případy se dále vyskytly v Chorvatsku, Francii, Rakousku, Bulharsku, Turecku, Kosovu, Slovinsku, na Kypru a v České republice (ECDC 2018). V České republice bylo k tomuto datu hlášeno pět autochtonních nákaz včetně jednoho úmrtí a dva případy importovaných nákaz z Řecka a Rakouska.

Situace v České republice

V České republice má výzkum západonilské horečky dlouhou tradici. První případy pravděpodobně infekce WNV u lidí byly zaznamenány již v roce 1997 v souvislosti s rozsáhlými povodněmi, původcem byla pravděpodobně linie WNV-1, jehož přítomnost byla opakovaně potvrzena v populacích komárů *Culex modestus* odchycených v okolí rybníků na jižní Moravě (Hubalek et al. 1999, Rudolf

et al. 2014). Opakovaně byly detekovány specifické protilátky proti WNV u ptáků (Straková et al. 2015) a koní (Sedlák et al. 2014). Od roku 2013 je opakovaně nalézána přítomnost linie WNV-2 u komárů *Culex modestus* a *Culex pipiens* v oblasti rybníků Lednicko-Valtického areálu (Rudolf et al. 2014, Rudolf et al. 2018). První humánní případy s lokálním přenosem byly v ČR potvrzeny až v roce 2018, kdy onemocnělo celkem pět osob neuroinvasivní formou WNV infekce. U jedné osoby onemocnění skončilo úmrtím. Ke všem těmto případům došlo na Jižní Moravě.

Klinické projevy infekce WNV

Nejčastějším způsobem nákazy člověka je bodnutí infikovaného komára. Možnou cestou přenosu je i krevní transfúze nebo transplantace orgánů, z toho důvodu jsou v zasažených oblastech aplikována opatření pro zabránění přenosu. Vzácně lze virus přenést i z matky na plod nebo prostřednictvím mateřského mléka při kojení.

Inkubační doba západonilské horečky se pohybuje mezi 2 až 15 dny. Okolo 80 % nákaz probíhá bezpříznakově. Nejlehčí formou symptomatického průběhu je tzv. západonilská horečka objevující se přibližně u 20 % nakažených. Kromě horečky ji provázejí chřipkovité příznaky jako je bolest hlavy, svalů, kloubů, únava, malátnost, nadměrné pocení, makulopapulózní exantém, zvětšení lymfatických uzlin, bývají i zažívací obtíže jako nevolnost, zvracení, nechutenství a průjem. Všechny tyto příznaky zpravidla odezní bez následků během 3-5 dní. Pouze u méně než 1 % nakažených virus napadá centrální nervový systém. V těchto případech probíhá závažná, neuroinvasivní forma onemocnění. Nejmírnější z nich je meningitida, těžší formou jsou meningoencefalitida či myelitida. Tato forma může probíhat i bez horečky nebo dalších symptomů typických pro ostatní formy infekce WNV. Plně rozvinuté neuroinvasivní onemocnění končí smrtelně přibližně v 10 % případů. Těžký průběh a úmrtí jsou častější u starších a imunokompromitovaných osob. (Sejvar JJ et al. 2003, Pervanidou D. et al. 2014)

Laboratorní diagnostika infekcí WNV

Laboratorní diagnostika západonilské horečky je svízelná vzhledem k tomu, že se jedná o virus z čeledi *Flaviviridae*, a v běžně používaných sérologických

testech (ELISA, NIF) se vyskytuje vysoké procento zkřížených reakcí s ostatními flaviviry, např. s virem klíšťové encefalitidy. Vzhledem k tomu, že i klinický průběh je obdobný, nelze vyloučit, že za některými případy sérologicky diagnostikované klíšťové encefalitidy se mohou skrývat případy nepoznané západonilské horečky. Nejspolehlivější diagnostikou je kombinace přímých i nepřímých metod.

Infekci WNV lze prokázat přímým průkazem metodou PCR vyšetřením z krve, mozkomíšního moku nebo moče. Moč se podobně jako i u jiných flavivirů ukazuje jako mimořádně vhodný materiál pro přímý průkaz viru, protože pozitivita virové RNA v moči je delší a virová nálož vyšší než v séru nebo likvoru. Průkaz viru metodou PCR je vhodné pro jednoznačný průkaz a bližší charakterizaci viru konfirmovat sekvenací virové RNA. Srážlivá krev (sérum) a mozkomíšní mok jsou vhodným materiálem k RT-PCR jen v prvním týdnu trvání klinických příznaků, protože virus (resp. virová RNA) se v těchto materiálech vyskytuje jen krátkou dobu. Později lze virovou RNA detekovat v moči nebo v plně EDTA krvi, ve kterých trvá PCR pozitivita dva týdny i déle. Virovou RNA lze prokázat i v bi-optických či sekčních vzorcích mozku nebo míchy.

Negativní výsledek PCR však nevylučuje infekci WNV. Z toho důvodu musíme spoléhat na výsledky sérologické diagnostiky. Pro detekci specifických protilátek využíváme nejčastěji srážlivou krev (sérum), případně plazmu nebo mozkomíšní mok. Vyhledávací metodou je ELISA nebo nepřímá imunofluorescence (NIF), kterými detekujeme protilátky tříd IgG a IgM, případně aviditu IgG. Pozitivní výsledky sérologie je nutno vždy konfirmovat virusneutralizačním testem (VNT) z důvodu častého výskytu zkřížených reakcí s jinými flaviviry, které jsou způsobeny vazbou protilátek na společné epitopy E proteinu flavivirů. Je nutno vyloučit infekci jiným flavivirem a přítomnost zkříženě reagujících protilátek po předchozích vakcinacích (klíšťová encefalitida, žlutá zimnice, japonská encefalitida). Po očkování jsou dlouhodobě přítomny IgG protilátky a IgM mohou přetrvávat až několik měsíců. Obě třídy protilátek mohou zkříženě reagovat v testech ELISA a NIF určených pro diagnostiku WNV infekcí. Dokonce i konfirmační test VNT může vykazovat částečnou zkříženou reaktivitu. Proto pro rozlišení těchto infekcí by měl být proveden paralelně VNT na různé flaviviry, v našich podmínkách alespoň na virus klíšťové encefalitidy a virus Usutu v vzájemným porovnáním títů ve VNT stanovit správnou diagnózu. V nejasných případech je požado-

ván odběr párového séra s odstupem alespoň jednoho týdne, kdy průkazem akutní infekce je sérokonverze nebo minimálně čtyřnásobný vzestup titru neutralizačních protilátek.

Léčba a prevence

Léčba infekcí WNV je pouze symptomatická, jelikož není k dispozici účinné kauzálně působící antivirotikum. Není k dispozici ani vakcína proti WNV. Prevence spočívá především v ochraně před bodnutím komárů, použití repelentů, ochranných sítí do oken a eliminace nádob se stojatou vodou v blízkosti lidských obydlí, ve kterých se vyvíjejí komáři larvy. Pracoviště transfúzní služby v zasažených oblastech by měla v sezóně aktivity komárů zavádět plošné vyšetřování dárců krve metodou přímého průkazu virové RNA. V ostatních oblastech by pak měly být osoby po návratu z regionů s lokálním přenosem vyloučeny z dárčovství po dobu 28 dní.

Závěr

S ohledem na vývoj epidemiologické situace v Evropě a v České republice je nutno západonilskou horečku zahrnout do diferenciální diagnostiky neuroinfekcí, a to i u osob s negativní cestovatelskou anamnézou. Lze předpokládat další šíření této infekce v následujících sezónách i do dalších regionů České republiky, kde se zatím humánní případy nevyskytly. Vzhledem k častým zkříženým reakcím v rámci flavivirů je nutno počítat s tím, že za pozitivní sérologii klíšťové encefalitidy, která je u nás podstatně častější, se může skrývat infekce virem západonilské horečky. Je nutno myslet i na možnost zkřížených reakcí s dalšími flaviviry, např. s virem Usutu. Správná etiologická diagnostika pacientů s neuroinfekcemi je důležitá především z důvodů epidemiologických. Výskyt WNV v ČR má významný dopad také na transfúzní službu z důvodu zavedení nutných opatření k zabránění šíření této infekce krví.

Literatura

Fall G, Di Paola N, Faye M, Dia M, Freire CCM, Loucoubar C, et al. Biological and phylogenetic characteristics of West African lineages of West Nile virus. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017 Nov;11(11):e0006078

Bardos V, Adamcova J, Dedei S, Gjini N, Rosticky B, Simkova A. Neutralizing antibodies against some neurotropic viruses determined in human sera in Albania. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*. 1959;3:277-82.

Joubert L, Oudar J, Hannoun C, Beytout D, Corniou B, Guillon JC, et al. Epidemiology of the West Nile virus: study of a focus in Camargue. IV. Meningo-encephalomyelitis of the horse. *Ann Inst Pasteur (Paris)*. 1970 Feb;118(2):239-47.

Tsai TF, Popovici F, Cernescu C, Campbell GL, Nedelcu NI. West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania. *Lancet*. 1998 Sep 5;352(9130):767-71.

Sambri V, Capobianchi M, Charrel R, Fyodorova M, Gaibani P, Gould E, et al. West Nile virus in Europe: emergence, epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Aug;19(8):699-704.

European Center for Disease Prevention and Control. Weekly updates: 2018 West Nile fever transmission season. Stockholm: ECDC; 2018 [cited 20 September 2018]. Available from: <https://ecdc.europa.eu/en/west-nile-fever/surveillance-and-disease-data/disease-data-ecdc>

Hubalek Z, Halouzka J, Juřicová Z. 1999, West Nile fever in Czech Republic. *Emerg Infect Dis*, 5:594-5

Rudolf I., Bakonyi T., Šebesta O., Peško J., Vencliková K., Mendel J., Betášová L., Blažejová H., Straková P., Nowotny N., Hubálek Z. 2014. West Nile virus lineage 2 isolated from *Culex modestus* mosquitoes in the Czech Republic, 2013: expansion of the European WNV endemic area to the North? *Euro Surveill*. 19 (31):pii=20867.

Straková P., Šikutová S., Jedličková P., Sitko J., Rudolf I., Hubálek Z. 2015. The Common Coot as sentinel species for the presence of West Nile and Usutu flaviviruses in Central Europe. *Res. Vet. Sci*. 102: 159-161.

Sedlák K, Zelená H, Krívda V, Šatráň P. Surveillance západonilské horečky u koní v České republice v letech 2011–2013. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*, 2014;63:307–311.

Rudolf I., Bakonyi T., Šebesta O., Peško J., Vencliková K., Mendel J., Betášová L., Blažejová H., Straková P., Nowotny N., Hubálek Z. 2014. West Nile virus lineage 2 isolated from *Culex modestus* mosquitoes in the Czech Republic, 2013: expansion of the European WNV endemic area to the North? *Euro Surveill*. 19 (31):pii=20867

Rudolf I, Blažejová H, Šebesta O et al. West Nile virus (lineage 2) in mosquitoes in southern Moravia - awaiting the first autochthonous human cases. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*. Spring 2018;67(1):44-6. PubMed PMID: 30157657.

Sejvar JJ, Haddad MB, Tierney BC, Campbell GL, Marfin AA, Van Gerpen JA, et al. Neurologic manifestations and outcome of West Nile virus infection. *JAMA*. 2003 Jul 23;290(4):511-5

Pervanidou D, Detsis M, Danis K, Mellou K, Papanikolaou E, Terzaki I, et al. West Nile virus outbreak in humans, Greece, 2012: third consecutive year of local transmission. *Euro Surveill*. 2014 Apr 3;19(13).

MUDr. Hana Zelená
Mgr. Jakub Mrázek
Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě



Milí čtenáři,
nadcházející svátky vánoční a
blížící se změna letopočtu je tra-
dičním obdobím poděkovat za

důvěru, se kterou využíváte slu-
žeb naší společnosti. Z pohle-
du mé specializace přeji rovněž
bezproblémové vztahy se zdra-
votními pojišťovnami a státními
úřady.

Dovolte mi také vyslovit přá-
ní, aby celoroční shon, napětí a
stres nahradila vánoční pohoda
a klid, abyste se o Vánocích sešli
se všemi, na kterých Vám zále-
ží, jsou Vám blízcí a máte je rádi.
Abyste si vánoční svátky užili v
klidu, míru a pohodě a aby se
Vám vydařil nový rok 2020.

Šárka Štěpánková

Témata obsahu

Albuminurie

Okultní krvácení kvantitativně

Novinky v mikrobiologických
vyšetřeních II

PŘÍLOHA – Pohyb léčby? aneb
Vliv lázeňské péče na vybrané
biochemické parametry

Elektronickou verzi Bulletinu
naleznete na www.medila.cz.

Význam stanovení albuminu v moči (MAU) v kontextu včasné diagnostiky poškození endotelu

Albuminurie

Pojem albuminurie je obecný popis přítomnosti albuminu v moči, vyjadřovaný sice různými způsoby, ale dnes již s unifikovanými diagnostickými limity. Dřívější pojem „mikroalbuminurie“ se nemá používat. Albuminurie je asocio-
vána s komponentami metabolického syndromu, záněty, fyziologickými a pat-
ologickými stresy a vaskulární patologií s endotelovou dysfunkcí. Albuminurie je výsledkem procesu zvýšeného pro-
stupu albuminu přes cévní stěnu v glo-
merulu, ale analogické procesy mohou vést k akumulaci albuminu do suben-
doteliálního prostoru, rozvoji zánětu, akumulaci lipidů v cévní stěně a přispí-
vat tak k rozvoji aterosklerózy. V moz-
ku může přestup albuminu mimo cév-
ní řečiště představovat rizikový faktor neurologických chorob. Zdá se tedy, že
spojování pozitivitu albuminurie s dia-
betickou nefropatií je pouze menší částí
velmi široké problematiky a že použití
vyšetření koncentrace albuminu v moči
by se mělo provádět mnohem častěji,
než tomu dosud je.

Technika vyšetřování albuminurie

Jak nefrologové, tak diabetologové se
shodují na principu „2 ze 3“; to zna-

mená, že pro posouzení negativity al-
buminurie musejí být minimálně dva
vzorky ze tří negativní a za pozitivitu se
považují minimálně dva pozitivní vzor-
ky ze tří měření albuminurie. Přednost
se dává poměru albumin/kreatinin ve
vzorku moče, ale připouští se vyšetření
albuminurie ve sbírané moči. Pro CKD
existuje možnost zařazení do stadia A1,
A2 a A3 i pomocí stanovení proteinurie,
ale pouze v situacích, kdy není měř-
ení albuminurie dostupné. Frekvence
vyšetřování je různá podle klinických
souvislostí, podobně jako je různě de-
finován interval, během kterého musí
být vyšetření albuminurie opakováno.
Důležité je kvantitativní vyšetření albu-
minurie v laboratoři. Negativita protei-
nurie zjištěná pomocí diagnostického
proužku nevylučuje pozitivitu albumi-
nurie a zvýšené riziko pacienta. Většina
tzv. specifických diagnostických prouž-
ků pro detekci albuminurie nedosahuje
potřebné citlivosti a v porovnání s la-
boratorními metodami mohou poskyt-
nout zavádějící výsledky.

Indikace vyšetření albuminurie

Stanovení albuminurie má několik zá-
kladních indikací

- Diabetes mellitus (aktuální celosvě-
tově uznávaná stanoviska Americké

diabetologické společnosti – ADA –
jsou publikována každý leden v časopise
Diabetes Care, podrobnější údaje o
dostupnosti uvádí tabulka 1, materiály
jsou volně přístupné)

- Chronické onemocnění ledvin (CKD,
chronic kidney disease, stále platí
doporučení pro použití albuminurie
pro klasifikaci CKD společně s od-
hadem hodnoty glomerulární filtra-
ce, GFR, glomerular filtration rate,
opět volně dostupné jako tzv. CKD
KDIGO 2012 Guideline, podrobněji
o dostupnosti rovněž tabulka 1)
- Hypertenze (guidelines Evropské
kardiologické společnosti uvádějí
albuminurii mezi faktory ovlivňují-
cí kardiovaskulární riziko u hyper-
toniků, doporučuje se měření ACR
u všech hypertoniků, třída doporu-
čení I/váha důkazů B, dostupnost
uvádí tabulka 1)
- Zvýšené kardiovaskulární riziko bez
diabetu a bez hypertenze (navrženo
v guidelines amerických kardiolo-
gických společností, evropská gu-
idelines zatím nemají jednoznačné
stanovisko)
- Akutní poškození ledvin (protože al-
buminurie může být obrazem poru-
chy proximální tubulární reabsorpce
albuminu; existují názory, že vyšetře-

ni albuminurie má podobnou výpočetní hodnotu jako vyšetření jiných biomarkerů tubulárního poškození)

Tabulka 1

Literární odkazy na zásadní zdroje informací o chorobách s hromadným výskytem, u kterých hraje stanovení albuminurie významnou roli: chronické onemocnění ledvin (CKD), diabetes mellitus, riziko kardiovaskulárních chorob a hypertenze

Guidelines uvedené v tabulce 1 představují recentní názory institucí s celosvětovou autoritou. Názory na použití albuminurie, uvedené v těchto doporučeních, jsou jistě důležitá, ale podstatná jsou celá znění guidelines, zahrnující aktuální přehled o diagnostice a terapii chorob s hromadným výskytem.

Diagnostické meze

Všeobecně uznávané hodnoty pro pozitivitu albuminurie 30 mg/den byly konfrontovány s praktickým a nově doporučovaným způsobem vydávání výsledků ve formě poměru albumin/kreatinin (ACR, albumin-to-creatinine ratio). Harmonizaci a současně i rozdělení do tří stadií přineslo doporučení CKD KDIGO 2012:

- stadium CKD A1 – ACR do 3 g/mol nebo vylučování do 30 mg/den
- stadium CKD A2 (dříve mikroalbuminurie) – ACR 3 až 30 g/mol nebo vylučování 30 až 300 mg/den
- stadium CKD A3 – ACR nad 3 g/mol nebo vylučování nad 300 mg/den (pojem makroalbuminémie je nevhodný).

Vztah k patofyziologii

Dysfunkce endotelu je průvodním zjevem počátku a rozvoje patologické

albuminurie. Albuminurie tak může odražet difúzní dysfunkci endotelu všech cév, včetně cév mozku. Endotelová dysfunkce je rovněž kritickým faktorem rozvoje onemocnění koronárních tepen a zvýšeného kardiovaskulárního rizika. Pozitivita albuminurie nebo její progresse souvisí s rizikem iktu, zhoršováním glomerulární filtrace, mikrovaskulárních komplikací (retinopatie). Existuje vazba mezi mikrozánětem v cévách a albuminurií (Abdelhafiz, 2011).

Vztah k prognóze

Tradiční rizikové faktory kardiovaskulárních chorob, například podle Framinghamského modelu (věk, rasa, pohlaví, systolický krevní tlak, použití antihypertenziv, celkový cholesterol, HDL cholesterol, kuřáctví a diabetes), mohou být efektivně doplněny vyšetřením odhadu glomerulární filtrace (ideálně pomocí rovnice CKD-EPI ze sérového kreatininu, eGFR) a stanovením albuminurie. S poklesem eGFR a vzestupem albuminurie stoupá u pacientů mez manifestního kardiovaskulárního onemocnění riziko celkové kardiovaskulární mortality, onemocnění koronárních arterií, srdečního selhání a iktu (Mathushita, 2015). Naopak, pozitivita albuminurie nebo její progresse zachycená u pacientů s CKD, diabetem, hypertenzí nebo srdečním selháním je faktor nepříznivé prognózy a dalších kardiovaskulárních komplikací těchto pacientů.

Vztah k terapii

Korekce hypertenze (ACE inhibitory i sartany) snižuje albuminurii, včetně albuminurie u CKD a snížení krevního tlaku k požadovaným hodnotám snižuje mortalitu a kardiovaskulární riziko. Je nutné poznamenat, že názory na kauzální vztah mezi albuminurií

a kardiovaskulárním rizikem se liší, shoda panuje v údajích o snížení mortality a kardiovaskulárního rizika při snížení albuminurie.

Závěr

Vztah albuminurie k endotelové dysfunkci se zdá být kauzální a stanovení albuminurie tedy není jen marker, ale patofyziologický faktor. Vyšetření albuminurie proto není pouze ukazatel poruchy funkce ledvin nebo dekompenzace diabetu, ale významný kardiovaskulární rizikový faktor. Stanovení má význam pro určení kardiovaskulárního rizika, pro klasifikaci onemocnění ledvin, pro monitorování kompenzace diabetes mellitus, pro určení prognózy i pro sledování efektivity terapie, včetně terapie hypertenze. Stanovení albuminurie by se proto mělo provádět častěji a vždy v komplexu s dalšími laboratorními a klinickými faktory.

Literatura

Abdelhafiz AH, Ahmed S, El Nahas M. Microalbuminuria: marker or maker of cardiovascular disease. *Nephron Exp Nephrol.* 2011;119 Suppl 1:e6-10. doi: 10.1159/000328015. Epub 2011 Aug 10.

Matsushita K, Coresh J, Sang Y et al. Estimated glomerular filtration rate and albuminuria for prediction of cardiovascular outcomes: a collaborative meta-analysis of individual participant data. *Diabetes Endocrinol.* 2015 Jul;3(7):514-25. doi:10.1016/S2213-8587(15)00040-6. Epub 2015 May 28.

Prof. MUDr. Antonín Jabor, CSc.
Pracoviště laboratorních metod,
IKEM Praha

Tabulka 1

Název guideline	Kdo za guidelines stojí (instituce)	Stránka instituce	Guideline (www, citace)
KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease	KDIGO	https://kdigo.org/	https://kdigo.org/wp-content/uploads/2017/02/KDIGO_2012_CKD_GL.pdf
Standards of Medical Care in Diabetes—2019	American Diabetes Association	http://www.diabetes.org	https://care.diabetesjournals.org/content/diacare/suppl/2018/12/17/42.Supplement_1.DC1/DC_42_S1_2019_UPDATED.pdf
2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice	European Society of Cardiology	https://www.escardio.org	https://www.escardio.org/Guidelines/Clinical-Practice-Guidelines/CVD-Prevention-in-clinical-practice-European-Guidelines-on
2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension	European Society of Cardiology	https://www.escardio.org	https://www.escardio.org/Guidelines/Clinical-Practice-Guidelines/Arterial-Hypertension-Management-of

Kvantitativní analýza hemoglobinu ve stolici (okultní krvácení)

V České republice je kolorektální karcinom (KRCA) druhým nejčastějším nádorovým onemocněním trávicího trak-

tu. Úmrtnost na tyto nádory je relativně vysoká, což souvisí s tím, že nádory jsou zjištěny až v pokročilém stádiu. Pokud

je však zjištěn v časném stádiu, patří kolorektální karcinom mezi nejlépe léčitelné nádory.

Kolorektální karcinom je onemocněním s genetickým podkladem. V průběhu malignizace dochází k přeměně normální sliznice přes adenom na karcinom. Proces kancerogeneze trvá v průměru 8 – 10 let, a proto je možné screeningem zachytit premaligní stadia, adenomy, a jejich odstraněním zabránit vzniku karcinomu.

Screeningové programy zahrnují především laboratorní metody detekce okultního krvácení – FOBT (Fecal Occult Blood Test) = TOKS (Test okultního krvácení ve stolici), detekci genetických markerů a zobrazovací metody.

Plošný národní program screeningu KRCA na základě vyšetření okultního krvácení ve stolici byl zaveden v České republice 1. 7. 2000 pro rizikové jedince (předchozí nález v kolonoskopii, ulcerózní kolitida, KRCA v rodině, sy. familiární polypózy) a nově i asymptomatické jedince ve věku od 50 let 1 x ročně, ve věku od 55 let 1 x za 2 roky.

Od roku 2009 je v rámci screeningového programu alternativou k vyšetření okultního krvácení pro osoby starší 55 let také screeningová kolonoskopie. Od tohoto roku jsou také povoleny imunochemické testy na okultní krvácení.

Od ledna 2014 se screening KRCA stává populačním screeningem a je organizován Radou pro screening kolorektálního karcinomu ČGS a Komisí pro screening nádorů kolorekta MZ ČR ve spolupráci se zdravotními pojišťovnami. Pro screening KRCA mohou TOKS testy indikovat pouze praktičtí lékaři a gynekologové.

Kvantitativní imunochemický test na stanovení lidského hemoglobinu představuje novou generaci testů k detekci okultního krvácení ve stolici pro screening KRCA. Tento typ testu je založen na specifické reakci s protilátkou proti lidskému HbA0 a není nijak závislý na dodržení dietních omezení pacientem. Nahrazuje starší nespecifické testy založené na principu oxidační reakce. Tyto testy byly ovlivněny přítomností jiných oxidačních látek (vit. C, Fe), přítomností hemoglobinu z potravy, falešně pozitivní výsledek mohl být způsoben i přítomností rostlinných peroxidáz (kořenová zelenina). Pacient proto musel před vyšetřením dodržet dietní opatření.

Stanovení hemoglobinu ve stolici kvantitativní metodou je vhodné pro screening kolorektálního karcinomu. Tento test je založen na skutečnosti, že většina kolorektálních karcinomů a větších adenomů ztrácí u asymptomatických jedinců intermitentně do stolice malé množství krve, které lze testem na okultní krvácení detekovat.

Test okultního krvácení ve stolici je v případě positivity indikací ke kolonoskopickému vyšetření, a je proto prvním stupněm screeningu KRCA.

Stanovení hemoglobinu ve stolici kvantitativní analýzou je v současné době optimální metodou, která splňuje kritéria pro screening definovaná Světovou zdravotnickou organizací. Kvantitativní analýza hemoglobinu ve stolici vykazuje pro screening KRCA 90% senzitivitu a koncentrace hemoglobinu ve stolici jsou ve vztahu k velikosti lézí či závažnosti a stadiu KRCA. Umožňuje optimalizaci screeningu KRCA volbou kritéria positivity (cut-off) indikující screeningovou kolonoskopii.

ČSKB doporučuje pro stanovení okultního krvácení a screening v ČR jednotný postup, doporučuje výhradně kvantitativní stanovení Hb ve stolici a výsledky vyjadřovat v **jednotkách $\mu\text{g Hb/g stolice}$ s hodnotou cut off $15 \mu\text{g Hb/g stolice}$** . Tato hodnota byla definována na základě studie 815 kolonoskopických pacientů provedená ve spolupráci IV. Interní kliniky VFN, II. Interní kliniky FTN a ÚKBLD VFN a 1. LF UK Praha a odlišuje skupinu pokročilých polypů a karcinomů.

Studie z pracoviště prof. Rozena z Tel Avivu stanovila rozmezí (95% rozsah průměrných hodnot) pro jednotlivá stadia KRCA:

- Normální kolonoskopický nález: 5 – 9 $\mu\text{g Hb/g stolice}$
- Nepokročilý adenom: 28 – 53 $\mu\text{g Hb/g stolice}$
- Pokročilý adenom: 63 – 131 $\mu\text{g Hb/g stolice}$
- Karcinom: 140 – 295 $\mu\text{g Hb/g stolice}$

Vyjadřování výsledků kvantitativních imunochemických testů v jednotkách $\mu\text{g Hb/g stolice}$ je zcela nezbytné. Použití této jednotky umožňuje porovnání

výsledků testů různých výrobců, lišících se odběrovou kazetou, množstvím odebrané stolice a rozdílným objemem stabilizačního pufru. Použití této jednotky je také nezbytné pro epidemiologické hodnocení populačního screeningu KRCA v České republice.

Spolehlivost kvantitativní analýzy zajišťuje v České republice systém externí kontroly kvality podle standardů definovaných v ČSN EN ISO 15189 společností SEKK. Účast v systému externího hodnocení kvality je pro laboratoř nebo ambulanci provádějící kvantitativní stanovení hemoglobinu ve stolici povinná.

Testy na okultní krvácení jsou v dnešní době neoddelitelnou součástí gastroenterologického vyšetření. Kvantitativní stanovení je vhodné pro masový screening nebo pro vyšetřování rizikových skupin pacientů a pro monitorování léčby pacientů s kolorektálním karcinomem.

V laboratořích MeDiLa bylo kvantitativní stanovení hemoglobinu ve stolici zavedeno 1. 7. 2019. Kód laboratorního výkonu 81733 (103 body). Vyšetření provádíme denně.

Literatura:

Levi Z., Rozen P., Hazari R., Vilkin A., Waked A., Maoz E., Birkenfeld S., Leshno M., Niv Y. A Quantitative Immunochemical Fecal Occult Blood Test for Colorectal Neoplasia. *Ann Intern Med.* 2007; 146: 244-255

Dubská L., Nechvátal J. Kvantitativní stanovení hemoglobinu ve stolici, Laboratorní technologie. *FONS* 2009; 3: 13-15.

Kocna P., Zima T. Kvantitativní imunochemické testy detekce krve ve stolici pro screening kolorektálních tumorů. *FONS* 2012; 3: 4-7.

Kocna P., Zima T. Stanovisko ke stanovení hemoglobinu ve stolici kvantitativní analýzou. *Klinická biochemie a metabolismus* 2015; 2: 78-81.

Kocna P. Kvantitativní analýza hemoglobinu ve stolici – význam pro screening kolorektálního karcinomu. *Onko Revue* 2017; 2: 6-10.

**Mgr. Jakub Kovařík,
MUDr. Jana Doležalová
MeDiLa spol. s r.o.**

Novinky v mikrobiologických vyšetřeních II.

Na konec roku 2019 a 1. čtvrtletí roku 2020 chystáme v mikrobiologické laboratoři zavést některé nové vyšetřovací postupy a metody, které se budou týkat sérologických, bakteriologických i molekulárně biologických (PCR) vyšetření. Spektrum sérologických metod chceme doplnit o vyšetření, která nepatří

mezi často indikovaná, ale mohou přispět ke správné diagnostice méně častých infekčních onemocnění. Abychom se vyhnuli delší časové odezvě (TaT) těchto vyšetření (z důvodů sběru vzorků) doplníme přístrojové vybavení sérologické laboratoře o analyzátor, který stanovuje vzorky po metodě a pacientovi. V současné době probíhá výběrové řízení, které máme v plánu uzavřít do konce měsíce listopadu.

Sérologické metody bychom chtěli doplnit o vyšetření protilátek proti **hepatitidě E** (IgM, IgG), která je svými projevy a cestou přenosu podobná virové hepatitidě A a její výskyt je spojen hlavně s konzumací pokrmů z masa vyrobených v nestandardních pod-

minkách (domácí zabijačky, zvěřinové hody). Infekce hepatitidou E může být nebezpečná u těhotných žen, kde hrozí předčasné porody a udává se i vyšší mortalita.

Sérologické metody budeme dále rozšiřovat o diagnostiku exantémových onemocnění – o průkaz protilátek proti lidskému **Parvoviru B19** (původce *erythema infectiosum*, 5. nemoc) ve třídě IgM a IgG, lidskému **herpesviru 6** (HHV6, původce 6. exantémové nemoci) ve třídě IgM a IgG a proti viru **zarděnek** ve třídě IgM a IgG. Dále chceme doplnit sérologickou diagnostiku o vyšetřování protilátek proti nejčastějším zoonózám – tularémii, brucelóze a bartonelóze. Vyšetřování hladin postvakcinačních protilátek doplníme o stanovení protilátek proti diphtherii (záškrt) ve třídě IgG a polioviru (dětská obrna) také ve třídě IgG.

Přístrojové vybavení sérologické laboratoře máme v plánu doplnit ještě o automatický analyzátor na zpracování blotů. Spektrum metod vyšetřovaných postupem Western blot chceme rozšířit o vyšetření protilátek proti *Chlamydia pneumoniae* a *Chlamydia trachomatis*. Doufáme, že tento postup nám umožní konfirmovat tvorbu protilátek proti *Chlamydia sp.* a také zpřesnit interpretaci výsledků.

Bakteriologickou diagnostiku chceme

rozšířit o cílenou kultivaci *Legionella pneumophila* v klinickém materiálu. *Legionella* je kultivačně náročná G- bakterie, která vyžaduje speciální obohacené kultivační půdy a prodlouženou dobu kultivace. Součástí diagnostiky legionelové infekce bude průkaz specifického legionelového antigenu v moči, který se do ní vylučuje v průběhu infekce. Legionelové infekce postihují hlavně starší generaci a osoby s oslabeným imunitním systémem. Infekce se přenáší vodním aerosolem, který se dostane do dýchacích cest vdechnutím. Legionely se mohou vyskytovat v klimatizaci, vzduchotechnice, vodovodním řádu, zvlhčovačích vzduchu. Infekce se projevuje onemocněním dýchacích cest, pneumonií, bolestmi hlavy a kloubů, zvýšenou teplotou. Cílená kultivace *Legionella pneumophila* se provádí z materiálu z dýchacích cest – sputa, BAL (bronchoalveolární laváže). Průkaz specifického antigenu se provádí v moči odebrané do sterilní zkumavky. Laboratoř molekulární biologie jsme tento rok vybavili novou technologií – automatickým cyklem pro RT-PCR CrooBEE a automatickým izolátorem DNA/RNA CroBEE od firmy GenePro- of. Stávající metody jsme postupně verifikovali při přechodu na tuto novou technologii.

Spektrum vyšetření prováděných v laboratoři PCR chceme doplnit o dia-

gnostiku respiračních infekcí – průkaz DNA *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, dále o průkaz DNA/RNA virů způsobujících respirační infekce – viru chřipky A, B, RS viru, Adenoviru, viru parainfluenzy a Rhinoviru ve steru z nasofaryngu. Pro průkaz těchto virů pravděpodobně využijeme multiplexové metody PCR.

Po zkušenostech s letošní epidemií spalniček doplníme jejich diagnostiku i přímým průkazem – stanovením RNA viru spalniček ve výtěru z nasofaryngu. Vzhledem k tomu, že interpretace sérologických nálezů u očkované populace může být při epidemii spalniček problematická, bude přímý průkaz infekce užitečným doplněním vyšetřovacích metod pro diagnostiku tohoto onemocnění.

Nové metody a postupy budou v naší laboratoři zaváděny postupně, po instalaci nových automatických analyzátorů. Lékaři spolupracující s laboratoří budou o všech nových metodách informováni prostřednictvím informačních dopisů, kde budou uvedeny potřebné informace o druhu a způsobu odběru vzorků, odběrovém materiálu, době odezvy vyšetření, eventuálně stabilitě vzorků. Tyto metody budou také postupně doplňovány do žádanky – papírové i elektronické.

Mgr. Kateřina Žemličková
MeDiLa spol. s r.o.

Aktuality

Zájem o služby laboratoří MeDiLa stále roste. Proto jsme otevřeli další odběrové centrum, tentokrát v Trutnově na Poliklinice Masarykův Dům, Palackého 201. Naše odběrové sestry jsou zde k dispozici pacientům v pracovní dny v době od 7:00 do 12:00 hod. Toto odběrové centrum spadá pod Laboratorní centrum Hradec Králové.

Vyšetření indexu zdraví prostaty (Prostate Health Index – PHI) se stalo významnou součástí diagnostiky onemocnění prostaty (viz Bulletin 4/2013 a 2/2017). Požadavky na uvedené vyšetření stále rostou, a proto jsme přestali využívat služeb smluvní laboratoře a zavedli toto speciální vyšetření od září 2019 rutinně v našich laboratořích.

V září, říjnu a listopadu proběhl na 6ti místech seriál tradičních podzimních seminářů pro lékaře a sestry. Překvapil nás zájem a mnohem větší účast než v předchozím roce. Největší pozornost vzbudily přednášky s klinickými tématy z diabetologie, gynekologie, gastroenterologie, interny, ORL, problematika planých neštovic a urgentní medicíny. Děkujeme všem přednášejícím i posluchačům za účast. Věříme, že semináře opět přinesly účastníkům užitečné informace, které uplatní ve svých ordinacích.

Ing. František Štumor, Ph.D.

Citrónové rohlíčky babičky Jitky

Suroviny

Těsto: 400 g hladké mouky, 250 g másla, 200 g moučkového cukru, 3 žloutky, šťáva i kůra z 1/2 citrónu

Základní máslový krém: 250 g másla, 6 PL moučkového cukru, 1 vejce, citrónová šťáva

Citrónová poleva: 300 g moučkového cukru, 2 PL citrónové šťávy, 2 PL horké vody

Postup přípravy receptu

1. Vypracujeme těsto a necháme přes noc v chladničce uležet. Na druhý den přes folii vyválíme a vypichujeme rohlíčky.
2. Pečeme cca 6-7 minut na 200°C. Plníme citrónovým krémem a poléváme citrónovou polevou.
3. Citrónový krém: do základního máslového krému vmícháme šťávu z půlky citrónu.
4. Citrónová poleva: uvedené suroviny řádně vymícháme.

Ladka Štefčková



MEDILA
LABORATOŘE

Editor: **Ing. František Štumor, Ph.D.**

Vydává: **MeDiLa spol. s r.o.**

Adresa: **Štrossova 1931,
530 03 Pardubice**

E-mail: **medila@medila.cz**

Web: **www.medila.cz**

Pardubice, Štrossova 1931, 530 03 Pardubice – areál „Veteriny“
tel. 800 737 304; e-mail: **medila@medila.cz**

Hradec Králové, II. poliklinika, Slezské předměstí, Bratří Štefanů 895
tel. 800 737 305; e-mail: **medila@medila.cz**

Brno, Poliklinika Lesná, Halasovo nám. 1, tel. 800 111 210; e-mail: **medila@medila.cz**

Žamberk, Poliklinika, nám. Gen. Knopa 837, tel. 800 737 306; e-mail: **medila@medila.cz**

Dačice, areál Nemocnice Dačice, Antonínská 85/II, tel. 800 111 210; e-mail: **medila@medila.cz**

Turnov, Ohrazenice 285, tel. 800 888 250; e-mail: **medila@medila.cz**

Tanvald, areál Nemocnice Tanvald, Nemocniční 287, tel. 800 888 770; e-mail: **medila@medila.cz**

ATB konzultace; pondělí – pátek 10:00 -15:00 tel. 800 737 338

Pohyb léčí?

Naprostá většina pacientů se po pobytu v lázních, kde dodržují lázeňský řád a rady lékaře, cítí skvěle. Tato skutečnost je ovšem pouze subjektivní a odpůrci lázeňské léčby, která je bezesporu nákladná, tvrdí, že subjektivní dobrý pocit je vyvolaný pouze tím, že dotyčný pacient je zbaven denních starostí o práci a rodinu. S těmito pochybnostmi se setkávají především lázně, ve kterých není léčba založena na působení léčivých vod. Pravda je jiná. Blahodárnost léčebného lázeňského pobytu se projevuje dlouhou dobu i po návratu do běžných všedních dní. Objektivní hledisko pro hodnocení stavu pacienta, které by bylo neoddiskutovatelné, stále chybí.

V předkládané studii jsme se pokusili o nalezení objektivních parametrů pro hodnocení výsledků lázeňského pobytu u osob s narušenou psychikou. Studie byla provedena v Priessnitzových Léčebných lázních Jeseník. Zdejší léčba vychází z odkazu Vinceze Priessnitze o léčivé síle vody, pohybu a zdravém klimatu. Jesenické lázně neoplyvají léčivými minerálními vodami, ale „pouze“ čistou pramenitou vodou.

Pravidelné cvičení je vysoce efektivní strategie pro udržení kognitivního zdraví v průběhu celého života. Během posledních 20 let bylo v reakci na aerobní cvičení u lidí a zvířat dokumentováno mnoho molekulárních, fyziologických a strukturálních změn, zejména v hipokampu. Nicméně zůstává zatím nevysvětlené, jak cvičení produkuje takové neurologické změny [1, 2].

Pro objektivizaci hodnocení efektu lázeňské léčby jsme při návrhu studie vycházeli z našich zkušeností s neuroaktivními steroidy a neurosteroidy, které (jak je doložitelné mnoha pracemi Endokrinologického ústavu, ale i pracemi řady zahraničních kolegů z celého světa), hrají zásadní roli v psychické pohodě pacientů [3-6].

Je známo, že v mozku, který funguje také jako největší orgán s endokrinní produkcí, se tvoří řada steroidních hormonů (de novo nebo z prekurzorů), které se nazývají neurosteroidy. Veškeré steroidní hormony, které ovlivňují nervovou soustavu, nesou název neuroaktivní steroidy. Neurosteroidy jsou tedy podskupinou neuroaktivních steroidů. Prekurzory mohou pocházet z krevního oběhu po překonání hematoencefa-

lické bariéry a mohou jimi být steroidní hormony produkované periferními endokrinními žlázami např. nadledvinami. Neurosteroidy mohou působit na receptorech jak genomově, v řádech hodin až dnů, tak i nengenomově v řádech minut [7]. Genomové účinky se odehrávají v buněčném jádře na úrovni exprese určitého genu vedoucí k zahájení či inhibici syntézy proteinu. Nengenomové účinky spočívají ve vazbě na receptory buněčných membrán vedoucí například k ovlivnění propustnosti iontových kanálů. V centrální nervové soustavě (CNS) působí převážně na dvou základních typech receptorů, kterými jsou: receptory γ -aminomáselné kyseliny ($GABA_A$ receptory; propustnost pro Cl^- ionty) a na receptorech N-metyl-D-aspartátových (NMDA receptorech; propustnost pro Ca^{2+} ionty). Positivní modulace obou těchto typů receptorů působí de facto proti sobě a zaručuje tak rovnováhu organismu.

Nejnámějším steroidním představitelem pozitivního modulatoru $GABA_A$ receptoru je allopregnanolon (5α -redukováný progesteron), jehož účinky jsou podobné benzodiazepinům a jeho nedostatek, který vzniká při snížené funkci 5α -reduktázy, vede k neurotickým potížím podobným premenstruačnímu syndromu [8]. Čtenáře jistě napadne, zda se využívá allopregnanolon v humánní medicíně. Odpověď zní ano, ale musí být jeho molekula chráněna před sulfatací. Většina zevně podaných látek je v těle sulfatována a u allopregnanolonu platí, že tento sulfát působí na výše zmíněných receptorech přesně opačně, než molekula nekonjugovaného steroidu, tedy jako negativní modulator s opačným výsledkem působení. Allopregnanolon chráněný před sulfatací je obsahovou látkou léku Ganaxolone, který je silným antiepileptikem. Tato skutečnost je přímým důkazem ovlivnění CNS allopregnanolonom.

Na druhý typ receptorů v CNS působí pozitivní modulaci především pregnenolon sulfát nebo dehydroepiandrosteron sulfát. Positivní modulace NMDA receptorů vede až k excitaci a zvýšení paměti [9-11].

V naší laboratoři využíváme nejnovější chromatografické metody (konkrétně chromatografii plynovou, GC a kapalinovou, LC) ve spojení s hmotnostní spektrometrií (GC-MS/MS a LC-MS/MS)

nejen ke sledování výše jmenovaných neuroaktivních steroidů/neurosteroidů, ale jsme schopni s naprostou přesností identifikovat velkou část všech neuroaktivních steroidů a skupin jejich metabolitů. Jde o několik desítek látek, o kterých doposud nebylo mnoho známo a které při zvýšených či snížených hladinách mohou hrát zásadní roli ve vzniku neurologických poruch na straně jedné a na druhé straně následná změna po léčebném pobytu v lázních by mohla být objektivním parametrem pro vyhodnocení blahodárnosti působení lázní.

Samozřejmě, že změny ve steroidním spektru nejsou jedinými faktory podílejícími se na zlepšení stavu pacientů. Z dalších faktorů endokrinního charakteru, jejichž změněné hladiny jsou nejvíce patrné, jsou serotonin a homocystein.

O aminokyselině homocysteinu toho bylo napsáno mnoho, jde o nespecifický parametr. Jedná se o aminokyselinu vznikající při metabolismu esenciální aminokyseliny methioninu jako vedlejší produkt, který je buď recyklován zpět na methionin, nebo na užitečnou nesenciální aminokyselinu cystein, která je významnou složkou bílkovin. Metabolismus homocysteinu je ovlivňován kyselinou listovou, vitamínem B6 a B12. Jestliže nejsou přítomny v dostatečném množství, dochází k poruchám, homocystein se hromadí v krvi a vzniká takzvaná hyperhomocysteinemie [12-14].

S jistotou můžeme říci, že vysoké koncentrace homocysteinu jsou pro organismus škodlivé. Nahromadění homocysteinu může vést až k oxidačnímu stresu, který patří k současným největším nepřátelům nejen lidí, ale všech živočichů.

Do nedávna byla vysoká hladina homocysteinu prokazována nejčastěji u kardiovaskulárních onemocnění, ale v současnosti i u celé řady civilizačních onemocnění jakými jsou například: deprese, Alzheimerova choroba, parkinsonismus, roztroušená skleróza, migrény, chronický únavový syndrom, alergie, snížená imunita atd.

O blahodárnosti serotoninu není potřeba se šířit. Poruchy dopaminergní a serotoninergní signalizace mohou hrát roli v patofyziologii úzkostných poruch i Parkinsonovy nemoci [15]. Prekurzor (L-tryptofan) serotoninu tohoto „hor-

monu štěstí“ je možné koupit jako potraviny doplněk snad v každé lékárně. L-tryptofan je esenciální aminokyselina (jedna z osmi esenciálních aminokyselin = nezbytných stavebních prvků bílkovin), které tělo musí získávat ze stravy (například z banánů). Z tohoto důvodu se lze na trhu setkat s celou řadou potravinových doplňků obsahujících L-tryptofan, které by měly podpořit tvorbu serotoninu [16]. Správná strava, zdravý pohyb v lázních a zklidnění vedou k normalizaci hladin homocysteinu i serotoninu a tím přispívají ke zlepšení zdravotního stavu osob.

Výběr pacientů

Tabulka - Efekt lázeňské léčby na hladiny laboratorních parametrů (medián s kvartily) vyhodnocené Wilcoxonovým robustním párovým testem

Variable	Jednotka	Stav A	Stav B	Relativní rozdíl 100·(B-A)/A (%)	
					p-value
Serotonin	nM	114 (43.5, 386)	141 (54.3, 606)	23.1 (-8.27, 85.9)	0.000537
Homocystein	μM	14.8 (12.1, 16.7)	11.6 (9.45, 15.4)	-17.1 (-24.8, 0.0276)	0.001724
Pregnenolon (LC)	nM	1.45 (0.618, 2.37)	1.74 (1.19, 3.14)	44.5 (-9.04, 146)	0.000088
17-Hydroxypregnenolon (LC)	nM	1.93 (1.16, 5.32)	3.97 (1.68, 6.27)	29.6 (-19.7, 203)	0.000945
DHEA (LC)	nM	9.73 (5.69, 14.4)	10.2 (6.98, 17)	16.4 (-17.7, 50.4)	0.007039
7 -Hydroxy-DHEA (LC)	nM	1.28 (0.914, 2.05)	1.63 (1.02, 2.32)	10.8 (-17, 54.3)	0.008637
Kortizol (RIA)	nM	467 (383, 612)	581 (469, 675)	18.3 (-2.9, 43.1)	0.000186
Pregnenolon sulfát (GC)	nM	88.5 (58.5, 114)	86.9 (68.9, 123)	10.9 (-7.45, 25.3)	0.012225
17-Hydroxypregnenolon sulfát (GC)	nM	3.58 (2.24, 5.7)	4.37 (3.14, 8.59)	31 (-12.1, 74.7)	0.000573
16 -Hydroxypregnenolon (GC)	nM	0.337 (0.216, 0.513)	0.359 (0.254, 0.627)	14.6 (-19.2, 87.4)	0.013852
Androstendiol (GC)	nM	1.53 (1.09, 2.3)	1.72 (1.35, 2.34)	6.16 (-12.5, 32.9)	0.033615
17-Hydroxyprogesteron (GC)	nM	0.77 (0.502, 1.32)	0.961 (0.547, 1.72)	36 (-28, 99.4)	0.010785
16α-Hydroxyprogesteron (GC)	nM	0.511 (0.287, 1.06)	0.685 (0.403, 1.04)	19.2 (-33.6, 145)	0.008337
Androstendion (GC)	nM	3.65 (2.27, 5.08)	3.85 (2.93, 5.78)	9.76 (-19.4, 49.4)	0.011931
Isopregnanolon sulfát (GC)	nM	8.16 (5.63, 11.2)	7.9 (6.41, 11.2)	5.53 (-9.32, 26.5)	0.045763
Konjugovaný epipregnanolon (GC)	nM	2.31 (1.14, 3.29)	2.06 (1.21, 3.31)	7.36 (-13.9, 30.6)	0.048639
5α-Pregnan-3α,20α-diol (GC)	nM	0.0566 (0.0331, 0.109)	0.0679 (0.0407, 0.106)	9.24 (-41, 87.6)	0.040856
Konjugovaný 5 -pregnan-3 ,20 -diol (GC)	nM	6.85 (4.96, 12)	6.15 (4.81, 10.4)	-11 (-28.3, 9.23)	0.018744
Konjugovaný 5 -pregnan-3 ,17 ,20 -triol (GC)	nM	26.4 (14.3, 60.9)	91.1 (34.5, 200)	185 (40, 416)	0.000000
Epiandrosteron (GC)	nM	1.09 (0.762, 1.58)	1.22 (0.865, 2.07)	14.8 (-17.3, 40.9)	0.024538
Epitiocholanolon sulfát (GC)	nM	43 (26.9, 72.2)	49 (29.3, 90)	20.4 (-1.88, 36.4)	0.000229
Konjugovaný 5 -androstan-3 ,17 -diol (GC)	nM	0.675 (0.373, 1.13)	0.773 (0.351, 1.47)	13.7 (-13.7, 54.7)	0.026321
Kortikosteron (GC)	nM	6.68 (3.57, 10.5)	9.7 (5.67, 14.2)	21.6 (-16.4, 122)	0.000845
3 ,5 -Tetrahydrokortikosteron	nM	0.0704 (0.0341, 0.212)	0.119 (0.0421, 0.311)	40.6 (-41.9, 137)	0.007706
11β-Hydroxyandrostendion	nM	171 (101, 275)	190 (120, 302)	13.3 (-12.6, 53.7)	0.003291

Stav A: odběr na začátku studie

Stav B: odběr na konci studie

Při výběru pacientů bylo dbáno na to, aby byli ve stabilizovaném stavu. Ještě před nástupem byli informováni o možnosti zúčastnit se studie a za jakých podmínek. Po nástupu do lázni podepsali informovaný souhlas ti, kteří souhlasili se vstupem do studie.

Princip studie

Pobyt v Priessnitzových léčebných lázních trval 4 týdny. Lázeňská léčba nebyla založena na pitném režimu ani na lázních, ale pouze na fyzických aktivitách a koupelích v pramenité vodě. Léky a jejich dávkování nemohly být během lázeňského pobytu změněny (nebo pa-

cient musel být ze studijní skupiny vyloučen).

Ze všech ochotných pacientů byly vybrány ženy v počtu statisticky hodnotitelném (=70) a podobného věku 52-61 let se stejnou nebo podobnou medikací.

Požadavky na pacientky

Předpokladem pro setrvání pacientek ve studijním souboru byla skutečnost, že musely setrvat na přesně stejné medikaci po celou dobu pobytu v lázních, tak aby mohly být samy sobě kontrolou.

Výskrtnutí ze souboru ale nebyl důvod k přerušení lázeňské léčby.

K hodnocení duševního stavu každé pacientky bylo použito dotazníkové šetření Knoblochovým testem verze N-5 sebesupozovací škály autorů Knobloch a Hausner [17].

Pacientky neměly 2 dny před odběrem krve jíst ořechy, banány, ananas, rajčata, pít kávu a černý čaj.

Odběr krve

Třetí den pobytu v lázních (po odeznění úvodního stresu ze změny prostředí a nastavení podobné diety) byl proveden odběr krve ráno nalačno podle postupu uvedeného v práci Bičíková a spol. 2018 [18]. Plazma odebrána a uložena do mrazicího boxu na -20°C do doby zpracování. Obdobně byl proveden druhý odběr krve předposlední den pobytu v lázních.

Terapie

Terapie zahrnovala 5x týdně kondiční cvičky kombinované s dechovou gymnastikou ve stoji, 2x týdně skupinová hydrokinezioterapie kondiční v rehabilitačním bazénu teploty 27°C až 29°C řízená fyzioterapeutem, 5x týdně skupinová chůze s holemi (léčebná Nordic-walking) v nerovném terénu po trasách areálu lázní řízená fyzioterapeutem. Navíc pacientky absolvovaly částečné koupele horních končetin v norných bazénkách v terénu s průtočnou pramenitou horskou vodou o teplotě 8°C - 10°C, 2x týdně klidovou vanovou celotělovou koupel.

Výsledky a diskuse

Při porovnání výsledků samohodnotících dotazníků Neuro-N-5 se ve všech případech pacientky cítily na konci 4-týdenního pobytu v lázních skvěle. Somatické znaky vykazovaly zlepšení o 60,8 %, psychosomatické znaky se zlepšily o 53,7 % a v oblasti specifických psychických symptomů došlo ke zlepšení o 61,2 %.

Vysvětlení vlivu aerobního pohybu spočívá v zapojení limbického systému (LS) = hipokampus, hypotalamus a jím regulované systémy: nervový systém autonomní, endokrinní osa, imunitní systém, svalový tonus (přes bazální ganglia a propojení na mozeček), vazby na prefrontální cortex a míchu. Integrální součástí LS je hypotalamus, který je ovlivňován pohybem a naopak hypotalamus ovlivňuje pohyb. Na 1. místě limbického systému jsou emoce, přičemž centrem emocí je amygdala patřící mezi bazální ganglia. Nejdůležitější funkce limbického systému je kontrola úzkosti a strachu, kontrola sociálního a emočního chování, účast na procesech krátkodobé paměti, řízení srdeční činnosti

a dýchání (napojení na hypotalamus) a sekrece endokrinních žláz.

Souhrn výsledků v číselné podobě vyjádřený jako relativní rozdíl v procentech je uveden v příložené tabulce. V uvedeném souhrnu jsou zahrnuty výsledky, u kterých je statisticky významný rozdíl hodnoty měřeného parametru na konci studie proti vstupní hodnotě.

Serotonin u všech patientek stoupl v souhrnu o relativních 23 %, zatímco homocystein klesl o - 17,1 %. Už tyto dvě hodnoty ukazují na blahodárný vliv lázeňského pobytu, svědčí pro skutečnost, že se pacientky musely cítit lépe.

Následuje skupina steroidů svědčící o aktivaci kůry nadledvin, která má u pacientů pod různými tlumícími látkami dalekosáhlý význam. Zvýšená hladina kortizolu (o 18,3%) v případě těchto patientek byla vždy v rámci referenčních mezí, tedy „normálu“, byla této skutečnosti důkazem. Navíc, literatura ukazuje na ztlumení osy hypotalamus – hypofýza – nadledvina u některých pacientů s psychickými poruchami a mírný nárůst hladin kortizolu lze tedy vnímat, jako přiblížení k normálnímu stavu.

Další výsledky uvedené v tabulce jsou statisticky významné změny hodnot steroidních hormonů z celkových 108 metabolitů, celého tzv. steroidního metabolomu. Celkově stouply jak pregnanové, tak pregnenové metabolity (obsahují 21 uhlíků), ale i 19-ti uhlíkaté androgeny.

Pregnenolon, stoupl o relativních 44,5 %. Tento steroid stojí na začátku vzniku všech steroidních hormonů (tedy i neuroaktivních, o kterých je zmínka v úvodu) je považován nejen odbornou, ale širokou veřejností za látku zvyšující mentální aktivitu a neuroprotektivum [19, 20]. V lékárnách je možné pregnenolon koupit 100 – 120 tablet za zhruba 700 Kč.

O podobných relativních 40,6 % stoupl 3 α ,5 α –tetrahydrokortikosteron, který je řazen mezi endogenní látky se silným protizánětlivým účinkem, přičemž je známo, že osoby trpící různými formami deprese (což byly naše pacientky) mají zvýšené nebezpečí autoimunitních onemocnění [8].

Oba zmíněné steroidy se podílejí na tvorbě dalších vysoce aktivních metabolitů. Ty pregnanové metabolity, které mají hydroxy-skupinu v poloze 3 α - pozitivně modulují výše zmíněné GABAA receptory (stouply v průměru o 12,5 %) s výsledným uklidněním, uvolněním a dobrou náladou.

Velmi důležitý je nálezní zvýšených hladin

DHEA a pregnenolon sulfátu (o 16,4% a 10,9% v daném pořadí), které pozitivně modulují rovněž v úvodu zmíněné N-metyl-D-aspartátové receptory vedoucí k celkové stimulaci organismu, zbystrění a pozitivnímu myšlení [11].

Vysoce pozitivní je nálezní následného hydroxylovaného metabolitu DHEA, (7 α -OH-DHEA, stoupl o 15,7%). Tento steroid je silným imunoprotektivem a působí proti autoimunitním reakcím, kterými jsou neuropsychiatrické pacienti ohroženi.

Zvýšení hladin konjugovaných steroidů ať již glukuronidů nebo sulfátů je vysoce důležité, protože jejich účinek je dlouhodobý. Lze tedy usuzovat, že celkové zlepšení duševního stavu pacientů, nastartování imunity podporujících látek a látek chránících proti autoimunitním reakcím nevymizí krátce po odjezdu z lázní a při zapojení do běžného života.

Naše studie ukázala, že během lázeňské léčby pacientů s psychiatrickou poruchou došlo ke zlepšení nejen subjektivního pocitu pacientů, ale také ke změnám objektivních parametrů stanovitelných v laboratoři. Tyto pozitivní změny nemohou být přisuzovány farmakoterapii, neboť ta zůstala zcela beze změny.

Jakmile pacient bude dodržovat základní principy, které si osvojil při pobytu v lázních tj. pohyb na zdravém vzduchu, spánek a jíst stravu bohatou na vitamíny má naději, že pozitivní změny, které nastaly v jeho organismu, by mohly přetrvávat mnoho týdnů.

Poděkování:

Podpořeno MZ ČR - RVO (Endokrinní a metabolický ústav - EU, 00023761) SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY:

1. Firth, J., et al., Effect of aerobic exercise on hippocampal volume in humans: A systematic review and meta-analysis. *Neuroimage*, 2018. 166: p. 230-238.
2. Rendeiro, C. and J.S. Rhodes, A new perspective of the hippocampus in the origin of exercise-brain interactions. *Brain Struct Funct*, 2018. 223(6): p. 2527-2545.
3. Bicikova, M., et al., Altered levels of circulating GABAergic 5 α /beta-reduced pregnane and androstane steroids in schizophrenic men. *Horm Mol Biol Clin Invest*, 2011. 6(2): p. 227-30.
4. Bicikova, M., et al., Determination of steroid metabolome as a possible tool for laboratory diagnosis of schizophrenia. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2013. 133: p. 77-83.
5. Reddy, D.S., Pharmacology of en-

- ogenous neuroactive steroids. Crit Rev Neurobiol, 2003. 15(3-4): p. 197-234.
6. Romer, B., et al., Cortisol metabolism in depressed patients and healthy controls. Neuroendocrinology, 2009. 90(3): p. 301-6.
 7. Compagnone, N.A. and S.H. Mellon, Neurosteroids: biosynthesis and function of these novel neuromodulators. Front Neuroendocrinol, 2000. 21(1): p. 1-56.
 8. Guennoun, R., et al., Progesterone and allopregnanolone in the central nervous system: response to injury and implication for neuroprotection. J Steroid Biochem Mol Biol, 2015. 146: p. 48-61.
 9. Hampl, R. and M. Bičíková, Neuroimmunomodulatory steroids in Alzheimer dementia. J Steroid Biochem Mol Biol, 2010. 119(3-5): p. 97-104.
 10. Schumacher, M., et al., Pregnenolone sulfate in the brain: a controversial neurosteroid. Neurochem Int, 2008. 52(4-5): p. 522-40.
 11. Vallee, M., W. Mayo, and M. Le Moal, Role of pregnenolone, dehydroepiandrosterone and their sulfate esters on learning and memory in cognitive aging. Brain Res Brain Res Rev, 2001. 37(1-3): p. 301-12.
 12. Bhatia, P. and N. Singh, Homocysteine excess: delineating the possible mechanism of neurotoxicity and depression. Fundam Clin Pharmacol, 2015. 29(6): p. 522-8.
 13. Moretti, R., et al., Vitamin D, Homocysteine, and Folate in Subcortical Vascular Dementia and Alzheimer Dementia. Front Aging Neurosci, 2017. 9: p. 169.
 14. Sosvorova, L., et al., Determination of homocysteine in cerebrospinal fluid as an indicator for surgery treatment in patients with hydrocephalus. Physiol Res, 2014. 63(4): p. 521-7.
 15. Joling, M., et al., Serotonin transporter binding and anxiety symptoms in Parkinson's disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2018. 89(1): p. 89-94.
 16. Gibson, E.L., Tryptophan supplementation and serotonin function: genetic variations in behavioural effects. Proc Nutr Soc, 2018: p. 1-15.
 17. Novotný, J., et al., Possibilities of using the self-judging scale N-5 in diagnostic practice (in Czech). Praktický lékař : časopis pro další vzdělávání lékařů, 2005. 85(10): p. 575-577.
 18. Bičíková, M., et al., Steroidal metabolic biomarkers as an indicator of the effect of spa therapy and balneotherapy. Lék Fyz Reh, 2018(3).
 19. Bianchi, M. and E.E. Baulieu, 3beta-Methoxy-pregnenolone (MAP4343) as an innovative therapeutic approach for depressive disorders. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012. 109(5): p. 1713-8.
 20. Marx, C.E., et al., Pregnenolone as a novel therapeutic candidate in schizophrenia: emerging preclinical and clinical evidence. Neuroscience, 2011. 191: p. 78-90.

**Bičíková M, Máčová L, Kolátorová L,
Hill M, Bešťák J, ¹Novotný J,
²Jandová D.
Endokrinologický ústav Praha
¹Priessnitzovy léčebné lázně, a.s.
Jeseník
²3LF UK Praha**

