

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie Moskevská 15, 400 01 Ústí nad Labem					
Laboratorní příručka					Strana 1 z 86
Označení/ verze: IP-2-LP/ 10			Garant / datum souhlasu s obsahem: A. Holubková / 15.4.24		
Schválil / datum: RNDr. V. Král, CSc. / 15.4.24			Rozdělení: Originál: MK Kopie č. 1 LI..... Kopie č.2..... Kopie č.3		
Uvolnil / datum: Ing. A. Holubková / 15.4.24					
Revize (číslo)	1	2	3	4	5
Datum / podpis					
Změna- č.kapitoly					
Datum / podpis					
Počet příloh	0				

Předmluva

Laboratorní příručka našeho pracoviště by měla sloužit jako informační materiál odborné veřejnosti (lékařům, sestřám, pracovníkům laboratoře) a po menších úpravách i pacientům. Doufáme, že v ní naleznete vše, co potřebujete pro naši vzájemnou spolupráci. Věnujte prosím zvláštní pozornost kapitolám, které obsahují zásady pro odběry, identifikaci a příjem vzorků a vydávání nálezů. Tato pravidla byla vypracována v souladu se současnou legislativou, doporučeními odborných společností a akreditačními standardy a jsou závazná pro všechny pracovníky Oddělení laboratorní imunologie Centra imunologie a mikrobiologie Zdravotního ústavu se sídlem v Ústí nad Labem (OLI CIM). Jejich dodržování má vést k zamezení výskytu chyb, ke zvýšení ochrany pacientů a kvality prováděných vyšetření.

Jak interpretovat laboratorní vyšetření

Oddělení laboratorní imunologie Centra imunologie a mikrobiologie Zdravotního ústavu se sídlem v Ústí nad Labem zajišťuje dostupnost imunologických laboratorních vyšetřovacích metod významných pro sledování zdravotního stavu populace a pro stanovení, případně upřesnění diagnózy řady onemocnění a pro monitorování jejich léčby.

Použití laboratorních metod v praxi je však spojeno s řadou úskalí, a proto považujeme za užitečné uvést na tomto místě několik poznámek k interpretaci výsledků laboratorních vyšetření. Součástí laboratorní příručky jsou mimo jiné také referenční intervaly jednotlivých stanovení. Tyto referenční hodnoty byly získány ve většině případů statistickými studiemi, to znamená, že jejich význam je pouze orientační a nelze je používat jako dogma. Každá laboratorní hodnota je dynamický prvek a v ideálním případě by měl být posuzován spíše trend (vývoj v čase) této hodnoty, než statické srovnání s konkrétním, byť sebezpečněji stanoveným, referenčním rozpětím. Navíc je nutno vždy brát v úvahu klinický stav pacienta, event. stadium onemocnění. Na výsledky laboratorních testů působí i řada dalších faktorů. Mezi biologické vlivy patří například inter- a intra- individuální variace jednotlivých parametrů, biorytmy, pohlaví, věk, gravidita, atd. Tyto vlivy jsou jen těžko odstranitelné, ale je třeba s nimi při interpretaci výsledků počítat. Preanalytickými vlivy jsou například příprava pacienta před odběrem (lačnění apod.), doba a způsob odběru, použití správného odběrového materiálu, uložení a transport vzorků atd. Působení těchto vlivů můžete do značné míry ovlivnit vy sami dodržením pokynů, které jsou uvedeny v obecných částech této příručky i u jednotlivých vyšetření. Analytické vlivy, jako je úroveň metody stanovení, její specifita a spolehlivost, může ovlivnit laboratoř výběrem metod a jejich systematickou kontrolou. Veškeré metody stanovení v OLI CIM jsou vybírány tak, aby poskytovaly dostatečně spolehlivé výsledky a jsou systematicky kontrolovány jak vnitřním, tak externím systémem kontroly kvality. Jak z výše uvedeného vyplývá, interpretace laboratorních vyšetření je komplikovaný proces a veškerá vyšetření musí být hodnocena velmi zodpovědně a vždy ve vztahu k pacientovi v daném zdravotním a tělesném stavu.

1. POJMY, TERMINOLOGIE	3
2. ÚČEL DOKUMENTU	3
3. IDENTIFIKACE LABORATOŘE A DŮLEŽITÉ ÚDAJE	3
3.1. Organizace, laboratoř, vedení.....	3
3.2. Personální zajištění laboratoře, kontakty.....	4
3.3. Zaměření laboratoře	4
3.4. Organizace laboratoří, jejich vnitřní členění, vybavení a obsazení	5
3.5. Pracovní režim imunologických laboratoří CIM:.....	5
3.6. Týdenní rozvrh vyšetření buněčné imunity pracoviště Ústí nad Labem:	5
3.7. Spektrum nabízených služeb	5
3.8. Úroveň a stav akreditace pracoviště	6
4. POPIS NABÍZENÝCH SLUŽEB	6
4.1. Buněčná imunita.....	6
4.2. Humorální imunita	10
4.3. Diagnostika septických stavů	11
4.4. Vyšetření Komplementu	12
4.5. Antiinfekční imunita	12
4.6. Autoimunita - orgánově nespecifické autoprotilátky	24
4.7. Autoimunita - orgánově specifické autoprotilátky	27
4.8. Thyroidální diagnostika.....	32
4.9. Onkomarkery.....	33
4.10. Stanovení specifického IgE.....	34
4.11. Mediátory alergického zánětu + HIT	40
4.12. Paraproteiny, Speciální vyšetření	40
4.13. Molekulární diagnostika pomocí metody polymerázové řetězové reakce (PCR).....	42
4.13. Likvorologie.....	43
4.14. Neplodnosti	46
4.15. Imunomodulační přípravky	48
4.16. Statimová vyšetření	48
5. MANUÁL PRO ODBĚRY PRIMÁRNÍCH VZORKŮ	48
6. POUŽÍVANÝ ODBĚROVÝ SYSTÉM	50
7. PŘÍPRAVA PACIENTA PŘED VYŠETŘENÍM	51
8. IDENTIFIKACE PACIENTA NA ŽÁDANCE A OZNAČENÍ VZORKU	51
9. ODBĚR VZORKU	52
10. MNOŽSTVÍ VZORKU	55
11. NEZBYTNÉ OPERACE SE VZORKEM, STABILITA	55
12. ZÁKLADNÍ INFORMACE K BEZPEČNOSTI PŘI PRÁCI SE VZORKY	57
13. INFORMACE K DOPRAVĚ VZORKŮ	57
14. PŘÍJEM ŽÁDANEK A VZORKŮ	58
15. INFORMACE O VYŠETŘENÍ, KTERÁ LABORATOŘ NEPROVÁDÍ	59
16. INFORMACE O FORMÁCH VYDÁVÁNÍ VÝSLEDKŮ	59
17. OPAKOVANÁ A DODATEČNÁ VYŠETŘENÍ	60
18. ZMĚNY VÝSLEDKŮ A NÁLEZŮ	60
19. INTERVALY OD DODÁNÍ VZORKU K VYDÁNÍ VÝSLEDKU	60
20. KONZULTAČNÍ ČINNOST LABORATOŘE	60
21. ZPŮSOB ŘEŠENÍ STÍŽNOSTÍ	61
22. VYDÁVÁNÍ POTŘEB LABORATOŘE	61
24. REFERENČNÍ ROZMEZÍ A DOBA ODEZVY	62

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 3 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

1. Pojmy, terminologie

1.1. Zkratky

BAL	bronchioalveolární laváž
CIM	Centrum imunologie a mikrobiologie
CP	citrátová plasma
ISO	mezinárodní organizace pro normalizaci
KD	kostní dřeň
KH	heparinizovaná krev pro vyšetření buněčné imunity
KE	nesrážlivá krev s EDTA
L, CSF	mozkomíšňní mok
LI	Laboratoř imunologie Praha
LIS	laboratorní informační systém
M	moč
MK	Manažer kvality
OKIA	Oddělení klinické imunologie a alergologie
OLI	Oddělení laboratorní imunologie
OLM	Oddělení lékařské mikrobiologie
P	punktát
S	sérum
SMK	systém managementu kvality
SL	sliny
SP	sérum z pupečnickové krve
ZÚ	Zdravotní ústav

2. Účel dokumentu

Laboratorní příručka našeho pracoviště by měla sloužit jako informační materiál odborné veřejnosti a po menších úpravách i pacientům. Tento dokument popisuje náležitosti příjmu, zpracování a vyhodnocení laboratorních vyšetření na OLI CIM.

3. Identifikace laboratoře a důležité údaje

Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem byl zřízen podle § 86 odst. 1 zákona č. 258/200 Sb., o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění zákona č. 320/2002 Sb. dnem 1. ledna 2003.

3.1. Organizace, laboratoř, vedení

název organizace	Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem
identifikační údaje	IČO – 710 09 361
typ organizace	Příspěvková
ředitel ZÚ	Ing. Eduard Ježo
Adresa	Moskevská 15, 400 01 Ústí nad Labem
Web	www.zuusti.cz
název centra	Centrum imunologie a mikrobiologie
identifikační údaje	IČO - 710 09 361
Adresa	Na Kabátě 229, 400 11 Ústí nad Labem
umístění	Areál Masarykovy nemocnice Bukov, budova S
poštovní adresa	Moskevská 15, 400 01 Ústí nad Labem
telefon / fax	477 751 800 / 477 751 817
Web	www.imunol-usti.cz, www.zuusti.cz
vedoucí centra	Bc. Daniela Freigangová
název oddělení	Oddělení laboratorní imunologie
Adresa	Na Kabátě 229, 400 11 Ústí nad Labem
umístění	Areál Masarykovy nemocnice Bukov, budova S
poštovní adresa	Moskevská 15, 400 01 Ústí nad Labem
telefon / fax	477 751 800 / 477 751 817
web	www.imonol-usti.cz
vedoucí oddělení	RNDr. Vlastimil Král, CSc.
Pracoviště Ústí nad Labem	Laboratoř humorální imunity
	Laboratoř buněčné imunity
	Laboratoř molekulární biologie
	Laboratoř vakcín

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 4 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Pracoviště Praha	Laboratoř imunologie Praha
Adresa	Ditrichova 17, 128 01 Praha 2
telefon	234118567/ 234118579
web	www.zuusti.cz

3.2. Personální zajištění laboratoře, kontakty

Pracoviště Ústí nad Labem			
Webové stránky	www.imunol-usti.cz www.zuusti.cz		
RNDr. Král Vlastimil, CSc.	vedoucí OLI CIM	477 751 802	vlastimil.kral@zuusti.cz
Dosedlová Lada	sekretariát	477 751 800	lada.dosedlova@zuusti.cz
Vondráková Michaela, DiS.	vedoucí laborantka	477 751 803	michaela.vondrakova@zuusti.cz
VŠ pracovníci			
MUDr. Haasová Karola	autovakcíny	477 751 806	karola.haasova@zuusti.cz
RNDr. Mikešová Romana	PCR autovakcíny sérologie	477 751 808	romana.mikesova@zuusti.cz
RNDr. Pohořská Jitka	buněčná imunita autoimunita alergie likvorologie	477 751 806	jitka.pohorska@zuusti.cz
Mgr. Rajnohová Dobiášová Lucie	pylová služba	477 751 805	lucie.dobiasova@zuusti.cz
Ing. Johana Ulmonová	VŠ	477 751 804	johana.ulmonova@zuusti.cz
Laboratoře			
Příjem materiálu		477 755 823 734 579 055	
Imunoglobuliny, sérové proteiny, elfo, biochemie		477 755 824 477 755 825	
Antiinfekční imunita I		477 755 826	
Antiinfekční imunita II		477 755 816	
Alergie		477 755 815	
Buněčná imunita		477 755 819	
Průtoková cytometrie		477 755 809	
Autoimunita I		477 755 818	
Autoimunita II		477 755 813	
PCR		477 755 813	
Autovakcíny		477 755 814 477 755 830	
Odběrová místnost		477 755 823	
Pracoviště Praha			
Webové stránky	www.zuusti.cz		
Mgr. Ledvinková Jana	Vedoucí LI Praha	234 118 567	
Příjem materiálu		234 118 593	
Laboratoře		234 118 579	
Odběrová místnost		234 118 504	

3.3. Zaměření laboratoře

Oddělení laboratorní imunologie CIM zajišťuje dostupnost imunologických laboratorních vyšetřovacích metod významných pro stanovení, resp. upřesnění diagnózy některých chorob a pro monitorování jejich léčby v oblasti léčebné preventivní péče ve spádové oblasti. Vyšetření jsou hrazena z prostředků zdravotního pojištění. Při zpracování osobních údajů se OLI CIM řídí obecnými pravidly GDPR v souladu s Nařízením Evropského parlamentu a Rady (EU) 2016/679 ze dne 27. dubna 2016 o ochraně fyzických osob v souvislosti se zpracováním osobních údajů a o volném pohybu těchto údajů a o zrušení směrnice 95/46/ES (obecné nařízení o ochraně osobních údajů).

3.4. Organizace laboratoří, jejich vnitřní členění, vybavení a obsazení

Oddělení laboratorní imunologie je součástí laboratorního komplementu zdravotnického zařízení Zdravotního ústavu se sídlem v Ústí nad Labem. Je součástí Centra imunologie a mikrobiologie. Zajišťuje vyšetření biologických materiálů humánního původu tak, aby byly splněny potřeby klinických pracovníků odpovědných za péči o pacienty. Přehled vyšetření je popsán v kapitole 4.

3.5. Pracovní režim imunologických laboratoří CIM:

Pracoviště Ústí nad Labem		
Imunologické laboratoře CIM	pondělí – pátek 7:00 – 16:15	provozní doba
příjem materiálu	7:00 – 16:15	příjem vzorků: do 9:00 pro vyšetření fagocytózy do 13:00 statimových vzorků do 16:15 všech ostatních vzorků vydávání žádanek, vydávání odběrových potřeb pro oddělení, kompletace výsledkových listů rutinních vyšetření výdej výsledkových listů
laboratoř humorální imunity	7:00 – 15:30	provedení analýz, telefonické hlášení výsledků
laboratoř buněčné imunity	7:00 – 9:00 7:00 – 15:30 po telefonické dohodě	příjem vzorků pro krátkodobé stimulace příjem vzorků pro vyšetření fagocytózy v Po-Pá (v Pá pouze 7:00-10:00) provedení analýz, příjem vzorků pro vyšetření fenotypizace (v pátek do 10:00, případně dle dohody) kompletace výsledků vyšetření buněčné imunity telefonické hlášení výsledků speciální vyšetření
laboratoř vakcín	7:00 – 15:30	příprava vakcín
laboratoř molekulární biologie	7:00 – 15:30	provedení analýz, telefonické hlášení výsledků
VŠ pracovny	7:00 – 15:30	konzultace k výsledkům
Pracoviště Praha		
Laboratoř imunologie Praha	7:00 – 16:00	provedení analýz, telefonické hlášení výsledků
Příjem materiálu	7:00 – 15:00	příjem vzorků, vydávání žádanek, vydávání odběrových potřeb pro oddělení, výdej výsledkových listů
VŠ pracovna	7:30 – 15:00	konzultace k výsledkům

3.6. Týdenní rozvrh vyšetření buněčné imunity pracoviště Ústí nad Labem:

- Pondělí:** Imunofenotypizační vyšetření v celém rozsahu (základní i rozšířené vyš.), fagocytóza, kandidacie, funkční testy lymfocytů, vyšetření HIV pozitivních případů.
- Úterý:** Imunofenotypizační vyšetření v celém rozsahu (základní i rozšířené vyš.), fagocytóza, baktericidie, kandidacie, funkční testy lymfocytů, reprodukční imunologie
- Středa:** Imunofenotypizační vyšetření v celém rozsahu (základní i rozšířené vyš.), fagocytóza, baktericidie, kandidacie, funkční testy bazofilů, reprodukční imunologie, vyšetření HIV pozitivních případů.
- Čtvrtek:** Imunofenotypizační vyšetření v celém rozsahu (základní i rozšířené vyš.), fagocytóza, baktericidie
- Pátek:** Základní imunofenotypizační vyšetření a funkční testy lymfocytů u vzorků přijatých do 10:00,

Statimová vyšetření jsou prováděna denně v nejbližším možném termínu (po telefonické domluvě), kap. 6.3. a 6.4.

3.7. Spektrum nabízených služeb

OLI CIM Zdravotního ústavu se sídlem v Ústí nad Labem zajišťuje dostupnost imunologických laboratorních vyšetřovacích metod. Jedná se především o:

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 6 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

3.7.1. Vyšetření buněčné imunity

- Imunofenotypizace buněčných populací v krvi a dalších tělních tekutinách (kostní dřeň, BAL, likvor, bioptický materiál) metodou průtokové cytometrie
- Funkční testy
- Diagnostika lymfoproliferativních onemocnění

3.7.2. Stanovení imunologických parametrů v tělních tekutinách (humorální imunita)

- Hladiny proteinů v séru kvantitativně (imunoglobuliny, proteiny akutní fáze zánětu) i kvalitativně (diagnostika monoklonálních gamapatií)
- Hladiny proteinů v dalších tělních tekutinách (mozkomíšni mok, sliny, moč, výpotek)
- Hladiny specifických protilátek
 - Autoprotilátky (systémové, orgánové)
 - Protilátky proti infekčním agens (víry, bakterie, paraziti)
- Stanovení specifického IgE
- Přímá diagnostika infekčních agens metodami molekulární biologie
- Stanovení hladin specifických protilátek v souvislosti s vakcinací (protilátky proti hepatitidám A a B, klíšťové encefalitidě, tetanickému toxoidu a dalším infekčním agens)
- Stanovení protilátek proti HIV s možností vystavení certifikátu o průkazu nepřítomnosti anti-HIV protilátek za úplaty

3.7.3. Likvorologie

Základní a specializovaná likvorologická vyšetření:

- cytologie a spektrofotometrie likvoru
- hladiny proteinů, specifických protilátek a autoprotilátek
- průkaz intrathekální produkce celkových a specifických protilátek
- přímý průkaz infekčních agens - provádí Oddělení lékařské mikrobiologie ZUUL

3.7.4. Infertility

Specializovaná vyšetření ženy:

- hladiny (auto)protilátek
- stimulace NK buněk
- cytokiny

Specializovaná vyšetření muže:

- parametry spermií

3.7.5. Příprava imunomodulačních přípravků

3.7.6. Další služby:

- Konzultační služby v oblasti klinické imunologie a alergologie.
- Související logistické služby spojené s laboratorním vyšetřováním (zajištění odběrů materiálu, transport materiálu včetně svozu materiálu ze spádové oblasti).
- Komplexní bezpečný a zajištěný přístup k datům a jejich vhodné zpracování v laboratorním informačním systému.

3.8. Úroveň a stav akreditace pracoviště

OLI CIM Zdravotního ústavu se sídlem v Ústí nad Labem je akreditováno podle normy ISO 15189.

4. Popis nabízených služeb

Principy běžně prováděných testů se základními údaji o jejich provedení uvádíme v následujícím přehledu. Pokud se odebírá více vzorků, musí být zcela přesně označeny (identifikace pacienta). Laboratoř imunologie Praha provádí základní vyšetření humorální imunity, včetně autoprotilátek a specifického IgE, a dále vyšetření kalprotektinu ve stolici. Aktuální seznam prováděných vyšetření je uveden v bodě 24.16 a na <http://www.zuusti.cz>. Vyšetření, která laboratoř neprovádí jsou s ohledem na dodržení preanalytické fáze přeposlána k vyšetření do ostatních laboratoří OLI CIM.

4.1. Buněčná imunita

Základní CD znaky T a B lymfocytů

Znaky CD3, CD4, CD8 (T lymfocyty) a CD19 resp. CD20 (B lymfocyty) představují základní panel povrchových diferenačních antigenů lymfocytů. Slouží ke stanovení jednotlivých základních populací lymfocytů (T, B ly) a subpopulací T buněk (pomahačské T lymfocyty, CD4+ a supresorové/cytotoxické T lymfocyty, CD8+). Klinická indikace vyšetření: diagnostika a monitorování léčby primárních a sekundárních imunodeficitů. U AIDS dochází

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 7 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

při progresi onemocnění k úbytku absolutního počtu CD4+ lymfocytů, jedná se o důležitý prognostický ukazatel. Poměr CD4/CD8 lymfocytů je v rozmezí při hodnocení průtokovou cytometrií 0,8-2,8. Klinická interpretace této hodnoty nesmí být mechanická a v současnosti její význam poklesl v souvislosti se zavedením metody dvojího značení při průkazu povrchových struktur lymfocytů.

Buňky spontánní cytotoxicity (NK)

Stanovování populace přirozených zabíječů (NK buňky), důležitého faktoru přirozené imunity a protinádorového dohledu organismu, je příkladem využití metody dvojího značení. Fenotyp NK buňky je CD3-CD16+CD56+. Povrchový znak CD3 je prokazován pomocí MP značené FITC a charakteristické znaky NK buněk CD16 a CD56 (NKH-1) jsou prokazovány pomocí MP značené phycoerythrinem (PE). Deficience NK buněk byla popsána u Chédiak-Higashi sy, XLP syndromu, některých forem SCID, chronického únavového syndromu atd.

Některé diferenciační a aktivační CD znaky lymfocytů (subpopulace T a B lymfocytů)

Významný posun v charakterizaci subpopulací leukocytů nastal právě díky možnosti prokazovat expresi více znaků na povrchu buňky. Kvalitativní posun spočívá v možnosti lépe definovat diferenciační stadium buňky resp. funkční stav (aktivace). V současnosti je rutinně využíváno dvojí značení pro stanovení aktivačních a diferenciačních znaků především lymfocytárních populací.

Aktivované **T lymfocyty** jsou prokazovány kombinací znaků CD3/CD25, CD3/CD69 nebo CD3/HLADR, aktivované

B lymfocyty kombinací znaků CD19/CD23 nebo CD20/CD23. V B lymfocytární řadě lze stanovit subpopulaci B1 lymfocytů (CD5+ B lymfocytů), která je spojována s produkcí **přirozených (auto)protilátek**.

Pomocí kombinací dalších znaků (CD19,CD21, CD24, CD27, CD38, mlgM, mlgD) lze identifikovat různá maturationální resp. diferenciační stadia B lymfocytů (subpopulace paměťových, naivních, krátce žijících B lymfocytů, B lymfocytů před a po izotypovém přesmyku a plazmablasty). Stanovení těchto subpopulací má význam např. u CVID pacientů pro jejich zařazení do prognostických skupin.

Je možné definovat subpopulace CD4+ lymfocytů pomocí exprese produktů alel CD45RA a CD45RO. Th lymfocyty s pozitivitou CD45RA zahrnují antigenem neaktivované pomahačské ly (tzv. "**naivní**" T ly), exprese CD45RO charakterizuje antigenem aktivované CD4 buňky (dříve "**paměťové**" T ly). Podrobnější specifikaci Th i dalších lymfocytárních subpopulací umožňuje vícenásobné značení - viz dále.

Pro podrobnější charakteristiku lymfocytárních populací využíváme trojího, čtyřnásobného i vícenásobného značení. V těchto případech jsou kromě základních fluorochromů (fluorescein izothiokyanátu - FITC a phycoerythrinu - PE) využívány i peridinin chlorophyll protein - PerCP se stejnou excitační vlnovou délkou jako předchozí. Dostupnost dalšího laseru (diodový laser s excitační vlnovou délkou 635 nm) otevírá možnosti pro použití další skupiny fluorochromů nebo jejich tandemů (např. Allophycocyanin - APC, APC v tandemu s CY7). Pro specifikaci naivních, paměťových či efektorových CD8+ lymfocytů využíváme kombinaci CD27/CCR7/CD8/CD28, CD45RA/CD27/CD8/CD28, CD45RA/CCR7/CD8/CD28, při použití vhodného stimulans lze paralelně detekovat i produkci IFN γ .

Další subpopulaci T lymfocytů představuje subpopulace regulačních T lymfocytů, které jsou charakterizovány expresí CD4+CD25++CD127lowFoxP3+, které detekujeme jako CD4+CD25++CD127low nebo CD4+CD25++FoxP3+. Regulační T lymfocyty (Treg) jsou nezbytné v zajištění imunitní homeostázy a prevenci rozvoje autoimunitních reakcí. Jako přínosné se jeví jejich sledování při různých imunopatologických stavech (autoimunitních onemocnění, monitorování protizánětlivé biologické terapie). Uvedený fenotyp Treg exprimují jak centrálně indukované (thymus) buňky, tak Treg indukované na periférii.

Samostatnou problematikou je diagnostika krevních malignit, kde možnosti průtokové cytometrie spolu s využitím MP přinesly značný pokrok. V současnosti je na pracovišti možno provádět diagnostiku leukemií podle protokolů, které odpovídají doporučeným panelům diagnostických MP (např. protokol ALL-BFM 95) včetně stanovení cytoplazmatické exprese některých znaků (cIgM, cCD22, cCD3, cMPO, cTdT, cCD79a aj.). V diagnostice krevních malignit musí ale imunol. pracoviště vždy úzce spolupracovat s odd. klin. hematologie.

Leukocytární CD znaky

Pan-leukocytární znaky jsou využívány především pro rozlišení zralých, nezralých, potenciálně maligních leukocytů v buněčné populaci (BAL, kostní dřeň, lymfatické uzliny, biopsie).

Adhezní molekuly

V současnosti velmi široká skupina povrchových molekul buněk nejen imunitního systému. Ze skupiny leukocytárních integrinů se prokazují CD11a, CD11b, CD11c a CD18. Deficit je spojen s těžkým primárním imunodeficitem - deficitem adheze leukocytů LAD.

Myelomonocytární znaky

V diferenciační diagnostice myeloproliferací sledujeme expresi znaků umožňující stanovit liniíovou příslušnost sledované buněčné populace. (CD4, CD14, CD13, CD33, CD15, CD64, CD65).

Erytrocytární a destičkové znaky

Význam především pro stanovení kvality separace lymfoidních buněk (erytrocytární antigen glykoforin A - GlyA), pro stanovení antitrombocytárních protilátek a případnou spoluprací s transfúzní službou (kvalita trombo náplavů) - detekce znaků z komplexu CD49, např. CD49f, případně pro diagnostiku některých velmi vzácných krevních malignit (erytroidní leukémie, megakaryoblastová leukémie).

Znaky kmenových a prekursorových buněk

Využití především v diagnostice krevních malignit, útlumů krvetvorby (znaky CD34, CD117, CD45, CD38, HLA-DR) a pro stanovení počtu kmenových buněk ve štěpech pro transplantace kostní dřeně nebo pupečnickové krve (CD34).

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 8 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Povrchové (membránové) imunoglobuliny na B lymfocytech

Možnost průkazu B buněk před objevem monoklonálních protilátek a charakterizací pan-B znaků. V současnosti se uplatní ve spektru znaků při diagnostice leukémií: B-CLL, lymfomů, monoklonality proliferace B lymfocytů. Poměr kappa:lambda <1 a >3 podporuje úvahu o monoklonalitě B lymfocytární proliferace.

Znaky pro detekci plazmatických buněk

Pro detekci plazmatických buněk je používána monoklonální protilátka specifická pro tuto populaci CD138 (Syndecan 1). Možnost sledování exprese 4 znaků na povrchu či v cytoplasmě (CD38, CD54, CD56, intracelulární Ig) dovoluje detekci minoritní populace (méně než 1% leukocytární populace).

Fagocytóza

Ingesce E.coli

Metodou průtokové cytometrie sledujeme granulocytární ingesci FITC značených, opsonizovaných bakterií E. coli. Vyšetření provádíme z plné, heparinované krve.

Testy oxidativního vzplanutí fagocytů

Metabolická aktivita fagocytů se zvyšuje po stimulaci povrchové membrány při fagocytárním ději (tzv. metabolické vzplanutí leukocytů). Vyšetření je možné provádět v několika variantách: Při použití opsonizovaného zymozanu jako stimulans dochází k jeho navázání na buněčný povrch (prostřednictvím komplementových CR3 receptorů a Ig Fc receptorů) a následné fagocytóze, aktivaci NADPH oxidázy, degranulaci specifických a azurofilních granula a tvorbě fagolyzozómu. Pokud jsou fagocyty stimulovány solubilním stimulans (PMA) dochází přímo k aktivaci NADPH oxidázy a degranulaci. Defekt metabol. vzplanutí je typický pro chronickou granulomatózu (CGD), resp. další neklasifikované defekty fagocytózy, LAD aj.

Chemiluminiscence: Buňky při fagocytóze uvolňují určitá světelná kvanta, která se projevují chemiluminiscencí fagocytů. Po zesílení přirozené chemiluminiscenční aktivity luminofory lze tuto měřit na citlivých přístrojích. Pro sledování produkce reaktivních kyslíkových metabolitů O₂⁻ je jako luminofor využíván **lucigenin**, pomocí **luminolu** lze detekovat **MPO** zprostředkovanou tvorbu HOCL. Pro přímou detekci MPO lze využít metody průtokové cytometrie - viz dále. Vyšetření se provádí z plné krve.

V současnosti prováděné testy oxidativního vzplanutí fagocytů (INT a současná podoba chemiluminiscenčního testu) jsou nahrazeny mikrodestičkovou chemiluminiscenční metodou, která umožňuje paralelní použití více stimulans a luminoforů, přesnější monitorování průběhu oxidativního vzplanutí (měření v intervalu tří minut při 37°C) při zachování výhod původního chemiluminiscenčního testu (vyšetření z plné krve, malá náročnost na množství vyšetřované krve).

Charakteristika metody: Buňky při fagocytóze uvolňují určitá světelná kvanta, která lze po zesílení signálu luminofory (luminol, lucigenin) měřit na citlivých přístrojích (luminometrech). Test je prováděn v několika variantách s využitím luminolu nebo lucigeninu a se dvěma stimulačními látkami:

- **Lucigenin** - využití pro sledování aktivity NADPH oxidázového komplexu (redukováná forma nikotinamidaadenin dinukleotidfosfát oxidázy) tj. sledování produkce reaktivních forem kyslíku (např. superoxidového aniontu O₂⁻)
- **Luminol** - lze detekovat kromě aktivity NADPH oxidázy také na **myeloperoxidáze** závislou tvorbu halogenidových derivátů (např. kys. chlorné).

Stimulační látky:

- **Zymozan** - navazuje se na buněčný povrch (v případě opsonizovaného zymozanu prostřednictvím komplementových CR3 receptorů a Ig Fc receptorů, u neopsonizovaného zymozanu se navíc uplatňují další mechanismy mezi které patří vazba přes Toll like receptory) a následné fagocytóze, aktivaci NADPH oxidázy, která následně reaguje s kyslíkem za vzniku superoxidového aniontu
- **PMA** (phorbol-myristát-acetát) - solubilní stimulans, využíván pro detekci úplného defektu metabolického vzplanutí, kdy jsou fagocyty stimulovány solubilním PMA. V tomto případě dochází přímo k aktivaci NADPH oxidázy.

Rozmezí fyziologických hodnot

Výsledky budou uváděny dvěma způsoby:

- 1) přepočtení chemiluminiscenčních impulsů na 1 fagocytující buňku
- 2) indexem, který je poměrem počtu impulsů stimulovaného a kontrolního (nestimulovaného) vzorku pacienta

	počet impulsů na 1 fagocyt	index
Spontánní aktivita	<1	-
PMA/luminol	>3	>9
NZ/luminol	>12	>28
OZ/luminol	>9	>17
OZ/lucigenin	>7	>20

Vysvětlivky zkratk:

NZ = neopsonizovaný zymozan, OZ = opsonizovaný zymozan, PMA = phorbol-myristát-acetát

Úplný defekt je typický pro chronickou granulomatózu (CGD), pro heterozygotní přenašeče CGD jsou hodnoty sniženy. Snižování lze také očekávat u sekundárních imunodeficiencí (např. HIV+, transplantovaní pacienti). U jedinců s častými infekty může být zjištěna zvýšená spontánní aktivita. Fagocytární aktivitu mohou také ovlivňovat různé imunomodulátory.

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 9 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Indikace vyšetření: Vyšetření oxidativního vzplanutí metodou chemiluminiscence je součástí základního vyšetření buněčné imunity. V základním vyšetření bude sledována spontánní aktivita a stimulace NZ/luminol a OZ/luminol. V případě podrobnější analýzy (podezření na úplný defekt) bude sledována i odezva na PMA/luminol a OZ/lucigenin.

Náklady na vyšetření: Dosavadní vyšetření metodou INT znamenalo bodové ohodnocení 475 nebo 600 bodů (v závislosti na typu separace buněk), stávající vyšetření destičkovou chemiluminiscencí v základním vyšetření (kontrola + dvě stimulans) znamená ohodnocení 510 body, pro každé další stimulans 170 bodů.

Stanovení cytoplazmatické MPO

Deficience myeloperoxidázy je nejčastější poruchou fagocytů. V některých případech se může jednat o úplné chybění tohoto enzymu. U většiny pacientů se tato deficience klinicky neprojeví, někteří pacienti mohou trpět chronickými kandidovými infekcemi. Stanovení se provádí metodou průtokové cytometrie s využitím specifické MP.

Testy cidie

Baktericidie: Baktericidní aktivita leukocytů je testována z plné krve (za možnosti uplatnění sérových faktorů). Jedná se o komplexní vyšetření pro sledování součinnosti humorálních a fagocytárních mechanismů. Více než 50 % přežívajících bakterií poukazuje na sníženou baktericidní schopnost. V případě ATB léčby může být výsledek testu falešně negativní. Testace s vlastním kmenem je vhodná např. u recidivujících IMC.

Kandidacie: Podobně jako u předchozího testu jde o sledování schopnosti fagocytů pohlcovat a následně usmrcovat v tomto případě *Saccharomyces cerevisiae*. Usmrcené kvasinky se uvolní působením deoxycholátu sodného a jejich množství se určí obarvením metylenovou modří. Výsledek je udáván ve formě indexu vyjadřujícího % usmrcených kvasinek připadajících na 105 fagocytujících buněk. Za hraniční je považována hodnota indexu 4,1.

Funkční testy lymfocytů

FAST IMMUNE: V testu je sledován jeden z prvních kroků aktivace, který předchází vlastní proliferaci lymfocytů. Není možné jej považovat za alternativní test blastické transformace lymfocytů, kde je sledováno množství de novo syntetizované DNA. Po 4h stimulaci lymfocytů PHA nebo komitogenní monoklonální protilátkou CD2/CD2R je sledována exprese časného aktivačního znaku CD69. Snížené hodnoty lze očekávat u některých primárních a sekundárních imunodeficiencí. V případě diagnostiky poruch CMI je s výhodou využíváno suboptimální koncentrace mitogenu (2,5 ug/ml).

Stanovení produkce TNF α a IFN γ v T lymfocytech a T lymfocytárních subpopulacích (CD4+ a CD8+)

Funkční test produkce prozáněťových cytokinů po in vitro stimulaci buněk (v testu je využívána stimulace PMA). Prozáněťové cytokiny TNF α a IFN γ detekujeme pomocí intracelulárního značení cytometrickou analýzou.

Stanovení exprese Ki67 po stimulaci optimální a suboptimální koncentrací PHA

Funkční test sledující intracelulární expresi Ki67 (specifický marker proliferujících buněk, je exprimován ve fázích buněčného cyklu - G1, S, G2, a během mitózy, chybí ve fázi - G0). Používá se třídenní kultivace lymfocytů (CD3+) s různými koncentracemi PHA (0,5-10mg/ml).

Stanovení CD40L: Průkaz exprese CD154 (CD40 ligandy) po stimulaci PMA na populaci CD4+ lymfocytů je prováděno u pacientů s podezřením na X-chromozóm vázanou formu imunodeficience hyperimmunoglobulinémie M (X-HIM).

Další možnosti využití průtokové cytometrie

Protilátky proti trombocytům:

Jsou sledovány protilátky vázané na trombocyty ve tř. IgG a IgM (používány jsou F(ab')₂ fragmenty polyklonální protilátky s příslušnou specifitou). Vyšetření se provádí z plné krve metodou průtokové cytometrie. Anti-trombocytární protilátky jsou nacházeny v souvislosti s trombocytopenií jako primární u idiopatické trombocytopenické purpury, jako sekundární u některých autoimunitních onemocnění (SLE, smíšené choroby pojiva), infekčních chorob (především infekce virového původu) a ve spojitosti s některými malignitami (CLL, non-Hodgkin a Hodgkinskými lymfomy).

Stanovení aktivace basofilů po stimulaci alergenem

Metoda umožňuje průkaz senzibilizace zprostředkované IgE protilátkami (reakce I. typu). Využití je především v oblasti potravinových alergií a u polékových reakcí, kdy kožní, případně expoziční testy jsou obtížně proveditelné. Po inkubaci plné krve s alergenem je sledována exprese aktivačního znaku CD63 na bazofilech. Basofily jsou detekovány prostřednictvím IgE protilátek navázaných na jejich povrchu. Výsledek je vyjádřen jako % basofilů exprimujících CD63.

HLA-B27

Stanovení HLA-B27 metodou průtokové cytometrie je screeningovým testem. MP rozeznává HLA-B27 a vykazuje zkříženou reaktivitu s HLA-B7. V případě zkřížené reakce je doporučováno provedení mikrolymfocytotoxického testu. Zvýšená incidence antigenů HLA-B27 je prokazována u ankylozující spondylitidy a dalších onemocnění jako je Reiterův syndrom, psoriatická artritida a seronegativní spondylarthropatie.

QuantIFERON-TB GOLD(test pro stanovení tuberkulózní infekce)

Princip testu:

Plná heparinizovaná krev je stimulovaná MTB-specifickými antigeny ESAT-6 a CFP-10 a TB7,7 (p4). Tyto proteiny nejsou přítomny u žádného z BCG vakcinačních kmenů, ani u netuberkulózních mykobakterií, s výjimkou *M. kansasii*, *M. szulgari* a *M. marinum*. Následně je sledována hladina interferonu gamma, který je produkován antigen specifickými T lymfocyty.

Indikace:

Test je vhodný pro stanovení latentní tuberkulózní infekce.

Je doporučován u jedinců, kteří byli vystaveni MTB infekci a u pacientů indikovaných k biologické terapii (např. anti-TNF α), kde je reaktivace latentní TBC závažným nežádoucím účinkem.

Výhody testu:

- nedochází k falešně pozitivním výsledkům u osob vakcinovaných kmenem BCG
- není ovlivněn senzitivací nebo infekcí prakticky všemi netuberkulózními kmeny, které by mohly vést k záměně s tuberkulózní infekcí (s výjimkou *M. kansasii*).

Interpretace výsledků:

Výsledek QuantiFERON-TB GOLD	Interpretace
negativní	Nepravděpodobná infekce <i>M. tuberculosis</i>
pozitivní	Pravděpodobná infekce <i>M. tuberculosis</i>
neurčitý	výsledek neurčen

Neurčitý výsledek testu může být získán v důsledku:

- zvýšení hladin cirkulujícího interferonu gamma
- snížení imunitní odpovědi u imunodeficientních či imunosuprimovaných jedinců
- nedodržení technických parametrů testu (nedostatečné promíchání odběrových zkumavek, uložení vzorku mimo teplotní rozsah 22 \pm 5 $^{\circ}$ C, pozdní doručení do laboratoře).

Podmínky odběru: kapitola 9.3.6.

4.2. Humorální imunita

Přehled odchylek hladin imunoglobulinů

	PATOLOGIE -	PATOLOGIE +
IgG	deficit primární deficit sekundární	jaterní choroby myelom IgG chronické infekce
IgA	ataxia - teleangiectasia myelom jiný než IgA primární deficit	chronické infekce myelom IgA cirhóza jater
IgM	myelom jiný než IgM primární deficit	jaterní choroby akutní infekce Waldenströmová choroba autoimunitní onemocnění
IgD	není známa	myelom IgD hyper IgD syndrom někdy při regulačních poruchách imunitních mechanismů
IgE	není známa	obecná známka atopické dispozice parazitózy hyper IgE syndrom myelom IgE

Podtřídy IgG

Jednotlivé IgG podtřídy rozdílně reagují s různými typy antigenů. Protilátky proti **bakteriálním a virovým proteinům** (např. tetanický toxoid, vnější membránové proteiny), které vyvolávají **T-dependentní odpověď**, jsou tvořeny všemi čtyřmi třídami, převažují však IgG1 někdy v kombinaci s IgG3. Protilátky **proti polysacharidovým antigenům**, které jsou převážně **T-independentní**, jsou tvořeny hlavně IgG2 podtřídou. Výjimku tvoří děti ve věku 2-3 roky, u kterých polysacharidové antigeny navozují tvorbu protilátek IgG1. Opakovaná dlouhodobá antigenní stimulace T-dependentním antigenem vede k výrazné IgG4 protilátkové odpovědi. Zvýšené hladiny IgG4 a zvýšený poměr IgG4/celkové IgG jsou markerem onemocnění asociovaných s IgG4 (IgG4-RD, systémové fibroinflatorní onemocnění s dosud nerozpoznanou příčinou). IgG4-RD může pravděpodobně postihnout kterýkoliv orgán; onemocnění je tedy kromě vnitřního lékařství předmětem zájmu řady dalších oborů, např. ORL, dermatologie, neurologie, urologie či oční lékařství. Klíčem k rozpoznání příčinných souvislostí vedoucích k onemocnění IgG4-RD je pochopení úlohy imunoglobulinu IgG4 v aktivaci, resp. regulaci imunitní odpovědi organismu.

Pacienti s deficitem IgG1 a/nebo IgG3 mívají potíže s chronickými a rekurentními infekcemi dolních cest dýchacích, jedinci s IgG2 a/nebo IgG4 deficitem jsou náchylnější k sinusitidám a otitidám. U kombinovaných deficitů IgG podtříd převažuje deficiencie IgG2/IgG4. Deficit některé z podtříd IgG se nemusí projevit na hladině celkového IgG.

Podtřídy IgA

IgA1 je dominantní IgA molekulou v séru, v sekretech je již zastoupena méně. Zajišťuje dobrou odpověď k proteinovým antigenům, hůře reaguje s polysacharidy a nejhorší odpověď je proti lipopolysacharidům. Tvorba jednotlivých podtříd IgA po infekci je závislá na typu antigenu infekčního agens (protein, polysacharid, lipopolysacharid) a podobným způsobem závisí tvorba specifických IgA podtříd po vakcinaci na typu antigenu

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 11 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

použitím ve vakcíně. IgA1 podtřída IgA je citlivá k bakteriálním proteázám mnoha běžných patogenů včetně opouzdřených bakterií. Hlavní odpověď u infekcí horních dýchacích cest zajišťuje především IgA1. Podtřída IgA2 je dominantní v sekretech na povrchu sliznic ve formě sekrečního IgA (SIgA), odolného vůči proteázám.

Hladiny IgA1 se zvyšují u diabetické nefropatie. Imunokomplexy IgA1+2 byly popsány u diabetu. U 10% pacientů s autoimunitní thyreoiditidou se vyskytují IgA protilátky proti thyreoglobulinu i thyreoperoxidáze, zejména anti-TPO IgA jsou tvořeny IgA2 podtřídou. U některých onemocnění (IgA nefropatie, céliakie) byly pozorovány zvýšené hladiny IgA2 v séru. Paraproteiny IgA jsou tvořeny z 90 - 95 % podtřídou IgA1.

Proteiny akutní fáze zánětu

Zánětlivá reakce v organismu je provázána zvýšenou tvorbou tzv. proteinů akutní fáze zánětu. Jejich syntéza v jaterní tkáni je stimulována přítomností tkáňového poškození (nekrotických buněk) rozličného původu, např. při bakteriální infekci, malignitách, ischemii nebo při imunokomplexové tkáňové lézi. Signál k zahájení jejich tvorby se z místa poškození (od makrofágů) přenáší prostřednictvím mediátorů: IL-1, IL-6, TNF alfa.

PROTEIN	PATOLOGIE -	PATOLOGIE +
CRP	není známa	akutní záněty, maligní nádory, nekrózy
PREA	akutní fáze zánětu, jaterní poruchy maligní nádory, ztráty bílkovin malnutrice, diabetes mellitus	chronické infekce močových cest léčba estrogény
ALB	akutní fáze zánětu jaterní léze, ci jater nekrózy tkání, maligní nádory malnutrice, sy ztráty bílkovin	dehydratace průjmy
OROSO	jaterní poškození akutní renální poškození malnutrice kachexie	akutní a chronické záněty kolagenózy maligní tumory stresový syndrom
A1AT	plicní choroby (emfyzém) těžké jaterní poškození nefrotický syndrom malnutrice, kachexie	akutní a chronické záněty maligní tumory nekrózy hematologické abnormality pobyt ve znečištěném ovzduší
CPL	Wilsonova choroba (vrozený deficit) nefrotický syndrom akutní hepatitis, ci jater syndrom ztráty bílkovin (z GIT, nefrot. sy.)	akutní i chronický zánět maligní tumory gravida, léčba estrogény kolagenózy hormonální antikoncepce
A2M	akutní renální postižení fibrinolýza	pozdní fáze zánětu nefrotický syndrom diabetes mellitus jaterní léze, hepatitida infekční mononukleóza léčba estrogény (antikoncepce)
HPX	hemolytické anémie vnitřní krvácení (zvl. hemoragická pankreatitida) těžší hepatopatie	někdy u chronického zánětu maligní tumory diabetes mellitus chronické plicní afekce
TRF	anémie perniciózní nefrotický syndrom maligní tumory akutní i chronické záněty pokročilé jater. poruchy (cirhóza)	anémie z nedostatku Fe infekční hepatitida (časná f.) subakut. bakt. endokarditis gravida léčba estrogény
HP	hemolytické anémie, jaterní onemocnění polycytémia vera, cholestáza	akutní záněty maligní tumory (zvl. M. Hodgkin)

4.3. Diagnostika septických stavů

SAA

SAA patří mezi časně pozitivní proteiny akutní fáze společně s CRP, IL6 a prokalcitoninem. Při zánětlivé odpovědi hladiny sérového SAA stoupají na násobky normálních hodnot během krátkého časového období (6 - 8 hodin od počátku patologického stavu). V porovnání s CRP dosahuje maximálních hladin dříve. Jeho krátký poločas rozpadu, nízká normální koncentrace a malá variabilita hladin mezi jedinci přispívají k jedinečné citlivosti SAA. Normální hodnoty: do 6,4 mg / l.

IL-6

Syntéza probíhá v různých buňkách: monocyty, fibroblasty, endoteliální buňky, keratinocyty, T-buňky a řada typů tumorových buněk. Základní 2 typy působení: (1) prozánětlivé ("poplachový signál", indukce syntézy proteinů akutní fáze; (2) regulační - diferenciací faktor pro B-lymfocyty, aktivační a diferenciací faktor pro T lymfocyty (v

přítomnosti IL-2 diferenciaci T-lymfocytů na cytotoxické Tlymfocyty), po stimulaci IL-4 je nezbytný k diferenciaci B-lymfocytů na plazmatické buňky (IL-6 je růstovým faktorem myelomů). Diagnostické využití: Zvýšené sérové koncentrace se objevují u sepsí, autoimunitních onemocnění, lymfomů, AIDS, rejekcí transplantátů aj. V kombinaci s CRP resp. SAA je nejlepším markerem novorozenecké sepse. Normální hodnoty: do 11,0 ng/l

TNF α

Zvýšení koncentrace TNF alfa v cirkulaci nastává při zánětech s maximálními hodnotmi při sepsi, autoimunitních onemocněních, rejekci transplantátů aj.

4.4. Vyšetření Komplementu

C3 složka komplementu

je složkou komplementu s nejvyšší sérovou koncentrací ze všech komplementových proteinů. Sledování jeho hladiny dobře odráží děje v komplementovém systému jako celku, uplatňuje se totiž jako klíčová komponenta komplementové kaskády, neboť se při aktivaci C3 sbíhá klasická a alternativní dráha aktivace. Častěji dochází k jeho zvyšování, neboť se chová jako protein akutní fáze zánětu. Snížení může být způsobeno zvýšenou spotřebou při imunopatologickém (imunokomplexovém) procesu nebo sníženou syntézou.

PATOLOGIE -	PATOLOGIE +
imunokomplexové choroby akutní glomerulonefritida cirhóza jater, hepatitidy kryoglobulinémie vrozená deficiencie	akutní záněty revmatická horečka nekrózy buněk pokročilé maligní tumory

C4 složka komplementu

se spotřebovává pouze při klasické cestě aktivace komplementu, chová se analogicky s C3 jako protein akutní fáze zánětu.

PATOLOGIE -	PATOLOGIE +
imunokomplexové choroby (zvl. SLE) bakteriální endokarditis kryoglobulinémie hypergamaglobulinémie vrozená deficiencie hereditární angioedém (HAE)	akutní a chronické záněty

CH 50

Vyšetření funkční aktivity komplementového systému aktivovaného klasickou cestou. Vyšetření provádíme pomocí liposomového imunotestu s fotometrickou koncovkou firmy Wako. Provedení testu CH50 je nutné v případech kde je podezření na genetickou nedostatečnost komplementového systému. Základní příčiny nálezů snížených hodnot CH50 jsou shrnuty v tabulce:

PATOLOGIE -	PATOLOGIE +
hemokoagulace (DIC) vrozené deficiencie různých složek komplementu hereditární angioedém (HAE) dále viz snížení C3 a C4	nemá diagnostický význam

C1 inhibitor, C1 inhibitor funkční test

C1 inhibitor je nejdůležitější regulační protein komplementového systému. Jeho stanovení má význam pro diagnózu nemocných s hereditárním angioneurotickým edémem (HAE), u nichž je koncentrace C1inh snížená (HAE typ I). V případě HAE typu II (asi 20 % případů HAE) je přítomna normální nebo zvýšená hladina nefunkčního C1inh. Jedná se o nejčastěji se vyskytující deficienci komplementového systému. Zvýšení C1inh lze pozorovat u akutních a chronických zánětů.

4.5. Antiinfekční imunita

4.5.1. Diagnostika onemocnění COVID-19

SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) je původce infekčního onemocnění COVID-19. Přenáší se nejčastěji kapénkami uvolněnými při kašlání, kýchání nebo např. zpěvu a po delším blízkém kontaktu s infikovanou osobou. Inkubační doba se pohybuje mezi 3 až 7, maximálně 14 dny. K nejčastějším symptomům infekce SARS-CoV-2 patří horečka, kašel, dechové potíže a únava. U většiny pacientů má infekce průběh mírného febrilního onemocnění s charakteristickým rentgenovým nálezem (obraz pneumonie). U některých pacientů, zejména u seniorů nebo osob s chronickým onemocněním, se může infekce rozvinout do syndromu akutní dechové tísně (ARDS, acute respiratory distress syndrome). Pro průkaz infekce SARS-CoV-2 se nejčastěji používá detekce virové RNA metodou reverznětranskripční polymerázové řetězové reakce (RT-PCR) ve vzorcích z horních (nazofaryngeální výtěry) nebo dolních (sputum, BAL) cest dýchacích.

SARS-CoV-2 přímý průkaz RNA

Metoda RT-PCR je stále považována za zlatý standard diagnostiky onemocnění COVID-19. Jedná se o velmi přesný a účinný test, který je schopen odhalit nakaženého ještě před objevením prvních příznaků a zajistit tak včasnou izolaci jedince. Při využití vhodných diagnostických souprav je možné detekovat i jednovlé mutace viru.

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 13 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

SARS-CoV-2 přímý průkaz antigenu

Antigenní test detekuje virové bílkoviny. Test obvykle odhalí nemocného na vrcholu infekce, kdy je v těle nejvyšší koncentrace těchto bílkovin. Oproti PCR testu nejsou antigenní testy tak citlivé a specifické, v případě nejasností by měl být proveden konfirmační PCR test. Jejich výhodou je rychlejší vyhodnocení (výsledek do 30 minut) a nižší náročnost na odbornost personálu a cenu vyšetření.

Protilátky proti podjednotce S (Spike) proteinu SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 je tvořen 4 hlavními strukturálními proteiny: povrchovým (S), obalovým (E), transmembránovým (M) glykoproteinem a vnitřním fosforylovaným nukleokapsidovým proteinem (N). Hlavním faktorem virulence je povrchový S (spike) glykoprotein, který je tvořen 2 podjednotkami S1 a S2. První z nich (S1) slouží k vazbě virionu na buněčné receptory a její struktura ovlivňuje buněčný a hostitelský tropismus viru, zatímco druhá (S2) se uplatňuje při fúzi viru s buněčnou membránou. Povrchový S protein vyvolává tvorbu specifických neutralizačních protilátek.

Stanovení protilátek proti SARS-CoV-2 se využívá pro potvrzení infekce u pacientů s typickými příznaky a u suspektních případů. Pro získání validních sérologických výsledků je třeba zajistit vyšetření párových vzorků séra, první z akutní fáze onemocnění (1. týden infekce) a další z fáze rekonvalescence (3. až 4. týden infekce). Sérologická vyšetření v diagnostice infekce v její akutní fázi však nemají zásadní roli, jejich význam spočívá především v retrospektivním průkazu infekce nebo v populačních séroprevalenčních studiích a při objasňování role asymptomatických jedinců. Protilátky třídy IgA jsou detekovatelné 3. až 6. den od počátku infekce, vrcholu dosahují kolem 7. dne od infekce. Protilátky třídy IgG se objevují 10. až 18. den od počátku infekce, maximální hodnoty lze naměřit po 14 až 21 dnech. Vzhledem ke krátké době výskytu infekce SARS-CoV-2 nejsou dosud dostupné informace o tom, jak dlouho specifické protilátky v organismu perzistují.

Stanovení protilátek proti SARS-CoV-2 ve třídě IgG se využívá také pro ověření tvorby protilátek po vakcinaci proti COVID 19.

Provádíme stanovení protilátek proti antigenu S1 SARS-CoV-2 v imunoglobulinových třídách IgG a IgA metodou enzymatické imunoanalýzy (ELISA).

Protilátky proti antigenu NCP (NucleoCapside Protein) SARS-CoV-2:

Specifická protilátka proti NCP je v porovnání s anti-S1 nižší. Vzhledem k tomu, že anti-NCP se nevytvářejí po očkování všemi dostupnými vakcínami, je jejich průkaz příznakem prodělané infekce virem SARS-CoV-2. Časový průběh tvorby protilátek proti NCP je značně individuální, u většiny pacientů jsou detekovatelné po 10. dni od nástupu příznaků nebo po pozitivní přímé detekci patogena.

Provádíme stanovení protilátek proti antigenu NCP SARS-CoV-2 v imunoglobulinových třídách IgG a IgM metodou enzymatické imunoanalýzy (ELISA).

4.5.2. Respirační infekce

ASLO (Antistreptolysin O)

Průkaz ASLO umožňuje rozpoznat předcházející streptokokovou infekci (tonzilitidu, spálu, revmatickou horečku, glomerulonefritidu) způsobenou streptokoky skupiny A, C a G.

ASTL

Vyšetření má diagnostický význam pro rozpoznání stafylokokové infekce.

Pertuse

Protilátky proti pertusovému toxinu

B. pertussis je příčinou 20 – 30% případů kašle trvajícího déle než 2 týdny u adolescentů i dospělých, je však často považována za výhradně dětské onemocnění. Dospělí mohou přenášet infekci na děti, u kterých onemocnění často vede k hospitalizaci. Získaná imunita proti *B. pertussis* není celoživotní, protilátky jsou detekovatelné cca 10 let po vakcinaci. *B. pertussis* patří k patogenům získávaným v komunitách.

Pertusový toxin (PT) je produkován pouze druhem *B. pertussis*. Hlavní složkou humorální odpovědi proti této infekci jsou hladiny specifických IgG (IgG-PT), které v čase klesají. Po vakcinaci celobuněčnou vakcínou je pozorován pouze slabý nárůst odpovědi. Acelulární vakcíny indukují silnější odpověď, i tehdy ale následuje poměrně rychlý pokles hladin. Proto je třeba hladiny IgG-PT u vakcinovaných dětí interpretovat opatrně.

Při primární infekci jsou nejdříve detekovatelné IgM-PT (5 – 10 dnů po vzniku infekce), perzistují 6 – 12 týdnů. IgA-PT lze detekovat cca 11 dnů od nástupu infekce a perzistují 6 – 24 měsíců. IgA-PT se tvoří také u vakcinovaných dospělých po přirozené reinfekci (bez klinických projevů) a proto je možné je detekovat i u zdravých jedinců. Děti do věku 1 roku obvykle IgA-PT netvoří, u dětí do věku 10 let se tvoří jen nízké hladiny specifických IgA. Proto jsou u dětí IgM-PT známkou probíhající infekce. IgG-PT se tvoří nejdříve 2 – 3 týdny od počátku infekce. Reinfekce se vyznačuje nárůstem IgG a IgA proti pertusovému toxinu.

Interpretace výsledků

Anti-PT IgA	Normální hladiny v závislosti na věku			
	< 1 rok	1 – 4 roky	5 – 10 let	> 11 let
	< 2 IU/ml	< 2 IU/ml	< 6 IU/ml	< 12 IU/ml

Anti-PT IgG	Hodnocení	Interpretace
< 36 IU/ml	Negativní	Nezvýšený titr Ab proti toxinu <i>B. pertussis</i> – Není podezření na infekci – Při existenci symptomů opakovat odběr nebo stav vyjasnit dif. dg.
36 – 44 IU/ml	Hraniční	Zvýšený titr Ab proti toxinu <i>B. pertussis</i>

		<ul style="list-style-type: none"> – Perzistující Ab po proběhlé infekci – Ab začínající im. odpovědi nebo vzniklé po vakcinaci
> 100 IU/ml	Pozitivní	Významně vyšší titer Ab proti toxinu <i>B. pertussis</i> <ul style="list-style-type: none"> – Průkaz čerstvé nebo nedávné infekce – Ab vzniklé v důsledku očkování (nutno sledovat očkovací management)
> 125 IU/ml	Infekce	Významně vyšší titer Ab proti toxinu <i>B. pertussis</i>, svědčí o akutní infekci , pokud poslední očkování bylo provedeno před více než 12 měsíci

Parapertusse

Onemocnění vyvolané *Bordetella parapertussis* probíhá obvykle s mírnějšími klinickými příznaky, bez závažných komplikací. Až 40% onemocnění probíhá asymptomaticky. Mírnější forma onemocnění je důsledkem absence pertusového toxinu. Imunita získaná po onemocnění způsobeném *B. pertussis* nechrání před onemocněním způsobeném *B. parapertussis*. Stanovovány jsou protilátky ve třídách IgA a IgG.

Hodnocení	Index pozitivity
Negativní	< 0,9
Hraniční	0,9 – 1,1
Pozitivní	> 1,1

Vyšetření specifických protilátek proti *Bordetella sp.* metodou imunoblot - metoda je doporučována ke konfirmaci vzorků, které jsou reaktivní ve screeningových testech pro stanovení protilátek proti *B. pertussis* a *B. parapertussis*. Ve třídách IgG a IgA jsou stanovovány protilátky proti následujícím antigenům:

Antigen	Význam
Pertusový toxin (PT)	Anti-PT protilátky mohou být detekovány po infekci <i>B. pertussis</i> a po vakcinaci (PT je komponentou řady acelulárních vakcín).
Filamentózní hemaglutinin (FHA)	Anti-FHA protilátky mohou být detekovány po infekci <i>B. pertussis</i> nebo <i>B. parapertussis</i> a po vakcinaci <i>B. pertussis</i> (FHA je komponentou řady acelulárních vakcín).
Toxin adenylát-cykláza (ACT)	Anti-ACT protilátky mohou být detekovány po infekci <i>B. pertussis</i> nebo <i>B. parapertussis</i> (ACT není komponentou žádné z používaných acelulárních vakcín).

Chlamydiózy

Etiologickými agens humánních chlamydiových infekcí jsou tři druhy těchto intracelulárních bakterií – *Chlamydia pneumoniae*, *Chl. trachomatis* a *Chl. psittaci*. Onemocnění způsobená *Chl. pneumoniae* a *Chl. psittaci* jsou většinou diagnostikována nepřímo – průkazem protilátek v séru vyšetřovaného pacienta. K detekci specifických imunoglobulinů se používá metoda ELISA.

Aktivita infekce se stanovuje na základě séropozitivity ve třídách IgA a IgM. IgA protilátky jsou typické pro reinfekce a chronické perzistující infekce, IgM pro infekce primární. IgG protilátky v nízkých až středních titrech jsou považovány za anamnestické a obvykle je lze prokazovat po léta. Jejich trvale vysoké hladiny však mohou signalizovat i chronickou fázi onemocnění (u osob s defekty v tvorbě IgA). Pro chronickou perzistující chlamydiovou infekci jsou ale nejtypičtější vysoké hladiny IgA a IgG. Reinfekce je charakterizována rychlou reakcí IgA a vzestupem anamnestických IgG.

Imunoenzymatické stanovení protilátek proti rodu *Chlamydia sp.* v imunoglobulinových třídách IgG, IgA a IgM a druhům *Ch. pneumoniae* v imunoglobulinových třídách IgG, IgA a IgM.

<u>Interpretace výsledků</u> (platí pro následující třídy imunoglobulinů – IgG, IgA, IgM) Hodnocení	Index pozitivity
Negativní	< 0,8
Hraniční	0,8 – 1,1
Pozitivní	> 1,1

Vyšetření specifických protilátek proti *Chlamydia sp.* metodou imunoblot - metoda je doporučována ke konfirmaci vzorků, které jsou reaktivní ve screeningovém testu pro stanovení protilátek proti *Chlamydia sp.*. Ve třídách IgA a IgG jsou stanovovány protilátky proti následujícím antigenům:

Chl. trachomatis: MOMP, OMP2, TARP, CPAF, HSP60

Chl. pneumoniae: MOMP, OMP2, TARP, CPAF, YWBM

Chl. psittaci: MOMP, OMP2, TARP, CPAF

Metoda umožňuje detekci imunitní odpovědi proti všem třem lidským patogenům *Chlamydia sp.* v jednom kroku. Test byl původně vyvinut jako konfirmační, ale může být použit i pro screening.

Mycoplasmozózy

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 15 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Mycoplasma pneumoniae způsobuje plicní záněty nejčastěji u školních dětí, mladistvých a mladých dospělých. Inkubační doba je 10–14 dnů. Počáteční příznaky se podobají chřipce. Obdobné záněty plic mohou vyvolat také mikroorganismy rodu *Chlamydia*. Všechny vyvolávají atypickou pneumonii (bronchiopneumonii). Po počátku infekce *M. pneumoniae* se objevují specifické protilátky třídy IgM. Jejich hladiny dosahují maxima 1-4 týdny po nástupu onemocnění, po 5 měsících klesají pod mez detekce. U mladých pacientů se nacházejí vyšší titry IgM než u dospělých. Na základě zvýšených hladin IgM je možné určit akutní fázi infekce *M. pneumoniae* pouze z jednoho odběru. Hladiny specifických IgG protilátek stoupají pomaleji, jsou detekovatelné delší dobu než hladiny IgM. Významný nárůst hladin IgG u párových sér (odstup nejméně 2 týdny) může vypovídat o probíhající infekci (reinfekci) i v případě negativity IgM. U starších osob jemožné detekovat vysoké titry specifických IgA. Pro určení akutní fáze infekce u dospělých je stanovení protilátek třídy IgA výhodnější. **Pro diferenciální diagnostiku atypických pneumonií je vhodné provést současně stanovení protilátek proti *Chlamydia sp.* a *M. pneumoniae*.**

Interpretace výsledků (platí pro následující třídy imunoglobulinů – IgG, IgA, IgM)

Hodnocení	[index pozitivity]
Negativní	<0,8
Hraniční	0,8 – 1,1
Pozitivní	>1,1

Legionelózy

Intracelulární bakterie *L. pneumophila* je původcem tzv. legionářské nemoci. Legionella je rod bičíkatých bakterií. Druh *L. pneumophila*, kterou dle různých autorů tvoří až 15 séro skupin, je příčinou 80 - 90% zveřejněných případů legionellové infekce, séro skupina 1 má na svědomí až 70% případů legionelózy. Pro infekci *L. pneumophila* je typické akutní horečnaté respirační onemocnění s různou intenzitou projevů od mírného průběhu až po fatální pneumonie. Mezi známé rizikové faktory patří imunosuprese, kouření cigaret, konzumace alkoholu a souběžně probíhající plicní onemocnění. Nejčastěji jsou infikovány mladé a starší osoby. Hladiny IgM a IgA, které jsou významné pro určení akutní fáze onemocnění, mohou však perzistovat řadu měsíců až let, proto je jejich přínos pro diagnostiku sporný. Z tohoto důvodu jsou nabízeny komerční soupravy pro stanovení protilátek proti *L. pneumophila* pouze v izotypu IgG. Pro přesnější stanovení fáze infekce je vhodné testovat párová séra odebraná v odstupu 3 - 6 týdnů. Pokud dojde ke 4-násobnému vzestupu titru, jedná se o akutní infekci. Jsou stanovovány hladiny protilátek proti séro skupinám 1 – 7 druhu *L. pneumophila*.

4.5.3. Infekce GIT

Yersiniózy

Protilátky proti *Y. enterocolitica* jsou stanovovány ve třídách IgG a IgA metodou ELISA. Jedná se o protilátky namířené proti faktorům virulence a patogenicity (Yop - Yersinia outer membrane proteins, RP - release proteins), jež jsou kódované ve virulentním plazmidu, který nesou všechny sérovary *Y. enterocolitica* patogenní pro člověka (O:3, O:8, O:9, O:5.27 atd.). Faktory virulence kódované plazmidem mají minimální odchylky v molekulové hmotnosti. Charakteristický je však vysoký stupeň zkřížené reaktivity virulentních faktorů. Proto při použití virulentních faktorů jednoho patogenního sérovaru je zajištěna specifita i senzitivita pro testování protilátek proti virulentním faktorům dalších patogenních sérovarů.

Specifické IgA, IgG a IgM protilátky mohou být detekovány v časně fázi infekce po kontaktu s virulentními faktory *Y. enterocolitica*. Titry IgA a IgM klesají po několika měsících. IgG protilátky přetrvávají déle a mohou být detekovány v séru 1 rok i déle. U chronické formy onemocnění nebo při imunopatologických komplikacích mohou být IgA a IgG detekovány i po delším časovém úseku.

Interpretace výsledků (platí pro následující třídy imunoglobulinů – IgG, IgA)

Anti- <i>Y. enterocolitica</i> IgG [RU / ml]	Anti- <i>Y. enterocolitica</i> IgA [index pozitivity]
Negativní < 16	Negativní < 0,8
Hraniční 16 – 20	Hraniční 0,8 – 1,1
Pozitivní > 20	Pozitivní > 1,1

Vyšetření specifických protilátek proti *Yersinia sp.* metodou imunoblot - metoda je doporučována ke confirmaci vzorků, které jsou reaktivní ve screeningových testech pro stanovení protilátek proti *Y. enterocolitica* nebo klinicky odpovídají infekci *Yersinia sp.* při současné negativitě protilátek proti *Y. enterocolitica* v ELISA testu. Ve třídách IgG a IgA jsou stanovovány protilátky proti následujícím antigenům:

Antigen	Popis
YOP M	Vnější protein <i>Yersinia sp.</i>
V-AG	Faktor virulence <i>Yersinia sp.</i>
PSA	Adhezin specifický pro <i>Y. pseudotuberculosis</i>
YOP D	Vnější protein <i>Yersinia sp.</i>
MyfA	Adhezin specifický pro <i>Y. enterocolitica</i>
YOP E	Vnější protein <i>Yersinia sp.</i>

Onemocnění způsobené *Helicobacterem pylori*

Vyšetření sérových protilátek ve třídách IgG a IgA vhodné u diagnóz: gastroduodenální vřed, chronická gastritis, duodenitis, dyspeptický syndrom. V současnosti vysoká promořenost populace však snižuje význam tohoto vyšetření.

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 16 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Vyšetření specifických protilátek proti *Helicobacter pylori* metodou imunoblot. Metoda imunoblot umožňuje přesnější specifikaci protilátek stanovených v ELISA testu. Nepřímo je tak možné určit virulenci kmene *H. pylori*, který v daném případě způsobuje infekci, a na základě toho stanovit prognózu a schéma léčby. Závažnost onemocnění je ovlivněna virulencí kmene *H. pylori*, kterým byl jedinec infikován. Pro kmeny s vysokou virulencí je charakteristická produkce vakuolizujícího toxinu kódovaného genem VacA. Přibližně 80% cytotoxických kmenů dále exprimuje antigen CagA (Cytotoxin Associated Genproduct), který vyvolává téměř u všech pacientů protilátkovou odpověď. Infekce vyvolané kmeny *H. pylori*, které tento antigen neexprimují, nejsou v porovnání s infekcemi vyvolanými kmeny CagA+ tak závažné. K dalším vysoce specifickým antigenům patří protein vnější membrány (OMP - 19 kDa, 30 kDa), protein o mol. hmotnosti 26 kDa a malá podjednotka ureázy (UreA - 29 kDa). Dále je možné detekovat protilátky proti zkřížené reagujícím antigenům (flagelin - 54 kDa, velká podjednotka ureázy UreB - 66 kDa, protein bičíkové pochvy FSH - 67 kDa) a další nespecifické antigeny. Protilátky proti CagA přetrvávají v organismu po dlouhou dobu, proto tento parametr není vhodný pro sledování terapie.

***Helicobacter pylori* - přímý průkaz**

Diagnostické strategie vedoucí k detekci *H. pylori* je možné rozdělit do dvou skupin. V první je přímý průkaz *H. pylori*, který bylo dříve možné provést pouze invazivním způsobem (histologické vyšetření nebo kultivace vzorku získaného biopsií). Další skupinu tvoří neinvazivní metody, které prokazují přítomnost *H. pylori* v organismu většinou nepřímou cestou (stanovení protilátek, dechový ureázový test). V nedávné době byly vyvinuty metody umožňující přímý průkaz *H. pylori* neinvazivním způsobem. Jednou z těchto metod je imunoenzymatické stanovení antigenu *H. pylori* ve vzorcích stolice. Metoda vykazuje vysokou shodu s histologickým a kultivačním vyšetřením, podobně jako s výsledky dechového ureázového testu. Je vhodná zejména pro dětské pacienty, u kterých je invazivní vyšetření spojeno s vyšším rizikem. Podle citací ze zahraniční literatury i našich vlastních zkušeností je možné využít tuto metodu pro monitoring pacientů po léčbě.

Onemocnění způsobené *Campylobacteriemi*

Rod *Campylobacter* zahrnuje Gram-, spirálovité, mikroaerofilní, mezofilní až termofilní bakterie s bipolárními bičíky. Rezervoárem patogena jsou teplotně živočišné (divoká a domácí zvířata, domácí mazlíčci včetně ptáků). V současné době je kamylobakteriáza nejčastějším onemocněním z potravin v ČR. Hlavním zdrojem infekce je kontaminovaná potrava nebo voda.

Infekce je do organismu obvykle zanesena orální cestou, patogen je dobře adaptovaný na přežívání v GIT. Velmi zřídka dochází k systémovým infekcím (meningitidy), postiženy bývají hlavně imunokompromitované osoby, děti a senioři. Inkubační doba je krátká (1 – 7 dní) a závisí nejspíš na infekční dávce. Může se projevovat asymptomaticky, častější jsou bolestivé příznaky ve střevním traktu někdy spojené s krvavými průjmy, horečkou, meningismem a bolestí svalů. Akutní obraz infekce přetrvává pouze několik dnů. Možnými důsledky kamylobakterové infekce jsou reaktivní artritida (ReA) nebo syndrom Guillain-Barré (GBS).

Zlatým standardem průkazu kamylobakterové infekce je kultivace patogena ze vzorku stolice. Jedná se však o časově náročné stanovení. Další možností je sérologický průkaz infekce. Používaná ELISA souprava s rekombinantními antigeny je určena pro stanovení protilátek třídy IgG a IgA proti *C. jejuni* a *C. coli* v lidském séru nebo plazmě.

Interpretace výsledků (platí pro následující třídy imunoglobulinů – IgG, IgA)

Hodnocení	[U/ml]
Negativní	< 20
Hraniční	20 – 24
Pozitivní	> 24

Vyšetření specifických protilátek proti *Campylobacter sp.* metodou imunoblot - metoda je doporučována ke confirmaci vzorků, které jsou reaktivní ve screeningovém testu pro stanovení protilátek proti *Campylobacter sp.* Ve třídách IgA a IgG jsou stanovovány protilátky proti následujícím antigenům:

Antigen	Popis
MOMP	Hlavní protein vnější membrány (porA)
PEB	<i>Cell-binding factor 2 (cbf2)</i>
PEB2	Hlavní antigenní peptid 2 PEB2
PEB1	<i>Major cell-binding factor (cbf1)</i>
OMP18	Lipoprotein asociovaný s peptidoglykanem
P39	Protein vázající ATP/GTP

4.5.4. Infekce přenášené klíšťaty

Borelióza

Rod *Borrelia* zahrnuje přes 20 druhů. Některé jsou např. součástí normální ústní flóry, jiné jsou patogenní (např. *B. duttonii*, *B. hispanica*, *B. parkeri*, *B. recurrentis*, *B. burgdorferi sensu lato*). Přenos na hostitele je zprostředkován hmyzem, zejména klíšťaty. Kromě člověka jsou hostiteli hlavně hlodavci a ptáci, ale i savci (psi). Bylo popsáno až 10 poddruhů *B. burgdorferi sensu lato*, z nichž jsou patogení tyto poddruhy: *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii*, *B. garinii*.

Stanovení specifických protilátek proti *B. burg. sensu lato* se provádí metodou ELISA ve třídách IgG a IgM. Stanovení specifických protilátek proti *B. burg. sensu lato* metodou imunoblot ve třídách IgG a IgM se považuje za confirmační test používaný v případech nejasných a rozporných sérologických vyšetření základními metodami.

Průkaz přítomnosti protilátek proti *Borrelia burgdorferii sensu lato* metodou imunoblot

Pro diagnostiku lymeské borreliózy metodou imunoblot je využívána souprava obsahující diagnosticky významné antigeny všech tří výše uvedených druhů rodu *Borrelia*. Pro zvýšení specifity stanovení jsou zastoupeny antigeny rekombinantní (r) i nativní (n). Hlavní antigeny VlsE pro IgG a OspC pro IgM jsou prezentovány samostatnými proteiny tří druhů borélií. Tabulka uvádí zastoupení jednotlivých antigenů použitých pro průkaz IgM resp. IgG proti patogenním druhům *B. burgdorferii sensu lato*:

IgM *B. afzelii* (Ba): p21 (OspC) – n, p39 (BmpA) – n, p41 (flagelin) – n
B. burgdorferi (Bb): p21 (OspC) – n
B. garinii (Bg): p21 (OspC) – n, VlsE – r

Schéma hodnocení reaktivity specifických IgM		P39, VlsE (Bb)	
		1 linie pozitivní	žádná reaktivita
OspC (Ba) nebo OspC (Bb) nebo OspC (Bg)	Nejméně jedna linie pozitivní	Pozitivní	Pozitivní
	OspC (Ba) nebo OspC (Bg) pozitivní	Pozitivní	Hraniční
	žádná reaktivita	Hraniční	Negativní

IgG *B. afzelii* (Ba): p83 – n, membránový lipid – n, VlsE – r
B. burgdorferi (Bb): p18 (P38) – r, p19 (N38) – r, p20 (Q03) – r, p21 (K53) – r, p58 (A34) – r, membránový lipid – n, VlsE – r
B. garinii (Bg): p25 (OspC) – n, p39 (BmpA) – n, p41 (flagelin) – n, VlsE – r

Schéma hodnocení reaktivity specifických IgG		p18, p19, p20, p21, p58, OspC, p39, p83, Lipid Bb, Lipid Ba, VlsE Ba, VlsE Bg		
		2 a více pozitivních linií	1 pozitivní linie	žádná reaktivita
VlsE (Bb)	Linie pozitivní	Pozitivní	Pozitivní	Pozitivní
	Linie slabě pozitivní	Pozitivní	Pozitivní	Hraniční
	Linie negativní	Pozitivní	Hraniční	Negativní

Vzhledem ke značné mezidruhové reaktivitě protilátek proti diagnosticky významným antigenům není ani pomocí této soupravy možné na základě přítomnosti specifických protilátek určit přesně druh *B. burgdorferii sensu lato* vyvolávající danou infekci. Kromě přehlednějšího (nejsou zastoupeny diagnosticky nevýznamné antigeny) a jednoznačnějšího hodnocení je další výhodou tohoto testu jeho menší časová náročnost a nižší nároky na úhradu nákladů zdravotními pojišťovnami (pro každý izotyp protilátek proti *B. burgdorferii sensu lato* je místo tří stanovení prováděno pouze jedno).

Klíšťová encefalitida

Vyšetření se provádí pro účely sledování protilátkové odpovědi po očkování proti klíšťové encefalitidě ve třídě IgG a na vyžádání také v IgM (průkaz infekce). Odpověď na očkování je závislá na věku a zdravotním stavu očkované osoby. Revakcinace se provádí v pravidelných tříletých intervalech. V případě potřeby odložení podání boosteru (těhotenství, autoimunitní onemocnění, probíhající alergenová imunoterapie atd.) je doporučováno vyšetření IgG protilátek proti klíšťové encefalitidě..

Ehrlichioza (*Anaplasma phagocytophilum*)

Agens způsobující lidskou granulocytární ehrlichiozu (HGE) náleží ke kmeni *Anaplasma* (původně *Ehrlichiae*), kam patří obligatorní intracelulární rickettsia-like bakterie s afinitou k hematopoetickým buňkám. Tento kmen zahrnuje rody *Anaplasma*, *Aegyptanella*, *Ehrlichia*, *Neoehrlichia* a *Neorickettsia*. V taxonomii rickettsií však dochází z důvodu nových poznatků k častým změnám.

HGE je zoonotické onemocnění přenášené klíšťaty i jejich larvami. V Evropě byla prokázána séropozitivita u 3-17% pacientů udávajících kontakt s klíštětem. Koinfekce s druhem *Borrelia burgdorferi* je možná z důvodů společného přenašeče.

Klinické projevy HGE jsou u většiny pacientů zpočátku podobné chřipce (horečka, myalgie, bolesti hlavy; vyrážky jsou pozorovány zřídka). Pacienti s HGE často vykazují silnou imunitní odpověď k HGE. Nepochybně-li léčba, detekovatelné hladiny IgM stoupají 3.-5. den po infekci nebo do 2 týdnů po počátku horečnatých stavů. Na nedetekovatelné hladiny klesají po 30-60 dnech. IgG hladiny jsou detekovatelné 7-10 den po infekci, maximálních hodnot dosahují 14.-21. den a persistují přibližně jeden rok. Protilátky mají tendenci dosahovat maximálních hladin v červenci, srpnu a září.

Přímý průkaz HGE agens v periferních granulocytech infikovaných osob nemůže považováno za citlivý diagnostický test, protože je pozorováno v periferních granulocytech pouze u 20% testovaných pacientů. Sérologické metody (imunoblot, IFA) jsou spolehlivější. Nejčastěji používanou metodou je IFA.

4.5.5. Parazitózy

Toxoplasmóza + avidita

Sérologická diagnostika:

- IgG, avidita IgG, IgM, IgA, IgE
- IgG- marker proběhlé infekce

Avidita IgG - nízká do 4měsíců od vzniku infekce, vhodná pro screening těhotných, ne pro korelaci s klinickými příznaky a léčbu

IgE - marker akutní infekce, do 4 měsíců od nástupu infekce silně pozitivní, od 6. měsíce pokles, "kopíruje"

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 18 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

klinické příznaky

IgA, IgM - markery akutní infekce, pomalejší pokles než IgE, delší přetrvávání zvýšených titrů (až 3 roky)

Toxokaróza + avidita

Sérologická diagnostika je s ohledem na nedokončení vývojového cyklu a nespecifických příznaků nákazy hlavním průkazem infekce u člověka. Vzhledem k tomu, že detekce imunoglobulinových tříd nepřinesla zlepšení diagnostických možností pro rozlišení akutní a chronické fáze onemocnění, spočívá tato diagnostika ve stanovení IgG protilátek a jejich avidity.

Stanovení avidity protilátek

Avidita reakce vyjadřuje sílu interakce mezi protilátkou a multivalentním antigenem (komplexní antigení struktury - bakterie, viry atd.). Je souhrnem složitých faktorů (heterogenní množina protilátek namířených proti jednotlivým Ag determinantám, heterogenita vlastních Ag determinant, vícemolekulární izotypy imunoglobulinů). Narůstá s afinitou (jednoduché interakce) a s počtem současně se uplatňujících vazebných míst.

Avidita protilátek vypovídá o jejich "vyzrálosti". Aviditní index (AI) se zvyšuje úměrně s dobou, která uplynula od nástupu infekce. Pomocí AI je možné určit stádium onemocnění v případech, kdy hladiny specifických IgM jsou zvýšeny i po akutní fázi (*Toxoplasma gondii*) nebo jestliže hladiny IgM nevypovídají o stádiu onemocnění (*Toxocara canis*, infekce herpetickými viry). V případě negativity nebo hraniční reaktivity IgG protilátek její testování nemá smysl.

4.5.6. Zoonózy

Tularémie

Aglutinační reakce s antigenem *Francisella tularensis*. Maximální titry se vyskytují 2-3 měsíce po infekci, protilátky v nízkém titru přetrvávají často po celý život. Existuje zkřížená reaktivita s brucelami a s *Proteem OX-19*. **Brucelóza**

Vyšetření se provádí s antigenem *Brucella abortus*. Je přítomna zkřížená reaktivita s *F. tularensis*, *V. cholerae* a *Y. enterocolitica*.

Listerióza

Vyšetřujeme s antigeny *L. monocytogenes* O. Vzhledem k příbuznosti s enterokoky, stafylokoky a *B. subtilis* jsou nízké titry ($\leq 1:160$) v populaci běžné. V indikovaných případech se doporučuje provádět sérodiagnostiku z dynamiky titrů v 1., 2. a 3. týdnu onemocnění.

4.5.7. Dětské exantémové infekce

Příušnice

Příušnice (parotitis epidemica) jsou akutní virové onemocnění postihující slinné žlázy. Současně může dojít i k poškození pankreatu, varlat a vaječníků, možnou komplikací je meningitida. Při infekci během gravidity nelze vyloučit poškození plodu. Virus příušnic patří do skupiny paramyxovirů. K přenosu infekce dochází kapénkovým způsobem a přímým kontaktem (slinami). Infekce virem příušnic ať už symptomatická nebo subklinická poskytuje celoživotní imunitu. Protilátky ve třídě IgM indikují počáteční fázi infekce a slouží k diagnostice infekce. Objevují 2-3 dny po výskytu prvních klinických příznaků a přetrvávají obvykle 2-3 měsíce. Protilátky ve třídě IgG indikují probíhající či proběhlou infekci a nacházíme je také po vakcinaci, přetrvávají doživotně. Protilátky proti původci příušnic vyšetřujeme pomocí komerčně dodávaného ELISA testu. Jsou stanovovány hladiny protilátek IgM a IgG s následujícím referenčním rozmezím:

Hodnocení	[AU/ml]
Negativní	< 11,0
Pozitivní	$\geq 11,0$

Spalničky

Spalničky (morbilli) jsou akutní, vysoce nakažlivé virové onemocnění způsobené virem rodu *Morbillivirus* z čeledi *Paramyxoviridae*. Přenos probíhá hlavně prostřednictvím velkých kapének nebo přímým stykem se sekrety nosu či hrdla infikované osoby. Dříve, než byla k dispozici vakcína, byly spalničky převážně dětským onemocněním, avšak programy očkování proti spalničkám (součást očkování proti spalničkám, příušnicím, zarděnkám [MMR]) mají významný vliv na výskyt onemocnění a s ním související komplikace. Spalničky mohou přesto propuknout i v zemích s vysokým imunizačním pokrytím. V souvislosti s klesajícím rozšířením tohoto onemocnění nemají praktičtí lékaři zkušenosti s rozpoznáváním spalniček, a proto se zvětšuje potřeba sérologické laboratorní metody k odlišení spalniček od ostatních klinicky podobných onemocnění. Protilátky IgM a IgG jsou syntetizovány během primární imunitní reakce a lze je zjistit v séru během několika dnů od výsevu vyrážky. Hladiny protilátek IgM dosahují nejvyšší úrovně přibližně za sedm až deset dnů a poté rychle klesají. Po šesti až osmi týdnech jsou detekovatelné zřídka. Protilátka IgM není obecně detekována u imunního jedince v případě opakované expozice viru spalniček. Opakovaná expozice viru spalniček vyvolává silnou anamnestickou imunitní reakci s rychlou tvorbou protilátek IgG zabraňující vzniku klinického onemocnění.

IgG		IgM	
	[AU/ml]		[index pozitivity]
Negativní	< 16,5	Negativní	< 0,9
		Hraniční	0,9 – 1,1
Pozitivní	$\geq 16,5$	Pozitivní	> 1,1

Zarděnky

Zarděnky (rubeola) jsou infekční onemocnění projevující se exantémem a vyvolané virem zarděnek. Onemocnění probíhá benigně s velice vzácnými komplikacemi, často subklinicky. Je charakterizované zvýšenou teplotou, nevolností, únavou a makulopapulární vyrážkou v průběhu tří až pěti dnů. K možným komplikacím patří konjunktivitida nebo katar horních cest dýchacích. Onemocnění je obvykle doprovázeno lymfadenopatií. Infekce vede k dlouhodobé imunitě.

Infekce virem zarděnek je nebezpečná zejména během prvních čtyř měsíců těhotenství, kdy je spojena s vysokým rizikem různých postižení plodu, z nichž některá jsou stálá a nepříznivě ovlivňují další vývoj (šedý zákal, hluchota, hepatosplenomegalie, psychomotorická retardace, změny na kostech, kardiopatie a neuropatie). Obecně se má za to, že toto riziko klesá se vzrůstající dobou těhotenství. Intrauterinní přenos viru při reinfekci matky je velice vzácný, což ukazuje, že imunita matky (ať přirozená nebo získaná vakcínací) chrání plod před infekcí.

První humorální odpověď na infekci virem zarděnek je tvorba specifických protilátek třídy IgM vrcholící dva týdny po objevení vyrážky a přetrvávající jeden až dva měsíce. Specifické protilátky třídy IgG se obecně objevují několik dnů po vyrážce, obvykle jeden týden po protilátkách IgM. Jejich hladina vzrůstá a dosahuje vrcholu během šesti až deseti týdnů po objevení příznaků a pak postupně klesá na úroveň 15-200 IU/mL, která trvá po celý život. Reinfekce je zcela bezpříznaková a je provázena mírně zvýšenou hladinou specifických protilátek IgG. Správné stanovení IgM a IgG protilátek proti viru zarděnek je nezbytná pomůcka pro diagnózu akutní infekce a sledování jejího dalšího průběhu, dále pro poznání imunitního stavu těhotné ženy a pro přijetí vhodné profylaxe u vnímavých žen ve fertilním věku. Protože je vakcinace dostupná, je stanovení IgG protilátek proti viru zarděnek rozšířeno pro určení sérokonverze po očkování.

Hodnocení	IgG	IgM
	[IU/ml]	[AU/ml]
Negativní	< 10	< 20
Hraniční	10	20 – 24
Pozitivní	> 10	≥ 25

5. nemoc (Parvovirus B19)

Parvovirus B19 je původcem tzv. páté nemoci (megalerythema infectiosum nebo jen erythema infectiosum či parvoviroza), což je poměrně běžné onemocnění dětského věku projevující se jasně červenou vyrážkou v obličejí, která se může rozšířit po celém těle. U dospělých je místo vyrážky nejvýraznějším symptomem bolest, která může trvat dny až týdny. Nejčastěji jsou postiženy klouby na rukou, na zápěstí, kolena a kotníky. Infekce může vést k život ohrožující anémii u osob se sníženou imunitou a jedinců se skrytou hemolytickou poruchou. Další rizikovou skupinou jsou těhotné ženy. Většina těhotenství, při kterých dojde k infekci parvovirem B19, končí porodem zdravého dítěte v termínu. Přesto infekce během těhotenství představuje riziko přenosu na plod. V literatuře je uváděna míra úmrtnosti plodu následkem infekce mezi 1 až 11%. Příčinou je nejspíš anémie plodu vzniklá v důsledku replikace parvoviru B19 v prekurzorech červených krvinek. Riziko ztráty plodu je většinou svázáno s infekcí matky parvovirem B19 v prvních 20 týdnech těhotenství.

K infekci parvovirem B19 dochází přímým kontaktem s respiračními sekrety a šíří se lokálně v zimních a jarních měsících. Příznaky infekce parvovirem B19 jsou zjevné až po ukončení viremické fáze. Zvýšené riziko přenosu je v místech s vysokou koncentrací osob (školy, nemocnice atd.). Proto je důležité stanovit protilátky proti parvoviru B19 u jedinců, u kterých je riziko infekce parvovirem B19 nebo u kterých již došlo k infekci. Jsou stanovovány hladiny protilátek IgM a IgG s následujícím referenčním rozmezím:

Hodnocení	IgM [index pozitivity]	IgG [IU/ml]
Negativní	< 0,9	< 2
Hraniční	0,9 – 1,1	2,00-2,49
Pozitivní	> 1,1	≥2,5

6. nemoc (HHV6)

HHV6 patří do skupiny beta-herpetických virů. Většina lidí je HHV6 infikována již ve věku 1-2 let. K nákaze nejspíš dochází slinami, kde bývá často detekován. Vysoká prevalence protilátek v celé populaci znemožňuje dosud spolehlivé určení souvislosti HHV6 se specifickým onemocněním. HHV6 je původcem exanthema subitum u kojenců a horečnatých onemocnění u dětí. U dospělých může vyvolat onemocnění podobné infekční mononukleóze. HHV6 se považuje za možného patogena při transplantacích, u HIV pozitivních osob i u dalších imunodeficitů. Je možným původcem některých maligních nádorových onemocnění (lymfom, leukémie). Při akutní infekci jsou určité známky invaze HHV6 do CNS.

Hladiny IgM nevypovídají o stádiu onemocnění, proto se jejich detekce neprovádí. Pro zpřesnění diagnostiky infekce HHV6 (nelze využít stanovení specifického IgM) je možné provést stanovení avidity anti-HHV6 IgG [IA]. Protilátky s nízkou aviditou jsou charakteristické pro časnou fázi onemocnění cca do 4 měsíců od počátku infekce. Vysokou aviditu nacházíme u afinitně maturovaných protilátek stanovovaných v delším odstupu od počátku infekce.

Reaktivita anti-HHV6 IgG		Avidita anti-HHV6 IgG	
[index pozitivity]		[index pozitivity]	
Negativní	IP < 0,9	Nízká	IA < 40
Hraniční	IP = 0,9 – 1,1	Hraniční	IA = 40 – 50
Pozitivní	IP > 1,1	Vysoká	IA > 50

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 20 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Varicella (plané neštovice) je akutní, vysoce nakažlivé virové onemocnění celosvětově rozšířené se sezónním výskytem v zimě a na jaře. Pro onemocnění je typický generalizovaný vezikulární exantém často doprovázený horečkou. V dětství má onemocnění většinou mírný průběh. U dospělých mívá průběh závažnější, u novorozenců a u osob se sníženou imunitou může být i smrtelné. Po primární infekci VZV perzistuje v latentní formě v nervových gangliích a po následné reaktivaci může způsobit herpes zoster (pásový opar), onemocnění, které postihuje zvláště starší osoby a osoby se sníženou imunitou. *Herpes zoster* je bolestivý, ohraničený výsev vezikulárních lézí se zánětem sensorických ganglií příslušného dorzálního kořene nebo hlavového nervu. IgM protilátky proti viru varicella-zoster lze detekovat během primární a reaktivované infekce. Stanovení specifického imunního stavu VZV může být vodítkem při léčbě pacientů se sníženou imunitou a podávání antivirových preparátů. Infekce virem varicella u vnímavých těhotných žen může vést k vážnému nebo dokonce ke smrtelnému onemocnění novorozenců. Přestože v individuálních případech lze infekci zabránit nebo ji modifikovat podáním imunoglobulinu proti VZV nebo antivirových léčiv, onemocnění varicellou lze zabránit pouze očkováním.

Hodnocení	IgG	IgM
	[mIU/ml]	[index]
Negativní	< 150	< 0,9
Hraniční	150	0,9 – 1,1
Pozitivní	> 150	> 1,1

Německá stálá komise pro očkování (Impfempfehlungen der Ständigen Impfkommision, STIKO) doporučuje v Epidemiologisches Bulletin č. 8 přijmout následující interpretaci výsledků (Robert-Koch-Institut, 2001, Berlín, Německo): Vzorky s koncentrací protilátek IgG proti viru varicella-zoster pod 50 mIU/mL by měly být vyhodnoceny jako negativní. Vzorky s koncentrací protilátek IgG proti viru varicella-zoster mezi 50 a 100 mIU/mL by měly být vyhodnoceny jako hraniční, ale výsledky se mají považovat za negativní.

4.5.8. Pohlavně přenosné infekce

Sérologie lues

VDRL- netreponémový, nespecifický ("reaginový") test doporučovaný WHO k screeningovému vyšetřování syfilis. Hodnocení semikvantitativní: negativní/pozitivní, na křížky + až +++. Reaktivita silně pozitivních sér (++, +++) se dále kvantifikuje, titer séra uváděný do výsledku odpovídá nejvyššímu ředění séra, které ještě reaguje na ++. Tato kvantitativní varianta VDRL reakce se využívá pro monitorování léčby. Existuje možnost biologicky falešně pozitivní reaginové reakce (kolagenózy, chron. infekce a další).

FTA-Abs - specifický ověřovací test s antigenem *Treponema pal.* Provádíme jej pro confirmaci pozitivních nálezů ve VDRL a TPHA. Výsledek je udáván semikvantitativním způsobem pro sérum vyšetřované v ředění 1:5: negativní/pozitivní, na křížky 1:5+ až 1:5+++.

TP Screen – vyšetření IgM a IgG protilátek proti diagnosticky významným antigenům *Treponema pallidum* (TpN15, TpN17 a TpN47) metodou chemiluminiscence na mikročasticích (CMIA). Test se vyznačuje vysokou specificitou (>99%) i senzitivitou (>99%), primárně byl vyvinut pro testování dárců krve.

ELISA IgG, IgM - v současnosti již uznávaný (WHO) další specifický test vhodný i pro screeningová vyšetření. Vyšetření specifického antitreponémového IgM lze používat v těchto případech: (a) Rozlišení dříve proběhlé infekce od infekce současné nebo nedávno proběhlé. (b) Detekce časně protilátkové odpovědi u primární syfilis. (c) Diagnostika kongenitální syfilis. (d) Monitorování účinnosti antibiotické léčby. Nutno mít na zřeteli, že izolovaná IgM může být způsobena vystupňovanou polyvalentní protilátkovou reaktivitou při některých infekcích. Vyšetření specifického antitreponémového IgG se používá jako confirmační test při nejasných výsledcích FTA a TPHA.

Vyšetření specifických antitreponémových protilátek imunoblotem - Metoda je doporučována ke confirmaci vzorků, které jsou reaktivní na treponémové protilátky ve screeningových testech sér, které dávají rozporné výsledky v ostatních testech. Hodnocení: určující antigeny pro specifické treponémové protilátky jsou linie 15,5 kDa, 17 kDa, 45 kDa a 47 kDa. Reaktivita s jedním určujícím antigenem znamená pozitivní reakci. Reaktivita v 1 linii: výsledek je sporný a je třeba opakovat odběr za 2 týdny.

Onemocnění způsobené *Chlamydií trachomatis*

Etiologickými agens humánních chlamydiových infekcí jsou tři druhy těchto intracelulárních bakterií – *Chlamydia pneumoniae*, *Chl. trachomatis* a *Chl. psittaci*. U povrchových urogenitálních zánětů, jejichž původcem je *Chl. trachomatis*, bývá výhodnější přímý průkaz agens. K detekci specifických protilátek proti *Chl. trachomatis* v imunoglobulinových třídách IgG a IgA se používá metoda ELISA.

Index pozitivity	Hodnocení
Negativní	< 0,9
Hraniční	0,9 – 1,0
Pozitivní	> 1,0

Vyšetření specifických protilátek proti *Chlamydia sp.* metodou imunoblot - metoda je doporučována ke confirmaci vzorků, které jsou reaktivní ve screeningovém testu pro stanovení protilátek proti *Chlamydia sp.*

Ve třídách IgA a IgG jsou stanovovány protilátky proti následujícím antigenům:

Chl. trachomatis: MOMP, OMP2, TARP, CPAF, HSP60

Chl. pneumoniae: MOMP, OMP2, TARP, CPAF, YWBM

Chl. psittaci: MOMP, OMP2, TARP, CPAF

Průkaz infekce HIV založený na současné detekci antigenu i protilátek

Současné stanovení anti-HIV protilátek a HIV antigenu umožňuje zkrátit tzv. "imunologické okno", tedy období, při kterém je organismus již infikován, ale ještě nedošlo k sérokonverzi specifických protilátek. Testem jsou stanovovány protilátky proti rekombinantnímu proteinu o molekulové hmotnosti 160 kd (HIV 1 Ag) a proteinu o

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 21 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

molekulové hmotnosti 36 kd (HIV 2 Ag). Současně je pomocí monoklonální protilátky detekována přítomnost "core proteinu" o molekulové hmotnosti 24 kd (HIV 1). Tento protein může být přítomen v patientských vzorcích ve dvou případech -

- časně po vzniku infekce - asi 5-6 dnů před objevením protilátek proti HIV (sérologický marker primární infekce)
- později, když pacient začne vykazovat znaky poklesu imunitních funkcí (sérologický marker pro prognózu a následnou léčbu). Test nelze použít pro screening HIV antigenu.

Vyšetření specifických protilátek proti HIV metodou imunoblot - metoda je doporučována ke confirmaci vzorků, které jsou reaktivní ve screeningovém imunochemickém testu. Ve třídě IgG jsou stanovovány protilátky proti následujícím antigenům:

Antigen	Oblast genu	Funkce / lokalizace
gp210	ENV HIV-1	Glykoprotein, součást vnější membrány HIV1
gp41	ENV HIV-1	Součást vnější membrány HIV1
p51	POL	Reverzní transkriptáza HIV1
p31	POL	Integráza HIV1
p24	GAG	Kapsidový protein HIV1
p17	GAG	Matrixový protein HIV1
gp105	ENV HIV-2	Glykoprotein, součást vnější membrány HIV2
gp36	ENV HIV-2	Transmembránový glykoprotein, součást vnější membrány HIV2

Při zjištění HIV reaktivity se vzorek opakovaně vyšetří podle vyhlášky MZ ČR č. 296/2000 Sb. V případě reaktivního výsledku je vzorek séra předáván k provedení confirmačních testů do NRL pro HIV/AIDS. Pouze NRL pro HIV/AIDS může vzorek označit jako pozitivní.

4.5.9. Virové hepatitidy

Hepatitida A

Současně s objevením prvních příznaků nebo v průběhu inaparentní infekce (ID 15-50 dní) je možné detekovat IgM protilátky (vyšetřování klinických případů nebo aktivní vyhledávání osob v epidemiologické souvislosti). Jejich hladiny rychle narůstají a jsou detekovatelné 3-6 měsíců. IgG protilátky se objevují po odeznění akutní fáze infekce a jsou detekovatelné po zbytek života.

Hepatitida B

Virus hepatitidy B je jediný lidský patogen v rodině hepatických DNA virů a je rozšířen celosvětově. Přenos viru se děje parenterálně, krevními deriváty a krví, pohlavním stykem a vertikálním přenosem. Pro charakteristiku infekce HBV se využívá řady markerů. Antigeny HBsAg a HBeAg indikují nastupující infekci, přítomnost HbsAg může indikovat chronické nosičství. Při zotavování po prodělané akutní hepatitidě B je HBeAg prvním serologickým markerem, který vymizí a zároveň se objevují Anti-HBe protilátky. Anti-HBs protilátky se obecně objevují po vymizení HBsAg z krve, obvykle asi 6 měsíců po infekci, a jejich přítomnost znamená uzdravení a imunitu. Přítomnost anti-HBs nelze použít jako jediný marker potvrzující prodělanou infekci. Anti-HBc se objevuje krátce po HBsAg a dosahuje maxima během akutní fáze před nástupem anti-HBs. IgM protilátky anti-HBc vymizí po odeznění nekomplikované akutní infekce, ale IgG protilátky přetrvávají léta. Anti-HBc protilátky jsou zvýšené u chronické infekce. Postvakcinační imunita se ověřuje stanovením anti-HBs. Za protektivní titer se považuje hladina >10 IU/l.

Hepatitida C

Zvýšený výskyt hepatitidy C je u rizikových skupin obyvatel (uživatelé intravenózních drog, hemofylci, dialyzovaní pacienti a pacienti po transplantaci, homosexuálové). Přenos z infikované matky na plod je na rozdíl od HBV vzácný. Sérologická diagnostika spočívá ve stanovení IgG protilátek proti HCV. Nové citlivější testy umožňují detekovat protilátky několik týdnů po nástupu infekce. Nejcitlivější metodou pro detekci HCV je PCR, pomocí které je možné odhalit infekci již několik dnů po jejím vzniku.

Vyšetření specifických protilátek proti HCV metodou imunoblot - metoda je doporučována ke confirmaci vzorků, které jsou reaktivní ve screeningovém testu pro stanovení protilátek proti HCV. Ve třídě IgG jsou stanovovány protilátky proti následujícím antigenům:

Oblast	Rekombinantní antigen
Core 1	Kapsidové antigeny (strukturální proteiny)
Core 2	
Helikáza	Nestrukturální protein – část NS3 s helikázovou aktivitou
NS3	Nestrukturální protein s proteázovou a helikázovou aktivitou
NS4	Nestrukturální proteiny
NS5	

Metoda umožňuje detekci protilátek proti všem významným genotypům HCV (1 – 6).

Hepatitida E

Virus hepatitidy E (HEV, čeled' Calicivirů, rod Hepevirus) se vyskytuje v zevním prostředí, zejména ve vodě, je značně stabilní. Byla prokázána existence dvou odlišných kmenů. Klinický obraz je podobný jako u virové hepatitidy A, stejně jako u infekce vyvolané HAV nebyl popsán přechod do chronicity. Také výše smrtelnosti je u obou onemocnění obdobná, výjimku tvoří pouze těhotné ženy, u nichž může smrtelnost dosáhnout až 20 % v případě, že k infekci došlo ve třetím trimestru gravidity. U 30-50 % infikovaných probíhá infekce asymptomaticky, byly prokázány i asymptomaticky probíhající reinfekce.

Diagnóza je stanovena na základě klinického obrazu, epidemiologické anamnézy a sérologického vyšetření, při kterém je stanovována protilátka anti-HEV komerčně vyráběnými soupravami. Protilátky mizí do roka po onemocnění. Nemocnost bývá nejvyšší mezi mladistvými a mladými dospělými. U nás se virová hepatitida E běžně nevyskytuje, což nevylučuje možnost importovaných onemocnění u osob přijíždějících z oblastí s endemickým výskytem. Přenáší se fekálně-orální, nejčastěji vodou, ale i od osoby k osobě. Inkubační doba je 15-64 dní, v různých epidemiích byla nejčastěji 4-6 týdnů. Období nakažlivosti není jednoznačně stanoveno. Ve stolicích nemocných byl HEV detekován 2 týdny po objevení se ikteru. Přes 50 % infekcí HEV může probíhat aniktericky, počet ikterických případů stoupá s věkem onemocnělých. Až 50 % onemocnění může probíhat asymptomaticky. U žen ve třetím trimestru těhotenství často dochází k fulminantní formě onemocnění. Terapie je symptomatická.

Epidemiologická opatření jsou podobně jako u HAV preventivní (kromě imunizace) a represivní (kromě aplikace imunoglobulinu).

Vyšetření specifických protilátek proti HEV metodou imunoblot - metoda je doporučována ke confirmaci vzorků, které jsou reaktivní ve screeningovém testu pro stanovení protilátek proti HEV. Ve třídách IgG a IgM jsou stanovovány protilátky proti následujícím antigenům:

Antigen	Umístění	Původ
O2N	Kapsidový protein HEV	genotyp 1, genotyp 3
O2M	Kapsidový protein HEV	genotyp 1
O2C	Kapsidový protein HEV	genotyp 1, genotyp 3
O3	Protein HEV	genotyp 1, genotyp 3

Výběr homologních proteinů dvou různých genotypů (genotyp 1 a genotyp 3) zajišťuje vysokou senzitivitu.

4.5.10. Infekce způsobené herpetickými viry

EBV -specifické protilátky proti viru EB

Jejich stanovení umožňuje vedle diagnostiky primoinfekce virem EB (infekční mononukleóza, inaparentní inf.) rovněž posouzení komplikací persistence EBV v organismu (reaktivace EBV, chronická EB viróza):

Anti-VCA-IgG: Pozitivita přítomna u primoinfekce, v nízkých titrech přetrvává po celý život.

Anti-VCA-IgM: Pozitivita indikuje akutní onemocnění, netrvá déle než 2 až 4 měsíce, opakovaná pozitivita svědčí pro reaktivaci resp. chronickou infekci EBV. **Anti-EA-IgG:** Trvalá přítomnost těchto protilátek (déle než 1/2 roku) poukazuje na chronicitu EBV infekce.

Anti-EBNA 1-IgG: Negativní u jedinců, kteří nikdy neprodělali infekci EBV a během prvních třech měsíců po infekci. Je průkazem proběhlé infekce EBV.

Typ infekce	anti-VCA-IgM	anti-VCA-IgG	anti-EA-IgG	anti-EBNA	PB/OCH
primoinf. preklin.	+	-	-	-	-
primoinf. klinická	+	+++	50 % +	-	70-80 %+
latentní infekce	-	+	-	+	-
reaktivace	+/-	++	50 % +	+	-

Vyšetření specifických protilátek proti EBV metodou imunoblot - metoda je doporučována ke confirmaci vzorků, které jsou reaktivní ve screeningových testech pro stanovení protilátek proti EBV. Ve třídách IgG a IgM jsou stanovovány protilátky proti následujícím antigenům:

Skupina antigenů EBV	Zkratka	Rekombinantní antigen
Nukleární antigen	EBNA-1	p72
Strukturální antigeny virové kapsidy	VCA	p23 p18
„Immediate Early Antigen“ - velmi časně antigeny	IEA	ZEBRA (peptid) BZLF1
„Early Antigen“ - časně antigeny	EA	p54 p138

Anti-BZLF1 IgG, anti-ZEBRA IgM a anti-EA IgG i IgM jsou časně markery infekce EBV

Anti-p18 IgG je pozdní marker infekce (detekovatelné cca 8 týdnů po vzniku infekce)

Anti-EBNA-1 IgG je pozdní marker infekce

Herpesvirus 1+2

Sledování dynamiky protilátek proti HSV 1 ve tř. IgG a IgM umožňuje nepřímou diagnostiku akutních herpetických infekcí (gingivostomatitida, eczema herpeticum, keratokonjunktivitida, meningoencefalitida). V případě latentní infekce s charakteristickými exacerbacemi (herpes labialis) a v některých případech chronického únavového syndromu je zpravidla nalézána pozitivita anti-HSV 1 IgG protilátek. Těžké sekundární imunodeficity jsou spojeny se zvýšeným rizikem herpetických komplikací (ulcerace jícnu, atyp. pneumonie) až generalizované herpetické infekce. Klasickým projevem infekce HSV 2 je herpes genitalis. Podobně jako HSV 1 může způsobit herpetickou meningoencefalitidu a generalizovaný herpes.

Vyšetření specifických protilátek proti HSV metodou imunoblot - metoda je doporučována ke confirmaci vzorků, které jsou reaktivní ve screeningových testech pro stanovení protilátek proti HSV, zároveň umožňuje odlišit protilátky proti HSV1 a HSV2. Ve třídách IgG a IgM jsou stanovovány protilátky proti následujícím antigenům:

Antigeny	Popis
----------	-------

gC1, gG1	purifikované z HSV1
gG2	purifikovaný z HSV2

Cytomegalovirus

Postnatální primoinfekce CMV probíhá většinou inaparentně, promořenost dokumentovaná přítomností IgG protilátek stoupá s věkem, CMV dlouhodobě perzistuje v organismu. Vzácnou formou primoinfekce je CMV mononukleóza. Imunosuprese (posttransplantační, popáleninová) se superinfekcí (opak. transfúze) může vést k závažným CMV komplikacím (hepatitida, pleuropneumonie, postižení CNS, sepse aj.).

Vyšetření specifických protilátek proti CMV metodou imunoblot - metoda je doporučována ke confirmaci vzorků, které jsou reaktivní ve screeningových testech pro stanovení protilátek proti CMV. Ve třídách IgG a IgM jsou stanovovány protilátky proti následujícím antigenům:

Antigen	Význam
IE 1	„Immediate early“ protein – velmi časný protein, nestrukturální
CM 2	Nestrukturální protein
p150	Protein tegumentu
p65	Protein tegumentu
gB1	Membránový glykoprotein gB
gB2	Membránový glykoprotein gB

Protilátky proti p150 (pp150/UL32) jsou obvykle produkovány během každé infekce CMV. Výjimečně může dojít k situaci, kdy po primární infekci nejsou anti-p150 IgG produkovány.

Po primární infekci mohou být detekovány následující protilátky: anti-IE1, anti-CM2 a anti-p65. Spolu s anti-p150 IgG jsou charakteristické pro primární infekci CMV při negativitě protilátek proti gB1 a gB2. V závislosti na době infekce je možné detekovat velmi slabou nebo negativní reaktivitu IgM.

Proběhlá infekce je spojena s protilátkami proti membránovému glykoproteinu (gB1, gB2) a p150, chybějí protilátky izotypu IgM. Protilátky proti membránovým glykoproteinům (gB1, gB2) jsou obvykle detekovatelné 6 až 8 týdnů po primární infekci.

Pro reaktivaci infekce CMV je charakteristická přítomnost IgG proti p150, membránovým glykoproteinům (gB1, gB2) a proti CM2, p65 a/nebo IE1. Kromě toho je třeba vzít v úvahu reaktivitu IgM, které bývají v případě reaktive často pozitivní.

HHV6

Popsáno v kapitole Dětské exantémové infekce.

4.5.11. Postvakcinační protilátky

Tetanus

Protilátky třídy IgG proti toxoidu *Clostridium tetani* se vyšetřují metodou ELISA.

Indikace:

- (1) epidemiologická - v případech osob s nejasnou anamnézou poslední dávky aktivní imunizace proti tetanu během života (chybějící záznamy v dostupné dokumentaci, nemožnost získání anamnézy),
- (2) rozhodování o způsobu vakcinace v případech traumat osob s neznámými údaji o vakcinaci,
- (3) imunologická - vyšetření humorální imunity v některých případech diagnostiky závažných imunodeficiencí primárních (CVID) i sekundárních (HIV infekce, AIDS, hematologické malignity); sledování hladiny protilátek proti všeobecně rozšířenému proteinovému vakcinačnímu antigenu.

Difterie

Stanovení protilátek proti difterickému anatoxinu má následující indikace:

- (1) kontrola očkování (především u starých osob a pacientů s poruchou imunity)
- (2) ověření hladiny anti-difterických protilátek v rámci komplexního vyšetření humorální imunity
- (3) epidemiologická šetření.

Protilátky proti pneumokokovému kapsidovému polysacharidu (PCP) IgG

Protilátková odpověď na vakcinaci nebo proti infekci *S. pneumoniae* je přibližně ve 30 % případů namířena proti nescifickému C-polysacharidu (C-Ps), a ne proti specifickému pneumokokovému kapsulárnímu polysacharidu (PCP). Protilátky proti C-Ps mohou zajistit určitý stupeň ochrany proti pneumokokovým infekcím, některé studie však tento efekt nepotvrdily. Protilátková odpověď proti polysacharidovým povrchovým antigenům může být také negativně ovlivněna hyposplenismem, splenektomií nebo častými meningokokovými či pneumokokovými infekcemi v dětství. ELISA metodou jsou stanovovány hladiny protilátek proti PCP ve třídě IgG, před vlastním stanovením jsou ve vyšetřovaném materiálu vysyceny protilátky proti C-Ps.

Protilátky proti kapsulárnímu antigenu bakterie *Haemophilus influenzae* typu B (HiB) IgG

Hladiny protilátek po vakcinaci

Kontrola hladin Ab ...

- a. u deficitů primárních i sekundárních
- b. vakcinovaní, splenektomovaní
- c. vakcinovaní

Bakterie *Haemophilus influenzae* typu B je častým původcem těžkých infekčních onemocnění u dětí do šesti let věku. Příčinou je nezralost imunitního systému nebo často také latentní imunodeficit se zvlášť sníženou humorální imunitní odpovědí na antigen obsažený v polysacharidovém pouzdře bakterie. Očkování všech dětí starších tří měsíce může vést k výraznému snížení HiB infekcí. Titry protilátek produkované po vakcinaci vypovídají o úspěšnosti očkování.

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 24 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Protilátky proti pertusovému toxinu IgG

Popsáno v kapitole Respirační infekce.

Protilátky proti klíšťové encefalitidě IgG

Popsáno v kapitole Infekce přenášené klíšťaty.

Protilátky proti spalničkám, zarděnkám a VZV ve třídě IgG

Popsáno v kapitole Dětské exantémové infekce.

4.6. Autoimunita - orgánově nespecifické autoprotiilátky

Antinukleární protilátky (ANA)

Stanovení ANA je vyhledávacím testem při vyšetřování antinukleárních protilátek. Antigenem v imunofluorescenční reakci jsou úplná buněčná jádra, jako substrát používáme tkáňovou linii HEp-2. Stanovení ANA slouží především pro diagnostiku a monitorování léčby SLE. Pozitivita ANA se může rovněž vyskytnout (v menším % případů a zpravidla v nižších titrech) u dalších systémových onemocnění - tzv. klasických kolagenóz. V nízkých titrech může být přítomna u některých dalších imunopatologických stavů (systémové imunokomplexové vaskulitidy, imunodeficitní stavy, exhaustivní infekční stavy). Ve stáří lze slabou pozitivitu ANA zjistit asi u 10-25 % populace.

Vyšetřování na linii HEp-2 umožňuje rozlišení různých typů fluorescence (homogenní, periferní, několik variant zrnité fluorescence, nukleolární, centromérová, cytoplazmatická).

Screeningové vyšetření protilátek asociovaných se systémovými chorobami pojiva (CTD screen)

V testu CTD screen stanovujeme protilátky třídy IgG proti směsi následujících antigenů: dsDNA, rib. P-protein, U1-snRNP (70kD, A a C), Sm, SS-A (Ro52 a Ro60), SS-B, Scl-70, Jo-1, centroméra, PCNA, fibrillarín, RNA polymeráza III, Mi-2, PM-Scl

Anti ds-DNA

Nepřímý imunofluorescenční test, kdy protilátky proti nativní dvouvláknové DNA se váží na ds-DNA obsaženou v kinetoplastu bičíkovce *Crithidia luciliae*. Test je vysoce specifický pro aktivní, neléčený SLE (asi 60-70 % případů). Vzácněji se vyskytuje v průběhu dalšího vývoje léčeného SLE.

Protilátky proti nukleozómům

Protilátky proti nukleozómům se vyskytují nezávisle na anti-dsDNA: 18% SLE sér reaguje pouze s nukleozómy a ne s dsDNA. Proto, je-li stanovení těchto protilátek zařazeno do vyšetřovacího schématu SLE, záchyt diagnózy se významně zvýší. Nukleozómy jsou funkční jednotky chromatinu a slouží k uložení DNA v jádře buňky. Jsou to vysoce organizované funkční subjednotky chromozómů obsahující histony a dsDNA. Histonové jádro složené z histonů H2A, H2B, H3 a H4 je obklopeno dvěma závití double helix DNA. Nukleozómy jsou propojené do řady spojovací DNA (linker DNA), která je asociovaná s histonem H1 v oblasti spojení.

Použití protilátek proti nukleozómům jako specifického markeru v diagnostice aktivního SLE bylo donedávna omezeno, protože při běžné přípravě nukleozómů pro diagnostické soupravy byla prokazována až 70% reaktivita sér pacientů se sklerodermií. Souprava, kterou naše pracoviště používá pro stanovení protilátek proti nukleozómům, obsahuje vysoce purifikovaný antigen. Specifita pro SLE se blíží 100%, séra zdravých dárců, pacientů se sklerodermií, Sjögrenovým syndromem nebo polymyositidou nevykazují de facto žádnou reakci.

Protilátky proti ribosomálnímu RNP (P-protein)

Tyto autoprotiilátky jsou vysoce specifické pro SLE (10-20 %), zvláště v případech s psychiatrickou manifestací.

Protilátky proti komplexu ENA

Extrahovatelný nukleární antigen - ENA - představuje skupinu jaderných proteinů, které jsou rozpustné v pufovaném fyziologickém roztoku, což je základní rys technologie jejich přípravy z buněčného materiálu. Stanovujeme protilátky proti směsi antigenů - CTD screen, který kromě nejčastějších ENA antigenů zahrnuje také fibrillarín a Mi-2; zároveň provádíme stanovení proti jednotlivým antigenům - SS-A/Ro 60, SS-B/La, Ro 52, RNP70, SMD, Scl 70 a Jo-1.

Indikace: Diferenciální dg. některých vzácnějších kolagenóz a obtížně zařaditelných případů: Sharpův syndrom, Sjögrenův syndrom, překryvné syndromy, SLE, systémová sklerodermie, dermatomyositis-polymyositis, popř. další.

Anti-SS-A/Ro62 kDa, Ro 52 kDa

Anti-SS-A/Ro protilátky jsou namířeny proti ribonukloproteinovému komplexu Ro/SS-A, který je tvořen malou molekulou RNA a proteinem skládajícím se ze dvou podjednotek o velikosti 52 kDa a 60 kDa. Tento ribonukleoprotein je obsažen ve všech savčích buňkách. Anti-SS-A/Ro autoprotiilátky jsou specifické zejména pro diagnózu Sjögrenův syndrom a systémový lupus erythematoses. Rutinně jsou stanovovány protilátky proti celému komplexu SS-A/Ro, některé studie však prokázaly, že protilátky proti podjednotce Ro 52 kDa nejsou specifické pro revmatická autoimunitní onemocnění, je možné je ve vysoké frekvenci (20 – 40%) detekovat u řady autoimunitních poruch (autoimunitní hepatitidy) nebo i v případech některých infekčních onemocnění (virové hepatitidy). Anti-Ro 52 kDa protilátky jsou však vysoce významné v diagnostice vrozeného srdečního bloku a syndromu neonatálního lupusu. V případě podezření na možnost výskytu těchto syndromů jsou protilátky proti Ro 52 kDa stanovovány v sérech těhotných matek. Z výše uvedených důvodů naše laboratoř při typizaci anti-ENA protilátek požadovaných zejména pro diferenciální diagnostiku revmatických autoimunitních onemocnění stanovuje anti-SS-A autoprotiilátky namířené proti podjednotce Ro 60 kDa místo původně stanovovaných protilátek proti celému komplexu Ro/SS-A.

Stanovení antinukleárních a anticypoplazmatických autoprotiilátek imunoblotingem

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 25 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Konfirmační metoda detekce autoprotilátek proti intracelulárním antigenům. Vyšetření doporučujeme použít při sporném výsledku ANF a CTD screen.

Stanovení specifických a asociovaných autoprotilátek s myozitidou ve třídě IgG metodou imunoblotu

Polymyozitida (PM) a dermatomyozitida (DM) patří mezi idiopatické zánětlivé myopatie. Je pro ně charakteristická řada příznaků a stanovený protilátkový profil nemocného může pomoci přesně určit diagnózu.

Protilátky proti Mi-2 jsou vysoce specifické pro dermatomyozitidou. Mohou být nalezeny u 15%-30% pacientů s dermatomyozitidou a u 8% až 12% případů idiopatické myositidy. Protilátky proti Ku mají prevalenci až 10% pro systémový lupus erythematoses (SLE). Anti-Ku protilátky jsou rovněž zjištěny v 5% až 25% případů překryvného syndromu polmyositis/ sklerodermie. Antigeny PMScl100 a PM-Scl75 jsou také využitelné v diagnostice překryvného syndromu. PM-Scl75 je hlavní antigen anti-PM-Scl imunitní odpovědi u difúzní systémové sklerózy, u překryvného syndromu je většina anti-PM/Scl protilátek namířena proti PM-Scl100. Protože se protilátky proti PM-Scl75 a PM-Scl100 mohou vyskytovat nezávisle na sobě, měly by být oba typy stanovovány rutinně. Je tak dosaženo maximální citlivosti: 19,8% pro difúzní systémovou sklerózu a 23,7% pro překryvný syndrom. Protilátky proti SRP (Signal Recognition Particule, podílí se na biosyntéze bílkovin) mají prevalenci 4% až 5% u pacientů s myositidou. Protilátky namířené proti aminoacyl-tRNA syntetázám se u pacientů s myositidou vyskytují v odlišných prevalencích (anti-Jo-1: 25%-55%, anti-PL-7: 3%-6%, anti-PL-12: do 3%, anti-EJ: 1%, proti-OJ: 1%) a jsou často asociovány dalšími současně probíhajícími autoimunitními chorobami (např. SLE, SSC nebo intersticiální plicní fibroza). Protilátky proti Ro-52 nejsou asociovány s konkrétním onemocněním, ale vyskytují se u autoimunitních a infekčních onemocnění v prevalenci 5%-81%.

Průkaz výše uvedených autoprotilátek diagnosticky významných pro myozitidu je hodnocen kvalitativně (pozitivní, negativní).

Stanovení autoprotilátek asociovaných se sklerodermií (autoprotilátky proti strukturám jadérek) ve třídě IgG metodou imunoblot

Stanovení autoprotilátek proti antigenům asociovaných se systémovou sklerózou v lidském séru/plazmě. Využití v diagnostice následujících onemocnění: progresivní systémová skleróza /difúzní i limitovaná forma), překryvné syndromy. Jsou stanovovány protilátky proti následujícím antigenům: Scl-70, Cenp A, Cenp B, RP11, RP155, fibrilarin, NOR-90, Th/To, PM-Scl 700, PM-Scl 75, Ku, PDGFR. Specifita jednotlivých protilátek pro dg. systémové sklerózy se pohybuje v rozmezí 98 – 100%. Senzitivita stanovení se pro jednotlivé antigeny pohybuje od 1% do 65 %, pokud je metodou imunoblot stanovován celý komplex protilátek, dosahuje senzitivita stanovení 85%.

Revmatoidní faktor (RF) - screen

Latex-fixační test (LFT) představoval základní test pro stanovení antiimmunoglobulinových protilátek (revmatoidní faktor), v současnosti je prováděno nefelometricky, výsledky jsou udávány v IU/ml. Revmatoidní faktor se vyskytuje především u revmatoidní artritidy (80 %), dále pak u dalších systémových revmatických onemocnění. V nižších titrech se pak může vyskytnout u chronických infekcí a nádorových onemocnění. Pozitivita u normální zdravé populace je až 4%, po 65. roce až 20%. Vyskytuje se poměrně často u chronických jaterních onemocnění.

Vyšetření revmatoidních faktorů ve třídách IgG, IgA, IgM

Asi 20 % klinicky zřejmých RA je v testu RF negativní (séronegativní RA), antiimmunoglobulinová aktivita je přítomna v izotypech IgG a IgA, pro stanovení se využívá metoda ELISA. Přínos vyšetření RF ve třídách imunoglobulinů: (a) Průkaz RF u séronegativní RA (detekce skrytých RF). Prof. Vencovský uvádí výskyt 15 % IgM-RF (=atypický, neaglutinující IgM-RF) a 20 % v dalších izotypech Ig u RF negativních nemocných. (b) Kvantita IgG-RF lépe než IgM-RF koreluje s aktivitou RA a je dávana do souvislosti s výskytem sekundární vaskulitidy a horší prognózou onemocnění. (c) Pozitivita IgA-RF signalizuje vážnější výskyt erozivního kloubního postižení v průběhu RA.

Pozn.: Zvláštní skupinu tvoří tzv. "skryté" RF, kdy RF je kompletně vyvázan v imunokomplexech, což způsobuje negativní reakci v aglutinační nebo proecipitační reakci . Průkaz skrytého RF vyžaduje speciální postup.

Vyšetření protilátek proti keratinu

Metoda nepřímé imunofluorescence na krysím jícnu. Vyšetření má význam u RA, kde je udávána pozitivita ve třídě IgG až ve 40 %. Výskyt této protilátky koreluje s aktivitou onemocnění.

Protilátky proti cyklickým citrulinovaným peptidům

V roce 1988 Schellekens a kol. publikovali, že v testech typu ELISA vykazují lineární peptidy obsahující citrulin (CP) vysokou specifitu (96 %) pro protilátky spojené s RA. Dlouhodobé studie ukázaly, že protilátky proti perinukleárnímu faktoru (APF) a anti-keratinové protilátky (AKA), které jsou vysoce specifické pro RA, reagují s nativním filagrinem a že všechny tyto protilátky jsou namířeny proti epitopům obsahujícím citrulin. Citrulin je nestandardní aminokyselina, protože není inkorporována do proteinů během proteinové syntézy. Může však vznikat posttranslační modifikací argininových zbytků působením enzymu peptidylarginindeiminázy (PAD).

Následné výzkumy prokázaly, že cyklické varianty těchto peptidů, nazývané cyklické citrulinované peptidy (CCP), jsou pro RA stejně specifické jako lineární peptidy, ale mají vyšší senzitivitu. S cílem dále zlepšit senzitivitu CCP testu byly prohledány knihovny s peptidy obsahujícími citrulin a ověřována reaktivita s RA séry. Takto byla objevena nová řada peptidů (CCP2), která v porovnání s původními CCP1 testy poskytuje vynikající funkčnost. Za posledních několik let byla diagnostická funkčnost testu CCP2 potvrzena v mnoha nezávislých studiích. Dále bylo zjištěno, že tyto protilátky jsou přítomny již ve velmi časných stádiích nemoci a mnoho publikovaných článků naznačuje, že zvýšené hladiny protilátek anti-CCP2 mohou předpovědět vývoj erozivního

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 26 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

onemocnění. Tato zjištění ukazují na důležitou roli cyklických citrulinovaných peptidů při stanovení diagnózy RA v raném stádiu.

Protilátky proti mutovanému citrulinovanému vimentinu

Protilátky proti mutovanému citrulinovanému vimentinu (MCV) jsou vysoce specifickým a citlivým markerem pro diagnostiku revmatoidní artritidy (uváděná specifita srovnatelná s anti-CCP - 97%, senzitivita rovněž srovnatelná s anti-CCP). Anti-MCV protilátky se objevují již v rané fázi onemocnění často před rozvojem klinických symptomů. Anti-MCV protilátky jsou indikátorem postupujícího poškození kloubů a agresivní progresse onemocnění. Změny v koncentraci anti-MCV (na rozdíl od anti-CCP protilátek) korelují s aktivitou onemocnění (možnost sledování léčby). Stanovení je prováděno ELISA metodou.

ANCA

Protilátky proti cytoplasmě neutrofilů se vyšetřují screeningově imunofluorescenčním testem na nátěrech lidských leukocytů. Imunofluorescenčním testem rozlišujeme 2 typy ANCA - c ANCA (cytoplasmatická) a p ANCA (perinukleární). Oba typy mohou být asociovány s pozitivitou proti několika antigenům - p ANCA nejčastěji s myeloperoxidázou (MPO), c ANCA s proteinázou 3 (PR3). Při pozitivitě IF testu se autoprotiilátky proti jednotlivým antigenům potvrzují ELISA testem.

ANCA - jednotlivé dílčí antigeny

Protilátky proti myeloperoxidáze (MPO) a proteináze-3 (PR3) - výskyt u jednotlivých onemocnění: granulomatóza s polyangiitidou (dříve Wegenerova granulomatóza), mikroskopická polyarteritida, rychle progredující glomerulonefritida, klasická polyarteritis nodosa, zánětlivá střevní onemocnění (MPO) a jiná autoimunitní systémová onemocnění.

BPI (bacterial permeability increasing protein) - autoprotiilátky proti tomuto proteinu jsou popsány až v 91 % u cystické fibrózy i společně s kožní vaskulitidou, dále u zánětlivých komplikací způsobených gram negativními bakteriemi, u pacientů s primárními bronchiektáziemi, u zánětlivých střevních onemocnění (ulcerózní kolitida, Crohnova choroba), u autoimunitních jaterních onemocnění (PBC, PSC aj.) a v menší míře i u jiných autoimunitních onemocnění. Protilátky proti laktoferinu (LF), katepsinu G (CG), elastáze (EL) a lysozymu (LZ) se vyskytují u SLE, RA, zánětlivých střevních onemocnění, MCTD, systémových vaskulitid aj.

Stanovení ANCA/anti-GBM metodou imunoblot

Metoda je využívána pro semikvantitativní stanovení ANCA IgG proti proteináze 3 (PR3), myeloperoxidáze (MPO) a bazální membráně glomerulů (GBM) v lidském séru nebo plazmě v diagnostice systémových autoimunitních vaskulitid. Metoda je vhodná zejména pro vyšetření statimových vzorků.

Antifosfolipidové protilátky

Antikardiolipinové protilátky (ACLA)

Metoda fluorescenční enzymoimunoanalýzy (FEIA) ve třídě IgG a IgM. Jsou to diagnostické autoprotiilátky pro antifosfolipidový syndrom (APS - opakované trombózy, potraty, trombocytopenie, recidivující CMP), který se vzácně vyskytuje jako samostatné onemocnění, častěji doprovází SLE nebo jiné systémové imunopatologické choroby. Pozitivita se může vyskytnout i v některých případech lues a přechodně u infekční mononukleózy.

Protilátky proti beta-2-glykoproteinu I:

Metoda fluorescenční enzymoimunoanalýzy (FEIA) ve třídě IgG a IgM. Protilátky proti beta-2-GPI jsou nacházeny v souvislosti s APS, trombózami, trombocytopenií, opakovanými potraty, SLE a jinými systém. onemocněními. Vyšetření je vhodné pro potvrzení ACLA.

Další antifosfolipidové protilátky

Protilátky proti PS/PT (komplex fosfatidylserin/ protrombin) v izotypech IgG a IgM.

Protilátky proti PS/PT jsou rizikovým faktorem arteriální a venózní trombózy u APS a jejich pozitivita vysoce koreluje s pozitivitou LA a opakovanou ztrátou plodu. Vyšetřují se tak u pacientů s podezřením na APS, u kterých nebyla prokázána pozitivita LA a ostatních antifosfolipidových protilátek a při poruchách těhotenství a plodnosti.

Protilátky proti protrombinu a annexinu V ve třídách IgG a IgM metodou ELISA.

Protilátky proti **protrombinu** lze nalézt u pacientů s prokázanou reaktivitou APLA. Vysoké hladiny protilátek proti protrombinu zvyšují riziko žilních trombóz a plicních embolií. Nárůst hladin antiprotrombinových protilátek je spojován se zvýšeným rizikem infarktu myokardu.

Protilátky proti **annexinu V** jsou asociovány s gynekologickými komplikacemi při antifosfolipidovém syndromu (APS). Předpokládá se, že autoprotiilátky proti annexinu V „zablokují“ annexin V, který na placentárních klíčích tvoří „ochranný“ štít proti anionickým prokoagulačním fosfolipidům. O těch je známo, že zesilují procesy srážení krve v cévním systému placenty a mohou významně přispívat ke vzniku trombóz a tím k předčasnému ukončení těhotenství při onemocnění APS.

Stanovení obou analytů není součástí screeningového vyšetření autoprotiilátek, jsou to tzv. „metody druhé volby“. Jejich detekce se provádí při detailní analýze výše uvedených imunopatologických stavů.

Protilátky proti **doméně 1 β2GP1** ve třídě IgG (Anti-β2GP1-D1 IgG) se vyšetřují metodou chemiluminiscenční imunoanalýzy (CLIA). Molekula β2GP1 (apolipoprotein H) byla identifikována jako primární cíl autoprotiilátek u pacientů s antifosfolipidovým syndromem (APS). Struktura tohoto proteinu je tvořena pěti homologními doménami. Po vazbě β2GP1 s fosfolipidy dojde k linearizaci molekuly β2GP1 a tím k uvolnění dosud skrytých epitopů, které reagují s přirozenými autoprotiilátkami. Četné studie prokázaly, že stanovení protilátek proti β2GP1-D1 lze využít v případě klinických a laboratorních nálezů asociovaných s APS. V porovnání s dosud dostupnými testy (ACLA, anti-β2GP1, LAC) je senzitivita tohoto stanovení vyšší. Lze jej s výhodou využít v diagnostice APS u pacientů, u kterých jsou tyto testy negativní. Specifita stanovení protilátek proti β2GP1-D1 je také vyšší, což může snížit výskyt falešně pozitivních diagnóz. Tento test lze použít jako metodu druhé volby v případě nekonzistentních výsledků. V porovnání se stanovením protilátek proti celé molekule β2GP1 vykazuje

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 27 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

stanovení protilátek proti β 2GP1-D1 silnější asociaci s trombózami i dalšími klinickými symptomy asociovanými s APS.

Stanovení protilátek proti fosfolipidům ve třídě IgM a IgG metodou imunoblotu

Kvalitativní stanovení IgM a IgG protilátek proti kardiolipinu, kyselině fosfatidové, fosfatidylcholinu, fosfatidyletanolaminu, fosfatidylglycerolu, fosfatidylinositolu, fosfatidylserinu, annexinu V, beta-2-GP1 a protrombinu, **AMA**

Antimitochondriální protilátky se vyšetřují imunofluorescenčním testem na řezech z krysí ledviny. Vyšetření se provádí společně s vyšetřením ASMA a protilátek proti příčné pruh. svalu. AMA bývá pozitivní u primární biliární cirhózy v 50-90 % případů, u AIH až 30 %.

Vyšetření antimitochondriálních protilátek typu M2, M2-3E/BPO, M4 a M9

Provádí se metodou ELISA (M2) a imunoblotingem. Hodnocení: pozitivní, negativní. Výskyt u jednotlivých onemocnění - M2: PBC, jiná chronická jaterní onemocnění, syst. skleróza; M4: PBC; M9: PBC, aktivní autoim. hepatitida, ak. a chron. hepatitida.

Protilátky proti příčně pruhovanému svalu

Protilátky proti příčně pruhovanému (srdečnímu) svalu se popisují asi u 40 % případů myasthenie gravis. Společně s AMA a ASMA nalézáme výskyt pozitivitu rovněž u četných systémových chorob (kolagenózy, sarkoidosa, M. Crohn, idiopatická plicní fibróza, lymfomy). Proto lze komplex těchto autoprottilátek použít jako pomocné vyšetření pro zhodnocení autoimunitní reaktivity organismu.

ASMA

Protilátky proti hladkému svalu se nalézají u chronické aktivní hepatitidy ve 40-70 % případů. Dále se vyskytují např. u akutní virové hepatitidy (70 %), primární biliární či (35 %), u infekční mononukleózy nebo vzácněji u maligních tumorů.

Protilátky proti mikrozomům jater a ledvin (LKM)

Protilátky proti LKM jsou namířené proti mikrozomům jater a ledvin. Existují dva typy LKM antigenů. LKM-1 má strukturu podobnou viru hepatitidy C, LKM-2 je metabolitem farmak a cytochromu P 450. Podstatnou částí mikrozomových enzymů je cytochrom P 450, který představuje hlavní cílový antigen pro tyto autoprottilátky. Anti-LKM se vyskytují u chronických aktivních autoimunitních hepatitid - LKM-1: chronická aktivní hepatitida a virová hepatitida C; LKM-2: chronická aktivní hepatitida indukovaná farmaky. Metoda IFR neumožňuje rozlišení autoprottilátek LKM-1 a LKM-2. Vyšetření se využívá v diferenciální diagnostice chronických hepatitid.

Stanovení autoprottilátek proti jaterním antigenům metodou imunoblot (Liver blot)

Detekce specifických protilátek proti jaterním antigenům je spolu s dalšími laboratorními a klinickými nálezy využívána v diagnostice autoimunitních jaterních onemocnění, ke kterým patří autoimunitní hepatitidy (AIH) a primární biliární cirhóza (PBC).

Antimitochondriální autoprottilátky (AMA), zejména protilátky proti antigenu M2 (AMA-M2) jsou vysoce významné pro stanovení dg. PBC. Pro zvýšení senzitivity stanovení je do testu zařazen i rekombinantní protein složený ze 3 významných epitopů subjednotky E2 molekuly M2 (M2-3E/BPO). kromě AMA mohou být u PBC také zvýšené hladiny antinukleárních protilátek proti antigenům Sp100, gp210 či PML (*promyelocytic leukemia proteins*). S AIH jsou asociovaný protilátky proti LKM-1 (protilátky proti mikrozomům jater a ledvin), LC-1 (protilátky proti cytosolu jater) a SLA/LP (protilátky proti solubilnímu antigenu jater/liver-pancreas).

Protilátky proti IgA

Anti-IgA protilátky se vyskytují u některých osob s úplným deficitem IgA a představují vysoké riziko anafylaktické reakce při podání transfúze krve nebo krevních derivátů. Vyšetřují se metodou ELIA (enzymová imunoanalýza) na přístrojích Phadia.

Antiendotelové protilátky (AECA)

Společným jmenovatelem pro všechny situace s výskytem AECA je zánětlivé poškození endotelu, většinou autoagresivního charakteru, kdy dlouhodobá aktivace imunitního systému (autoprottilátky, imunokomplexy, cytokiny, mononukleární krevní elementy) vede k aktivaci endotelií s následným poškozením větších či menších částí cévního řečiště. AECA jsou většinou dávány do souvislosti s výskytem vaskulitid u autoimunitních chorob, zvláště u SLE, systémové sklerózy, revmatoidní artritidy i jiných autoimunitních onemocnění.

4.7. Autoimunita - orgánově specifické autoprottilátky

Anti-PLA2R a anti-THSD7A (doména trombospondinu typ 1)

Autoantigenem u **PLA2R** protilátek je receptor pro fosfolipázu A2 exprimovaný lidskými podocyty. Podocyty tvoří výběžky obrůstající stěny kapilár glomerulu v Bowmanově váčku. Anti-PLA2R jsou vysoce specifické pro idiopatickou membranózní nefropatii (MN), se vyskytují asi u 70 % pacientů. U pacientů s jinou diagnózou je nenacházíme a prakticky se nevyskytují ani u pacientů s MN sekundární etiologie, což může mít velký význam pro klinickou praxi. U pacientů anti-PLA2R negativních může být před zahájením nebo prodloužením imunosupresivní terapie vhodný podrobnější screening k vyloučení sekundární formy, který by naopak nemusel být tak invazivní u pacientů s nálezem pozitivním. Hodnocení hladin anti-PLA2R protilátek dává možnost monitorovat jejich vývoj u membranózní nefropatie v průběhu onemocnění a korelovat je s klinickou aktivitou choroby. Po zahájení imunosupresivní léčby dochází k rychlému poklesu hladin anti-PLA2R protilátek, následuje velmi pomalý pokles proteinurie.

Stanovení protilátek proti doméně trombospondinu typ 1, který obsahuje protein 7A (THSD7A) spolu se stanovením protilátek proti fosfolipáze A2 receptoru (APLA2R) významně přispívá k diagnostice primární membranózní nefropatie (pMN). Autoantigenem pro vznik těchto protilátek je doména trombospondinu typu I obsahující protein 7A (THSD7A). Jedná se o transmembránový protein, který je exprimován na povrchu podocytů

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 28 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

v lidských ledvinných glomerulech. Vazbou autoprotilátek na tento antigen dochází k poškození podocytů a uvolnění proteinů do primární moči (proteinurii). Vyšetření protilátek proti THSD7A je doplňujícím vyšetřením ke stanovení APLA2R protilátek, které se vyskytují u více jak 70% pacientů s pMN. U zbývajících 30% pacientů s pMN lze předpokládat přítomnost jiného patogenního antigenu (např. i anti-THSD7A). Sérové protilátky anti-THSD7A byly detekovány až u 5% všech pacientů s idiopatickou MN resp. až u 14% pacientů s pMN bez prokazatelných APLA2R protilátek. Sledování hladiny protilátek je vhodné rovněž pro monitorování průběhu onemocnění a odpovědi na léčbu.

Protilátky proti štítné žláze

Tyto protilátky jsou detekovány chemiluminiscenčně, na pracovišti LI Praha je vyšetření prováděno ELISA testem. Protilátky proti štítné žláze jsou indikovány hlavně při diagnostice autoimunitních onemocnění štítné žlázy. Více než 90 % pacientů s tyreoiditidou má pozitivní protilátky proti tyreoidální peroxidáze (anti-TPO) nebo proti thyroglobulinu (anti-TG) nebo obojí. Rovněž více než 80 % pacientů s tyreotoxikózou a více než 60 % s adenokarcinomem štítnice má pozitivní anti-TG a přes 80 % pacientů s Basedowovou chorobou má pozitivitu anti-TPO. Oba typy autoprotilátek lze nalézt asi u 10 % zdravých lidí.

Protilátky proti TSH receptorům

Protilátky proti TSH receptorům obsaženým v membránách buněk štítné žlázy představují heterogenní skupinu protilátek s různým biologickým účinkem. Podle působení na TSH receptor mohou blokovat nebo stimulovat činnost štítné žlázy. Toto působení se může u daného pacienta měnit v průběhu onemocnění. TRAK jsou hlavním markerem u Graves-Basedowovy tyreotoxikózy. Jejich hladiny korelují s aktivitou onemocnění a využívají se pro monitorování léčby a odhad rizika relapsu. Graves-Basedowova tyreotoxikóza je nejčastější hypertyreózou, postihuje hlavně ženy ve věku mezi 30 až 60 roky. Vedle hypertyreózy provázené strumou se u více než 50 % případů vyskytuje endokrinní oftalmopatie, méně často lze zjistit endogenní dermatopatii. U fertálních žen s Graves-Basedowovou tyreotoxikózou mohou přecházet protilátky proti TSH receptorům transplacentárně a mohou být příčinou neonatální hyperthyreózy. Protilátky proti TSH-receptorům vyšetřujeme pomocí komerčně dodávaného ELISA testu s doporučenou návazností na mezinárodní standard MRC 90/672.

Protilátky proti bazální membráně epidermis (EBM)

jsou nacházeny hlavně u pemphigoidu a to ve třídě IgG a nekorelují s aktivitou onemocnění. Jsou nacházeny i u pacientů v remisi. Tyto protilátky se dále mohou vyskytovat u herpes gestationis, lineární IgA dermatózy a jizvícího pemphigoidu.

Protilátky proti intercelulární substanci (ICS)

jsou nacházeny u pemphigus vulgaris a foliaceus a to ve třídě IgG. Zde však titer protilátek koreluje s aktivitou onemocnění.

Protilátky proti antigenům kůže (transmembránové glykoproteiny BP180 a BP230, desmogleiny Dsg1 a Dsg3)

Kožní puchýřnatá onemocnění bulózní pemphigoid (BP), pemphigus foliaceus (PF) a pemphigus vulgaris (PV) jsou asociována s výskytem cirkulujících autoprotilátek proti transmembránovým glykoproteinům BP180 a BP230 (součást spektra protilátek proti epidarmání bazální membráně – anti-EBM) a desmogleinům Dsg1 a Dsg3 (součást spektra protilátek proti intercelulární substanci – anti-ICS).

U pacientů s BP se vyskytují převážně anti-BP180. Anti-BP230 jsou produkovány v časovém odstupu. Paralelní stanovení anti-BP180 a anti-BP230 autoprotilátek zvyšuje pravděpodobnost záchytu BP. Hladiny anti-BP180 korelují s aktivitou onemocnění, hladiny anti-BP230 s dobou trvání onemocnění. Anti-Dsg1 a anti-Dsg3 autoprotilátky jsou vysoce specifické i senzitivní pro diagnostiku pemfigusových onemocnění. U neléčených pacientů je průkaz samotných anti-Dsg3 potvrzením přítomnosti dg. PV postihujícího pouze sliznice. Přítomnost samotných anti-Dsg-1 je charakteristická pro PF. Jsou-li přítomny protilátky proti Dsg3 i Dsg1, je vysoká pravděpodobnost PV s postižením sliznic i kůže. Hladiny protilátek proti Dsg1 a Dsg3 korelují s aktivitou i závažností onemocnění a s úspěšností terapie.

Protilátky proti Langerhansovým ostrůvkům (ICA)

jsou charakteristickou autoprotilátkou pro diabetes melitus typu 1 - inzulin dependentní (IDDM). Pozitivita ICA se vyskytuje u 70-80 % nově zjištěných případů IDDM, u 3-4 % případů příbuzných nemocných IDDM a asi u 0,5 % normální zdravé populace. Překryvná polyglandulární autoimunní onemocnění (thyroiditis, adrenaltis, gastritis atd.): pozitivita ICA znamená zvýšené riziko vzniku IDDM, a to v každém věku.

Anti-GAD

V 90. letech minulého století byl definován nový terč autoprotilátek vyskytujících se u IDDM - dekarboxyláza kyseliny glutamové (GAD). Anti-GAD protilátky je možné detekovat u 20-80 % jedinců s nově diagnostikovaným IDDM a u 5-13 % jejich nejbližších příbuzných. Riziko nástupu onemocnění u příbuzných pacientů s IDDM do 5 let od detekce anti-GAD je 50%. Anti-GAD se mohou vyskytovat u pacientů se syndromem ztuhlosti (Stiff-man syndrom, SMS), v případech autoimunitního polyendokrinního syndromu typu II nebo u jiných orgánově specifických autoimunitních onemocnění. Zvýšené hladiny anti-GAD prokázané při těhotenském diabetu jsou indikátorem inzulin dependence.

Anti-GAD protilátky jsou v porovnání s jinými ukazateli vysoce citlivým, ale málo specifickým markerem IDDM. Současné sledování dalších markerů (např. anti-IA-2) zvyšuje specifitu tohoto testu.

IA-2

Protilátky proti antigenu Langerhansových ostrůvků 2 (Islet Antigen 2 - IA-2, protein z rodiny tyrosin fosfatáz, fogrin) se vyskytují u 50-80 % osob s nově diagnostikovaným IDDM a u 2-5 % jejich příbuzných. Jsou vysoce asociované s rychlou progresí onemocnění k prokázanému diabetu. Podle statistických údajů je v případě pozitivitu anti-IA-2 u příbuzných pacientů s IDDM pravděpodobnost nástupu tohoto onemocnění do 5 let 80%. Zdá

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 29 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

se, že anti-IA-2 protilátky jsou pro IDDM více specifické než protilátky proti GAD a méně často se objevují u jiných autoimunitních onemocnění bez IDDM.

Protilátky proti bazální membráně glomerulů (GBM)

Asi 5 % glomerulonefritid je způsobeno anti-GBM. Anti-GBM jsou přímým patogenetickým činitelem rozvoje renálního postižení a mohou způsobovat: glomerulonefritidu, Goodpastuerův syndrom (pozitivita anti-GBM se zde vyskytuje u 70-85 % případů), vzácně idiopatickou plicní hemosiderózu.

Protilátky proti parietálním buňkám - APCA

APCA jsou asociovány s autoimunitní gastritidou typu A (chronická atrofická gastritida) a perniciózní anemií. Vyskytují se u téměř 90% pacientů. Je možné je detekovat u jiných autoimunitních endokrinologických onemocnění (thyroidity, IDDM). Specifita APCA je však nízká, vyskytují se i u zdravé populace. Pro zvýšení přesnosti stanovení diagnózy atrofické gastritidy je vhodné doplnit vyšetření o stanovení protilátek proti vnitřnímu faktoru.

Protilátky proti protonové pumpě parietálních buněk (APCA, Anti H+/K+ ATP) a proti vnitřnímu faktoru (AIFA)

APCA se váží na struktury parietálních buněk a mohou inhibovat jejich funkci. Tvoří je heterogenní skupina protilátek – 1) APCA reagující s mikrozómy parietálních buněk (klasické APCA) - namířené proti gastrické protonové pumpě, 2) APCA reagující s povrchem parietálních buněk. Obtížně rozlišitelný fluorescenční obraz dává taktéž vazba heterofilních protilátek.

AIFA - existují dva typy těchto protilátek. Jejich rozlišování nemá praktický význam. Oba typy mají stejný patologický účinek – blokují resorpci vitamínu B12 (typ I – „blocking“ AIFA – blokují vazebné místo pro kobalamin na molekule vnitřního faktoru, typ II – „binding“ AIFA – blokují vazebné místo, kterým komplex IF-vB12 reaguje s receptorem ve střevní stěně)

Vztah APCA a AIFA k diagnóze perniciózní anémie:

	senzitivita	specifita
APCA	Vysoká	Nízká
AIFA	Nízká	Vysoká

Negativita AIFA nevylučuje diagnózu perniciózní anémie (pouze 60% pacientů s PA má pozitivní AIFA). APCA jsou často asociovány s atrofickou gastritidou u pacientů, kteří nemají PA. Izolovaná APCA pozitivita se vyskytuje v případech autoimunní gastritidy (>90% pacientů), která může vyústit v perniciózní anémii, u příbuzných pacientů s PA, u pacientů s autoimunní thyroditidou i u zdravých jedinců.

	APCA IgG [RU / ml]	AIFA IgG [RU / ml]
Negativní	< 18	< 18
Hraniční	18 – 22	18 – 22
Pozitivní	> 22	> 22

Idiopatická střevní onemocnění - IBD

Jsou to onemocnění s nejasnou etiologií (ulcerativní kolitida - UC, Crohnova nemoc - MC) a dosud nebyl popsán jednoznačný marker. Na jejich vzniku se podílí jak vnitřní (genová výbava, stav imunitního systému) tak vnější (infekce) faktory. Pro stanovení diagnózy jsou stále určující klinické příznaky. Laboratorní diferenciální diagnostika je založena na testování reaktivity panelu protilátek –

- Atypické ANCA ... UC
- AGC (protilátky proti pohárkovým buňkám střevní sliznice) ... UC
- ASCA (protilátky proti sacharomycétám) ... MC
- PAB (protilátky proti exokrinnímu pankreatu) ... MC

Kalprotectin **Protilátky proti antigenům pankreatu rPAG1 (CUZD1) a rPAG2 (GP2)**

Jedním ze specifických parametrů laboratorní diagnostiky Crohnovy choroby (CD) je stanovení protilátek proti acinárním buňkám exokrinního pankreatu. Tyto protilátky se vyskytují pouze u části pacientů s CD, což souvisí s autoimunitní patogenezí CD. Protilátky obsažené v sekretu pankreatu, které u CD způsobují zánět střevní sliznice jsou namířeny především proti proteoglykanům rPAG1 (CUZD1) nebo PAG2 (GP2). Stanovení těchto autoprottilátek metodou nepřímé fluorescence (IIFT) představuje nový přístup v serologické diagnostice CD. Pro zajištění reprodukovatelnosti výsledků jsou použity transfekované buňky. Prevalence IgG autoprottilátek proti proteoglykanům CUZD1 a GP2, které lze nalézt pouze u CD, je v průměru 40%, u případů, kdy trvá onemocnění déle než 2 roky až 50%. Vzhledem k tomu, že tyto autoprottilátky jsou orgánově specifické a vyskytují se v séru ve vysoké koncentraci, lze semikvantitativní stanovení těchto autoprottilátek využít pro odhad aktivity onemocnění. Stanovení provádíme metodou nepřímé imunofluorescence na substrátu transfekovaných buněk.

Protilátky proti neuronálním antigenům

Diagnosticky významné autoprottilátky proti neuronálním antigenům byly nedávno popsány v souvislosti neurologickými projevy u některých nádorových onemocnění (paraneoplastické syndromy CNS):

- Anti-Hu (ANNA 1, protilátky proti jádru neuronů): u paraneoplastických encefalomyelitid a neuropatií u malobuněčného plicního karcinomu, neuroblastomu, adenokarcinomu prostaty a sarkomů
- Anti-Ri (ANNA 2): podobně jako anti-Hu u paraneoplastických syndromů malobuněčného plicního karcinomu a karcinomu prsu
- Anti-Yo (PCA-1, protilátky proti cytoplazmě Purkyňových buněk): u paraneoplastických syndromů při karcinomu ovarií a prsu

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 30 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Protilátky proti amphiphysinu: u paraneoplastických syndromů např: u Lambert Eaton myastenického syndromu, u autonomní senzitivní senzo-motorické polyneuropatie, u encefalomyelitid doprovázených ztuhlostí, u mozečkového syndromu, u senzitivní neuropatie, u ataxie opsoclonus myoclonus, u Stiff man syndromu, u malobuněčného karcinomu plic, u karcinomu vaječnicků a karcinomu tlustého střeva, thymomu a u Hodgkinovy choroby. Paralelní výskyt těchto protilátek spolu s protilátkami proti šedé hmotě nebo proti ostrůvkovým buňkám pankreatu vede ke spojení paraneoplastického syndromu s inzulin dependentním diabetem mellitus.

- **Protilátky proti CV2:** asociace s limbickou encefalitidou, s ohniskovou epilepsií, s opsoclonus myoclonus ataxií, s extrapyramidálním motorickým syndromem, s cerebrální degenerací, s autonomní senzitivní senzomotorickou polyneuropatií, u malobuněčného karcinomu plic a thymomu.
- **Protilátky proti PNMA2 (Ma2/Ta):** u limbické encefalidity, u ohniskové epilepsie, opsoclonus myoclonus ataxie, u extrapyramidálního motorického syndromu, u cerebrální degenerace a některých karcinomů.

Protilátky proti povrchovým antigenům neuronů

Protilátky jsou namířeny proti glutamátovým receptorům (typ NMDA nebo typ AMPA), receptorům GABAB, DPPX, napětově řízeným draslíkovým kanálům (VGKC) nebo proteinům asociovaným s VGKC (LGI1, CASPR2, TAG-1/kontakin-2). Protože tyto antigeny hrají přímou nebo nepřímou roli v synaptickém přenosu signálu, související autoimunity se projevují záchvaty a neuropsychiatrickými symptomy. Mezi výsledné stavy patří speciální formy autoimunitní limbické encefalidity, neuromyotonie nebo Morvanův syndrom. Tyto těžké, potenciálně letální syndromy mohou mít neparaneoplastickou nebo paraneoplastickou etiologii. Frekvence základních nádorů se pohybuje od 10 do 70 % v závislosti na typu protilátky. Protilátky s největší pravděpodobností hrají kauzální roli v patogenezi. Vzhledem k tomu, že vhodná terapie (imunomodulační intervence, resekce tumoru) vede u většiny pacientů ke značné regresi symptomů, je pro příznivou prognózu důležitá včasná diagnostika.

Autoprotiilátky proti neuronálním antigenům asociované se zánětlivými, demyelinizačními chorobami:

- Protilátky proti myelinu: asociace s mozko-mišňí roztroušenou sklerózou
- Protilátky proti MAG (myelin associated glykoprotein): u pacientů s Guillian-Barré syndromem
- Protilátky proti nemyelinizovaným nervům: u chronických střevních zánětů
- Protilátky proti šedé hmotě mozkové: namířeny proti GAD, u IDDM a SMS

Protilátky proti gangliosidům

Jsou stanovovány protilátky proti následujícím gangliosidům – GM1, GM2, GM3, GD1a, GD1b, GT1b a GQ1b ve třídách IgG a IgM. Pro periferní neuropatie (PNP) jsou charakteristické motorické, senzitivní nebo autonomní dysfunkce. Příčiny mohou být dědičné nebo získané. U některých klinicky definovaných subtypů získaných PNP je možné detekovat protilátky proti gangliosidům. Nejčastější klinickou jednotkou, u které je možné detekovat protilátky proti gangliosidům, je syndrom Guillain – Barré (GBS). Předpokládá se, že protilátky proti gangliosidům jsou příčinou neurologických symptomů, současné metody stanovení je však odhalí pouze asi u 50% pacientů.

Protilátky proti aquaporinu-4 (AQP4)

Při diferenciální diagnostice roztroušené sklerózy (RS) je třeba mít na zřeteli možnost výskytu diagnózy Neuromyelitida optica (NMO, Devicův syndrom). Je to zánětlivá autoimunitní onemocnění CNS, jehož terapie (plazmaferéza, cyklofosfamid, Rituximab) je zcela odlišná od terapie RS. Devicův syndrom tvoří méně než 1% demyelinizačních onemocnění, z klinických projevů je významná optická neuritida a myelitida. Vyskytuje se častěji u žen (ženy : muži – 3 : 1), byl popsán výskyt i u dětí.

Pro stanovení diagnózy NMO platí revidovaná Wingerchukova kritéria (2006)

- absolutní kritéria (optická neuritida, akutní myelitida)
- podpůrná kritéria (nálezn na MRI mozku na počátku onemocnění nenaplní kritéria pro RS, na MRI míchy v T2 vážených obrazech s průkazem longitudinálně extenzivní transverzální myelitidy – léze o délce 3 a více obratlových segmentů, pozitivní NMO-IgG/AQP4-IgG v séru).

Pro NMO je příznačná přítomnost autoprotiilátek (viz podpůrná kritéria) proti povrchu Virchow-Robinových prostorů v optickém nervu. Jako antigen byl určen aquaporin 4 (AQP4), který tvoří hlavní transportní kanál H₂O v CNS. Kontroluje pohyb H₂O mezi mozkiem, likvorem a krví. Přítomnost protilátek proti AQP-4 je stanovována na řezech optického nervu, výsledek je potvrzen stanovením na linii buněk lidských embryonálních ledvin (HEK), které jsou transfekovány tak, aby exprimovaly AQP-4.

Protilátky proti myelin oligodendrocytovému glykoproteinu (MOG)

Protilátky (IgG) proti MOG jsou nalézány u pacientů s atypickými demyelinizačními procesy jako „neuromyelitida optica spectrum disorders“ (NMOSD) nebo „acute disseminated encephalomyelitida“ (ADEM). MOG protilátky byly detekovány především u pediatrických pacientů s ADEM, izolovaným zánětem optického nervu, transverzální myelitidou, encefalomyelitidou nebo encefalitidou mozkového kmene. Zatímco protilátky proti AQP-4 jsou nalézány v 64,7 % v diagnostice onemocnění NMOSD, anti-MOG protilátky jen v 7,4 % případů. Protilátky jsou stanovovány metodou cell-based assays (s využitím transfekovaných buněk s rekombinantním konformačně intaktním MOG).

Protilátky proti acetylcholinovému receptoru (AChR) a svalově specifické tyrozinkináze (MuSK).

Autoprotiilátky proti AChR a MuSK se vyskytují u myasthenia gravis (MG). Autoimunitní reakce na neuromuskulární synapsi způsobuje snížení přenosu vzruchu. Charakteristickým příznakem MG je svalová slabost při zátěži, typické jsou rozdíly v závažnosti příznaků. Slabost nepostihuje všechny svalové skupiny a vyskytuje se asymetricky. Protilátky proti AChR jsou vysoce specifické pro MG, jsou patogenní a vyskytují se asi u 85 % pacientů s MG. MG s časným nástupem postihuje především ženy do 40 let. MG s pozdním nástupem se

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 31 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

objevuje od 50. roku věku a je o něco častější u mužů. Počátek onemocnění je ve většině případů charakterizován slabostí očních svalů, která vede k diplopii a/nebo ptóze. U přibližně 20 % pacientů zůstává onemocnění omezeno na oční svaly, u většiny pacientů během několika let ale dochází ke generalizaci onemocnění. Generalizovaná MG postihuje především svaly končetin. Bulbární forma MG vede k potížím při polykání, mluvení a žvýkání. Myastenická krize je život ohrožující v důsledku slabosti dýchacích svalů. Přibližně 6 % pacientů s MG má negativní protilátky proti AChR a vykazuje pozitivitu protilátek proti MuSK, které jsou rovněž patogenní. Tato forma postihuje především mladší ženy. Většina pacientů s MG s protilátkami proti MuSK vykazuje generalizovaný, těžký průběh. Riziko myastenické krize je zvláště vysoké a šance na kompletní a stabilní remisi jsou výrazně nižší než u pacientů, kteří vykazují pozitivitu anti-AChR protilátek. Stanovení provádíme metodou nepřímé fluorescence na substrátu transfekovaných buněk.

Protilátky proti spermiím

V současné době se vyšetřují především u párů neplodných z neznámých příčin. Účinek těchto protilátek je namířen proti pohyblivosti spermií, ale i proti splnutí lidských gamet. Tyto protilátky ztěžují nidaci nebo negativně působí při ztrátě časného embrya.

Protilátky proti zona pellucida

Tyto protilátky působí inhibičně na fertilizaci. Vyšetřují se u nejasné neplodnosti, opakovaných potratů, u neúspěšné in vitro fertilizace a endometriózy I. a II. stupně.

Protilátky proti ovariu

Antiovariální protilátky se vyšetřují u pacientů s primárním ovariálním selháním, endometriózou, SLE a sterilitou. Dále se vyšetřují v souvislosti s protilátkami proti steroidy produkujícím buňkám (viz níže).

Protilátky proti buňkám produkujícím steroidní hormony

Tyto autoprottilátky se vyšetřují na nadledvinách, ováriích, varlatech a placentě. Onemocnění s výskytem těchto autoprottilátek: Addisonova choroba, autoimunní polyglandulární syndromy (APGS 1. a 2.) a ovariální selhání.

Potravinové intolerance

Protilátky proti kravskému mléku

Vyšetření je indikováno v případech intolerance kravského mléka především v dětském věku. Tento symptom bývá často sdružen s gluténovou enteropatií, proto je vhodné vyšetřovat s protilátkami proti kravskému mléku i protilátky proti gliadinu.

Protilátky proti gliadinu

Gliadin, jedna z četných elektroforetických frakcí glutenu, se uplatňuje v patogeneze glutenové enteropatie (celiakální sprue). Reakcí organismu je syntéza antigliadinových protilátek hlavně ve třídě IgG a IgA. Jejich stanovení má pro toto onemocnění diagnostický význam. Zvýšené hladiny AGA bývají nalézány rovněž u dermatitis herpetiformis Dühring.

Protilátky proti endomysiu (EMA)

jsou nejčastěji nacházeny u celiakální sprue a u dermatitis herpetiformis Dühring. Protilátky jsou stanovovány ve třídě IgA a v případě požadavku nebo zjištěného deficitu IgA i ve třídě IgG na substrátu opičího jícnu (EMA-oesoph) a lidského pupečníku (EMA-umbil). Senzitivita vyšetření pro diagnosu celiakální sprue je udávána 90 % (jako EMA-oesoph) resp. 100 % (v případě EMA-umbil).

Protilátky proti tkáňové transglutamináze (aTG)

Tkáňová transglutamináza byla popsána jako terčová struktura endomysia a stanovení protilátek proti tomuto enzymu významně zlepšuje diagnostiku celiakie. Vyšetření je vhodné jako screeningový test, vysoká pozitivní prediktivní hodnota v kombinaci se stanovením EMA (senzitivita a specifita 95-98 %). Stanovení protilátek aTG s lidským rekombinantním antigenem vykazuje nižší falešnou pozitivitu než metody s morčecím antigenem. Protilátky aTG lze stanovit ve třídě IgA i IgG (diagnostika celiakie u selektivního deficitu IgA).

Protilátky proti deamidovanému gliadinu

Protilátky proti nativnímu gliadinu vykazují nízkou specifitu v diagnostice celiakie. Naproti tomu protilátky proti deamidovaným gliadinovým peptidům jsou více specifické, podle dosavadních studií srovnatelně senzitivní jako vyšetření protilátek proti tTg a proti endomysiu ve třídě IgA. Výhodou je vysoká specifita a senzitivita i ve třídě IgG, která umožňuje diagnostiku celiakie u IgA deficientních pacientů. Protilátky stanovujeme ve třídě IgG a IgA.

Stanovení autoprottilátek proti antigenu hsp-70 (68 kD) asociovaných se sensorineurální ztrátou sluchu (SNHL) metodou imunoblotu

Ztráty sluchu mohou mít řadu příčin. Některé typy ztráty sluchu mohou být odvráceny, jsou-li včas odhaleny a je-li aplikována odpovídající terapie. Sensorineurální ztráta sluchu (SNHL – sensorineural hearing loss), běžně označovaná jako nervová hluchota, může být způsobena genetickými nebo získanými faktory (např. infekce), nebo může být imunologicky iniciovaná. Správná diagnóza SNHL může být stanovena na základě kombinace důkladné anamnézy pacienta a laboratorních nálezů. Ve většině případů není příčina SNHL zřejmá, takové případy jsou označovány jako idiopatická SNHL. Část idiopatických SNHL je úspěšně léčitelná imunosupresivní terapií. Laboratorní studie odhalily u těchto pacientů přítomnost protilátek proti antigenu vnitřního ucha (hsp-70, 68 kD). 22% pacientů s bilaterální rychle progredující SNHL a 30% pacientů s Menierovou chorobou mají protilátky proti antigenu o molekulové hmotnosti 68 kD. Tyto protilátky se také vyskytují u asi 60% s bilaterálním a 35% pacientů s unilaterálním Menierovým syndromem a u 37% pacientů s kolaterálním endolymfatickým hydropsem.

Cirkulující imunokomplexy (CIK-PEG)

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 32 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Spektrofotometrické stanovení CIK pomocí precipitace při definovaném pH a teplotě. Detekují se větší CIK, jež se vytvářejí v nadbytku protilátky. O aktivitě chorobného procesu nerozhoduje přítomnost imunokomplexů cirkulujících, ale imunokomplexů, které pronikly do cévní stěny, deponovaly se a umožnily rozvoj tkáňového poškození. Proto by diagnóza imunokomplexového onemocnění neměla být stanovena na základě jediného vyšetření CIK a vyšetření by se mělo opakovat. Současně se doporučuje sledovat hladiny C3 a C4. Pokles C3 a C4 může svědčit pro ukládání CIK. Pozitivita CIK bývá často přítomna u SLE, glomerulonefritid různého typu, systémových IK vaskulitid, revmatoidní artritidy. CIK mohou být přítomny rovněž v případě chronických infekčních onemocnění, hlavně bakteriálního původu. Dle WHO doporučení je nezbytné pro průkaz CIK použít vedle metody nespec. (PEG-IKEM) alespoň jednu metodu specifickou.

Cirkulující imunokomplexy pomocí vazby C1q složky komplementu (CIK-C1q)

Při využití detekce pomocí ELISA dochází k vyvázání imunokomplexů obsahujících C1q složkou komplementu an monoklonální protilátkou navázanou povrchu mikrotitrační destičky.

4.8. Thyreoidální diagnostika

TSH (Thyreoidální stimulační hormon)

TSH je hormonem hypofýzy, který prostřednictvím svého působení na štítnou žlázu hraje hlavní úlohu při udržování normální úrovně cirkulujících tyreoidních hormonů, T4 a T3. Jeho uvolňování do krevního oběhu je řízeno hypotalamem prostřednictvím TRH (thyrotropin releasing hormone) regulováno negativní zpětnou vazbou cirkulujícími T4 a T3. Stanovení TSH je klíčový laboratorní test pro diagnostiku primární hypotyreózy, sekundární hypotyreózy, hypertyreózy a pro monitorování supresní a substituční terapie tyreoidálními hormony.

PATOLOGIE -	PATOLOGIE +
Hypertyreóza T3-hypertyreóza Latentní hypertyreóza Sek. terc. Hypotyreóza	Primární hypotyreóza Latentní hypotyreóza

ft4

Thyroxin T4 je produkován štítnou žlázou, cirkuluje v krvi z 99,97% jako vázaný na proteiny jako je thyreoglobulin (TBG), prealbumin (TBPA) a albumin. Asi 0,03% T4 není vázáno. Tento volný T4 (FT4) je fyziologicky aktivní formou, stimuluje metabolismus a kontroluje přes hypofýzu zpětnou vazbu na TSH. Vyšetření FT4 má význam pro diferenciální diagnózu latentní a rozvinuté dystyreózy při suprimovaných nebo elevovaných hladinách TSH.

TSH	ft4	funkce
v referenčních mezích	v referenčních mezích	normální
↑	v referenčních mezích	snížená (subklinická forma)
↑	↓	snížená (klinická forma)
↓	v referenčních mezích / ↑□	zvýšená (subklinická forma)
↓	↑□	zvýšená (klinická forma)

ft3

Trijodtyronin T3 je z 20% produkován štítnou žlázou, z 80% vzniká deiodací tyroxinu (T4) v periferním oběhu. V krvi cirkuluje T3 z 99,7% jako vázaný na proteiny jako je thyreoglobulin (TBG), prealbumin (TBPA) a albumin, cca 0,3% není vázáno. Tento volný T3 (ft3) je fyziologicky aktivní formou, stimuluje metabolismus a kontroluje přes hypofýzu zpětnou vazbu na TSH. Při hypertyreóze odráží hladina ft3 v séru sekreční aktivitu štítné žlázy. Volný T3 se je indikován při vyšetření hypertyreózy, vyšetření závažnosti primární hypotyreózy, diferenciální diagnostika nízkých koncentrací TSH a podezření na autonomní sekreci během léčby tyroxinem

Protílátky proti štítné žláze

Tyto protílátky jsou detekovány chemiluminiscenčně, na pracovišti LI Praha je vyšetření prováděno ELISA testem. Protílátky proti štítné žláze jsou indikovány hlavně při diagnostice autoimunitních onemocnění štítné žlázy. Více než 90 % pacientů s tyreoiditidou má pozitivní protílátky proti tyreoidální peroxidáze (anti-TPO) nebo proti thyreoglobulinu (anti-TG) nebo obojí. Rovněž více než 80 % pacientů s tyreotoxikózou a více než 60 % s adenokarcinomem štítnice má pozitivní anti-TG a přes 80 % pacientů s Basedowovou chorobou má pozitivitu anti-TPO. Oba typy autoprotilátek lze nalézt asi u 10 % zdravých lidí.

Protílátky proti TSH receptorům

Protílátky proti TSH receptorům obsaženým v membránách buněk štítné žlázy představují heterogenní skupinu protilátek s různým biologickým účinkem. Podle působení na TSH receptor mohou blokovat nebo stimulovat činnost štítné žlázy. Toto působení se může u daného pacienta měnit v průběhu onemocnění. TRAK jsou hlavním markerem u Graves-Basedowovy tyreotoxikózy. Jejich hladiny korelují s aktivitou onemocnění a využívají se pro monitorování léčby a odhad rizika relapsu. Graves-Basedowova tyreotoxikóza je nejčastější hypertyreózou, postihuje hlavně ženy ve věku mezi 30 až 60 roky. Vedle hypertyreózy provázené strumou se u více než 50 % případů vyskytuje endokrinní oftalmopatie, méně často lze zjistit endogenní dermatopatii. U fertálních žen s Graves-Basedowovou tyreotoxikózou mohou přecházet protílátky proti TSH receptorům transplacentárně a mohou být příčinou neonatální hyperthyreózy. Protílátky proti TSH-receptorům vyšetřujeme pomocí komerčně dodávaného ELISA testu s doporučenou návazností na mezinárodní standard MRC 90/672.

Vitamin D

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 33 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Stanovení celkového 25-OH-vitamínu D používá ke kvantitativnímu stanovení 25-hydroxyvitamínu D a dalších hydroxylovaných metabolitů vitamínu D v lidském séru nebo v plazmě chemiluminiscenční imunoanalýzu (CLIA). Výsledky stanovení slouží k vyhodnocení dostatku vitamínu D. Při rozhodování o léčbě dospělých pacientů je nutné, aby kliničtí lékaři využívali výsledky testů společně s dalšími klinickými či laboratorními údaji. Kromě úlohy v kostním metabolismu slouží vitamín D také jako signální molekula mezi buňkami a tím kontroluje řadu genů účastnících se buněčné diferenciaci, replikaci a imunity. Proto se setkáváme s vitamínem D u onemocnění způsobených poruchou imunity, glukózového metabolismu kardiovaskulárního aparátu nebo u nádorových onemocnění.

Deficience	< 10 ng/ml	< 25 nmol/l
Snížené hladiny	10 – 30 ng/ml	25 – 75 nmol/l
Normální hladiny	30 – 100 ng/ml	75 – 250 nmol/l
Toxicita	> 100 ng/ml	> 250 nmol/l

Konverze jednotek 25 OH vitamin D: 1 ng/ml = 2,5 nmol/l

4.9. Onkomarkery

Karcinoembryonální antigen

CEA je glykoprotein, nalézající se ve fetálním endodermálním tkanivu a na povrchu buněk adenokarcinomů trávicího traktu. Zvýšené hodnoty v séru se nacházejí v případech kolorektálního karcinomu, dále v menším % případů u karcinomu prsu, plic, pankreatu a dělohy. Stanovení CEA je vhodný ukazatel pro monitorování v případech, kde byla před operací zjištěna pozitivita. Dojde-li po operaci k vymizení CEA, znamená to, že nádor je s velkou pravděpodobností úplně odstraněn. Přetrvávající resp. obnovená pozitivita CEA svědčí pro přítomnost metastáz nebo pro recidivu tumoru. Zvýšené hodnoty jsou pravidelně nalézány u kuřáků.

Alfa-1-fetoprotein

AFP je embryonální alfa-1-globulin s imunosupresivními účinky, hlavní plasmatický protein počátečního vývoje lidského fetu. V dospělém věku jsou jeho vysoké hodnoty nalézány u hepatocelulárního karcinomu, dále u teratoblastomu, méně často u ca žaludku. Nižší pozitivní hodnoty lze rovněž nalézt v některých případech jaterních lézí (reparace jaterní tkáně po toxickém poškození, cirhosa jater).

Tkáňový specifický antigen (TPS)

Sérový TPS je univerzální nádorový marker vhodný především pro dlouhodobé sledování nemocných a hodnocení účinnosti terapie, a to u karcinomů plic, prsu, močového měchýře a dalších malignit. Je přítomen v séru i u některých infekčních onemocnění a u postižení jater.

Beta-2-mikroglobulin (B2M)

Zvýšené hladiny B2M v séru jsou nalézány u onemocnění jater a ledvin. Produkce B2M u leukemií, lymfomů a mnohočetného myelomu předurčuje oblast využití v onkologické praxi. Jeho nevýhodou však je, že do oběhu je ve zvýšené míře uvolňován při buněčné nekróze např. při zánětlivých procesech, při chemoterapii a po aktinoterapii maligních nádorů aj. Dochází tak k nespecifickému zvyšování jeho sérových hladin, což ztěžuje interpretaci. Efekt terapie přetrvává minimálně 3 měsíce. Další využití je v nefrologii: B2M je filtrován přes glomeruly a zpětně vstřebáván v proximálním tubulu. Stanovení B2M v moči je proto velmi citlivým ukazatelem tubulárního poškození ledvin. U transplantací ledvin je vzestup sérové hodnoty signálem rejekce (odloučení) a předchází až 5 dní vlastní klinické projevy.

CA 15-3

Glykoprotein, který je produkován především karcinomy prsu mammy, ev. dalšími adenokarcinomy. Patří k základním markerům pro sledování vývoje onemocnění pacientek s karcinomem prsu. Zvýšení koncentrace tohoto markeru v procesu metastazování často předchází průkazu rozsevu diagnostikovaného zobrazovacími metodami. Jeho hladina obvykle koreluje s hmotou nádoru. Je zvýšen i v séru u některých benigních onemocnění (benigní onemocnění prsu, poškození jater a ledvin, záněty plic, revmatická onemocnění), rovněž fyziologicky v těhotenství.

CA 19-9

Jeho výskyt je charakteristický pro adenokarcinomy pankreatu, žaludku, tlustého střeva, jater a mucinózních nádorů ovaria. Stanovuje se často v kombinaci s CEA. Jeho koncentrace dosahují až více než 100 násobku hodnot cut-off. Využívá se především k monitoraci nemocných.

CA 125

Sérový CA 125 je vyšetřován v rámci screeningu, stagingu a monitorování onemocnění karcinomu ovarii, u dalších gynekologických tumorů (ca těla děložního), u nádorů plic a prsu, speciálně v případě infiltrace pleury či peritonea nádorem, a u hepatocelulárního karcinomu. Rychlý pokles k normálním hladinám během chemoterapie je prediktorem delšího přežití nemocných s ca ovarii.

HE4

Expresí lidského epididymálního proteinu 4 je vysoká především ve tkáni ovariálního karcinomu (serózního a světlóbuněčného) a karcinomu endometria. Ve zdravých epitelových tkáních dýchacího a reprodukčního traktu a u mucinózního typu ovariálního karcinomu je jeho exprese nízká. HE4 je vhodný marker pro časný záchyt karcinomu vaječnicků v raném stádiu bez klinických příznaků, marker progresu onemocnění a sledování účinnosti terapie.

Index ROMA

CA 125 bývá v časných fázích ovariálního karcinomu zvýšen pouze v 30- 50%, v pokročilých stádiích cca v 80%. Zvýšené hodnoty CA 125 je navíc možné prokázat i u fyziologických stavů jako jsou menstruace a

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 34 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

gravidita, při endometrióze, u benigních nádorů ovarií, myomů nebo při malignitách v jiných lokalitách. HE4 je jako samostatný marker senzitivnější než CA 125 pro detekci časných stádií ovariálního karcinomu a má vyšší senzitivitu a specifitu v rozhodování mezi benigními a maligními nálezy. Zvýšené hodnoty je však možné nalézt i v případě karcinomu plic nebo endometria. Výpočet ROMA indexu (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm) kombinuje výsledky obou stanovení a výrazně zvyšuje senzitivitu a specifitu záchytu epitelálního karcinomu ovarií. Jeho výsledkem je číselná hodnota, která vyjadřuje nízké či vysoké riziko zhoubného onemocnění vaječníků u žen v závislosti na hormonálním stavu (premenopauzální / postmenopauzální).

PSA, fPSA

PSA je glykoprotein produkovaný epitelálními buňkami prostatické tkáně. V séru je PSA inaktivován vazbou na α 1-antichymotrypsin, méně na α 2-makroglobulin, určitý podíl v séru se vyskytuje ve volné formě. Zvýšené hladiny PSA v séru nacházíme u karcinomu prostaty, ale i při benigní hyperplazii prostaty, prostatitidě a dalších nemaligních onemocněních. Za normální hodnotu se považuje PSA <4 ng/ml, při hodnotách PSA >4 ng/ml by měl pacient podstoupit punkční biopsii prostaty. V případě hodnot PSA v rozmezí 4-10 ng/ml se doplňuje stanovení volné frakce fPSA. Poměr fPSA/PSA bývá u maligního nádoru signifikantně nižší, 0- 15 %, v případě benigního onemocnění pak nad 20 %. Stanovení PSA je významné také pro detekci onemocnění ve stadiu metastáz a sledování odpovědi na léčbu.

4.10. Stanovení specifického IgE

Vyšetření specifického IgE se provádí metodou vysokoafinitní fluoroenzymoimunoanalýzy (FEIA) firmy ThermoFischer Scientific, tzv. ImmunoCAP systémem.

Vyšetření znamená výrazný přínos pro standardizaci in vitro diagnostiky IgE zprostředkovaných alergických onemocnění, s využitím především v oboru alergologie, dále v klinické imunologii, dermatologii, očním lékařství, ORL i v dalších oborech, v jejichž péči se může ocitnout pacient s atopickou chorobou.

Diagnostický přínos vyšetření specifického IgE závisí od značné míry na dobré spolupráci ordinujícího lékaře a laboratoře. Je proto vhodné postupovat podle níže uvedené informace.

Specifické IgE – seznam pracoviště Ústí nad Labem

Kód	Název latinsky/anglicky	Český název/poznámky
g	Trávy	
gx 1	směs:	Jednotlivé složky směsi
	trávy ranně kvetoucí	v současnosti nemáme
	g3 Dactylis glomerata	srha říznačka
	g4 Festuca elatior	košťava
	g5 Lolium perenne	jílek vytrvalý
	g6 Phleum pratense	bojínek luční
	g8 Poa pratensis	lipnice luční
gx3	směs:	Jednotlivé složky směsi v současnosti nemáme
	g1 Anthoxantum odoratum	tomka vonná
	g5 Lolium perenne	jílek vytrvalý
	g6 Phleum pratense	bojínek luční
	g12 Secale cereale	žito seté
	g13 Holcus lanatus	medyněk vlnatý
gx4	směs:	Jednotlivé složky směsi v současnosti nemáme.
	trávy pozdně kvetoucí	
	g1 Anthoxantum odoratum	tomka vonná
	g5 Lolium perenne	jílek vytrvalý
	g7 Phragmites communis	rákos
	g 12 Secale cereale	žito seté
	g13 Holcus lanatus	medyněk vlnatý
w	Plevele	
wx1	směs:	Jednotlivé složky směsi v současnosti nemáme.
	w1 Ambrosia elatior	ambrosie vyvýšená
	w6 Artemisia vulgaris	pelyněk Černobýl
	w9 Plantago lanceolata	jitrocel kopinatý
	w10 Chenopodium album	merlík bílý
	w11 Salsola kali	slanobýl draselný
wx3	směs:	Jednotlivé složky směsi v současnosti nemáme.
	w1 Ambrosia elatior	ambrosie vyvýšená
	w6 Artemisia vulgaris	pelyněk Černobýl

Laboratorní příručka

Označení: IP-2-LP/ 9

	w9	Plantago lanceolata	jitrocel kopinatý
	w10	Chenopodium album	merlík bílý
	w12	Solidago virga aurea	zlatobýl obecný
	w20	Urtica dioica	kopřiva dvoudomá
w8		Teraxacum vulgare	smetánka lékařská
w203		Rapaeed oleum	řepka olejka
t		Stromy	
tx9		směs:	Jednotlivé složky směsi v současnosti nemáme.
	t2	Alnus incana	olše šedá
	t3	Betula verrucosa	bříza bradavičnatá
	t4	Corylus avellana	líška obecná
	t7	Quercus alba	dub bílý
	tl2	Salix caprea	vrba jíva
t208		Tilia cordata	lípa srdčitá
t205		Sambucus nigra	bez černý
t9		Olea europaea	oliva
m		Plísně	
mx1		směs:	
	m1	Penicillium notatum	
	m2	Cladosporium herbarum	
	m3	Aspergillus fumigatus	
	m6	Alternaria alernata	
m1		Penicillium notatum	
m2		Cladosporium herbarum	
m3		Aspergillus fumigatus	
m4		Mucor racemosus	
m5		Candida albicans	
m6		Altarnaria alternata	
m7		Botrytis cinerea	
m9		Fusarium moniliforme	
m10		Stemphylium botryosum	
m11		Rhizopus nigricans	
m12		Aureobasidium pullul.	
d		Roztoči	
d1		Dematophagoides pteronyssinus	roztoč domácího prachu
d2		Dermatophagoides farinae	roztoč domácího prachu
d74		Euroglyphus maynei	roztoč domácího prachu
h		Domácí prach	
h1		Greer Labs., Inc.	směs prachu dle firmy
e		Zvířecí proteiny	
e1		Cat dander	kočka - srst
e3		Horse dander	kůň - srst
e4		Cow dander	kráva - srst
e5		Dog dander	pes - srst
e6		Guinea pig epithelium	morče
e84		Hamster epithelium	křeček - epiteliie
e77		Budgerigar droppings	papoušek vlnkovaný, (andulka - trus)
e82		Rabbit epithelium	králík - epiteliie
e213		Parrot feathers	papoušek- peří
e215		Pigeon feathers	holub - peří
e87		Rat epithelium, serum and urine proteins	krysa epiteliie, sérové a močové proteiny
e		Zvířecí proteiny - směsi	

Laboratorní příručka

Označení: IP-2-LP/ 9

ex2		směs: e1Cat dander e5Dog dander e6Guinea pig	Složky e87, e88 jednotlivě v současné době nemáme kočka - srst pes - srst morče - epitelie
		e87Rat	krysa
		e88Mouse	myš
ex71		směs: e70Goose feathers e85Chicken feathers	Jednotlivé složky směsi v současnosti nemáme. husa - peří kuře - peří
		e86Duck feathers	kachna - peří
		e89Turkey feathers	krůta - peří
e80		Goat epithelium	koza-epitelie
e81		Sheep epithelium	ovce-epitelie
f		Potraviny	
f1		Egg white	vejce - bílek
f2		Milk	mléko
f3		Fish (cod)	ryba - treska
f4		Wheta	pšenice
f5		Rye	žito
f8		Maize	kukuřice
f9		Rice	rýže
f12		Pea	hrách
f13		Peanut	burské ořechy
f14		Soya bean	sojové boby
f17		Hazel nut	lískové ořechy
f20		Almond	mandle
f25		Tomato	rajče
f31		Carrot	mrkev, karotka
f33		Orange	pomeranč
f35		Potato	brambory
f44		Strawberry	jahoda
f47		Garlic	česnek
f48		Onion	cibule
f49		Apple	jablko
f75		Egg yolk	vaječný žloutek
f76		α - lactalbumin	α - lactalbumin
f77		β - lactalbumin	β - lactalbumin
f78		casein	kasein
f79		Gluten	gluten
f84		Kiwi fruit	kiwi
f85		Celery	celer
f86		Parsley	petržel
f92		Banana	banán
f93		Cacao	kakao
f95		Peach	broskev
f208		Lemon	citrón
f209		Grapefruit	grapefruit
f221		Cofee	káva
f224		Papaver somniferum	mák setý
f235		Lentil	čočka
f237		Apricot	meruňka
f242		Cherry	třešeň
f256		Walnut Juglands spp.	ořech vlašský
f263		Green pepper	zelená paprika

Laboratorní příručka

Označení: IP-2-LP/ 9

f288		Blueberry	borůvka
f302		Mandarin	mandarinka
fx		Potraviny - směsi	
fx5		směs:	Při výsledku fx5 < 1,0 kU/l lze roztestovat jednotlivé alergeny.
f1		Egg white	vejce - bílek
f2		Milk	mléko
f3		Fish (cod)	ryba - treska
f4		Wheat	pšenice
f13		Peanut	burské ořechy
f14		Soya bean	sojové boby
fx73		směs:	Jednotlivé složky v současnosti nemáme
f26		Pork	vepřové maso
f27		Bee	hovězí maso
f83		Chicken meat	kuřecí maso
i		Hmyzí jedy	
i1		Apis mellifera	včela medonosná
i3		Vespula spp. Common wasp	vosa obecná
i4		Polistes spp. Paper wasp	vosík
i70		Solenopsis invicta	mravenec
i71		Aedes communis	komár jarní
i75		Vespa crabro	sršeň evropský
c		Léky	
c1		penicilloyl G	
c2		penicilloyl V	
c5		Ampicillin	
c6		Amoxicillin	
c7		Cefaclor	
c208		Tetanus toxoid	
c9		Tetracyclin	
c11		Cephalosporin	
c12		Doxycyclin	
c13		Paracetamol	
c14		Acetylsalicylová kyselina	
c57		Trimethoprim	
c58		Sulfamethoxazol	
c61		Erythromycin	
c68		Articain	
c78		Ibuprofen	
c79		Diclofenac	
c82		Lidocain	
c86		Benzocain	
c88		Mepivacain	
c89		Bupivacain	
c104		Klindamycin	
c108		Ciproflaxacin	
c153e		Metronidazol	
c210		Tetrakain	
c300		Procain	
c424		Prednisolon	
c431		Askorbová kyselina	
Různé			
o70		Seminal fluid	seminální tekutina

k		Alergeny pracovního prostředí
k80		Formaldehyde formaldehyd, též alergen domácího prostředí
k82		Hevea brasiliensis latex
g		TRÁVY
g213		rPhl p1, rPhl p 5b
g214		rPhl p7, rPhl p 12
t		STROMY
t215		rBet v1
t221		rBet v2
d		ROZTOČI
d202		rDer p1
d203		rDer p2
i		HMYZÍ JEDY
i208		rApi m1 (včela)
i214		rApi m2 (včela)
i216		rApi m5 (včela)
i211		rVes v1 (vosa)
i209		rVes v5 (vosa)
f		POTRAVINY
f76		nBos d4 (α -lactalbumin)
f77		nBos d5 (β -lactalbumin)
f78		nBos d8 (kasein)
f422		rAra h 1 (burský oříšek)
f423		rAra h 2 (burský oříšek)
f424		rAra h 3 (burský oříšek)
e		ZVÍŘECÍ PROTEINY
e204		nBos d6 BSA (kráva)
o		RUZNÉ
o214		Bromelain (MUF3 CCD)

Aktuální seznam vyšetřovaných specifických IgE pracoviště Ústí nad Labem je uveden na žádance pracoviště.

Seznam vyšetřovaných specifických IgE pracoviště Praha je uveden na žádance pracoviště.

1) Vyšetření PHADIATOP®

"ImmunoCAP Phadiatop®" je vyšetření pro souborné stanovení specifického IgE z lidského séra proti inhalovaným alergenům. Firma zaručuje vyváženou směs běžných vdechovaných alergenů, konkrétní údaje o spektru použitých alergenů neuvádí.

A) Pracoviště Ústí nad Labem

Hodnocení: Kvantitativní, výsledek udáván v jednotkách [PAU/L].

POZITIVNÍ ($\geq 0,7$ PAU/L) - prokázána atopie, uváděna až 90% shoda s intradermální testací 11 běžnými inhalačními alergeny, je vhodná následná testace specifickými alergeny.

NEGATIVNÍ ($\leq 0,35$ PAU/L) - nejedná se o atopickou reaktivitu na nejčastější inhalované alergeny, alergické onemocnění jiného typu však vyloučeno není.

Použití: Screeningový test, hlavně pro vyloučení atopie v případech negativní nebo nejisté anamnézy. Viz diagnostické schéma.

Roztestování Phadiatopu: V případech hodnot vyšších než 0,5 PAU/L je možné provést na základě požadavku roztestování Phadiatopu:

S → roztestování v další fázi vyšetření specifického IgE základními inhalovanými alergeny:

gx3 - směs pylů trav d1 - Dermatophagoides pteronyssinus
wx1 - směs pylů plevelů h1 - domácí prach
tx9 - směs pylů stromů mx1 - směs spór plísní

U výsledku Phadiatopu $< 0,5$ PAU se toto roztestování neprovádí.

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 39 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

V případě požadavku roztestování Phadiatopu u hodnot < 0,5PAU/L, je nezbytné označit toto slovně – „roztestovat hodnoty < 0,5“ na žádance.

B) Pracoviště Praha

Hodnocení: kvalitativní – negativní: nejedná se o atopickou reaktivitu na nejčastější inhalované alergeny, alergické onemocnění jiného typu však vyloučeno není.

pozitivní: prokázána atopie, uváděna až 90% shoda s intradermální testací 11 běžnými inhalačními alergeny, je vhodná následná testace specifickými alergeny v případě positivity roztestování:

d1 Dermatophagoides pteronyssinus

d2 Dermatophagoides farinae

e1 srst a epitel kočky

e3 srst koně

e5 srst psa

g6 bojínek

t3 bříza

t9 olivovník

w6 pelyněk

w19 drnavec

m2 Cladosporium

2) Vyšetření specifického IgE proti směsím alergenů

ImmunoCAP systém umožňuje stanovení specifického IgE proti směsi alergenů z jedné skupiny (např. pylů trav, stromů, plevelů, směsi plísní, zvířecích alergenů aj.)

Hodnocení: Kvantitativní, výsledek udáván v jednotkách [kU/l].

V případě vyšetření směsi potravin (fx5) je možné provést na základě požadavku fx5 --> roztestování v další fázi stanovení spec. IgE proti jednotlivým alergenům ve směsi obsažených: f1, f2, f3, f4, f13, f14.

U výsledku fx5 < 1,0 kU/l se toto roztestování neprovádí. V případě požadavku roztestování fx5 u hodnot < 1,0 kU/L, je nezbytné označit toto slovně – „roztestovat hodnoty < 1,0“ na žádance.

3) Vyšetření specifického IgE proti jednotlivým alergenům

Stanovení IgE reagujícího specificky s daným antigenem (alergenem).

Hodnocení: Kvantitativní, výsledek udáván v jednotkách [kU/l].

Třída pozitivity	Výsledek vyšetření /kU/l/	Hladina specifických protilátek IgE
6	více než 100	velmi vysoká
5	50 až 100	velmi vysoká
4	17,5 až 50	velmi vysoká
3	3,5 až 17,5	vysoká
2	0,7 až 3,5	střední
1	0,35 až 0,7	nízká
0	méně než 0,35	žádná/ nedetekovatelná/ velmi nízká

Upozornění:

Při testování alergie na léky a hmyzí jedy je nutné, vzhledem k nárůstu a poklesu specifických protilátek, odebrat krev v období od 2 týdnů do 6 měsíců po expozici daným alergenem.

3) Komponentová diagnostika, multiplexové techniky

Vyšetření specifického IgE proti panelu 112 komponent provádíme metodou multiplexu ISAC (Immuno solid-phase Allergen Chip). Metoda je založena na biočipové technologii a umožňuje semikvantitativní v ISU jednotkách (ISAC Standardised Units).

Další používanou multiplexovou metodou založenou na biočipové technologii je systém **Alex**, ve kterém stanovujeme specifické IgE proti cca 300 alergenům (jsou zastoupeny jak komponenty tak i nativní alergeny). Specifické IgE proti jednotlivým komponentám je stanovováno metodou FEIA na přístroji ImmunoCAP250.

4) Alergologické bloty

Vyšetření specifického IgE (cca 20 alergenů najednou) metodou imunodot, kvantitativní vyhodnocení v jednotkách IU/ml.

atopický blot – bojínek, žito, bříza, pelyněk černobýl, kočka, pes, kůň, vaječný bílek, kravské mléko, treska, pšeničná mouka, rýže, sojové boby, lískový ořech, mrkev, brambory, jablko, Cladosporium herbarum, Dermatophagoides pteronyssinus, Aletnaria alternata

potravinový blot – vaječný bílek, žloutek, kravské mléko, kassein, pš. mouka, žitná mouka, sojové boby, sezam, podzemnice olejná, lískový ořech, mandle, jablko, kiwi, broskev, rajče, mrkev, brambory, celer, treska, garnát

pediatrický blot – bříza, pelyněk, pš. mouka, rýže, soj, boby, lískový ořech, podzemnice olejná, mrkev, brambory, jablko, vaj. bílek, žloutek, kravské mléko, pes, kůň, kočka, treska, Der. pt., Der. far., Clad. herb., Aspergillus fum, Alter. alt., α-lactalbumin, laktoglobulin, kassein, BSA, trávy mix

TŘÍDA	KONCENTRACE [kU/l]	VÝSLEDEK
0	<0.35	Nebyly detekovány žádné specifické protilátky
1	0,35-0,7	Velmi nízký titr protilátky, často za přítomnosti senzitivace žádné

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 40 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

		klinické symptomy
2	0,7-3,5	Nízký titr protilátky, existující senzitivace, často s klinickými symptomy v horním rozmezí třídy
3	3,5-17,5	Významný titr protilátek, klinické symptomy obvykle přítomné
4	17,5-50	Vysoký titr protilátky, téměř vždy s klinickými příznaky
5	50-100	Velmi vysoký titr protilátek
6	>100	Velmi vysoký titr protilátek

4.11. Mediátory alergického zánětu + HIT

Eosinofilní kationický protein

ECP je jedním z hlavních produktů eosinofilních PMN. Stanovení ECP nachází uplatnění především v alergologii. Jeho množství v bronchioalveolární laváži a v séru koreluje s počtem eosinofilů v plicní tkáni. Přítomnost ECP v séru je pravděpodobně důsledkem působení cytokinů vznikajících při lokální alergické reakci v plicích. Cytokiny následně aktivují periferní eosinofily, dochází k jejich degranulaci a uvolnění ECP do periferního krevního řečiště. Využití stanovení ECP:

- Sledování úrovně zánětlivé aktivity u astmatika. ECP vzrůstá při poklesu PEF. Námahové astma - ECP roste při fyzické zátěži.
- Monitorování úspěšnosti léčby astmatika (kortikoterapie).
- Při expozici alergenu (prachy, pyl) ECP stoupá.
- Sledování účinnosti hyposenzibilizační léčby.

Je nutné přísně dodržet podmínky správného odběru a přepravy vzorku viz s. 6 (eliminace falešného zvýšení koncentrace ECP).

Tryptáza

Vyšetření je přínosné k upřesnění diagnózy **anafylaxe a anafylaktoidní reakce**, kdy jsou pochybnosti o charakteru a mechanismu závažné, život ohrožující reakce. Hodnota tryptázy v séru, respektive její zvýšení, je způsobeno masivní, systémovou aktivací žírných buněk. Proto je stanovení tryptázy, jako specifického znaku mastocytů, vhodným ukazatelem anafylaxe. Druhou indikací k vyšetření je systémová mastocytóza, kdy vyšetření tryptázy v séru je vhodné zejména u indolentní formy, neboť jde o časný a málo invazivní vyšetřovací postup (stanovení bazální hodnoty tryptázy). Obě indikace se mohou překrývat: U případů anafylaxí se známou etiologií a závažným, život ohrožujícím průběhem, je nacházena vysoká incidence mastocytózy.

Histamin

Histamin vzniká z histidinu a je uložen v granulích žírných buněk. Hlavním mechanismem, který vede k uvolnění histaminu a dalších granulárních proteinů, je přemostění navázaných protilátek IgE na membránu mastocytu. Existují však i jiné mechanismy, včetně fyzikálních, které mohou způsobit uvolnění prozáněťových působků z granulí. Histamin hraje roli i v regulaci fyziologické záněťové reakce. Vyšetření je prováděno z plazmy.

Histaminová intolerance

DAO

Diaminooxidáza je enzym, který odbourává extrabuněčný histamin. Stanovení jeho koncentrace/aktivity je součástí diagnostiky histaminové intolerance (HIT). HIT je stav, při kterém následkem nepoměru mezi přísunem histaminu a schopností ho odbourávat vznikají histaminem zprostředkované nežádoucí reakce. Histamin je jednak uvolňován buňkami těla, zároveň je dodáván i potravou. Nízké koncentrace/aktivity DAO v séru jsou poměrně vzácné. V případě, že se vyšší koncentrace histaminu v organismu vyskytují dlouhodobě (např. těhotenství, alergie na pyl v pylové sezóně), pak dochází i ke zvýšení koncentrace DAO. U těhotných je to např. až desetinásobné zvýšení oproti normálu.

Degradační test histaminu

V současné době je známo, že se na degradaci histaminu kromě enzymu DAO podílí také enzym histamin-n-metyl transferáza (HNMT), která působí intracelulárně. V testu je měřena celková kapacita odbourávání histaminu v séru nezávisle na tom, jak je histamin odbouráván (koncentrace histaminu před a po provokaci).

4.12. Paraproteiny, Speciální vyšetření

Diagnostika paraproteinémie

Elektroforéza (ELFO) je screeningovým vyšetřením pro zachycení monoklonálních imunoglobulinů (paraproteinů), kde se projeví jako tzv. M-komponenta. Typ zachyceného paraproteinu se určuje imunofixací (viz níže). Průkaz paraproteinu (monoklonálního imunoglobulinu) je specializované vyšetření, které má význam v odůvodněných klinických případech (podezření na myelom, amyloidosu, nejasná vysoká FW).

Imunofixace - technika zahrnuje elektroforetické dělení proteinů s následnou imunoprecipitací za použití specifických antisér.

Kvantitativní stanovení paraproteinu se provádí denzitometrickým vyhodnocením elektroforézy v agarosovém gelu (podle Johansonova) s výpočtem kvantity paraproteinu z hodnoty celkové bílkoviny. Hodnoty nad uvedené meze svědčí pro maligní charakter paraproteinu.

Index lehkých řetězců se stanovuje výpočtem z koncentrací LŘ v případě paraproteinů typu kappa jako K/L, u paraproteinů lambda jako L/K. Jedná se o pomocné kritérium pro hodnocení charakteru monoklonálních gamapatií, překročení uvedeného orientačního rozmezí svědčí pro maligní charakter nálezu.

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 41 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Bence-Jonesova bílkovina se prokazuje v moči. Pozitivní nález je způsoben proteinurií přebytných volných lehkých řetězců a svědčí spíše pro maligní charakter monoklonálních gamapatií. Pozitivní nález doplňujeme imunoelektroforézou moče.

Celková bílkovina (CB) slouží jako pomocné vyšetření pro výpočet kvantity paraproteinu.

Kvantitativní stanovení sérových hladin volných lehkých řetězců (VLŘ) kappa (K) a lambda (L) - testováním souběžného stanovení hladin celkových i volných lehkých řetězců bylo potvrzeno, že pro diagnostiku monoklonálních gamapatií je výhodnější sledování hladin volných lehkých řetězců. Stanovení VLŘ není ovlivněno pohlavím pacienta. Hladiny narůstají úměrně věku, zejména po 80. roce. V séru převažují VLŘ-L nad VLŘ-K (poměr VLŘ Kappa/Lambda = cca 0,59). Možnou příčinou je dimerizace lambda řetězců a jejich pomalejší renální clearance. Hladiny VLŘ v séru mohou být zvýšené z řady důvodů i u stavů s fyziologickou proliferací a diferenciací B-lymfocytů (závislost na věku, hypergamaglobulinémie, imunopatologické stavy, snížené renální funkce). Velký význam má v těchto případech stanovení poměru VLŘ Kfree/Lfree.

Výhody stanovení hladin volných lehkých řetězců:

VLŘ u MGUS: Riziko progresu u MGUS pacientů s abnormálním poměrem FLC je významně vyšší v porovnání s pacienty s normálním poměrem FLC (Rajkumar, Blood Vol. 106, No. 3, 812 – 817, 2005). Často nezávisí na navázce M-komponenty a imunoglobulinové třídě, která M-komponentu tvoří.

Parametry MGUS	Riziko progresu do 20 let
abnormální poměr Kfree/Lfree navázka M-komponenty > 15 g/l M-komponenta typu IgM nebo IgA (non-IgG)	58% (high risk MGUS)
Dva z výše uvedených faktorů	37% (high-intermediate risk MGUS)
Jeden z výše uvedených faktorů	21% (low-intermediate risk MGUS)

VLŘ u pacientů s monoklonálními volnými lehkými řetězci (LCMM), nesecernujícím MM (NSMM) nebo amyloidózou - hladiny volných lehkých řetězců v séru nejsou dostatečně vysoké pro detekci elektroforézou s následnou imunofixací

Analýza sérových FLC umožňuje přesvědčivější vyloučení poruch tvorby lehkých řetězců, není-li dodán vzorek moče. Podle závěrů studie (Forsyth, Blood Vol. 106, Abs. 5081, 2005) bylo stanovení sérových hladin FLC zahrnuto do vyhledávacího schématu (first line tests) možných poruch proliferace B-lymfocytů. Nahrazení detekce BJB stanovením poměru sérových FLC Kfree/Lfree by nemělo pomínout žádnou významnou patologii.

Omezení stanovení hladin volných lehkých řetězců:

V některých případech je imunonefelometricky stanovená hladina VLŘ několikanásobně vyšší než skutečná koncentrace VLŘ v séru – polymery VLŘ mohou zesílit imunoprecipitační reakci, výsledkem toho jsou poměrně vysoké výsledky v porovnání se stejnou koncentrací monomerních VLŘ. (Nefelometrické nadhodnocení koncentrace VLŘ 1,5 – 3,5 krát bylo popsáno u NSMM séra, Tate, Clin Chem 49:8, 1252 – 1257, 2003). Ve vzácných případech se však vyskytují i vzorky s monoklonálními FLC prokazanými imunofixací, ale s normálními hodnotami sérových FLC. Proto je optimální současné použití imunofixace a stanovení hladin FLC. Normální hodnoty Katzmann (Clin Chem 48:9, 1437 – 1444, 2002)

Kappa FLC [mg/l]	3,3 – 19,4
Lambda FLC [mg/l]	5,7 – 26,3
FLC K/L	0,25 – 1,7

Ferritin

Sérové koncentrace ferritinu vykazují přímou korelaci k obsahu železa v retikulohistiocytárním systému. Proto jeho stanovení patří ke komplexu metod, které se používají při vyšetřování metabolismu železa resp. pro diagnostiku anémií. Deficit železa odvozený z nízkých hladin ferritinu je detekovatelný ještě před prvními příznaky anémie. Naopak zvýšený obsah ferritinu v séru je pozorován u pacientů s chronickými záněty, jaterními onemocněními (akutní VH, nekróza jaterních buněk), nádory a chronickým selháním ledvin. Patologicky zvýšené koncentrace ferritinu nacházíme v případech některých karcinomů, leukémií a lymfomů, lze jej tedy využít i jako tumorového markeru.

Solubilní transferinový receptor - sTfR

Rozpuštěný transferinový receptor - sTfR (sCD71) - úzce souvisí s funkcí železa v organismu. Buněčný transferinový receptor váže transferin a je odpovědný za příjem železa do tkání. Proteolytickými procesy dochází k uvolnění buněčných TfR a vznikají tak TfR rozpustné. Koncentrace sTfR je úměrná počtu buněčných receptorů. Počet TfR na buněčném povrchu odráží požadavky buňky na železo ve vztahu k dostupné zásobě. Redukované zásoby železa vedou k rychlému zvýšení syntézy TfR. Deficience železa tak způsobuje vzestup hladin sTfR v krvi. Na rozdíl od ferritinu hladiny sTfR nejsou ovlivněny infekcí nebo jiným zánětlivým procesem. Stanovení hladin sTfR umožňuje rozlišení anémie způsobené nedostatkem železa (sTfR zvýšený) a anémie způsobené chronickým onemocněním, kde je snížená hladina železa v séru výrazem poruchy jeho distribuce v organismu (sTfR normální). U skupiny pacientů, u kterých hladiny ferritinu podávají pouze omezenou informaci o stavu železa v organismu (těhotné, novorozenci, sportovci, adolescenti ve fázi růstu a osoby s chronickým nebo maligním onemocněním), sTfR může být použit jako přesnější indikátor metabolismu železa.

V literatuře je citováno použití indexu $[sTfR] / \log [Fer]$, který citlivě odráží změny zásob železa. Výpočet indexu se ukázal být přesnějším parametrem než prosté vyšetření hladin sTfR a ferritinu (nedostatek železa ...index > 1,76; anémie při chronickém onemocnění ... index < 0,83)

Vyšetření imunologických ukazatelů ve slinách

Imunologické vyšetření slin se indikuje v rámci zjišťování deficitu sekreční imunity, nejčastěji při chronických a recidivujících infekcích HCD. Odběr slin se provádí ráno mezi 7.-8. hodinou, před čištěním zubů, nalačno. Vyšetření

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 42 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Ize doplnit stanovením celodenního profilu hodnot vyšetřovaných parametrů: odběrem v poledne a večer, vždy před jídlem.

4.13. Molekulární diagnostika pomocí metody polymerázové řetězové reakce (PCR)

4.13.1. Molekulární diagnostika infekčních onemocnění- provádí OLM ZUUL

Pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) lze na základě komplementarity bází obsažených v molekule nukleové kyseliny (NA) namnožit specifickou sekvenci cílové NA. Přítomnost cílové NA ve vyšetřovaném vzorku je možné prokázat různými postupy (elektroforéza s následnou vizualizací označené NAV UV světla, hybridizace se specifickými sondami NA s následnou imunoenzymatickou vizualizací či s využitím fluorescenčně značených sond v uspořádání Real-time PCR). Metoda se vyznačuje rychlostí průkazu, vysokou specifitou i citlivostí (téměř 100%). Ve srovnání s ostatními "klasickými" metodami zůstává problémem standardizace této moderní metody.

Klinické využití PCR diagnostiky v oblasti humánní medicíny je velmi široké. Má velký význam v typizaci HLA systému, stále častěji je využívána v diagnostice dědičných či onkologických onemocnění. Pomocí PCR je možné testovat funkci případně aktivitu genů pro produkci specifických molekul (např. geny pro produkci cytokinů).

V neposlední řadě metoda PCR umožňuje přímo detekovat široké spektrum infekčních agens. Tímto způsobem je možné stanovit NA původců virových, bakteriálních, houbových nebo parazitárních onemocnění. Využití přichází v úvahu především pro patogeny s obtížným nebo dlouhodobým kultivačním průkazem (především zástupci rodu *Mycobacterium*, původci pohlavních nákaz - *Chlamydia*, *Neisseria*, *Treponema pallidum*, původce Lymeské choroby atd.). V porovnání s metodami, které stanovují protilátky PCR detekuje infekci ještě před sérokonverzí nebo u pacientů s nedostatečnou tvorbou protilátek. Detekce patogenů metodou PCR je závislá na počtu organismů přítomných ve vyšetřovaném vzorku. Může být ovlivněna technologií odběru vzorku, stavem pacienta nebo stupněm infekce. Naše pracoviště využívá metodiku PCR v diagnostice infekčních onemocnění pro odhalení možné genetické dispozice k celiakii.

Přímý průkaz *Mycobacterium tuberculosis complex (MBT-PCR)*

Ve spolupráci s Laboratoří klinické mikrobiologie Centra imunologie a mikrobiologie ZÚ byl zaveden přímý průkaz *Mycobacterium tuberculosis* ve sputu a bronchioalveolární laváži. Metoda není vhodná pro monitorování terapie, neboť detekuje i mrtvé organismy.

Přímý průkaz *Bordetella pertussis/parapertussis (Pertuse-PCR)*

Dávivý kašel je výlučně lidským onemocněním, z člověka na člověka je přenosný kapénkami infekčního aerosolu. I přes zavedení očkování se v České republice několik stovek případů pertuse ročně objeví. Vyšetření je schopné v jedné reakci odlišit agens *Bordetella pertussis* od *Bordetella parapertussis*, jejichž klinické projevy se však často liší jen v délce trvání obtíží.

Přímý průkaz *Legionella pneumophila (Legionella-PCR)*

Legionelové infekce jsou rozšířeny celosvětově, mnohé probíhají bezpříznakově. Sérologické studie prokázaly, že značná část populace má vůči legionelám získanou imunitu. Vzhledem k všeobecnému rozšíření legionel jsme s nimi, jako s vodními saprofyty, zřejmě v častém kontaktu. Infekce vyvolané *L. pneumophila*, pokud jsou symptomatické, mohou nabývat dvou různých forem. Probíhají buď jako těžké pneumonie, zvané legionářská nemoc (s mortalitou u imunokompromitovaných osob přes 20%), nebo jako chřipce podobné onemocnění, označované jako pontiacká horečka.

Přímý průkaz *Borrelia burgdorferi sensu lato (Borrelia – PCR)*

Metodou PCR dále detekujeme původce Lymeské borreliózy - bakterii *Borrelia burgdorferi sensu lato* (zahrnující několik tzv. genomospecies včetně nejčastějších etiologických agens borreliózy v České republice tedy *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii* a *Borrelia burgdorferi sensu stricto*). Jednou z vlastností rodu *Borrelia* je dlouhodobá perzistence v organismu, díky schopnosti měnit své povrchové antigeny, a tím unikání protilátkové odpovědi. Přímý průkaz se tak v některých případech stává jediným dokladem prokazatelné vazby mezi klinickými příznaky a borreliovou etiologií obtíží.

Přímý průkaz *Chlamydia trachomatis (Chlamydia-PCR)*

Infekce způsobené *C. trachomatis* jsou celosvětově vůbec nejčastějším onemocněním přenášeným sexuálně, často se ale infekce projeví až jako přetrvávání obtíží po terapii kapavky – jedná se o tzv. postgonokokovou uretritidu. Chlamydiová infekce totiž bývá spjatá s jinými sexuálně přenosnými infekcemi a uvažuje se o ní dokonce i jako o „podpůrném momentu“ pro přenos HIV. Vzhledem k obligátnímu intracelulárnímu parazitizmu těchto bakterií není možná jejich kultivace na běžných bakteriologických půdách, kultivace na tkáňových kulturách dosahuje o cca 20% nižší citlivosti v porovnání s metodou PCR.

Přímý průkaz *Chlamydia pneumoniae (Chlamydia-PCR)*

Toto agens představuje po *Mycoplasma pneumoniae* druhou nejčastější příčinu komunitně získané atypické pneumonie ve věkové skupině školních dětí a mladých dospělých. Onemocnění může rovněž probíhat pod obrazem laryngotracheitidy či bronchitidy. Průběh onemocnění bývá většinou mírný a některé infekce mohou být i bezpříznakové. Komplikace se vyskytují vzácně, obávané je však postižení srdečního svalu ve formě peri- či myokarditidy.

Přímý průkaz RSV (RSV – PCR)

Respirační syncytiální virus (RSV) je blízké příbuzné virům parainfluenzy (parachřipky). Způsobuje infekce horních cest dýchacích, vyskytuje se převážně v zimních měsících, a to ve všech věkových skupinách. U starších dětí a dospělých probíhá onemocnění mírně. Nejohroženější skupinou jsou děti do 3 let věku a staré osoby, u kterých probíhá infekce obzvláště závažně pod obrazem bronchiolitidy nebo pneumonie. Typickými projevy jsou horečka, pískoty, stridor a dyspnoické obtíže. Obvyklou komplikací u malých dětí je mesotitida.

Přímý průkaz *Mycoplasma pneumoniae (Mycoplasma-PCR)*

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 43 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Mycoplasma pneumoniae vyvolává celosvětově primární atypickou pneumonii. Ve skupině školních dětí a mladých dospělých do 30 let představuje toto agens nejčastější příčinu pneumonií vůbec. *M. pneumoniae* je vylučováno sekrety dýchacích cest a k přenosu infekce dochází vzdušnou cestou. Bronchopneumonie se vyvine pouze u 3-20% nemocných. Zbytek infekce probíhá bezpříznakově nebo má podobu lehkého respiračního onemocnění.

Přímý průkaz herpetických virů (HSV I/II – PCR, VZV-PCR, EBV-PCR, CMV-PCR, HHV6-PCR)

Metodou PCR rovněž stanovujeme přítomnost herpetických virů (*Virus Herpes simplex I/II*, *Virus Varicelly-zosteru*, *Virus Epstein-Barrové*, *Cytomegalovirus*, *Lidský herpetický virus 6*). Lidské herpetické viry jsou úzce spojeny s lidskou populací. U zdravých jedinců mohou celoživotně perzistovat bez zjevných klinických příznaků, avšak v případě jakéhokoliv oslabení imunitního systému organismu mohou představovat vážné zdravotní riziko, včetně možného poškození CNS. Proto je u těchto virů důležité v daném časovém období ne jenom pouhé zjištění přítomnosti daného viru, ale rovněž hodnota virové nálože ve vyšetřovaném vzorku, která je (mimo výsledku u HSV I/II a VZV) nedílnou součástí výsledku.

Přímý průkaz Enteroviru (Enterovirus–PCR)

Rod *Enterovirus* zahrnuje dle antigenní struktury a patogenity několik skupin virů – zejména se jedná o *Polioviry*, *Coxsackieviry* a *Echoviry*. Všechny výše zmiňované viry mají výrazný tropismus k CNS, mohou ale rovněž způsobovat velký počet klinicky různě se projevujících onemocnění (exanthémy, poškození svalů, respirační a střevní projevy).

4.13. Likvorologie

Vyšetření celkové bílkoviny v CSF

Nárůst celkové bílkoviny v CSF je jedním z nejčastějších příznaků patologického procesu v CNS. Ke zvýšení hladiny celkové bílkoviny v CSF dochází buď jejich intenzivnějším přestupem ze séra při poruše BCB nebo intratekální produkcí některých složek přímo v likvorovém kompartmentu.

Vyšetření proteinových frakcí v CSF

Zpřesňující informaci k nárůstu celkové bílkoviny v CSF poskytuje vyšetření jednotlivých proteinových frakcí. Koncentrace proteinových frakcí v CSF jsou ovlivněny jejich sérovými hladinami, proto je důležité jejich paralelní stanovení v CSF a v krevním séru, současně se stanovením albuminového kvocientu Q_{ALB} .

Vyšetření albuminu v CSF

Albumin je syntetizován výhradně v játrech, jeho intratekální produkce v CSF je vyloučena. Koncentrace albuminu v CSF a s ním hodnota albuminového kvocientu Q_{Alb} narůstá v případě porušení permeability BCB. Je proto používán při hodnocení stavu BCB a při výpočtu intratekální syntézy imunoglobulinů dle Reiberova vztahu. K vzestupu koncentrace albuminu v CSF též dochází v souvislosti s kompresivními likvorovými syndromy. Hodnoty Q_{ALB} jsou závislé na věku.

Vyšetření imunoglobulinů v CSF

Koncentrace imunoglobulinů v CSF jsou ovlivněny mnoha faktory, např. jejich koncentrací v séru, funkcí BCB, věkem pacienta a intratekální syntézou v CNS. Je proto vždy přínosné provedení výpočtu intratekální syntézy imunoglobulinů dle tzv. Reiberova vztahu. Výsledkem je hodnocení: (I.) Permeability hematolikorové bariéry a (II.) Výpočet intratekální syntézy imunoglobulinů IgG, IgA a IgM dle Reibera.

Vyšetření IgG v CSF. K intratekální produkci IgG v CSF dochází u řady neuroimunologických onemocnění, včetně infekcí. Intratekální produkce IgG v CSF je tak přítomna ve více než 80% případů RS a asi ve 30% případů onemocnění chronickými meningitidami a encefalitidami různé etiologie, protozoální, bakteriální, či virové. Intratekální produkce IgG v CSF dále bývá registrována v případě mozkového sérového lupus erythematosus, polyradikuloneuritidy, sarkoidózy a chronické myelopatie.

Vyšetření IgA v CSF. Intratekální produkce IgA v CSF bývá přítomna asi u 12% pacientů s RS, u 40% pacientů se serózní meningitidou a téměř u 100% pacientů s herpetickou encefalitidou jako výsledek produkce virově specifického IgA.

Vyšetření IgM v CSF. Produkce IgM je prvním příznakem začínající infekce. K intratekální syntéze IgM dochází ve více než 50% případů u pacientů s různými infekčními chorobami, např. u pacientů s neurosyfilis, s akutní aseptickou meningoencefalitidou, s herpetickou encefalitidou, s infekcí HIV, v případech mozkového systémového lupus erythematosus a v 30 až 60% případů RS s doposud krátkodobým trváním onemocnění. Vyšetření IgM je důležité pro časnou diagnózu zánětlivých onemocnění a pro monitorování účinku léčby.

Intratekální syntéza imunoglobulinů	Onemocnění
Převážně IgG s případnou IgA a/nebo IgM syntézou (IgA<20%, IgM<50%)	roztřesená skleróza encefalitida Herpes simplex neurosyfilis chronická encefalitida HIV
IgM	aktivní neurosyfilis aktivní neuroborelióza
Reaktivita ve dvou Ig třídách:	
IgG + IgA	purulentní meningitida neurotuberkulóza
IgG + IgM	klíšťová meningoencefalitida progresivní paralýza
Reaktivita tří Ig tříd:	

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 44 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

IgG + IgM + IgA

neuroborelióza
příušnicová meningoencefalitida
příležitostné infekce

Vyšetření zánětlivých markerů v CSF

CRP je marker hnisavého zánětu, vzestup jeho hladiny v CSF nacházíme zejména u bakteriálních meningitid.

IL-6 a TNF α patří mezi prozánětlivé cytokiny, stanovení v CSF se využívá především pro rozlišení virové a bakteriální meningitidy.

Haptoglobin je typický zánětlivý marker bez větší specifity. Vzestup jeho koncentrace v CSF bývá patrný u většiny zánětlivých onemocnění CNS.

Transferin je typický zánětlivý marker bez větší specifity. Vzestup jeho koncentrace bývá patrný u většiny zánětlivých onemocnění CNS a roztroušené sklerózy, snížení bývá naopak přítomno u malignit CNS.

Prealbumin je považován za reaktant akutní fáze. Vzestup jeho koncentrace v CSF bývá patrný spíše u některých degenerativních onemocnění. U kompresivních likvorových syndromů spojených s těžkou barierovou poruchou lze pozorovat snížení koncentrace prealbuminu v CSF.

Orosomukoid je považován za tumorový marker a vzestup jeho hladin lze pozorovat u maligních onemocnění CNS, zejména pak sekundárních a výrazně též u tzv. maligních meningeálních infiltrací, kdy jsou meningy a likvorový kompartment osídleny maligními buňkami, většinou u hematologických malignit, a to i bez přítomnosti lokalizované metastázy.

C3 a C4 v CSF: nárůst koncentrací C3 a C4 v likvoru provází většinu zánětlivých onemocnění CNS, v případě C3 i některá nádorová onemocnění.

Vyšetření β 2-mikroglobulinu v CSF

V průběhu chronického zánětlivého procesu CNS odráží koncentrace β 2-mikroglobulinu v CSF velikost mikrogliální aktivity a rozsah intraparenchymální makrofágové aktivity. Méně než 1% β 2-mikroglobulinu v CSF pochází z krve, více než 99% β 2-mikroglobulinu je syntetizováno intratekálně v CSF.

Cytologické vyšetření CSF

Zásadní význam pro určení patologie v CSF má celkový počet jaderných elementů, zjišťovaný odečtením ve Fuchs-Rosenthalově komůrce. Za normální lze považovat počet 10/3, resp. 15/3 elementů. V případě vyššího počtu elementů hovoříme o pleiocytóze. Název patologické celulózní skladby při normálním počtu buněk nazýváme patologická oligocytóza. Její bližší určení se odvozuje od převažující buněčné řady nebo od buněčné řady, ve které je patologie přítomná. Zjištění buněčné skladby CSF se provádí odečtením trvalého cytologického preparátu, připraveného cytosedimentační technikou a barvením základním barvením podle Maye-Grünwalda, příp. některou další ze speciálních barvicích technik.

Průkaz oligoklonálních páسů IgG

Průkaz oligoklonálních páسů IgG se provádí metodou isoelektrické fokusace, provádí se současně vyšetření vzorku CSF a séra. Průkaz oligoklonálního IgG v alkalické oblasti svědčí pro jeho intratekální syntézu omezeným počtem klonů lymfocytárních buněk, což je situace charakteristická pro demyelinizační onemocnění (až 95% případů roztroušené sklerózy mozkomíšni). Za pozitivní se považuje nález alespoň 2 pruhů, které nemají korelát v séru. Mimoto se mohou oligoklonální páсы (avšak spíše v neutrální až kyselé oblasti) vyskytovat rovněž u neuroinfekcí (spalničky, zarděnky, plané neštovice, lymeská borelióza). Hodnocení výsledku je součástí výsledkového listu.

Průkaz oligoklonálních páسů VLŘ kappa

Má obdobný význam jako stanovení oligoklonálních páسů IgG, vede ke zpřesnění diagnostiky průkazu autochtonní syntézy Ig v kompartmentu CNS.

Vyšetření volných lehkých řetězců kappa v CSF

Při zánětlivých postiženích CNS infekčního i autoimunitního původu je často přítomna intratekální syntéza imunoglobulinů. Hladiny volných lehkých řetězců, které jsou produkovány v nadbytku, nejsou v CNS kompartmentu odbourávány tak rychle jako v séru díky renální clearance, a tak se jejich hladiny v případě intratekální produkce významně zvyšují. Z nejnovějších studií vyplývá, stanovení hladin volných lehkých řetězců je nejpřínosnější v diagnostice roztroušené sklerózy (RS) (vysoká korelace s průkazem oligoklonálního IgG), přičemž stanovení intratekální syntézy VLŘ kappa je pro RS senzitivnější a zejména specifitější než VLŘ lambda (Rudick et al., 1989; Branco et al., 1987; Lamer et al., 1995; Krakauer et al., 1998; Jenkins et al., 2001; Zeman et al., 2002; Fischer et al., 2004). Pacienti s vysokými hladinami VLŘ kappa mají zvýšené riziko progresse onemocnění (EDSS škála, Rudick et al, 1995).

Průkaz intratekální syntézy specifických protilátek

Hladiny specifických protilátek jsou hodnoceny v souvislosti s hladinami celkových protilátek v séru i likvoru a s parametry permeability hemato-likvorové/hematoencefalické bariéry (Qalb – poměr hladin albuminu v séru a likvoru), protože samotný průkaz specifických protilátek v séru a/nebo likvoru není dostatečný. Na základě stanovených hodnot se zjišťuje poměr koncentrací proteinu v likvoru a séru. Výpočetem podle Reiberova vzorce je posouzen aktuální stav hematoencefalické bariéry a pomocí kvocientu **LSQrel** (Likvor/Sérum kvocient) je vyjádřena míra intratekální syntézy specifických protilátek. Kvocient intratekální syntézy LSQrel je stanovován pro následující protilátky:

- IgM proti *Borrelia burgdorferii sensu lato*
- IgG proti *Borrelia burgdorferii sensu lato*
- IgM proti viru klíšťové encefalitidy
- IgG proti viru klíšťové encefalitidy
- IgG proti *Treponema pallidum*

- IgG proti HSV I+II
- IgG proti EBV VCA
- IgG proti CMV
- IgG proti VZV
- IgG proti viru spalniček
- IgG proti viru zarděnek
- IgG proti Toxoplasma g.

Interpretace výsledků – normální hodnoty

LSQrel	Hodnocení	Interpretace
< 1,50	Negativní	Intratekální syntéza specifických protilátek neprokázána
1,50 – 2,00	Hraniční	Intratekální syntéza specifických protilátek je velmi málo pravděpodobná
> 2,00	Pozitivní	Intratekální syntéza specifických protilátek je pravděpodobná

Hodnocení intratekální produkce specifických protilátek je uváděno na výsledkovém listu. Specifita a senzitivita takto získaných hodnocení výsledků vyšetření pro různá agens jsou předmětem studia a uživatelé jsou průběžně informováni.

Provádí se 1 x týdně. Ke stanovení je nutné dodat vždy! vzorky CSF a séra (plazmy) pacienta odebrané současně (v intervalu nejvýše 1 hodiny).

Vyšetření specifických protilátek

Za účelem diagnostiky postižení CNS v rámci infekčních onemocnění je možné provádět vyšetření specifických protilátek současně v CSF a séru. V současnosti jsou prováděna vyšetření protilátek proti těmto agens:

- HHV 6
- Cytomegalovirus
- Virus klíšťové encefalitidy (IgM, IgG)
- JCV IgG
- Campylobacter IgG, IgA
- Chlamydia pn. IgG, IgA, IgM
- Chlamydia trachomatis IgG, IgA, IgM
- Mycoplasma pn. IgG, IgA, IgM
- Toxoplasma g. IgG, IgA, IgM
- Erlichioza IgG, IgM
- Sérologie lues:
VDRL
FTA-Abs
ELISA IgG, IgM
Vyšetření specifických antitreponémových protilátek imunoblotem
- Bloty B. burg., HSV, CMV, EBV, Chlamydie

Přímý průkaz nukleové kyseliny infekčního agens metodou polymerázové řetězové reakce (PCR) - provádí Oddělení lékařské mikrobiologie ZUUL

Za účelem diagnostiky postižení CNS v rámci infekčních onemocnění je rovněž možné provést přímý průkaz patogenního agens v likvoru, na základě detekce nukleové kyseliny metodou polymerázové řetězové reakce. V současnosti je prováděna detekce nukleové kyseliny těchto agens:

- *Mycobacterium tuberculosis complex*
- *Borrelia burgdorferi sensu lato*
- *Listeria monocytogenes*
- HSV I/II (*Virus Herpes Simplex I/II*)
- EBV (*Virus Epstein-Barrové*)
- CMV (*Cytomegalovirus*)
- HHV 6 (*Lidský herpetický virus 6*)
- *Enterovirus*
- *Chlamydia* (Chlamydia-PCR)
- VZV
- *S. pneumoniae + N. meningitis*
- *Haemophilus influenzae*
- *Mycoplasma pneumoniae*

Vyšetření enzymů v CSF

Stanovení katalytické aktivity laktátdehydrogenázy (LD) a aspartátaminotransferázy (AST), příp. kreatinfosfokinázy v CSF lze využít při diagnostice neurologických onemocnění a při určování jejich prognózy. Funkční a morfologické poškození plazmatických membrán buněk CNS odpovídá nejdříve za vyplavování cytoplazmatických enzymů. Při prohlubování chorobného procesu se porušují subcelulární struktury a dochází k

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 46 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

uvolnění zejména lysozomálních a mitochondriálních enzymů. Paralelní stanovení koncentrací AST a LD v CSF a v krvi se provádí za účelem detekce aktuálně probíhající destrukce tkáně CNS.

Wyšetření vybraných parametrů energetického metabolismu glukózy v CSF

Na základě paralelního vyšetření koncentrací glukózy, laktátu, příp. pyruvátu a katalytické aktivity laktátdehydrogenázy v CSF a v krvi lze hodnotit změny energetických poměrů v likvorovém kompartmentu v souvislosti s probíhajícími patologickými procesy v CNS.

Spektrofotometrické vyšetření CSF

Na základě vyšetření oxyhemoglobinu, methemoglobinu a bilirubinu v CSF lze určit přítomnost hemoragické složky v CSF a odhadnout stáří a průběh krvácení do likvorových cest. Pro vyloučení eventuálního vlivu hyperbilirubinémie je nutné paralelně provést též stanovení aktuální koncentrace bilirubinu v krvi. Vyšetření lze provést vždy nejpozději do 1 hodiny po provedeném odběru CSF.

Wyšetření β -trance proteinu (BTP)

β -trance protein (prostaglandin D syntáza) je produkován buňkami choroidálního plexu, arachnoidálními buňkami a oligodendrocyty. Jeho koncentrace v CSF je mnohonásobně vyšší než v ostatních tělních tekutinách, a proto je vhodným parametrem pro detekci likvorey. Poměr koncentrací β -trance proteinu ve vyšetřovaném materiálu a v krvi vyšší než 2,0 svědčí s vysokou pravděpodobností pro příměs CSF. Stanovení koncentrace β -trance proteinu v CSF lze též využít pro diferenciaci příčin hyperproteinorachie. V případech kompresivních likvorových syndromů totiž jeho koncentrace narůstá současně s elevací.

Wyšetření Apolipoproteinu AI a B

Paralelní stanovení koncentrací apolipoproteinu AI a apolipoproteinu B v CSF a v krvi se provádí za účelem detekce proběhlé destrukce tkáně CNS.

CXCL13

CXCL13 je chemokin, který hraje důležitou roli v maturaci B lymfocytů. Jeho stanovení v CNS bylo uvedeno do laboratorní diagnostiky jako vhodný diagnostický marker pro stanovení neuroboreliózy. Koncentrace CXCL13 v mozkomíšním moku mnohonásobně vzrůstá při akutní neuroborelióze. Zvýšení tohoto parametru se vyskytuje velmi brzy, dokonce před specifickou protilátkovou odpovědí, zároveň jeho koncentrace klesá s úspěšnou ATB terapií. Hladinu CXCL13 lze využít i pro dg. dalších onemocnění CNS především tam, kde dochází k zapojení B lymfocytů v imunopatologickém procesu.

Neuronální autoprotilátky

Popsáno v kap. 4.7.

Neurodegenerativní markery

Ve vztahu k Alzheimerově chorobě (ACH) lze v mozkomíšním moku prokazovat následující biomarkery:

- 1) Beta-amyloid (1-42): podílí se na vzniku neuritických plaků
- 2) Poměr β -amyloidu(1-42) k β -amyloidu(1-40): lepší rozlišení pacientů s Alzheimerovou chorobou a pacientů s vaskulární demencí
- 3) Celkový Tau protein: podílí se na výstavbě cytoskeletu, jedná se o specifický destrukční marker, který však není specifický pouze pro Alzheimerovu chorobu, se zvýšenými hladinami se můžeme setkat u vaskulární demence, frontotemporální demence, výrazně zvýšené hladiny jsou u Jacobs-Creutzfeldtovy choroby.
- 4) Fosfo-Tau protein: fosforylovaný Tau protein, agreguje za vzniku neurofibrilárních klubíček, zvýšené hladiny se nachází u širšího okruhu neurodegenerativních onemocnění včetně ACH.

Vyšetření neurodegenerativních markerů má přínos v diferenciální diagnostice demencí tam, kde je odpovídající klinická symptomatologie. Velký význam vyšetření lze očekávat u pacientů s minimálním kognitivním deficitem (přechodná fáze mezi kognitivními změnami normálního stárnutí a časnou demencí).

U Alzheimerovy choroby byly průměrné hladiny celkového Tau 810 pg/ml, hladiny β -amyloidu (1-42) <400pg/ml (průměr 210 pg/ml) a poměr A β 42/A β 40 <0,1. U pacientů s vaskulární demencí byly hladiny celkového Tau <400pg/ml, β -amyloidu (1-42) průměrně 422 pg/ml a poměr A β 42/A β 40 0,1-0,17. U kontrolní skupiny byla hladina celkového Tau <400pg/ml, β -amyloidu (1-42) průměrně 543 pg/ml a poměr A β 42/A β 40 0,12-0,17.

Pravděpodobná diagnóza Alzheimerovy choroby: patologické všechny nebo dva specifické parametry nebo patologický jeden specifický marker a celkový Tau protein.

Možná diagnóza Alzheimerovy choroby (hraniční nález): patologický pouze jeden specifický marker (A β 42 či poměr A β 42/A β 40).

4.14. Neplodnosti

Předpokládá se, že přibližně 10-15 % poruch plodnosti má imunologickou příčinu. K poruchám imunity může docházet jak v humorální, tak i v buněčné složce imunity. Plodnost páru může ovlivňovat především řada autoimunitních onemocnění k nimž patří celiakie, poruchy činnosti štítné žlázy a antifosfolipidový syndrom. Tato onemocnění mohou probíhat bez klinických příznaků a k jejich odhalení dochází až při vyšetřování neplodnosti. Indikaci k vyšetření provádí lékař s odbornou specializací.

Imunologické vyšetření je doporučováno:

- u párů, kterým se nepodařilo dosáhnout těhotenství po roce pravidelného nechráněného pohlavního styku a u nichž jiné možné příčiny sterility byly vyloučeny
- u žen po dvou prvotrimestrálních nebo jednom druhotrimestrálním potratu a u párů po dvou neúspěšných cyklech IVF

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 47 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

- u párů, které již mají diagnostikované onemocnění související s poruchou imunity (např. autoimunitní onemocnění, onkologické onemocnění apod.)

LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ ŽENY

Protilátky proti spermii viz. kap. 4.7.

Protilátky proti spermii shlukují spermie, které jsou poté schopny pouze kývavého pohybu a nemohou tak prostoupit přes hrdlo děložní. Při oplodnění mohou negativně působit protilátky, které reagují s akrozomem, čímž negativně ovlivňují kapacitaci (maturační změny) spermie, indukují předčasnou akrozómovou reakci a alterují tak schopnost spermie prostupovat přes zona pellucida. Přítomnost protilátek proti spermii může být důvodem nemožnosti přirozeného početí a snižuje úspěch IVF.

Protilátky proti zona pellucida viz. kap. 4.7.

Protilátky proti zona pellucida se váží na specifické zonální receptory pro spermie, maskují je, deformují a brání tak oplodnění. Oplodnění zabrání rovněž precipitace povrchové vrstvy zona pellucida. Přítomnost protilátek proti zona pellucida je častější u žen po opakovaných ovariálních hyperstimulacích a punkcích ovariálních folikulů a u pacientek s endometriózou s postižením ovarií.

Protilátky proti ovariím viz. kap. 4.7.

Protilátky proti ovariím se vytvářejí proti ovariálním buňkám. Výskyt protilátek je častější u žen s polyglandulární autoimunitou a především u žen s předčasným ovariálním selháním. U většiny žen s pozitivitou protilátek proti ovariím je třeba počítat s neuspokojivou odpovědí na hormonální ovariální hyperstimulaci v IVF cyklech. Jde o epifenomen jiného poškození ovarií, pozitivita není důvodem pro zvažování imunointervenční terapie. Vhodné je podrobné vyšetření ovariální rezervy (AMH).

Stanovení ovariální rezervy (anti-Müllerianý hormon - AMH)

Anti-Müllerianý hormon (AMH) vyvolává regresi Müllerových vývodů v sexuální diferenciaci mužského plodu. U žen je AMH produkován výhradně v buňkách granulózy preantrálních a malých antrálních folikulů a brání jejich předčasnému vyčerpání. AMH je velmi užitečným biochemickým ukazatelem ovariální rezervy. Produkce AMH u žen se zvyšuje během puberty, po dosažení věku asi 30 let začíná klesat a v menopauze ustane úplně. Ženy se syndromem polycystických ovarií mají AMH zvýšený. Vyšetření AMH má zatím největší význam pro asistovanou reprodukci. Ve stimulovaných cyklech korelují hladiny AMH s počtem rostoucích folikulů a ziskem oocytů při punkci. Jsou užitečné pro predikci odpovědi na kontrolovanou ovariální stimulaci (COS). Normální hodnoty AMH: 0,7-2,9 ng/ml

Protilátky proti fosfolipidům viz. kap. 4.6.

Přítomnost antifosfolipidových protilátek zvyšuje riziko trombózy cév placenty, které vede k potratům. Vyskytují se u pacientek se SLE, u antifosfolipidového syndromu atd. Při pozitivním průkazu protilátek jde z důvodů rizika potratu o rizikové těhotenství vyžadující cílenou léčbu.

Protilátky proti tkáňové transglutamináze viz. kap. 4.7.

Protilátky proti tkáňové transglutamináze (tTG) působí zejména ve střevní sliznici, ale i v trofoblastu, kde je tTG významně exprimována. Cirkulující protilátky anti-tTG zvyšují riziko sterility a riziko vzniku abnormalit placenty. Pozitivita protilátek anti-tTG je typická pro celiakii a dermatitis herpetiformis Dühring. K potvrzení diagnózy gluten-senzitivní enteropatie se provádí biopsie střeva. V případě potvrzení se doporučuje doživotní bezlepková dieta. Gravidita se doporučuje až po vymizení sérových autoprotilátek.

Protilátky proti nukleárním antigenům (ENA typizace) viz. kap. 4.6.

Protilátky proti nukleárním antigenům a zejména proti extrahovatelným nukleárním antigenům (anti-ENA) mohou být průvodním jevem a patogenetickým faktorem rozvoje závažných imunopatologických chorob. Pozitivita anti-ENA protilátek je spojena s poruchami plodnosti i u jinak asymptomatických žen. U anti-ENA pozitivity je nutné sledování plodu (neonatální lupus), někdy je vhodná imunomodulační terapie.

Imunofenotypizace lymfocytů periferní krve viz. kap. 4.1.

Stanovení relativního a absolutního počtu T (Th, Tc), B, NK a NKT buněk (CD3+16+56+) v periferní krvi provádíme pomocí průtokové cytometrie. Významné je relativní zastoupení a absolutní počet NK buněk. Vysoký počet cirkulujících NK buněk a převažující Th1 lymfocytární fenotyp je sdružen s vysokým rizikem převahy cytotoxického fenotypu uterinních (uNK) buněk.

Funkční aktivita leukocytů

Funkční aktivita NK buněk

Funkční test aktivity NK buněk v periferní krvi po specifické a nespecifické in vitro stimulaci. NK buňky v periferní krvi jsou stimulovány in vitro nespecificky (PWM) a specificky (spermii). Stanovuje se aktivační lymfocytární znak (CD69). V případě patologie je indikována prekoncepční imunomodulační terapie.

Stanovení intracelulárních cytokinů

Funkční test produkce cytokinů po nespecifické in vitro stimulaci buněk. Imunitní buňky v periferní krvi jsou stimulovány in vitro nespecificky (PMA). Po stimulaci imunitních buněk (zejména T lymfocytů) dochází k produkci cytokinů, které ovlivňují imunitní odpověď. Prozáněťové cytokiny TNF α a IFN γ detekujeme pomocí intracelulárního značení cytometrickou analýzou.

Další doporučená vyšetření ženy

Krevní obraz + diferenciaci, sérové hladiny IgG, IgA a IgM, CRP, moč chemicky a sediment, sérové hladiny TSH, FT4 a anti TPO.

LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ MUŽE

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 48 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Spermioqram (dle WHO 2010) - je nutné vyšetřit vždy, ať už přímo na imunologickém pracovišti, nebo ve spolupráci s pracovišti reprodukční medicíny, andrologie, sexuologie apod.

Vyšetřovaný materiál: čerstvý ejakulát (po dvou až třídní sexuální abstinenci), nutnost dopravit vzorek do laboratoře do 60min. ve tmě při teplotě blízké teplotě těla. Laboratorní zpracování je nutné do dvou hodin od odběru. Odběr do sterilní jednorázové nádoby bez aditiv. Naše pracoviště má vlastní odběrovou místnost.

Protilátky proti spermii

Detekce protilátek proti spermii v ejakulátu ve třídě IgG a IgA (přímý MAR test). Test umožňuje metodou přímé aglutinace detekovat přítomnost protilátek proti spermii. Protilátky vyskytující se na povrchu spermií mohou snížit pohyblivost spermií, blokovat jejich průchod přes cervikální hlen a také inhibovat vazbu spermií - oocyt, a tím způsobit, že nedojde k oplodnění.

Počet a vitalita spermií, počet leukocytů, integrita akrozomu, přítomnost IAP

Významnými parametry, které ovlivňují schopnost oplodnění je počet spermií, jejich životnost, integrita akrozomu a přítomnost intra-akrozomálního vazebného proteinu (IAP). Tyto parametry lze vyšetřit metodou průtokové cytometrie s využitím SpermFlow testu. Dalším parametrem, který je součástí testu, je detekce leukocytů, která může upozornit na probíhající zánět či infekci pohlavního ústrojí.

Další doporučená vyšetření muže

Každý muž musí mít provedený spermioqram dle doporučení WHO 2010. V případě podezření na infekci je požadováno i mikrobiologické vyšetření ejakulátu, případně moči. U mužů s opakovaně patologickým spermioqramem je třeba doplnit screeningové vyšetření celiakie (protilátky proti tkáňové transglutamináze IgA, v případě IgA deficiencie též IgG).

4.15. Imunomodulační přípravky

Zásobní (stock) bakteriální vakcíny

Indikace: Recidivující a chronické infekce (nosní, krční, ušní, dolních dýchacích cest, oční, kožní, urogenitální).

Způsob přípravy: Bakteriální imunomodulační vakcíny jsou připravovány podle standardní metodiky "Návrh na standardní metody přípravy bakteriálních imunomodulačních stock vakcín", vydané jako příloha č. 2/1991 k Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica.

Aplikační formy: perorální kapky, nasální spray

Složení: Do vakcín jsou vybírány epidemiologicky aktuální bakteriální kmeny, které jsou etiologickým agens léčených onemocnění a vyskytují se u populace naší oblasti. Laboratoř připravuje následující kombinace, do vakcín je možné zařadit i další bakteriální druhy dle požadavku ordinujícího lékaře. Expirace: 1 rok, dodací lhůta: Obratem poštou nebo prostřednictvím svozové služby.

Přehled vyráběných zásobních vakcín pro p.o. aplikaci:

Respirační vakcína: viridující streptokoky + Staphylococcus aureus + Haemophilus influenzae Vakcína Staphylococcus aureus + Staphylococcus epidermidis Vakcína Escherichia coli Vakcína akne : Staphylococcus aureus + Propionibacterium acnes + Staphylococcus epidermidis Vakcína Candida albicans Vakcína respirační s alfou : Klebsiella pneumoniae Autovakcína – z vlastních kmenů pacienta
--

Autovakcíny

Indikace: Recidivující a chronické infekce při neúspěšnosti léčby zásobní vakcínou nebo hromadně vyráběnými imunomodulačními léky typu Bronchio-vaxomu. Způsob přípravy: Stejný jako u zásobních vakcín.

Aplikační formy: perorální kapky, nasální spray

Složení: Bakteriální kmeny izolované od pacienta nejlépe v době akutní exacerbace onemocnění. Vybírají se především patogenní a podmíněně patogenní bakterie.

Poznámka: Pacient se může dostavit k odběru materiálu k přípravě autovakcíny kterýkoli den od 7,00 hodin do 8,00 hodin do ambulance Imunologie ZÚ. Autovakcíny lze rovněž připravit z příslušných bakteriálních kmenů odeslaných prostřednictvím spádové mikrobiologické laboratoře.

Expirace: 1 rok

Dodací lhůta: 6-8 týdnů po odběru. Autovakcínu si mohou pacienti vyzvednout v naší ambulanci nebo u ordinujícího lékaře.

4.16. Statimová vyšetření

Urgentní (STATIM) provedení vyšetření lze požadovat na standardních žádankách. Statimové vzorky mají přednost při vyšetřování ostatních materiálů a jejich výsledky se při požadavku a telefonicky hlásí lékaři nebo sestře na telefonní číslo uvedené na žádance. Na žádankách musí být zřetelně vyznačen požadavek STATIM, uveden kontaktní telefon, žádanky musí splňovat všechny běžné požadavky, kap. 3.5., 6.3. a 6.4.

5. Manuál pro odběry primárních vzorků

5.1. Základní informace

Odběr biologického materiálu by měl probíhat na základě doporučení uvedených v této příručce nebo doplňkových pokynech vydávaných laboratoří. Dodržení uvedených pokynů je jednou

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 49 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

z podmínek pro správné zpracování biologického materiálu a zaručuje správné stanovení a interpretaci výsledků laboratoří.

5.2. Odběrové místo a příjem materiálu CIM

5.2.1. Odběrové místo

5.2.1.1. Pracoviště Ústí nad Labem

Odběr biologického materiálu pro OLI CIM zajišťuje OKIA CIM. Odběrová místnost se nachází v budově „S“ areálu MN, na adrese: Na Kabátě 229, 400 11 Ústí nad Labem v přízemí.

Provozní doba - pondělí až pátek od 7:00 do 15:00 hodin

5.2.1.2. Pracoviště LI Praha

Odběr krve je možný v Poradně HIV Dittrichova 17 (budova KHS), Praha 2 naproti vrátnici

Provozní doba - úterý od 8:30 do 10:30 hodin, středa 8:30-10:30, čtvrtek 9:30-10:30

5.2.2. Příjem materiálu

5.2.2.1. Pracoviště Ústí nad Labem

Místnost příjmu materiálu v přízemí vpravo slouží k předání vzorků biologického materiálu odebraných mimo CIM. Vzorky se předávají vždy osobně pracovníkům příjmu laboratoří.

Provozní doba - pondělí až pátek od 7:00 do 16:00 hodin.

5.2.2.2. Pracoviště LI Praha

Místnost pro příjem materiálu je v 1. suterénu budovy KHS Dittrichova 17, Praha 2. Vzorky se předávají vždy osobně pracovníkům příjmu laboratoře.

Provozní doba – pondělí až pátek od 7:00 do 15:00 hodin

5.3. Požadavkové listy (žádanky)

5.3.1. Pracoviště Ústí nad Labem

Požadavek na imunologické vyšetření vyznačte na žádanku OLI CIM ZÚ Ústí n. L. Používány jsou čtyři následující typy žádanek pro jednotlivé oblasti imunologického vyšetření.

A1 humorální imunita, autoimunita

A2 antiinfekční imunita

B buněčná imunita

C specifického IgE

D likvor

M příprava autovakcíny

5.3.2. Pracoviště LI Praha

LI používá žádanku Laboratoře imunologie Praha

Žádanky jsou určeny pro současné dodání více materiálů. Používáním autorizovaných žádanek CIM ZÚ Ústí n. L. potvrdíte záměr požadovat vyšetření zvolených parametrů u pacienta na tomto pracovišti. Volba laboratoře je právem odesílajícího lékaře.

Při vyplňování věnujte pozornost následujícím pokynům:

Údaje v žádance vyplňte způsobem odpovídajícím požadavkům. Musí tedy obsahovat vedle jména pacienta jeho RČ, údaj o pojišťovně, Vaše IČZ a č. odbornosti, hlavní a vedlejší dg. podle klasifikace MKN, datum a čas odběru. Žádanka obsahuje potřebné kolony pro tyto nezbytné údaje.

V případě použití jiného typu žádanky (např. "výměnný list - poukaz" nebo formulář VZP-06) je nutné adresně uvést Imunologie ZÚ, pokud miníte vyšetření odeslat na toto pracoviště.

Žádanky je možno získat na CIM po telefonické dohodě, lze o ně napsat, popř. faxovat nebo vložit požadavek k zasílaným vzorkům.

5.3.3. Údaje požadované a povinně uváděné na požadavkovém listu (žádance):

- kód pojišťovny pojištěnce (pacienta)
- číslo pojištěnce - pacienta (**rodné číslo**, číslo pojistky u cizinců)
- příjmení a jméno pacienta
- základní a další **diagnózy** pacienta ve zkratkách MKN 10
- datum a pokud je to relevantní i čas odběru (datum a čas přijetí vzorku laboratoří je automaticky evidován laboratorním informačním systémem po přijetí žádanky)
- **identifikace objednavatele** (podpis, razítko s údaji - zdravotnické zařízení, oddělení, jméno lékaře, IČP nebo IČL lékaře, případně telefonický kontakt)
- požadovaná vyšetření (vázaná k dodanému vzorku nebo k dodaným vzorkům)
- urgentnost dodání

5.3.4. Nepovinné údaje:

- popis typu primárního vzorku, nejedná-li se o krev

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 50 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

- záznam o totožnosti /podpis) osoby, která odebrala primární vzorek
- pohlaví pacienta (pokud není zřejmé z rodného čísla)
- telefonický kontakt pro hlášení statimových výsledků
- doplňující klinické informace
- kontakt na pacienta

5.3.5. Identifikace novorozence:

Vyšetření vzorku novorozence včetně pupečnickové krve se nesmí požadovat na žadance s identifikačními údaji matky! Musí být uvedeno jeho rodné číslo, pokud není známo, pak maximální množství známých údajů, nejméně však datum narození a příjmení, případně označení A, B u dvojčat. Laboratorní informační systém vygeneruje náhradní rodné číslo, pod kterým budou dostupné laboratorní nálezy. Po získání platného rodného čísla budou výsledky uložené pod generovaným rodným číslem navázány na platné rodné číslo.

5.3.6. Jiný typ žádanky:

V případě použití jiného typu žádanky (např. "výměnný list - poukaz") je nutné adresně uvést Imunologie ZÚ, pokud míníte vyšetření odeslat na toto pracoviště.

Postup při odmítnutí vzorku je uveden v kapitole 14.2. **Postup při nesprávné identifikaci** je uveden v kapitole 14.2.a 14.3.

5.4. Požadavky na urgentní vyšetření

Požaduje-li lékař urgentní vyšetření vybraných parametrů, jsou v laboratoři přednostně zpracovávána. Za požadavek na urgentní vyšetření je považována žádanka, která je označena „Statim“. Biologický materiál musí být dodán s příslušnou dokumentací do příjmové místnosti OLI CIM co nejdříve po odběru. Po přejímce materiálu a žádanky je v nejkratší možné době dle způsobu stanovení provedena analýza a po vyhotovení výsledků a lékařské kontrole jsou výsledky nahlášeny požadujícímu zdravotnickému zařízení. Poté je výsledek v tištěné formě předán standardní cestou. Časová dostupnost jednotlivých vyšetření je uvedena u jednotlivých vyšetření. Dovolujeme si upozornit, že ne všechna vyšetření lze zpracovat urgentně, proto při požadavku na urgentní vyšetření jsou přednostně zpracovávána pouze ta, u kterých je to z principu zpracování možné.

5.5. Ústní (telefonické) požadavky na vyšetření

V případě potřeby může lékař či sestra požadovat dodatečné vyšetření z již dříve dodaného vzorku. V tomto případě se na původní žádanku dopíše doplněné požadavky ve formě „doplněno po telefonickém požadavku: název vyšetření“. Tento požadavek stvrdí svým podpisem opovědný pracovník příjmu OLI CIM. Následně je nutné dodatečně dodat žádanku s vyplněnými požadavky. Primární zkumavka je skladována minimálně po dobu 72 hodin po zpracování, zamražené vzorky pak déle. Výjimku tvoří některá vyšetření buněčné imunity, funkční vyšetření komplementu, histaminu, MBL a ECP a kryoglobulinů, kde to vzhledem k jejich stabilitě nelze.

6. Používaný odběrový systém

TYP MATERIÁLU	TYP ODBĚROVÉ ZKUMAVKY	POUŽITÍ - VYŠETŘENÍ
Srážlivá žilní krev	Zkumavka bez antikoagulantu. Např. Vacutainer s červeným víčkem.	Vyšetření humorální imunity - žádanka A1 Průkaz nukleových kyselin PCR (CMV,HBV,HCV,HSV,VZV, enterovirus) - žádanka A2 Vyšetření specifického IgE - žádanka C
	- " - zcela naplněna	Vyšetření ECP - žádanka A1
Nesrážlivá žilní krev (EDTA)	Zkumavka s EDTA. Např. Vacutainer s fialovým víčkem.	Krevní obraz - žádanka B Imunofenotypizace - žádanka B Stanovení anti-trombocytárních protilátek - žádanka B Histamin - žádanka A1, C
		Vyšetření humorální imunity - žádanka A1 Nevhodné pro: stanovení RF, ELFO, AFP, Anti-IA2, IL-6, TNFa Průkaz nukleových kyselin PCR (EBV, CMV, HSV, VZV HHV-6, enterovirus, borelie, chlamydie, N.mening., Str.pneum., Haem. infl., listerie, vyšetření rizikových alel lidského genomu) - žádanka A2
Nesrážlivá žilní krev (heparin)	Zkumavka s heparinem Např. Vacutainer se zeleným víčkem.	Všechna vyšetření buněčné imunity - žádanka B Vyšetření humorální imunity - žádanka A1 Nevhodné pro: stanovení RF, ELFO, AFP, Anti-IA2, průkaz nukleových kyselin PCR

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 51 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

		Vyšetření specifického IgE - žádanka C
Likvor	Polystyrénová / polypropylenová zkumavka bez úpravy.	Cytologie, imunochemické a speciální vyš.í likvoru - žádanka D
		Průkaz nukleových kyselin PCR (CMV, EBV, HSV, VZV, HHV-6, enterovirus, borelie, chlamydie, N.mening., Str.pneum., Haem. infl., listerie) - žádanka D
Moč	Polystyrénová / polypropylenová zkumavka bez úpravy	Stanovení paraproteinu, vyšetření humorální imunity - žádanka A1 a A2
	Sterilní polystyrénová / polypropylenová zkumavka	Průkaz nukleových kyselin PCR (CMV, chlamydia, borelie, Legionella pn.) - žádanka A2 Odběr na mikrobiologické vyšetření, příprava vakcín
Stolice	Plastová nádobka na odběr stolice.(vydává ambulance CIM)	Přímý průkaz Helicobacter pylori, vyšetření kalprotektinu - žádanka A2
Sliny	Polystyrénová / polypropylenová zkumavka bez úpravy	Vyšetření humorální imunity - žádanka A1, sekreční imunita
		Průkaz nukleových kyselin PCR (EBV) - žádanka A2
Výplach	Polystyrénová / polypropylenová zkumavka bez úpravy	Průkaz nukleových kyselin PCR (pertusse/ parapertusse, RSV/hMPV) - žádanka A2
Bronchioalveolární laváž	Polystyrénová / polypropylenová zkumavka bez úpravy	Imunofenotypizace - žádanka B
	Sterilní polystyrénová / polypropylenová zkumavka	Odběr na mikrobiologické vyšetření, příprava vakcín
Kostní dřev	Zkumavky s EDTA nebo heparinem příp. s PBS	Imunofenotypizace - žádanka B
Sputum	Polystyrénová / polypropylenová zkumavka bez úpravy	Průkaz nukleových kyselin PCR (MBT, Legionella pn., Mycoplasma pn., RSV/hMPV) - žádanka A2
	Sterilní polystyrénová / polypropylenová zkumavka	Odběr na mikrobiologické vyšetření, příprava vakcín
Stěry	Polystyrénová / polypropylenová zkumavka s transportním médiem	Průkaz nukleových kyselin PCR (HSV I/II, VZV) - žádanka A2
Stěry, výtěry	Suchý sterilní tampon	Odběr na mikrobiologické vyšetření, příprava vakcín
	Zkumavka s transportním médiem	Odběr na mikrobiologické vyšetření, příprava vakcín
Hnisy, tonsilly, punktáty, exsudáty a ost. klin. materiál	Sterilní polystyrénová / polypropylenová zkumavka	Odběr na mikrobiologické vyšetření, příprava vakcín
Anaerobní kultivace	Odběrová souprava k anaerobní kultivaci	Odběr na mikrobiologické vyšetření, příprava vakcín

7. Příprava pacienta před vyšetřením

7.1. Základní pokyny pro pacienty

Odběr nalačno	Odběr venózní krve se provádí většinou ráno, obvykle nalačno. Pacient je poučen, že odpoledne a večer před odběrem má vynechat tučná jídla. Pokud lze vynechat léky, má je pacient vynechat 3 dny před odběrem. Jinak nutno uvést podávané léky na průvodce. Ráno před odběrem nemá trpět žízni. Je vhodné, napije-li se pacient před odběrem 1/4 l čaje (vody). Pro vyšetření hladiny protilátek lze odběr uskutečnit i během dne. Vzorek však nesmí být chylózní či hemolytický.
Ranní moč	Střední proud moče po omytí zevního genitálu. Zkumavku označit nálepkou se jménem a celým rodným číslem.
Stolice	Odběr malého vzorku stolice (velikosti přibližně vlašského ořechu se provádí do speciálního odběrového kontejneru (vydává odběrová ambulance CIM).

8. Identifikace pacienta na žádance a označení vzorku

8.1. Identifikace biologického materiálu

Nezbytnou identifikaci biologického materiálu tvoří nejméně:

- příjmení pacienta
- číslo pojištěnce (rodné číslo)

Pokud je nádoba s biologickým materiálem označena z uvedených povinných identifikačních znaků pouze jménem pacienta, laborať jí může přijmout za předpokladu, že je jednoznačně připojena k žádance s kompletní identifikací pacienta (přilepením, v uzavřeném obalu a podobně). Výjimku tvoří nemocní, u nichž není kompletní identifikace k dispozici (neznámé osoby nebo osoby, u nichž jsou k dispozici povinné identifikační znaky jen v částečném rozsahu). Odesílající oddělení je povinno srozumitelně o této skutečnosti informovat laborať a zajistit nezaměnitelnost

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 52 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

biologického materiálu a dokumentace. Jiný způsob označení biologického materiálu se nepřípouští, resp. je důvodem pro odmítnutí (14.2., 14.3.).

Biologický materiál je třeba dodat spolu s žádankou vyplněnou podle bodu 5.3

8.2. Identifikace na žadance

Popisuje bod 5.3.

8.3. Identifikace v laboratoři

Po kontrole přijatého materiálu a požadavkového listu (žádanky) jsou identifikační znaky pacienta zadány do laboratorního informačního systému. Požadavkovému listu a zadanému vzorku je automaticky přiřazeno evidenční číslo. Tak je zajištěna návaznost identifikačních údajů s údaji na žadance a primární zkušavce. Přiřazené laboratorní číslo je vytištěno na výsledkovém listu.

Alikvotované vzorky (rozdělené na části určené k samostatným analýzám) jsou označeny stejným číslem jako žádanka a primární vzorek.

9. Odběr vzorku

9.1. Bezpečnostní aspekty:

Každý vzorek krve je nutné považovat za potencionálně infekční. Je nutné zabránit kontaminaci pokožky a sliznic odebírající osoby, veškerých zařízení používaných při odběru nebo ke vzniku infekčního aerosolu. Je nutné zajistit dostupnost lékaře pro případ komplikací při odběru. U nemocných s poruchami vědomí nebo u malých dětí je nutné zabránit případnému poranění. Je třeba očekávat pohyby nebo reakce na vpich. Prevence hematomu zahrnuje zejména: opatrnost při punkci, včasné odstranění turniketu, používání jen velkých povrchových žil, aplikaci přiměřeně malého tlaku na místo vpichu při ošetřování rány po odběru. Veškeré manipulace s odběrovými jehlami a lancetami se musí provádět s maximální opatrností. Bezprostředně po odběru je nutné jehly a lancety bezpečně zneškodnit odložením do silnostěnné nádoby. S jehlami se nijak nemanipuluje, je zakázáno zpětné nasazování krytky. Při poranění pracovníka kontaminovanou jehlou nebo lancetou postupujeme jako při pracovním úraze. Pro některé vyšetřovací systémy používané na našem pracovišti není vhodné používat hemolytické či silně lipemické vzorky.

9.2. Odběry žilní krve

- Příprava materiálu, pomůcek a příslušné dokumentace, s ohledem na prevenci záměn vzorků.
- Kontrola identifikace.
- Ověření dodržení potřebných dietních omezení před odběrem.
- Seznámení pacienta s postupem odběru.
- Zajištění vhodné polohy paže, tj. podložení paže opěrkou v natažené pozici bez pokrčení v lokti, u ležících nemocných zajištění přiměřené polohy s vyloučením flexe v lokti.
- Kontrola identifikačních údajů na zkumavkách.
- Dezinfekce místa vpichu doporučeným prostředkem. Po dezinfekci je nutné kůži nechat oschnout pro prevenci hemolýzy vzorku a pro odstranění pocitu pálení v místě odběru. Po dezinfekci je další palpce místa odběru nepřijatelná.
- Vlastní odběr:

9.2.1. Uzavřený odběrový systém VACUTAINER:

Při použití uzavřeného systému (zkumavek Vacutainer) dle potřeby přiložíme škrtidlo, do držáku se vloží vhodná jehla, provede se venepunkce a potom se postupně nasazují vhodné zkumavky. Turniket je možno odstranit, jakmile začne krev vtékat do zkumavky. Vytvořené vakuum zajistí dokonalé naplnění zkumavky při dosažení správného míscího poměru krve a protisrážlivého činidla.

Doporučené pořadí odběrů z jednoho vpichu:

- zkumavky bez přísad
- zkumavky s přísadami

Pokud se používají zkumavky s různými přísadami, je vhodné následující pořadí: citrát, heparin, EDTA, oxalát a fluorid.

Jednotlivé zkumavky s přísadami je nutno bezprostředně po odběru promíchat pětinasobným šetrným převrácením.

Pokud se nepodaří odebrat dostatečné množství krve, může se použít některý z následujících postupů: změni se pozice jehly, použije se jiná vakuovaná zkumavka, uvolní se příliš zatažený turniket. Opakované sondování jehlou je nepřijatelné.

9.3. Odběr žilní krve za zvláštních podmínek

9.3.1. Doporučený postup odběru při současném podávání infuze:

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 53 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Odběr v době podávání infuze se provádí jen v nezbytném případě. Doporučený odstup odběru od ukončení infuze je 1hod. Pokud je nutno odběr uskutečnit, doporučuje se odběr provést z druhé paže, než do které je zavedena infuze.

9.3.2. Eosinofilní kationický protein (ECP)

Zvláštní požadavky odběru lze uskutečnit následujícími způsoby:

ODESLÁNÍ VZORKU KRVE:

- Odběr krve by měl být prováděn do skleněné vakuové odběrové zkumavky. Je důležité, aby nádobka byla zcela naplněna.
- Po odběru odběrovou zkumavku 5x jemně obrátit.
- Zaznamenejte čas odběru a do 1 hodiny po odběru dopravte na CIM ZÚ. Při přepravě musí být dodržena teplota 20-25 °C. Teplota nesmí kolísat o více než 1 °C.
- Vhodná je přeprava v polystyrenovém obalu nebo v termosce.

ODESLÁNÍ ZMRAZENÉHO SÉRA:

- Odběr krve by měl být prováděn do skleněné vakuové odběrové zkumavky. Je důležité, aby nádobka byla zcela naplněna.
- Po odběru odběrovou zkumavku 5x jemně obrátit.
- Vzorek nechat stát při pokojové teplotě (20-25 °C) 1 až 2 hod.
- Zcentrifugovat při cca 3200 otáček (1000-1350 g) 10 min. při pokojové teplotě.
- Oddělit sérum do nové zkumavky a vzorek zamrazit.
- Zmražený vzorek (suchý led) dopravit na CIM ZÚ.

ODBĚR NA AMBULANCI PRACOVIŠTĚ ÚSTÍ NAD LABEM CIM ZÚ - po objednání.

9.3.3. Tryptáza

V případě suspektní anafylaktické či anafylaktoidní reakce se doporučuje odebrat vzorek srážlivé krve v rozmezí 15 min. až 3 hod. po této reakci. (Pokles hladin k normálním hodnotám se předpokládá během 12-14h po reakci).

9.3.4. Komplement

Vzorek na funkční vyšetření komplementu (CH 50) musí být bezpodmínečně dopraven do laboratoře do 1 hodiny po odběru, případně do doby analýzy uchovávan při teplotě -20°C. Při uchovávání déle než 5 dní při teplotě nižší než -40°C. Vzorek se v každém případě musí zpracovat

(analýza či uchování) nejdéle do 2h po odběru.

9.3.5. Buněčná imunita - objednávky, odběry

Vyšetření buněčné imunity je nutno objednat: tel. 477 751 819 , nebo u vedoucího laboratoře buněčné imunity na tel. 477 751 800/806 . Druhá možnost je doporučena zvláště je-li nutné sdělit podstatné anamnestické údaje a klinické okolnosti. Vyšetření se provádí z nesrážlivé krve:

- EDTA pro imunofenotypizaci, KO a stanovení anti-trombocytárních protilátek
- heparin pro všechna vyšetření buněčné imunity včetně funkčních testů.

9.3.6. QuantiFERON-TB GOLD

Pro vyšetření jsou používány speciální odběrové zkumavky, které dodáme spolu s podrobnými podmínkami odběru (lze telefonicky domluvit na tel. 477 751 819). Vzorek musí být doručen do laboratoře v den odběru (po domluvě lze využít naši svozovou službu – p. Rajchl tel. 602 215 986, p. Rajchlová tel. 724 325 038). Před doručením do laboratoře (CIM ZÚ Ústí nad Labem, areál Masarykovy nemocnice, budova S, Na Kabátě 229, Ústí nad Labem-Bukov) musí být vzorek uchovávan v teplotním rozmezí 22± 5°C.

9.4. Možné chyby při odběru žilní krve

9.4.1. Chyby při přípravě

- Pacient nebyl nalačno, požití tuky způsobí přítomnost chylomikér v séru nebo plazmě, která mohou ovlivnit až znemožnit některá stanovení.
- V době odběru nebo těsně před odběrem dostal pacient infuzi obsahující měřený analyt a nebyla přijata dostatečná opatření k zamezení kontaminace vzorku.
- Pacient nevysadil před odběrem léky, které mohou ovlivnit stanovení.
- Nebyla dodržena doporučená doba odběru nebo doporučená příprava pacienta před odběrem.
- Odběr byl proveden po mimořádné fyzické zátěži.
- Nemocný před odběrem dlouho nepil, výsledky mohou být ovlivněny dehydratací.

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 54 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

9.4.2. Chyby způsobené nesprávným použitím turniketu při odběru:

Nejvhodnější doba pro uvolnění turniketu je okamžik, kdy se ve zkumavce nebo stříkačce objeví krev, včasné uvolnění turniketu normalizuje krevní oběh a zabrání krvácení po odběru. Pacient během odběru a po odběru uvolní svalové napětí paže. Dlouhodobé stažení paže nebo nadměrné cvičení se zataženou paží před odběrem vede ke změnám poměrů tělesných tekutin v zatažené paži, ovlivněny jsou např. koncentrace proteinů.

9.4.3. Chyby vedoucí k hemolýze vzorku:

Hemolýza vadí velké části imunochemických vyšetření zejména proto, že řada látek přešla z erytrocytů do séra nebo plazmy nebo že zbarvení interferuje s vyšetřovacím postupem.

Hemolýzu může způsobit:

- Znečištění jehly nebo pokožky stopami ještě tekutého dezinfekčního roztoku.
- Použití nevhodného typu (průměru) jehly, kterou se pak krev násilně aspiruje.
- Odběr je proveden z okolí hematomu, zánětu nebo otoku.
- Prudké vystřikování krve ze stříkačky do zkumavky.
- Prudké třepání krve ve zkumavce nebo nešetrný transport krve do laboratoře.
- Zmrznutí vzorku krve.
- Prodloužení doby mezi odběrem a dodáním do laboratoře.
- Použití nesprávné koncentrace protisrážlivého činidla.

9.5. Odběr likvoru

Pacient je vsedě s opřenými rukama nebo vleže na boku, kolena jsou co nejvíce přitlačena k břichu, záda vyklenutá. Pečlivě se vydezinfikuje bederní část zad. Lumbální jehlou se provede punkce v oblasti mezi trny druhého a třetího nebo čtvrtého bederního obratle. Odběr provádí vždy lékař. Do sterilní zkumavky se odebere asi 5ml mozkomíšního moku, ihned se zazátkuje a zašle do laboratoře. Materiál by měl být odebírán co nejsterilněji a měl by být dopraven do laboratoře co nejrychleji.

9.6. Odběr slin

Třicet minut před odběrem slin je doporučeno nejíst, nepít, nečistit si zuby a nekouřit. Uchopte nádobku těsně pod zátkou a zátku odstraňte (vnitřní pouzdro nechte v průhledné odběrové zkumavce) a naplňte nádobku slinami. Uzavřete důkladně zátkou, označte jménem, příjmením a rodným číslem, Pokud nelze nádobku se slinami dopravit ihned do laboratoře, uchovávejte ji v lednici, obsah však nesmí zmrznout. Zaznamenejte dobu odběru slin a také druh a dobu požití jakéhokoliv léku před odběrem.

9.7. Odběr sputa

Před odběrem je dobré vypláchnout ústa vodou. Pacient se snaží vykašlat hlenovitý sekret z dolních cest dýchacích do sterilního kontejneru (sputovky), ve kterém se materiál zasílá do laboratoře. Je dobré se přesvědčit, že jsou ve vzorku přítomny hnisavé vločky, protože vyšetřovat pouhé sliny nemá smysl. Odběr se řádně označí. Sputum má vazkou konzistenci, bělavé vločky hnisu, případně obsahuje i krev (nezaměnit za vodnaté, zpěněné sliny). Sputum je nutné ihned dopravit do laboratoře, musí se zpracovat ještě ten samý den.

9.8. Odběr stolice pro přímý průkaz *Helicobacter pylori* a stanovení hladin kalprotektinu

Plastovou lopatičkou se odebere po defekaci kousek stolice velikosti vlašského ořechu a ihned se uzavře do plastového kontejneru. Odběr se řádně označí. Pokud není možno materiál dopravit do laboratoře ihned, uchovává se v lednici.

9.9. Odběr bronchioalveolární laváže

Bronchioalveolární laváž se získává při vyšetření flexibilním bronchioskopem, při kterém se do bronchioalveolárního stromu postižené části plic instaluje 100-300ml fyziologického roztoku zahřátého na 37°C, poté se bronchioalveolární tekutina aspiruje do sterilních polystyrénových/polypropylénových nádobek bez úpravy. Odebraný vzorek by měl být dopraven do laboratoře co nejrychleji.

9.10. Odběr kostní dřevě

Kostní dřevě může být odebírána buď nasátím z hrudní kosti (tzv. sternální punkce), nebo nasátím z kosti kyčelní, kde je odebírán i tzv. váleček kostní dřevě při vyšetření, které se nazývá trepanobiopsie. Obě tato vyšetření se provádějí zásadně po místním znecitlivění, což výrazně snižuje jejich bolestivost. Vzorek kostní dřevě se odebírá do sterilních polystyrénových/polypropylénových nádobek bez úpravy. Odebraný vzorek by měl být dopraven do laboratoře co nejrychleji.

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 55 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

10. Množství vzorku

Množství vzorku je závislé na typu analýzy, kterou se dané vyšetření provádí. Všechna vyšetření prováděná ze stejného druhu materiálu (např. srážlivá krev) lze provést z jedné zkumavky. Obecně platí, že pro základní vyšetření humorální imunity se odebírá jedna zkumavka objemu cca 10 ml, pro základní vyšetření buněčné imunity jedna zkumavka (5ml) požadovaného typu. Pro rozšířený panel vyšetření humorální imunity (více jak 10 vyšetření) doporučujeme odebírat 2 zkumavky pro získání séra, pro rozšířený panel buněčné imunity dvě zkumavky požadovaného typu. Pro vyšetření moče a likvoru obvykle postačuje 1 zkumavka. Požadované množství vzorku lze telefonicky konzultovat tento s laboratoří. Množství krve pro metody prováděné z nesrážlivé krve se řídí nutností dodržení poměru krve a protisrážlivého činidla. Při použití vakuových systémů je správný objem zajištěn. Při odběru pístovým způsobem je nutné dodržet pokyn výrobce o množství vzorku - na zkumavce ryska, po kterou má být naplněna.

10.1. Doporučené množství plné krve nebo moče při primárním odběru

Humorální imunita– základní panel	1 zkumavka - 7 ml
Humorální imunita– rozšířený panel	2 zkumavky - 14 ml
Buněčná imunita– základní panel	1 zkumavka s EDTA - 2 ml a současně 1 zkumavka s Heparinem - 5 ml
Buněčná imunita– rozšířený panel	1 zkumavka s EDTA - 2 ml a současně 1- 2 zkumavky s Heparinem dle požadavků tj. 7- 10 ml
Likvor– cytologie	minimálně 1 ml
Likvor– rozšířený panel	1 zkumavka - 5 ml celkem
Moč (průkaz paraproteinu)	5 ml celkem
Bronchioalveolární laváž	5- 10 ml celkem

11. Nezbytné operace se vzorkem, stabilita

11.1. Stabilita vzorku

VYŠETŘENÍ	ODEBRANÝ MATERIÁL	OPERACE PO ODBĚRU	STABILITA / ČAS
Imunoglobuliny a proteiny akutní fáze	Srážlivá žilní krev	nechat srážet 2 h při pokojové teplotě, pak uchovávat při 2-8°C	krev 24 h / pokojová teplota, 48h / 2- 8°C sérum 3 -7 dní / 2-8°C, déle při -20°C -Apolipoproteiny – nemrazit!
Autoprotilátky	Srážlivá žilní krev	nechat srážet 2 h při pokojové teplotě, pak uchovávat při 2-8°C	krev 24 h / pokojová teplota, 48h / 2- 8°C sérum 7 dní / 2-8°C, déle při -20°C - Anti TPO, Anti TG 2 dny// 2-8°C, déle -20°C
Antiinfekční protilátky	Srážlivá žilní krev	nechat srážet 2 h při pokojové teplotě, pak uchovávat při 2-8°C	krev 24 h / pokojová teplota, 3 dny / 2- 8°C sérum 7 -14 dní / 2-8°C, déle při -20°
Tumorové markery	Srážlivá žilní krev	nechat srážet 2 h při pokojové teplotě, pak uchovávat při 2-8°C	krev 24 h / pokojová teplota sérum 7 dní / 2-8°C, déle při -20°C -AFP 3 dny// 2-8°C, déle při -20°C
ELFO, IFIX	Srážlivá žilní krev	nechat srážet 2 h při pokojové teplotě, pak uchovávat při 2-8°C	krev 24 h / pokojová teplota sérum max. 7 dní / 2-8°C, déle při -20°C
Anti TPO, Anti TG, AFP, CIK	Srážlivá žilní krev	nechat srážet 2 h při pokojové teplotě, pak uchovávat při 2-8°C	krev 24 h / pokojová teplota sérum 2- 3 dny / 2-8°C, déle při -20°C
C1IH funkční test	EDTA plasma	uchovávat při pokojové teplotě,	EDTA plasma 24 h / pokojová teplota
CH50, ECP, histamin, interleukiny, TNFa	Srážlivá žilní krev	uchovávat při pokojové teplotě, dopravit do laboratoře do 2h!	krev 1-2 h / pokojová teplota poté oddělit sérum a ihned zamrazit
Buněčná imunita- základní panel	Nesrážlivá žilní krev (kap. 6)	uchovávat při pokojové teplotě,	48 h / pokojová teplota

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 56 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Krev / plasma pro PCR DNA	Krev / plasma (kap. 6)	uchovávat při 2 – 8°C	krev 24 h / 2- 8°C poté ihned zamrazit s výjimkou borelií (pro průkaz borelií uchovávat 2-8°C 48 h)
Krev / plasma pro PCR RNA Enterovirus, RSV/hMPV	Krev / plasma/ ostatní	uchovávat při 2 – 8°C	8 h / 2- 8°C poté ihned zamrazit
Likvor – cytologie	Likvor	uchovávat při pokojové teplotě, dopravit do laboratoře do 2h!	2 h / pokojová teplota
Likvor • specifické proteiny • antiinfekční protilátky • autoprotilátky		uchovávat při pokojové teplotě při doručení do 2h do laboratoře (cytologie), jinak 2 – 8°C	2 h / pokojová teplota 7 dní / 2-8°C, déle při -20°C
Bronchioalveolární laváž	BAL Sputum	uchovávat při pokojové teplotě, dopravit do laboratoře do 2h!	2 h / 2- 8°C
BAL, Sputum (mikrobiologie)	BAL Sputum	uchovávat při 2 – 8°C	2 h / pokojová teplota
Moč (paraprotein)	Moč	uchovávat při 2 – 8°C	1- 7 dní / 2- 8°C
Moč (mikrobiologie)	Moč	uchovávat při 2 – 8°C	2 h / pokojová teplota , 12 h / 2-8°C
Stolice	Stolice	uchovávat při 2 – 8°C	1-3 dny / 2- 8°C, déle zamrazit
Stěr, výtěr	Stěr, výtěr na suchém tampónu	uchovávat při 2 – 8°C	2 h / pokojová teplota , 12 h / 2-8°C,
	Stěr, výtěr v transportní půdě	uchovávat při pokojové teplotě	24 h / pokojová teplota
Hnisy, tonsilly, punktáty, exsudáty a ost. klinický materiál	Hnisy, tonsilly, punktáty, exsudáty, ost.	uchovávat při pokojové teplotě	2 h / pokojová teplota
Anaerobní kultivace	materiál v odběrové soupravě	uchovávat při pokojové teplotě	2 h / pokojová teplota

11.2. Operace před transportem

Po odběru vzorku je vždy nutné provést nezbytné operace, jakou je kontrola bezpečného uzavření vzorku, aby nemohlo dojít k úniku biologického materiálu, promíchání vzorku (obzvláště u vzorků s antikoagulanciemi (vyšetření buněčné imunity), kontrolu označení vzorků a vyplnění žádanek. Vzorek by neměl být vystavován extrémním teplotám nebo slunečnímu světlu.

11.3. Transport primárních vzorků do laboratoře

Popisuje kapitola 13.

11.4. Skladování vzorků

11.4.1. Do doby zpracování vzorku během pracovního dne

Do doby zpracování vzorku během pracovního dne se materiál skladuje tak, aby se zabránilo znehodnocení, rozlítí, kontaminaci a přímému vlivu slunečního záření a tepla. Vzorky pro bakteriologické vyšetření se ihned zpracovávají v laboratoři vakcín. Vzorky pro vyšetření buněčné imunity a vzorky pro vyšetření QuantiFERON došlé do 12 h se skladují při pokojové teplotě. Vzorky pro vyšetření QuantiFERON došlé po 12 h se uchovávají v termostatu.

Výjimku tvoří vyšetření ECP, histaminu, cytokinů ,CH50 a vzorků pro PCR-OLM .V těchto případech je nutné materiál co nejrychleji zcentrifugovat, oddělit sérum či plasmu, přepipetovat je do vhodné nádoby označené příslušným číslem a zamrazit pro vyšetření:

- ECP, TNF- α , IL-6 min -20°C
- CH50, histamin, vzorky pro PCR (vyjma borelií)..... min -45°C

11.4.2. Do doby analýzy

Dle podmínek preanalytické fáze se separované vzorky séra či plasmy uchovávají:

- v lednici (originálních zkumavkách)
- v lednici po separaci (přepipetované sérum nebo plazma ve skleněných nebo plastových zkumavkách)
- při pokojové teplotě pro vyšetření buněčné imunity
- v mrazicím boxu po separaci (přepipetované sérum nebo plazma ve skleněných nebo plastových zkumavkách)
 - ECP, TNF- α , IL-6 min -20°C
 - CH50, histamin, MBL, vzorky pro PCR-OLM (vyjma borelií).....min -45°C

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 57 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Pro separaci se používají jednorázové plastové zkumavky s uzávěrem, do kterých se přepipetuje potřebné množství materiálu.

11.4.3. Za účelem možnosti doplnění nebo opakování analýz

Biologický materiál se pro tyto účely skladuje v lednici v uzavřených zkumavkách po dobu 3 dnů. Vzorky pro případné opakování vyšetření buněčné imunity se skladují 24 h při pokojové teplotě. Pro případné opakování s výjimkou, histaminu, ECP, cytokinů a komplementu se skladují zamražená séra minimálně po dobu 1 měsíce.

Primární vzorky pro mikrobiologická vyšetření se uchovávají 1) v původním obalu (např. moč, sputum, BAL a jiný materiál, dále vzorky odebrané do zkumavky s transportním médiem) 2) suché štětky zalomené v živném roztoku obojí v chladícím zařízení do odečtení primokultury.

12. Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky

Centrum imunologie a mikrobiologie je rizikovým pracovištěm ve zákona č. 258/2000 Sb. o ochraně veřejného zdraví ve znění pozdějších předpisů: zákona 372/2011 Sb., o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování (zákon o zdravotních službách), vyhlášky č. 306/2012 Sb., o podmínkách předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a o hygienických požadavcích na provoz zdravotnických zařízení a ústavů sociální péče, vyhlášky č. 107/2013 Sb., kterou se stanoví podmínky pro zařazování prací do kategorií, limitní hodnoty ukazatelů biologických expozičních testů, podmínky odběru biologického materiálu pro provádění biologických expozičních testů a náležitosti hlášení prací s azbestem a biologickými činiteli;

K základním zásadám patří:

- každý vzorek krve je nutné považovat za potencionálně infekční
- žádanky ani vnější strana zkumavky nesmí být kontaminovány biologickým materiálem – toto je důvodem k odmítnutí vzorku.
- vzorky od pacientů s přenosným virovým onemocněním či multirezistentní nosokomiální nákazou mají být viditelně označeny
- vzorky jsou přepravovány v uzavřených zkumavkách, které jsou vloženy do stojánku nebo přepravního kontejneru tak, aby během přepravy vzorku do laboratoře nemohlo dojít k rozlítí, potřísnění biologickým materiálem nebo jinému znehodnocení vzorku

13. Informace k dopravě vzorků

13.1. Transport primárních vzorků do laboratoře

13.1.1. Svozem biologického materiálu

Dopravu vzorků do laboratoře zajišťuje svozová služba Zdravotního ústavu se sídlem v Ústí nad Labem. Svoz je zajišťován ve všedních dnech pro ordinace lékařů v Ústí nad Labem i v ostatních regionech a je plánován tak, aby vyhověl požadavkům lékařů a zároveň se vzorek ke dostal co nejdříve do laboratoře ke zpracování. Při transportu je odebraný biologický materiál uložen společně s dokumentací v uzavíratelných transportních nádobách. Při extrémních vnějších teplotách je zajištěn transport vzorku v boxech zamezujících znehodnocení vzorku mrazem nebo horkem (chladicí vložka v létě, vytemperování boxu na laboratorní teplotu v zimě).

Laboratoři nejsou předem známa požadovaná vyšetření. Proto je povinností požadujícího zdravotnického zařízení předem informovat laboratoř o odebíraných vyšetřeních vyžadujících zvláštní nároky na preanalytickou fázi. Odběry za speciálních podmínek jsou uvedeny v bodě 9.3.

Biologický materiál je pomocí svozové služby dopraven na pracoviště příjmu OLI CIM, kde je následně roztříděn, separován podle typu analýzy a předán jednotlivým laboratořím ke zpracování. Výsledky imunologických vyšetření jsou distribuovány lékařům prostřednictvím svozu ve svozový den následující po potvrzení kompletního výsledku VŠ pracovníkem. Svoz zajišťuje i dodání požadovaných odběrových potřeb a požadavkových listů (viz kapitola 22. Vydávání potřeb laboratoří).

Vzorek může být do laboratoře dodán i pomocí svozové služby jiného subjektu. Ve výjimečných případech lze domluvit jinou variantu svozu biologického materiálu do laboratoře s vrchní laborantkou. Odesílat pacienta se vzorkem do laboratoře není vhodná varianta transportu, pacient nebývá poučen o pravidlech manipulace se vzorkem.

V případě vyšetření parametrů buněčné imunity, komplementu a kryoglobulinů doporučujeme pacienta odeslat na odběr na Oddělení klinické imunologie a alergologie CIM ZÚ.

13.1.2. Odesláním vzorku do OLI CIM

Vzorek může být ve zvláštních případech do laboratoře zaslán i poštou.

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 58 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Odeslání primárního vzorku – příprava vzorku

- Po odběru odběrovou zkumavku 5x jemně obrátit.
- Vzorek nechat stát při pokojové teplotě (20-25 °C) 1 až 2 hod.
- Zajistit dopravení vzorku (zaslání) na OLI CIM ZÚ

Odeslání zmraženého séra – příprava vzorku

- Po odběru odběrovou zkumavku 5x jemně obrátit.
- Vzorek nechat stát při pokojové teplotě (20-25 °C) 1 až 2 hod.
- Zcentrifugovat při cca 3200 otáček (1000-1350 g) 10 min. při pokojové teplotě.
- Oddělit sérum do nové zkumavky a vzorek zamrazit.
- Zajistit dopravení (zaslání) zmraženého vzorku - suchý led na OLI CIM ZÚ

14. Příjem žádank a vzorků

14.1. Identifikace pacienta na biologickém materiálu

Popisuje kapitola 8.1.

14.2. Kriteria pro přijetí nebo odmítnutí primárních vzorků

Odmítnout lze:

14.2.1. Žádanku s biologickým materiálem

- na které chybí nebo jsou nečitelné základní údaje a není možné je doplnit na základě dotazu pacienta či lékaře
- a/nebo obsahuje požadavek (požadavky) na vyšetření, které OLI CIM neprovádí
- žádanku nebo odběrovou nádobu znečištěnou biologickým materiálem

14.2.2. Nádobu s biologickým materiálem

- s nejednoznačným způsobem identifikace materiálu z hlediska nezaměnitelnosti
- kde zjevně došlo k porušení doporučení o preanalytické fázi
- neoznačenou nádobu s biologickým materiálem
- bez dodané žádanky

14.2.3. požadavek na doplnění vyšetření

- pokud není dodatečně dodána žádanka obsahující požadovaná (doplněná) vyšetření.

14.3. Postup laboratoře při nesprávné identifikaci na biologickém materiálu nebo žádance - rutinní požadavky

14.3.1. Nedostatečná identifikace na žádance

Materiál se upraví pro skladování (centrifugace, separace) a uskladní s ohledem na požadované typy vyšetření, je-li to z hlediska typu materiálu a požadavku možné.

Pokud je k dispozici údaj o odesílajícím oddělení a základní identifikace pacienta, ověří se chybějící údaje formou telefonického dotazu a následně se provede záznam v LIS, v žádance, v položce memo k žádance dle jednotlivých klíčů ve znění:

/j/ Po telefonické konzultaci opraveno / doplněno jméno pacienta.

// Po telefonické konzultaci opravena / doplněna identifikace odesílajícího lékaře.

/r/ Po telefonické konzultaci opraveno / doplněno RČ pacienta.

/poj/ Po telefonické konzultaci opravena / doplněna zdravotní pojišťovna pacienta.

/dg/ Po telefonické konzultaci opravena / doplněna diagnóza.

/dat/ Uvádějte, prosím, datum odběru! Na žádance není uvedeno datum odběru, není možno posoudit dodržení preanalytických požadavků.

Není-li k dispozici údaj o odesílajícím oddělení a alespoň základní identifikace nemocného, žádanka se archivuje na příjmu materiálu, krev v lednici příjmu materiálu po dobu 14 dní.

14.3.2. Nedostatečná identifikace na biologickém materiálu

Při nedostatečné identifikaci pacienta na biologickém materiálu se analýza neprovádí. Při nedostatečné identifikaci pacienta na biologickém materiálu se vyšetření neprovádí. Žádanka se archivuje na příjmu materiálu. Odesílající subjekt obdrží informaci o odmítnutí nesprávně identifikovaného biologického materiálu. Provede se záznam v LIS, v žádance, v položce memo k žádance

/m/ Nedostatečná identifikace pacienta na biologickém materiálu – vyšetření nebylo provedeno.

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 59 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

14.4. Postup při nesprávné identifikaci pacienta na žádance nebo na biologickém materiálu v laboratoři - urgentní (statimové) požadavky

14.4.1. Nedostatečná identifikace na žádance

Při nedostatečné identifikaci na žádance, při nedostatečné identifikaci biologického materiálu nebo při rozporu identifikace na žádance a biologickém materiálu pracovnice příjmu kontaktuje telefonicky požadujícího lékaře a vyžádá si potřebné údaje a novou žádanku. V případě, že telefonický kontakt není možný, požadované vyšetření se provede a do LIS zadá pod identifikací uvedenou na biologickém materiálu (případně pod generovaným rodným číslem). Laboratoř informuje na výsledkovém listu odesílající subjekt, že akutní vyšetření bylo provedeno při nedostatečné identifikaci nemocného. Uschovává se originální nádoba na biologický materiál a materiál upravený k analýze. Žádanka, spolu s vytištěnou kopií výsledkového listu s upozorněním pro lékaře se předá vedoucí laborantce s upřesněním problému, která osobně nebo prostřednictvím pověřeného pracovníka řeší problém nejbližší pracovní den.

14.4.2. Nedostatečná identifikace na biologickém materiálu

Jako u rutinního požadavku.

15. Informace o vyšetření, která laboratoř neprovádí z ambulancí CIM

Zjistí příslušnou laboratoř a odběrové medium pro toto vyšetření a podmínky transportu.

ze svozu biologického materiálu

Pokud je známa laboratoř provádějící vyšetření, odešle se vzorek do příslušné laboratoře. V případě, že taková laboratoř není dostupná či známa, informuje příjmová pracovnice požadujícího lékaře, eventuelně předá k dořešení vedoucí laborantce nebo libovolnému VŠ OLI CIM. V případě že část vzorku je zpracovaná na OLI CIM a část je odeslána ke zpracování do jiné laboratoře, je na výsledkovém listu z OLI CIM uvedena v poznámce k výsledku laboratoř, kam byla část vzorku odeslána.

16. Informace o formách vydávání výsledků

Laboratoř vydává výsledky laboratorních vyšetření po zpracování laboratorních vyšetření a jejich kontrole VŠ pracovníkem. Výsledky jsou standardně poskytovány v tištěné formě. Na žádost klienta lze výsledky vydávat v několika výtiscích (např. pro potřeby doplnění dokumentace ambulantních specialistů a praktického lékaře souběžně). Distribuce tištěných výsledků probíhá při svozu biologického materiálu, alternativou pro doručení tištěného výsledku je zaslání poštou.

Výsledky lze sdělit také telefonicky. Touto formou jsou však výsledky sdělovány pouze požadujícímu lékaři nebo jím pověřené sestře. V případě nejistoty při telefonickém kontaktu ověřuje laboratoř snadnou formou identifikaci volajícího. Vždy je žadateli zaslán tištěný výsledkový list. Veškeré výsledky, které byly historicky zpracovány v laboratoři jsou archivovány v LIS.

16.1. Hlášení patologických výsledků

Za patologickou se považuje nově zjištěná vysoká hodnota autoprotilátek ANCA, GBM, pozitivní výsledky průkazu infekčních agens metodou molekulární biologie. Zapisuje se do laboratorního informačního systému.

16.2. Typy nálezů a laboratorních zpráv

Laboratorní výsledky se vydávají v papírové podobě. Výstup z LIS v podobě výsledkového listu obsahuje:

- název laboratoře, která výsledek vydala
- jednoznačnou identifikaci pacienta (jméno, rodné číslo)
- název oddělení a jméno lékaře požadujícího vyšetření, telefonní kontakt
- datum a čas přijetí primárního vzorku laboratoří
- datum a čas tisku nálezu
- identifikaci vyšetření
- výsledek vyšetření včetně jednotek měření tam, kde je to možné
- biologické referenční intervaly (znázornění)
- v případě potřeby textové interpretace výsledků
- jiné poznámky (označení vzorku v LIS, texty ke kvalitě nebo dostatečnosti primárního vzorku, které mohou nežádoucím způsobem ovlivnit výsledek, atd.)
- identifikaci osoby, která autorizovala uvolnění nálezu
- číselné označení stránek.

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 60 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

V případě, že poslední strana výsledkového listu neobsahuje část s výsledky, podepíše uvolňující osoba předchozí stranu a celkový počet stran výsledkového listu bude o 1 stranu kratší.

16.3. Uchování kopií výsledků, archivování.

Výsledky jsou kdykoli dostupné prostřednictvím databáze LIS.

16.4. Výstup z laboratorního informačního systému:

Uvedeno v příloze 6.7. PJ.

16.5. Vydávání výsledků přímo pacientům

Pozitivní výsledky HIV a STD se pacientům nevydávají. Pacientům jsou předávány výsledky osobně v laboratoři pouze po ověření identifikace pacienta dle platných osobních dokladů (průkazů totožnosti), se zápisem do příslušného formuláře, kde pacient potvrdí převzetí výsledku a správnost identifikačních údajů svým podpisem.

17. Opakovaná a dodatečná vyšetření

Dodatečná vyšetření nebo opakovaná vyšetření z vzorků dodaných do laboratoře se provádí za splnění podmínek uvedených v kapitolách 5., 10. a 13. Dodatečná mikrobiologická vyšetření neprovádíme.

18. Změny výsledků a nálezů

Opravy výsledkových listů pořízených laboratorním informačním systémem se provádí pro opravu identifikace pacienta, či výsledkové části.

18.1. Oprava identifikace pacienta:

Opravou identifikace pacienta se rozumí oprava rodného čísla a změna nebo významná oprava příjmení a jména pacientů před odesláním protokolu (výsledkového listu). Vzhledem k tomu, že LIS nepoživuje údaj o rodném příjmení, týká se oprava také všech změn příjmení (vdané ženy, osvojené děti, změna příjmení po rozvodu a podobně). Pod pojem oprava identifikace nepatří změna generovaného rodného čísla na korektní, oprava titulu, spojení záznamů korektního rodného čísla a nekorektního rodného čísla po verifikaci, oprava interpunkce.

Osoby, které jsou oprávněny provádět opravy a změny identifikace pacienta v registru OpenLIMS, jsou určené vedoucím OLI CIM pomocí definovaných přístupových práv. O opravě a změně RČ identifikace se provede záznam v LIS. Při opravě chybných údajů identifikace z výpisů ZP slouží jako záznam opravné výpisy ZP, které uchovává vedoucí laborantka.

18.2. Oprava výsledkové části:

Opravou výsledkové části se rozumí oprava (změna údajů) číselné nebo textové informace výsledkové části u těch protokolů (výsledkových listů), které byly odeslány. Pod pojem opravy nepatří doplnění (rozšíření) textové informace k výsledkům!

Opravu výsledků schvaluje vedoucí OLI CIM či vedoucí laboratoře. Opravu provádí pověřený pracovník s příslušnými přístupovými právy. O každé změně výsledku se provede záznam.

19. Intervaly od dodání vzorku k vydání výsledku

Prostřednictvím laboratorního informačního systému laboratoř eviduje čas přijetí každého vzorku, čas vyhotovení výsledků a čas tisku (je vytištěn na každém výsledkovém listu).

Podrobné časové údaje k jednotlivým laboratorním položkám jsou uvedeny v kapitole 24.

20. Konzultační činnost laboratoře

Pro konzultace jsou kdykoliv k dispozici vedoucí jednotlivých laboratoř nebo ostatní VŠ pracovníci OLI CIM, kteří jsou dostatečně erudovaní. Individuální konzultace jsou umožněny kontaktem s odbornými pracovníky:

RNDr. V. Král, CSc. 477 751 800	vedoucí OLI CIM, humorální imunita, buněčná, imunochemie, likvorologie, molekulární biologie, mikrobiologie
RNDr. J. Pohorská 477 751 806	vedoucí laboratoře buněčné imunity, humorální imunita, likvorologie
RNDr. R. Mikešová 477 751 808	molekulární biologie, mikrobiologie (OLM)
MUDr. K. Malečková 477 751 804,820	klinická imunologie a alergologie
MUDr. K. Hassová	vakcíny, klinická imunologie a alergologie

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 61 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

477 751 806, 821

Mgr. J.Ledvinková vedoucí laboratoře imunologie Praha
234 118 567

Upozornění a komentáře k výsledkům mající vliv na posuzování výsledku jsou uvedeny v textové části každého výsledkového listu.

21. Způsob řešení stížnosti

Za připomínku je považováno ústní sdělení, které se nezakládá na posouzení zásadní změny kvality poskytovaných služeb, např. připomínky k svozu biologického materiálu, a podobně. Připomínku přijímá, okamžitě řeší a následně informuje svého nadřízeného kterýkoli pracovník laboratoře. Při poskytování informací dodržuje pracovník zásady mlčenlivosti a důvěrnosti informací (přesvědčí se, komu sděluje informace). Tento typ stížnosti/připomínky se nezaznamenává.

Za stížnost je považováno písemné sdělení, které se týká zásadní změny kvality poskytovaných služeb. Stížnost řeší vedoucí OLI CIM, nebo jím pověřená osoba. Veškeré stížnosti podléhají evidenci.

21.1. Okruhy stížností

Zákazníci mohou podávat stížnosti na:

- průběh provádění laboratorního vyšetření
- výsledky laboratorních vyšetření
- ostatní služby jako je provoz svozové služby, vydávání zdravotních potřeb z laboratoře a pod.

21.2. Způsob podání stížností:

- písemně
- faxem/e-mailem

21.3. Příjem a evidence stížnosti

Stížnost, která prošla podatelnou ZÚ a není přímo adresována vedoucímu OLI CIM, přijímá sekretářka CIM. Vždy předává stížnost vedoucímu OLI CIM. Ten určuje osobu odpovědnou za řešení a evidenci stížností.

21.4. Vyřízení stížnosti

Je-li možné stížnost vyřídit ihned, učiní se tak písemně. Do Knihy stížností se zaznamená postup řešení včetně data obdržení stížnosti, kdo si stěžoval, komu je (byla) stížnost adresována, předmět stížnosti, způsob řešení stížnosti, navržená opatření, kdo je (byl) pověřen realizací těchto opatření. Zápis provede osoba pověřená k řešení. Originál písemné stížnosti se přiloží. Konečné řešení schvaluje vedoucí OLI CIM.

Není-li možné stížnost vyřešit okamžitě, informuje pověřený pracovník stěžovatele o předpokládaném termínu vyřízení stížnosti do 30-ti dní. Kopie tohoto sdělení se přiloží ke Knize stížností. V okamžiku, kdy je možné stížnost vyřešit, zaeviduje se navržené opatření, datum a způsob vyřízení. Konečné řešení schvaluje vedoucí OLI CIM.

21.5. Termíny řešení stížností:

Interval pro řešení či oznámení návrhu řešení stěžovateli je 30 dní od data obdržení stížnosti.

22. Vydávání potřeb laboratoře

Ambulantním pracovištěm vydává CIM na základě jejich písemného či ústního požadavku:

- odběrový materiál typu Vacutainer (jehla a stříkačka sloužící jako zkumavka) pro imunologická a hematologická vyšetření pro stálé zákazníky OLI CIM.
- vlastní požadavkové listy (žádanky)

OLI CIM používá pro odběry krve jednotný odběrový systém typu Vacutainer. Na základě požadavku jsou odběrový materiál a žádanky odeslány v rámci svozu biologického materiálu v nejbližším možném termínu.

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 62 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

23. Referenční rozmezí a doba odezvy

Doba odezvy imunologických výsledků je definovaná u jednotlivých vyšetření. Obecně platí, že výsledky základního vyšetření buněčné imunity jsou dostupné do cca 7 dnů, výsledky rozšířeného vyšetření buněčné imunity imunologických vyšetření, specifického IgE a bakteriologických vyšetření do 14 dnů. V případě doplnění doindikace vyšetření na základě získaných výsledků (např. konfirmace pozitivních nálezů a podobně) se doba odezvy prodlužuje o 7-14 dní. Výsledky metod se statistickým charakterem jako je GBM, ANCA, vysoké CRP, pozitivní výsledky průkazu infekčních agens metodou molekulární biologie, nález MRSA a ESBL v mikrobiologickém nálezu jsou k dispozici do 24 h, jsou nahlášeny předběžně a písemný výsledek je vydán do 7-14 dnů.

23.1. Pracoviště Ústí nad Labem

23.1.1. Buněčná imunita

Základní CD znaky lymfocytů

Zkratka	Název (charakteristika)	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Normální hodnoty
T a B lymfocyty						
Ly_CD3	CD3 - celkové T lymfocyty, pan-T (%)	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	7 dnů	60-80 %
Abs_CD3	CD3 - celkové T lymfocyty, pan-T (abs.)	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	7 dnů	1300-2000 bb/ l
Ly_CD4	CD4 - pomahačské a indukované T ly, (Th) %	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	7 dnů	30-50 %
Abs_CD4	CD4 - pomahačské a indukované T ly (abs.)	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	7 dnů	700-1100 bb/ l
Ly_CD5	CD5 - T lymfocyty (pan-T), B lymfocyty	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	65-79 %
Ly_CD7	CD7 - T lymfocyty	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	
Ly_CD8	CD8 - supresorové a cytotoxické T ly (Ts, Tc) %	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	7 dnů	22-40 %
Abs_CD8	CD8 - supresorové a cytotoxické T ly (Ts, Tc) abs.	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	7 dnů	500-1000 bb/ l
Ly_IRI	poměr Th:Ts/Tc (CD4:CD8)	výpočet			7 dnů	0,8 - 2,8
Ly_CD19	CD19 - B lymfocytární znak, pan-B (%)	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	7 dnů	3-18 %
Abs_CD19	CD19 - B lymfocytární znak, pan-B (abs.)	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	7 dnů	200-400 bb/ l
Ly_CD20	CD20 - B lymfocytární znak, pan-B (%)	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	14 dnů	3-18 %
Abs_CD20	CD20 - B lymfocytární znak, pan-B (abs.)	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	14 dnů	200-400 bb/ l
Buňky spontánní cytotoxicity NK						
Ly_NK NK - fenotyp	CD3-CD16+CD56+ (%)	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	7 dnů	6 - 19 %
Abs_NK NK - fenotyp	CD3-CD16+CD56+ (abs.)	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	7 dnů	250-400 bb/ l
Aktivované T lymfocyty						
Ly_3/DR	CD3+HLA-DR+	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	7 dnů	3-17 %
Ly_DRv3 HLA-DR+ v	CD3+	FACS	KH, KE, BAL	4x týdně	7 dnů	3-30

Subpopulace T lymfocytů

Zkratka	Název (charakteristika)	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Normální hodnoty pro KH
Subpopulace CD4 lymfocytů						
Ly_4/RA	CD4+CD45RA+ ("naive" T lymfo, induktoři suprese)	FACS	KH, KE, BAL	4x týdně	14 dnů	7-24 %
Ly_RAv4	CD45RA+ v CD4+	FACS	KH, KE, BAL	4x týdně	14 dnů	32-49 %

Ly_4/RO	CD4+CD45RO+ ("memory" T lymfo)	FACS	KH, KE, BAL	4x týdně	14 dnů	13-31 %
Ly_ROv4	CD45RO+ v CD4+	FACS	KH, KE, BAL	4x týdně	14 dnů	45-75%
Ly_462+	CD4+CD62L+ (indukce Ts)	FACS	KH, KE,	4x týdně	14 dnů	
Ly_62+4	CD62L+ v CD4+	FACS	KH, KE,	4x týdně	14 dnů	75-84%
Ly_462-	CD4+CD62L- (vztak k B buněčné odpovědi)	FACS	KH, KE,	4x týdně	14 dnů	
Ly_62-4	CD62L- v CD4+	FACS	KH, KE,	4x týdně	14 dnů	15-24%
Ly_O274	CD45RO+CD27+CD4+ (paměťový fenotyp)	FACS	KH, KE,	4x týdně	14 dnů	
Ly_O7/4	CD45RO+CD27+ v CD4+	FACS	KH, KE,	4x týdně	14 dnů	
Subpopulace CD8 lymfocytů						
Ly_8/DR	CD8+HLA-DR+ (aktivované CD8 lymfocyty)	FACS	KH, KE, BAL	4x týdně	14 dnů	1-7 %
Ly_DRv8	HLA-DR+ v CD8+	FACS	KH, KE, BAL	4x týdně	14 dnů	6-25 %
Ly_828+	CD8+CD28+ (prekursory cytotoxických T lymfocytů , Tc)	FACS	KH, KE, BAL	4x týdně	14 dnů	8-19 %
Ly_28+8	CD28+ v CD8+	FACS	KH, KE, BAL	4x týdně	14 dnů	33-66 %
Ly_828-	CD8+CD28- ("supresorické" T lymfocyty, Ts)	FACS	KH, KE, BAL	4x týdně	14 dnů	8-19 %
Ly_28-8	CD28- v CD8+	FACS	KH, KE, BAL	4x týdně	14 dnů	33-66 %
Ly_8/38	CD8+CD38+ (aktivované CD8 lymfocyty)	FACS	KH, KE	4x týdně	14 dnů	8-23 %
Ly_38v8	CD38+ v CD8+	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	14 dnů	32-66 %
Ly_57/8	CD8+CD57+ (subpopulace> CD8 lymfocytů)	FACS	KH, KE	4x týdně	14 dnů	
Ly_57v8	CD57+ v CD8+	FACS	KH, KE	4x týdně	14 dnů	10-27 %
Ly_RA27	CD45RA+CD27-CD8+	FACS	KH, KE	4x týdně	14 dnů	
Ly_R27/	CD45RA+CD27-vCD8+	FACS	KH, KE	4x týdně	14 dnů	
Ly_RA28	CD45RA+CD28-CD8+	FACS	KH, KE	4x týdně	14 dnů	
Ly_R28/	CD45RA+CD28-vCD8+	FACS	KH, KE	4x týdně	14 dnů	
Ly_RA27	CD45RA-CD27+CD8+	FACS	KH, KE	4x týdně	14 dnů	
Ly_R27/	CD45RACD27+vCD8+	FACS	KH, KE	4x týdně	14 dnů	
Ly_RA28	CD45RA-CD28+CD8+	FACS	KH, KE	4x týdně	14 dnů	
Ly_R28/	CD45RA-CD28+vCD8+	FACS	KH, KE	4x týdně	14 dnů	
Některé diferenciační a aktivační CD znaky lymfocytů						
Ly_3/25	CD3+CD25+ (aktivované T lymfocyty)	FACS	KH, KE, KD			<5 %
Ly_25v3	CD25+ v CD3+ 8					
Ly_71	CD71 – receptor pro transferin (TrfR)	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	< 3 %
Ly_3/69	CD3+CD69+ (aktivované T lymfocyty)	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	< 5 %
Ly_69v3	CD69+ v CD3+					

Subpopulace B lymfocytů

Zkratka	Název (charakteristika)	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Normální hodnoty
Ly_20/5	CD20+CD5+ (subpopulace B lymfocytů)	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	< než 10%
Ly_5v20	CD5+ v CD20+	FACS	KH, KE, KD		14 dnů	18–64 %
Ly_21	CD 21 – prekursorové a zralé B lymfocyty, receptor C3d (CR2), EBV receptor	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	
Ly_22	CD22 – prekursorové a zralé B lymfocyty (koexprese s CD20)	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	3–19 %
Ly_1019	CD10+CD19+ (pre-B lymfocyty)	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	<2 %
Ly_1019	CD10+ v CD19+	FACS	KH, KE, KD		14 dnů	<5 %
Ly_1923	CD19+CD23+ (aktivované B lymfocyty)	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	1–13 %

Ly_2319	CD23+ v CD19+	FACS	KH, KE,KD		14 dnů	53–73 % >1 rok
Ly_24	CD24 – B lymfocyty, granulocyty	FACS	KH, KE,KD	4x týdně	14 dnů	
Ly_79a	CD79a – prekursorové a zralé B lymfocyty	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	
Ly_79b	CD79b – prekursorové a zralé B lymfocyty	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	
Ly_138	CD138 – plasmatické buňky, epitelální buňky	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	
Ly_19FM	CD19+FMC7+ (zralé B lymfocyty)	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	
Ly_FM19	FMC7+ v CD19+	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	
Zastoupení membránových imunoglobulinů						
Ly_mIgM	B lymfocyty s povrchovým IgM	FACS	KH, KE,KD	4x týdně	14 dnů	
Ly_mIgD	B lymfocyty s povrchovým IgD	FACS	KH, KE,KD	4x týdně	14 dnů	
Ly_mIgG	B lymfocyty s povrchovým IgG	FACS	KH, KE,KD	4x týdně	14 dnů	
Zastoupení lehkých řetězců (LŘ) membránových imunoglobulinů:						
Ly_Kapp	Lymfocyty s povrchovým Ig s LŘ kappa	FACS	KH, KE,KD	4x týdně	14 dnů	47–76 % B lymfo
Ly_Lamb	Lymfocyty s povrchovým Ig s LŘ lambda	FACS	KH, KE,KD	4x týdně	14 dnů	25–58 % B lymfo
	poměr lymfocytů: LŘ kappa / LŘ lambda	výpočet			14 dnů	0,7–2,4
Ly_K/19	Kappa+CD19+ (B lymfo s povrchovým Ig s LŘ kappa)	FACS	KH, KE,KD	4x týdně	14 dnů	2,6–7,3 %
Ly_Kv19	Kappa+ v CD19+	FACS	KH, KE,KD	4x týdně	14 dnů	47–76 %
Ly_L19	Lambda+CD19+ (B lymfo s povrchovým Ig s LŘ lambda)	FACS	KH, KE,KD	4x týdně	14 dnů	1,3–4,6 %
Ly_Lv19	Lambda+ v CD19+	FACS	KH, KE,KD	4x týdně	14 dnů	25–58 %

Další membránové znaky, absolutní počty a funkční testy lymfocytů

Zkratka	Název (charakteristika)	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Normální hodnoty
Adhezni molekuly						
Ly_CD2	CD2 – pan-T, receptor pro beraní erytrocyty	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	68–87 % lymfocytů
Lkc_11a	CD11a – LFA řetězec–1	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	100 % leukocytů
Ly_11b	CD11b – C3bi receptor (CR3)	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	25–35 % lymfocytů
Ly_11c	CD11c – C3bi receptor (CR4)	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	
Lkc_18	CD18 – beta řetězec LFA–1	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	100 % leukocytů
Znaky kmenových a prekursorových buněk						
Ly_CD1a	CD1a – tymocyty, subpopulace B lymfocytů, dendritické buňky, Langerhansovy buňky	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	
Lkc_34	CD34 – hematopoetické prekursorové buňky	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	
Lkc_117	CD117 – časně hematopoetické buňky	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	
Lkc_cTdT	Terminální deoxynucleotidyl transferáza –	FACS	KH, KE,	4x týdně	14 dnů	

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 65 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

	nezralé lymfoidní subp. myeloidních buněk		KD			
Funkční testy lymfocytů						
B_22RN	Stimulace CD2/CD2R suboptimální koncentrace (2,5ul/ml)					
B_69+4	% CD69+ v CD4+	FACS	KH	po domluvě	14 dnů	20–45%
B_69+8	% CD69+ v CD8+	FACS	KH	po domluvě	14 dnů	12–45%
B_22RV	Stimulace CD2/CD2R optimální koncentrace (10ul/ml)					
B_69+4	% CD69+ v CD4+	FACS	KH	po domluvě	14 dnů	20–60%
B_69+8	% CD69+ v CD8+	FACS	KH	po domluvě	14 dnů	20–65%
B_PHAN	Stimulace PHA suboptimální koncentrace (2,5ul/ml)					
B_69+4	% CD69+ v CD4+	FACS	KH	po domluvě	14 dnů	15–40%
B_69+8	% CD69+ v CD8+	FACS	KH	po domluvě	14 dnů	25–40%
B_PHAV	Stimulace PHA optimální koncentrace (10ul/ml)					
B_69+4	% CD69+ v CD4+	FACS	KH	po domluvě	14 dnů	30–70%
B_69+8	% CD69+ v CD8+	FACS	KH	po domluvě	14 dnů	30–70%
Quantiferon	Stanovení INF γ po stimulaci T lymfocytů antigeny Mycobacterium tuberculosis	funkční test	spec. odběr	1x týdně	14 dnů	

Myeloidní CD znaky

Zkratka	Název (charakteristika)	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Normální hodnoty pro KH
Lkc_13	CD13 – pan–myeloidní znak	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	14 dnů	85 % monocytů
Lkc_14	CD14 – monocyty, makrofágy	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	14 dnů	85 % monocytů
Lkc_15	CD15 – granulocyty, monocyty	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	14 dnů	95 % granulocytů, 80–100 % monocytů
Lkc_16	CD16 – NK buňky, granulocyty, makrofágy	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	14 dnů	
Lkc_33	CD33 – pan–myeloidní znak	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	14 dnů	
Lkc_64	CD64 – monocyty, makrofágy	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	14 dnů	
Lkc_65	CD65 – neutrofilny	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	14 dnů	
Lkc_cMPO	Myeloperoxidáza	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	
	CD45 – T–200, pan–leuko	FACS	KH, KE, KD, BAL	4x týdně	14 dnů	100 % leukocytů
Lkc_lakt	Laktoferin	FACS	KH, KE, KD,	4x týdně	14 dnů	

CD znaky erytrocytů a trombocytů, protilátky proti trombocytům

Zkratka	Název (charakteristika)	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Normální hodnoty
Erytrocytární a trombocytární CD znaky						
Lkc_GlyA	GlyA - nezralé buňky červené řady	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	
Lkc_36	CD36 - ranná populace erytrocytů, monocyty, makrofágy, K destičky, megakaryocyty	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	
Lkc_41	CD4 -K destičky, megakaryocyty	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	
Lkc_42b	CD42b -K destičky, megakaryocyty	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 66 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Lkc_61	CD61 -K destičky, megakaryocyty	FACS	KH, KE, KD	4x týdně	14 dnů	
Protilátky proti trombocytům						
Lkc_ATRK	protilátky navázané na trombocyty, izotypová kontrola	FACS	KH	po domluvě	14 dnů	% trombocytů s navázanou izotypovou kontrolou F(ab') ₂ fragmenty
Lkc_ATRG	protilátky navázané na trombocyty ve tř. IgG	FACS	KH	po domluvě	14 dnů	% trombocytů s navázanými F(ab') ₂ fragmenty IgG
Lkc_ATRM	protilátky navázané na trombocyty ve tř. IgM	FACS	KH	po domluvě	14 dnů	% trombocytů s navázanými F(ab') ₂ fragmenty IgM

Fagocytóza

Zkratka	Název (charakteristika)	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Normální hodnoty
Fagocytóza						
Faec	Ingesce E.coli	FACS	KH	4x týdně	7 dnů	8390 -100% PMN
Fag_CLsp	Chemiluminiscence spontánní		KH	4x týdně	7 dnů	Počet CPM na jednu fagocytující buňku, 0-20
Fag_CLst	Chemiluminiscence po stimulaci zymozanem		KH	4 týdně	7 dnů	Počet CPM na jednu fagocytující buňku, 20-160
Fag_CU	Index (poměr hodnot stimulovaná/kontrolní)					3-20
Fag_CIEC	Baktericidie plné krve G-kmene (E.coli)		KH	po domluvě	14 dnů	% přežívajících inokulovaných bakt. zárodků <40%
Fag_CIST	Baktericidie plné krve G+ kmene (St. aureus)		KH	po domluvě	14 dnů	% přežívajících inokulovaných bakt. zárodků <40%
Fag_CIIK	Baktericidie plné krve individuální kmen		KH	po domluvě	14 dnů	% přežívajících inokulovaných bakt. zárodků <40%
Fag_CiSA	Kandidacie plné krve		KH	po domluvě	14 dnů	% usmrcených kvasinek na 105 buněk: 4,1-9,0

Zkratka	Název (charakteristika)	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Normální hodnoty
	Regulační T lymfocyty (CD25++CD127- v CD4+)	FACS	KH, KE	4x týdně	7 dnů	
	Regulační T lymfocyty (CD25++CD127- v CD4+)	FACS	KH, KE	4x týdně	7 dnů	
	Funkční aktivita NK buněk, stimulace PWM	FACS	KH	2x týdně	7 dnů	
	Funkční aktivita NK buněk, stimulace spermiemi	FACS	KH	2x týdně	7 dnů	
	Produkce TNFa subpopulacemi T lymfocytů	FACS	KH	2x týdně	7 dnů	TNFa+ v CD3+ 35-65% TNFa+ v CD4+ 40-70% TNFa+ v CD8+ 30-65%
	Produkce IFNg subpopulacemi T lymfocytů	FACS	KH	2x týdně	7 dnů	
	MAR test	Přímá aglutinace	ejakulát	2x týdně	7 dnů	negativní
	Počet spermií	FACS	ejakulát	2x týdně	7 dnů	>15*10 ⁶ /ml
	Vitalita spermií	FACS	ejakulát	2x týdně	7 dnů	>75%
	Počet leukocytů v ejakulátu	FACS	ejakulát	2x týdně	7 dnů	<1*10 ⁶ /ml
	Integrita akrozómu	FACS	ejakulát	2x týdně	7 dnů	>70%
	Přítomnost akrozómu	FACS	ejakulát	2x týdně	7 dnů	>85%

23.1.2. Humorální imunita

Protilátková imunita

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Imunoglobulin G	S_IgG	TUR	S	denně	3 dnů	7,0–16,0 g/l
Podtřídy IgG: IgG1	S_IgG1	NEF	S	dle potřeby	7 dnů	4,9–11,4 g/l
IgG2	S_IgG2	NEF	S	dle potřeby	7 dnů	1,5–6,4 g/l
IgG3	S_IgG3	NEF	S	dle potřeby	7 dnů	0,2–1,1 g/l
IgG4	S_IgG4	NEF	S	dle potřeby	7 dnů	0,08–1,4 g/l
Imunoglobulin A	S_IgA	TUR	S	denně	3 dnů	0,7–4,0 g/l
Imunoglobulin A - nízké hodnoty	S_IgAp	NEF	S	dle potřeby	3 dnů	provádí se při hodnotě IgA cca < 0,25g/l
Podtřídy IgA: IgA1	S_IgA1	NEF	S	dle potřeby	7 dnů	cca 85% z celkového IgA
IgA2	S_IgA2	NEF	S	dle potřeby	7 dnů	cca 15% z celkového IgA
Imunoglobulin M	S_IgM	TUR	S	denně	3 dnů	0,3–2,4 g/l
Imunoglobulin M - nízké hodnoty	S_IgMp	NEF	S	dle potřeby	3 dnů	provádí se při hodnotě IgM cca < 0,2g/l
Imunoglobulin D	S_IgD	NEF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	do 100 UI/l
Imunoglobulin E	S_IgE	FEIA	S	1x týdně	3 dnů	do 150 kU/l

Věkové normy imunoglobulinů

Věk	IgG [g/l]	IgA [g/l]	IgM [g/l]	Věk	IgE [kU/l]
Novorozenci	7,0 – 16,0	0,01 – 0,3	0,00 – 0,05	Novorozenci	0 - 1
1 – 3 měsíce	2,5 – 7,5	0,10 – 0,7	0,05 – 0,50	1 den - 1 měsíc	0 - 6
4 – 6 měsíců	1,8 – 8,0	0,20 – 1,0	0,08 – 0,80	1 - 12 měsíců	0 - 12
7 – 12 měsíců	3,0 – 10,0	0,30 – 1,0	0,30 – 1,40	1 - 2 roky	0 - 24
1 – 2 roky	3,5 – 10,0	0,40 – 1,4	0,30 – 1,20	3 - 4 roky	0 - 50
3 – 5 roků	5,0 – 13,0	0,40 – 1,8	0,40 – 1,80	4 - 5 roků	0 - 70
6 – 9 roků	6,0 – 13,0	0,40 – 1,6	0,60 – 2,20	6 - 7 roků	0 - 120
10 – 13 roků	7,0 – 14,0	0,40 – 1,5	0,70 – 2,30	od 7 let	0 - 150
Dospělí	7,0 – 16,0	0,70 – 4,0	0,30 – 2,40	Dospělí	0 - 150

Proteiny akutní fáze zánětu

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Normální hodnoty
C reaktivní protein	S_CRP	TUR	S	denně	3 dnů (statim do 24h)	0-5,0 mg/l
Prealbumin	S_PREA	TUR	S	denně	3 dnů	0,20-0,40 g/l
Albumin	S_ALB	TUR	S	denně	3 dnů	35,0-52,0 g/l
Orosomukoid	S_OROS	TUR	S	2x týdně	3 dnů	0,40-1,20 g/l
Alfa-1-antitrypsin	S_A1AT	TUR	S	2x týdně	3 dnů	0,78 -2,2 g/l
Ceruloplasmin	S_CPL	TUR	S	2x týdně	3 dnů	0,20-0,60 g/l
Alfa-2-makroglobulin	S_A2M	NEF	S	2x týdně	3 dnů	muži 1,10-2,50 g/l ženy 1,30-3,00 g/l
Hemopexin	S_HPX	NEF	S	2x týdně	3 dnů	0,50-1,15 g/l
Transferin	S_TRF	TUR	S,M	denně	3 dnů	2,00-3,80 g/l
Haptoglobulin	S_HP	TUR	S,M	dle potřeby	3 dnů	novorozenci: 0- 0,05 g/l dospělí: 0,30-2,00 g/l vyšší hladiny u mužů

Věkové normy A1AT

Věk	0 - 1 rok	1 - 3 roky	3 - 5 roků	5 - 6 let	od 6 let - dospělí
A1AT g/l	0,74 – 1,80	0,9 – 1,80	0,85 - 2,0	0,85 – 2,13	0,78 – 2,20

Cirkulující imunokomplexy

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Normální hodnoty
CIK C1q	CIK C1q	ELISA	S	1x týdně	do 2 týdnů.	0-50,0 mg/l
CIK PEG	CIK PEG	TUR	S	2x týdně	do 2 týdnů .	0-60 abs.j.

23.1.3. Komplement

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Normální hodnoty
C 3 složka komplementu	S C3	TUR	S	denně	3 dnů	0,75-1,40 g/l
C 4 složka komplementu	S C4	TUR	S	denně	3 dnů	0,10-0,34 g/l
C 1q složka komplementu	S_C1q	NEF	S	dle potřeby	3 dnů	50-250 mg/l
Aktivita komplementu klas. cestou	S_CH50	Fotometrický liposomový imunotest	S	dle potřeby	do 2 týdnů	23-70 j.
C 1 inhibitor	S_C1IN	NEF	S	dle potřeby	3 dnů	0,15-0,35 g/l
C 1 inhibitor funkční test	S_C1IF	ELISA	S	dle potřeby	do 3 měsíců	68-100 %

23.1.4. Antiinfekční imunita

Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do
ELISA, aglutinace, precipitace, fluorescence, imunoblot	S, CSF	dle potřeby	do 2 týdnů

Zoonózy, pertusse, parapertusse

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Tularémie 1) Pomalá aglutinace (mikrometoda)	SAULA	A	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Titry při akutním onemocnění: 80 -160 v 1.-3. týdnu infekce pozornost věnovat již titru 1:20
2) Sklíčková aglutinace	S_TULs	A	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Semikvantitativní hodnocení intenzity reakce: -, +, ++, +++
Brucelóza 1 [Pomalá aglutinace (mikrometoda)]	S_BRUC	A	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Akutní infekce - 1:160 a vyšší během 3.-6. týdne infekce. Pozitivní titry přetrvávají léta. Chronická infekce - signifikantní titr 1:160 a vyšší. Pozornost věnovat i titrům od 1:20
2) Sklíčková aglutinace	S_BRUs	A	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Semikvantitativní hodnocení intenzity reakce: -, +, ++, +++
<i>Listeria monocytogenes</i> Ag 0	S_LISI	A	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Hraniční titr - 1:160 Průkazný titr - 1:320 a vyšší
<i>Bordetella pertusis</i> (pertusový toxin) IgA	BPTA	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Negativní ... < 10,0 IU/ml Hraniční ... 10,0 – 12,0 IU/ml Pozitivní ... > 12,0 IU/ml
<i>Bordetella pertusis</i> (pertusový toxin) IgG	BPTG	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Níže uvedená tabulka
<i>Bordetella parapertussis</i> IgA	BPPEA	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index <0,9 - negativní 0,9-1,1 - hraniční >1,1 - pozitivní
<i>Bordetella parapertussis</i> IgG	BPPEG	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index <0,9 - negativní 0,9-1,1 - hraniční >1,1 - pozitivní
<i>Bordetella pertusis</i> IgA	BPAb	blotting	S	2 x týdně	do 2 týdnů	Kvantitativní hodnocení
<i>Bordetella pertusis</i> IgG	BPGb	blotting	S	2 x týdně	do 2 týdnů	Kvantitativní hodnocení

Pertusový toxin

FDA – U/ml	Protilátky IgG	Interpretace
------------	----------------	--------------

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 69 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

< 5,0	Séronegativní	neprokázána postvakcinační sérokonverze protilátek
< 36	Negativní	Nezvýšený titr Ab proti toxinu <i>B. pertussis</i> – Není podezření na infekci – Při existenci symptomů opakovat odběr nebo stav vyjasnit dif. dg.
36 – 44	Hraniční	Zvýšený titr Ab proti toxinu <i>B. pertussis</i> – Perzistující Ab po proběhlé infekci – Ab začínající im. odpovědi nebo vzniklé po vakcinaci
> 44	Pozitivní	Významně vyšší titr Ab proti toxinu <i>B. pertussis</i> – Průkaz čerstvé nebo nedávné infekce – Ab vzniklé v důsledku očkování (nutno sledovat očkovací management)

Sérologie Lues

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Reaginová reakce -VDRL (nespecifická)	S_VDRL	precip.	S, L	2x týdně	do 1-2 týdnů	jakákoli pozitivita se ověřuje specifickými testy (FTA, TPHA)
<i>Treponema pallidum</i> screen	TPScreen	CLIA	S	2x týdně	do 1-2 týdnů	<1,0 - negativní
<i>Treponema pallidum</i> - FTA	S_FTA	IF	S, L	1x týdně	do 1-2 týdnů	Titř ≥ 1:5 je pozitivní
<i>Treponema pallidum</i> - ELISA IgG	S_TPGe	ELISA	S, L, SP	dle potřeby	do 1-2 týdnů	index <0,9 - negativní 0,9-1,1 - hraniční >1,1 - pozitivní
<i>Treponema pallidum</i> - ELISA IgM	S_TPMe	ELISA	S, L, SP	dle potřeby	do 1-2 týdnů	index <0,9 - negativní 0,9-1,1 - hraniční >1,1 - pozitivní
<i>Treponema pallidum</i> - imunobloting	S_TPb	blotting	S, L, SP	dle potřeby	do 1-2 týdnů	kvalitativní hodnocení

Helicobacter pylori

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
<i>Helicobacter pylori</i> IgG	S_HELG	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 20 RU/ml - negativní 20-50 RU/ml - hraniční > 50 RU/ml- pozitivní
<i>Helicobacter pylori</i> IgA	S_HELA	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index <0,9 - negativní 0,9-1,1 - hraniční >1,1 - pozitivní
<i>H. pylori</i> imunobloting IgG	S_HPG B	blotting	S, L	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení
<i>H. pylori</i> imunobloting IgA	S_HPA G	blotting	S, L	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení
<i>H. pylori</i> - přímý průkaz	F_HpSA	ELISA	stolice	dle potřeby	do 2 týdnů	Děti: pozitivní >0,19 O.D. Dospělí: pozitivní >0,14 O.D.

Yersinie

Anti- <i>Y. enterocolitica</i> IgG		Anti- <i>Y. enterocolitica</i> IgA	
[RU / ml]		[index positivity]	
Negativní	< 16	Negativní	< 0,8
Hraniční	16 – 20	Hraniční	0,8 – 1,1
Pozitivní	> 20	Pozitivní	> 1,1

Chlamydie

Index positivity	Hodnocení
Negativní	< 0,9
Hraniční	0,9 – 1,0
Pozitivní	> 1,0

Mycoplasma

Hodnocení	[BU/ml]
Negativní	< 10
Hraniční	10 – 20
Pozitivní	> 20

Hladiny protilátek po vakcinaci

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Tetanus	S_TETg	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Viz tabulka v textu
Diftérie	S_DIF	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Nedostatečná výše protilátek: <0,01 IE/ml Relativní protektivní titr: 0,01 - 0,9 IE/ml Bezpečná hladina protilátek: >1,0 IE/ml
<i>Haemophilus influenzae</i> IgG	S_HAEG	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Nedostatečná výše protilátek: <0,15 mg/ml Relativní protektivní titr: 0,15 - 1,0 mg/ml Bezpečná hladina protilátek: >1,0 mg/ml
Pneumokokový polysacharid IgG	S_PNEG	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Nedostatečná výše protilátek: <6,0 mg/l Bezpečná hladina protilátek: >6,0 mg/l
Příušnice IgG	S_PAGE	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index <0,9 - negativní 0,9-1,1 - hraniční >1,1 - pozitivní
Spalničky IgG	S_Morb-G	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	<13,5 AU/ml – negativní, 13,5-16,5 AU/ml – hraniční, >16,5 AU/ml - pozitivní

Tetanus

IU/ml	vakcinační ochrana	doporučená imunizace
<0,03	žádná	základní očkování
0,03-0,1	není jistě zaručena	přeočkování
0,1-0,5	přítomna	přeočkování
0,6-1,0	dostatečná	sérologická kontrola za 2 roky
1,1-5,0	dlouhodobá	sérologická kontrola za 5-10 let
>5	velmi dlouhodobá	sérologická kontrola za 10 let

Diftérie

IE/ml	ZÁKLADNÍ OČKOVÁNÍ	PŘEOČKOVÁNÍ
<0,1	ihned	-
0,1 - 1,0	-	ihned
1,0 - 1,4	-	po 5 letech
1,5 - 2,0	-	po 7 letech
>2,0	-	po 10 letech

Příušnice

Index pozitivity	Hodnocení
Negativní	< 0,9
Hraniční	0,9 – 1,1
Pozitivní	> 1,1

Klíšťová encefalitida

Titř [VIEU/ml]	Přeočkování 1 dávkou
< 126	ihned
126 - 200	za 1 rok
201 - 400	za 2 roky
401 - 600	za 3 roky
> 600	za 5 let

Borrelia sp.

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
<i>Borrelia</i> sp. + VisE IgG	S_BOAG	ELISA	S, L	dle potřeby	do 2 týdnů	< 18 RU/ml - negativní 18 – 22 RU/ml - hraniční > 22 RU/ml - pozitivní
<i>Borrelia</i> sp. IgM	S_BOAM	ELISA	S, L	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 0,9 - negativní index

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 71 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

						0,9 - 1,1 - hraniční index > 1,1 - pozitivní
<i>Borrelia sp.</i> imunobloting IgG	S_BB Mb	bloting	S, L	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení
<i>Borrelia sp.</i> imunobloting IgG	S_BB Gb	bloting	S, L	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení

Virové infekce

Ericsonova reakce, EBV-specifické protilátky, CMV, HHV6, Klíšťová encefalitida

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Infekční mononukleóza						
EBV-specifické protilátky						
Anti-VCA IgG	S_VCAG	CLIA	S	1x týdně	do 2 týdnů	0- 40 U/ml - negativní > 40 U/ml - pozitivní
Anti-VCA IgM	S_VCAM	CLIA	S	1x týdně	do 2 týdnů	0- 20 U/ml - negativní > 20 U/ml - pozitivní
Anti-EA IgG	S_EAG	CLIA	S	1x týdně	do 2 týdnů	0- 40 U/ml - negativní > 40 U/ml - pozitivní
Anti EBNA1 IgG	S_EBNG	CLIA	S	1x týdně	do 2 týdnů	0- 20 U/ml - negativní > 20 U/ml - pozitivní
EBV IgM	EBV-G-IB	bloting	S	1x týdně	do 2 týdnů	Kvantitativní hodnocení
EBV IgG	EBV-M-IB	bloting	S	1x týdně	do 2 týdnů	Kvantitativní hodnocení
<i>Herpesvirus 1+2</i> IgG	S_HSVG	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 0,9 - negativní index 0,9- 1,1 - hraniční index > 1,1 - pozitivní
<i>Herpesvirus 1+2</i> IgM	S_HSVM	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 0,9 - negativní index 0,9- 1,1 - hraniční index > 1,1 - pozitivní
<i>Herpesvirus 1/2</i> IgM	HSVBGS	bloting	S	2 x týdně	do 2 týdnů	Kvantitativní hodnocení
<i>Herpesvirus 1/2</i> IgG	HSVBMS	bloting	S	2x týdně	do 2 týdnů	Kvantitativní hodnocení
<i>Cytomegalovirus</i> IgG	S_CMVG	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	0-6,0 AU/ml - negativní i> 6,0 AU/ml - pozitivní
<i>Cytomegalovirus</i> IgM	S_CMVM	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 0,9 - negativní index 0,9-1,1 - hraniční index > 1,1 - pozitivní
CMV avidita	CMV avidit	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 60 nízká avidita > 60 vysoká avidita / dříve proběhlá infekce
CMV IgM	CMVMBS	bloting	S	1 x týdně	do 2 týdnů	Kvantitativní hodnocení
CMV IgG	CMVGBS	bloting	S	1 x týdně	do 2 týdnů	Kvantitativní hodnocení
HHV6 IgG	S_HHV 6	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 0,9 - negativní index 0,9-1,1 - hraniční index > 1,1 - pozitivní
Klíšťová encefalitida IgG	S_FSMG	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Přeočkování 1 dávkou vakuiny při hladině protilátek < 126 VIEU/ml - ihned 126 - 200 VIEU/ml - za 1 rok 201 - 400 VIEU/ml - za 2 roky 401 -600 VIEU/ml - za 3 roky > 601 VIEU/ml - za 5 let
Klíšťová encefalitida IgM	S_FSMM	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení pozitivní/negativní
Spalničky IgG	S_Meas-G	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	0 – 16,5 AU/ml – negativní > 16,5 AU/ml – pozitivní
Spalničky IgM	S_Meas-M	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 0,9 - negativní index 0,9-1,1 - hraniční index > 1,1 - pozitivní

Laboratorní příručka

Označení: IP-2-LP/ 9

Zarděnky IgG	S_RUGE	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	0 – 10,0 IU/ml – negativní > 10,0 AU/ml – pozitivní
Zarděky IgM	S_RUME	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	0 – 25,0 AU/ml – negativní > 25,0 AU/ml – pozitivní
Příušnice IgG	S_MumpG	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	0 – 11,0 AU/ml – negativní > 11,0 AU/ml – pozitivní
Příušnice IgM	S_MumpM	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 0,9 - negativní index 0,9-1,1 - hraniční index > 1,1 - pozitivní
Parvovirus B19 IgG	S_PVBG	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 0,9 - negativní index 0,9-1,1 - hraniční index > 1,1 - pozitivní
Parvovirus B19 IgM	S_PVBM	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 0,9 - negativní index 0,9-1,1 - hraniční index > 1,1 - pozitivní

Hepatitidy

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Hepatida A						
HAV IgM	HAVM	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 0,9 - negativní index 0,9- 1,2 - hraniční index > 1,2 - pozitivní
HAV IgG	HAVG	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 1,0 - negativní index > 1,0 - pozitivní
Hepatitida B						
HBsAg	HBS	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 1,0 - negativní index > 1,0 - pozitivní
HBsAg confirmace	HBSK	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	textový výsledek: negativní/ pozitivní
Anti HBs	AHBs	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Postvakační imunita se ověřuje stanovením anti-HBs. Za protektivní titer se považuje hladina >10 IU/l.
Anti HBc Total	ABcT	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	textový výsledek: negativní/ pozitivní
Anti HBc -IgM	ABcM	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 1,0 - negativní index > 1,0 - pozitivní
HBeAg	HBe	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 1,0 - negativní index > 1,0 - pozitivní
Anti HBe	AHBe	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	textový výsledek: negativní/ pozitivní
Hepatitida C						
Anti HCV IgG	HCVG	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 1,0 - negativní index > 1,0 - pozitivní
Hepatitida E						
Anti VHE IgM	HEVt	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 0,9 - negativní index 0,9-1,1 - hraniční index > 1,1 - pozitivní
Anti VHE IgG	HEVg	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 0,9 - negativní index 0,9-1,1 - hraniční index > 1,1 - pozitivní
HEV IgM	VHEMb	blotting	S	1 x týdně	do 2 týdnů	Kvantitativní hodnocení
HEV IgG	VHEGb	blotting	S	1 x týdně	do 2 týdnů	Kvantitativní hodnocení

Hepatitida B – celkové hodnocení

HBsAg	Anti HBs	Anti HBc	Anti HBc - IgM	HBeAg	Anti HBe	Hodnocení
0	0	0	NT	NT	NT	Nejedná se o VHB

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 73 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

+	0	+	+	+	0	Akutní hepatitida B
+	0	+	0	+/-	-/+	Chronická hepatitida B
0	+	+	NT	NT	NT	Stav po hepatitidě B
0	+	0	NT	NT	NT	Stav po vakcinaci proti VHB

Postvaccinační imunita se ověřuje stanovením anti-HBs. Za protektivní titer se považuje hladina >10 IU/l.

23.1.5. Diagnostika septických stavů

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
SAA	SAA	Nef.	S,L	dle potřeby	7 dnů (statim do 24h)	0 - 6,4 mg/l
IL-6	IL-6	CLIA	S, L	1x týdně	7 dnů (statim do 24h)	S do 11 pg/ml L do 3,5 pg/ml
TNF α	TNFA	CLIA	S, L	1x týdně	7 dnů (statim do 24h)	S do 8,5 pg/ml L do 4,0 pg/ml

23.1.6. Autoimunita - orgánově nespecifické autoprotilátky I.

Antinukleární protilátky (ANA), ENA

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Skupina antinukleárních protilátek						
Antinukleární protilátky	S ANA	IF	S	denně	do 2 týdnů	Titr 1:160 je pozitivní
Protilátky proti dvouvláknové DNA	S_dDNA	IF	S	2x týdně	do 2 týdnů	Titr 1:10 je pozitivní
Protilátky proti nukleozómům	S_AnuA	ELISA	S	1x týdně	do 2 týdnů	<20 U/ml - negativní >20 U/ml - pozitivní
ANA imunobloting	S_ANAb	bloting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení
Protilátka proti deoxyribonukleoproteinu	S_DNPG	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	<50 U/ml - negativní >50 U/ml - pozitivní
Skupina anti-ENA protilátek						
CTD screening	S_ENAS	FEIA	S	2x týdně	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
anti-RNP70	S_RNPe	FEIA	S	1x týdně	do 2 týdnů	<10 U/ml - negativní >10 U/ml - pozitivní
anti-Ro60(SS-A)	S_Ro60	FEIA	S	1x týdně	do 2 týdnů	<10 U/ml - negativní >10 U/ml - pozitivní
anti-La(SS-B)	S_La.e	FEIA	S	1x týdně	do 2 týdnů	<10 U/ml - negativní >10 U/ml - pozitivní
anti-SmD	S_Sm.e	FEIA	S	1x týdně	do 2 týdnů	<10 U/ml - negativní >10 U/ml - pozitivní
anti-Scl-70	S_Scle	FEIA	S	1x týdně	do 2 týdnů	<10 U/ml - negativní >10 U/ml - pozitivní
anti-Ro52	S_Ro52	FEIA	S	1x týdně	do 2 týdnů	<10 U/ml - negativní >10 U/ml - pozitivní
Další autoprotilátky se vztahem k autoimunitním chorobám						
anti-Jo-1	S_Jo1e	FEIA	S	1x týdně	do 2 týdnů	<10 U/ml - negativní >10 U/ml - pozitivní
ribosomální RNP (P protein)	S_PPRO	FEIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	<10 U/ml - negativní >10 U/ml - pozitivní
Systémová skleróza imunoblot	S_Scl-ID	bloting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení
AI zánětlivé myopatie imunoblot	S_MYOS	bloting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení

Průkaz revmatoidního faktoru

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Revmatoidní faktor	S_LFT	TUR	S,P	denně	do 2 týdnů	>20 IU/ml - pozitivní
Revmatoidní faktor IgG	S_RFG	ELISA	S, P	dle potřeby	do 2 týdnů	<20 U/ml - negativní >20 U/ml - pozitivní
Revmatoidní faktor	S_RFA	ELISA	S, P	dle potřeby	do 2 týdnů	<20 U/ml - negativní

Laboratorní příručka

Označení: IP-2-LP/ 9

IgA							>20 U/ml - pozitivní
Revmatoidní faktor	S_RFM	ELISA	S, P	dle potřeby	do 2 týdnů		<20 U/ml - negativní >20 U/ml - pozitivní
Anti CCP	S_CCP	CLIA	S	Denně	do 2 týdnů		<5 U/ml - negativní >5 U/ml - pozitivní
Anti-MCV	MCV	ELISA	S	denně	Do 2 týdnů		<20U/ml – negativní ≥20U/ml – pozitivní

Protilátky proti cytoplasmě neutrofilů

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
ANCA screen	S_ANCA	IF	S	2x týdně	do 2 týdnů (statim do 24h)	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
protilátky proti proteináze 3	S_ANCc	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů (statim do 24h)	<18 U/ml - negativní >18 U/ml - pozitivní
protilátky proti myeloperoxidáze	S_ANCp	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů (statim do 24h)	<18 U/ml - negativní >18 U/ml - pozitivní
protilátky proti katepsinu G	S_ANCg	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	<18 U/ml - negativní >18 U/ml - pozitivní
protilátky proti laktoferinu	S_ANCI	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	<18 U/ml -negativní >18 U/ml -pozitivní
protilátky proti elastáze	S_ANCe	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	<18 U/ml - negativní >18 U/ml - pozitivní
protilátky proti BPI	S_ANCb	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	<18 U/ml - negativní >18 U/ml - pozitivní
protilátky proti lysozymu	S_ANCy	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	<18 U/ml -negativní >18 U/ml - pozitivní

Antifosfolipidové protilátky

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Antikardiolipinové protilátky ve třídě IgG	S_ACLG	FEIA	S	1-2x týdně	do 2 týdnů	<10 U/ml -negativní 10-40 U/ml -slabě pozitivní >40 U/ml -pozitivní
Antikardiolipinové protilátky ve třídě IgM	S-ACLM	FEIA	S	1-2x týdně	do 2 týdnů	<10 U/ml -negativní 10-40 U/ml -slabě pozitivní >40 U/ml -pozitivní
Anti-beta-2-glykoprotein 1 IgG	S_GPIg	FEIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	<7 U/ml -negativní 7-10 U/ml -slabě pozitivní >10 U/ml -pozitivní
Anti-beta-2-glykoprotein 1 IgM	S_GPIm	FEIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	<7 U/ml -negativní 7-10 U/ml -slabě pozitivní >10 U/ml -pozitivní
Protilátky proti PS/PT IgG	S_PS/PT G	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	<30 U/ml -negativní >30 U/ml -pozitivní
Protilátky proti PS/PT IgM	S_PS/PT M	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	<30 U/ml - negativní >30 U/ml - pozitivní
Protilátky proti protrombinu IgG	S_PHSg	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	<10 U/ml -negativní >10 U/ml -pozitivní
Protilátky proti protrombinu IgM	S_PHSm	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	<10 U/ml - negativní >10 U/ml -pozitivní
Protilátky proti annexinu V IgG	S_PHIg	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	<10 U/ml - negativní >10 U/ml - pozitivní
Protilátky proti annexinu V IgM	S_PHIm	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	<10 U/ml -negativní >10 U/ml - pozitivní

Další orgánově nespecifické autoprotilátky

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Protilátky proti mitochondriám (AMA)	S_AMAi	IF	S	2x týdně	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
AMA blotting	S_AMAb	blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 75 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Protilátky proti příčně pruhovanému svalu	S_srd	IF	S	2x týdně	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti hladkému svalu (ASMA)	S_ASMA	IF	S	2x týdně	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti mikrozomům jater a ledvin - LKM (liver-kidney microsomes Ab)	S_LKM	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
LKM 1	S_LKM1	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	0 -5,0 U/ml - normální
Imunoblot jaterních antigenů	S_LKMB	blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení
Protilátky proti keratinu	S_AKA	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Autoprotilátky proti IgA	S_AlgA	ELIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	0- 8,0 IU/ml

23.1.7. Autoimunita - orgánově specifické autoprotilátky II.

Orgánově specifické autoprotilátky

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Anti tyreoglobulin (anti-TG)	S_Tg	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	0-40 - negativní > 40 - pozitivní [IU/ml]
Protilátky proti thyroideální peroxidáze (anti TPO)	S_TPO	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	0-35 - negativní >35 - pozitivní [IU/ml]
Protilátky proti bazální membráně epidermis (EBM)	S_EBM	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Anti-EBM BP180	S_BP180	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 10 – negativní ≥ 10 – pozitivní [titr]
Anti-EBM BP230	S_BP230	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 10 – negativní ≥ 10 – pozitivní [titr]
Protilátky proti intracelulární substanci (ICS)	S_ICS	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Ab proti desmogleinu 1	S_ICSDg1	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 10 – negativní ≥ 10 – pozitivní [titr]
Ab proti desmogleinu 3	S_ICSDg3	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 10 – negativní ≥ 10 – pozitivní [titr]
Protilátky proti Langerhansovým ostrůvkům (ICA)	S_ICA	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 10 – negativní ≥ 10 – pozitivní [titr]
Protilátky proti bazální membráně glomerulů (GBM)	S_GBM	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů (statim do 24h)	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti receptoru fosfolipázy A2	S_APL2R	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti thrombospondinu typ-1 domény obsahující protein 7A (THSD7A)	S_THSD7A	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti parietálním buňkám	S_PARB	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti protonové pumpě parietálních buněk	S_APCA	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 20 – negativní ≥ 20 – pozitivní [RU/ml]
Protilátky proti vnitřnímu faktoru	S_AIFA	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 20 – negativní ≥ 20 – pozitivní [RU/ml]
Protilátky proti tkáňové transglutamináze IgA	S_ATGA	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 20 – negativní ≥ 20 – pozitivní [CU]
Protilátky proti tkáňové transglutamináze IgG	S_ATGG	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 20 – negativní ≥ 20 – pozitivní [CU]
Protilátky proti endomyziu IgA	S_EMAA	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti endomyziu IgG	S_EMAG	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti	S_DGPIgA	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 20 – negativní

Laboratorní příručka

Označení: IP-2-LP/ 9

deamidovanému gliadinu IgA						≥ 20 – pozitivní [CU]
Protilátky proti deamidovanému gliadinu IgG	S_DGPIgG	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 20 – negativní ≥ 20 – pozitivní [CU]
Atypické ANCA - ANCA BPI - ANCA Elastase - ANCA Cathepsin G - ANCA Lactoferin - ANCA Lysozym	S_ANCb S_ANCe S_ANCg S_ANCI S_ANCy	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 18 – negativní ≥ 18 – pozitivní [U/ml]
AGC (protilátky proti pohárkovým buňkám střevní sliznice) IgG	S_AGCG	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
AGC (protilátky proti pohárkovým buňkám střevní sliznice) IgA	S_AGCA	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
ASCA (protilátky proti sacharomycétám) IgG	S_ASCG	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 500 – negativní ≥ 500 – pozitivní [titr]
ASCA (protilátky proti sacharomycétám) IgA	S_ASCA	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 100 – negativní ≥ 100 – pozitivní [titr]
PAB (protilátky proti exokrinnímu pankreatu) IgG	S_EXPG	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
PAB (protilátky proti exokrinnímu pankreatu) IgA	S_EXPA	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti rPAg1 a rPAg2 (antigeny exokrinního pankreatu, IgA	EXP1/2A	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti rPAg1 a rPAg2 (antigeny exokrinního pankreatu, IgG	EXP1/2G	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Ab proti neuronálním antigenům	S_HU S_RI S_YO GAD MYI, NE..	IF	S, CSF	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Ab proti neuronálním antigenům	NMDA AMPA1 PAR2 CASPR2 LGI1 GABA _B R	IF	S, CSF	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Ab proti neuronálním antigenům	NAWB	ID	S, CSF	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti gangliosidům	AGSG AGSM	ID	S, CSF	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti aquaporinu-4 (AQP4)	AQP4	IF	S, CSF	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti myelin oligodendrocytovému glykoproteinu (MOG)	aMOG	IF	S, CSF	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti myelin asociovanému glykoproteinu (MAG)	MAG-M-e	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 1000 – negativní [BTU] ≥ 1000 – pozitivní [BTU]
Protilátky proti AchR	ACHR	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti MuSK	MuSK	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti spermiím IF	S_SPGi	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti spermiím ELISA	S_SPe	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 20 – negativní ≥ 20 – pozitivní [RU/ml]
Protilátky proti zóna pellucida	S_ZPAi	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 77 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

IF						negativní/pozitivní
Protilátky proti zóna pellucida HA	S_ZPAh	HA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	< 4 – negativní ≥ 4 – pozitivní [titr]
Protilátky proti ovariu	S_OVAi	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti steroidogenním buňkám - nadledvina (zóna glomerulosa)	S_ZGlo	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti steroidogenním buňkám - nadledvina (zóna fasciculata)	S_ZFas	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti steroidogenním buňkám - testes	S_Test	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti steroidogenním buňkám - ovarium	S_Ovar	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti steroidogenním buňkám - placenta	S_Plac	IF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní

23.1.8. Thyreoidální diagnostika

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Anti tyreoglobulin (anti-TG)	S_ThyT	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	0-4,1 - negativní > 4,1 - pozitivní [IU/ml]
Protilátky proti thyreoidální peroxidáze (anti TPO)	S_ThyM	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	0-5,6 - negativní >5,6 - pozitivní [IU/ml]
Thyreoidální stimulační hormon (TSH)	S_TSH	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	0,35-4,94 mIU/l
Thyroxin – volný (fT4)	S_FT4	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	9,2-23,1pmol/l
Trijodtyronin- volný (fT3)	S_FT3	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	2,63-5,70 pmol/l
Protilátky proti TSH receptoru (TRAK)	S_TRAK	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	0-2 IU/ml

23.1.9. Onkomarkery

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Onkofetální antigeny						
Karcinoembryonální antigen (CEA)	S_CEA	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Normální hladiny v séru: 0-5,0 ug/l
CA 125	S_C125	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Normální hladiny v séru: 0 - 35,0 kIU/l
CA 15 - 3	S_C153	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Normální hladiny v séru: 0-31,3 kIU/l
CA 19 - 9	S_C199	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Normální hladiny v séru: 0-37,0 kIU/l
Alfa- 1 -fetoprotein	S_AFP	ILMA	S	1x týdně	do 2 týdnů	Normální hladina v séru: 0,74-7,28 IU/ml
HE4	S_HE4	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Normální hladina v séru: 0- 70,0 pmol/l
ROMA Index	S_Roma		S	dle potřeby	do 2 týdnů	Hodnoty ROMA indexu se liší u žen před a po menopauze. Žena v premenopauze: 0 - 7,4 % Žena v postmenopauze: 0 - 25,3 %
PSA	S_PSA	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Normální hladina v séru: 0- 4,0 ug/l
index fPSA/PSA	QFPSA/PSA	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	U mužů staších 50 let s výsledkem celkového PSA v rozmezí 4 -10 ug/l 0-14% podezření na CA prostaty 15- 20% šedá zóna, benigní i maligní stav ≥20% pravděpodobně benigní hyperplazieprostaty
Placentární a těhotenské						
β 2 mikroglobulin	S_B2MG	NEF	S	denně	do 2 týdnů	>2,5 mg/l

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 78 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

23.1.10. Vyšetření specifického IgE proti směsím a jednotlivým alergenům

Materiál	Provádí se	Výsledek do
S	dle potřeby	do 2 týdnů

Hodnocení: Kvantitativní, výsledek udáván v jednotkách [kU/l].

Třída pozitivit	Výsledek vyšetření /kU/l/	Hladina specifických protilátek IgE
6	více než 100	velmi vysoká
5	50 až 100	velmi vysoká
4	17,5 až 50	velmi vysoká
3	3,5 až 17,5	vysoká
2	0,7 až 3,5	střední
1	0,35 až 0,7	nízká
0	méně než 0,35	žádná/ nedetekovatelná/ velmi nízká

Komponentová diagnostika (ISAC / ALEX)

Hodnocení: Specifické IgE protilátky jsou na ISAC měřeny v arbitrálních jednotkách, ISU-E (ISAC Standardized Units pro IgE, na ALEX v kU/ml)

Výsledky vyjádřeny 4 semi-quantitativními třídami:

Třída pozitivit	Výsledek vyšetření	Hladina specifických protilátek IgE
0	< 0.3	nedetekovatelné nebo slabé
1	≥ 0.3 - < 1	slabé
2	≥ 1 - < 15	střední až vysoké
3	≥ 15	velmi vysoké

23.1.11. Paraproteiny, speciální vyšetření

Soubor vyšetření pro diagnostiku a prognostiku paraproteinémií

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Elektroforéza - screeningové vyšetření	S_ELFO U_ELFO	ELFO	S, M, L	1x týdně	do 2 týdnů	kvalitativní hodnocení imunologem
Imunofixace	S_IFEF U_IFIX	IMUFIX	S, M, L	1x týdně	do 2 týdnů	kvalitativní hodnocení imunologem
Kvantitativní stanovení paraproteinu	S_PP% S_PPKv	DENSITO- METRIE	S, M, L	1x týdně	do 2 týdnů	<10g/l nízká konc.paraproteinu 10-20g/l střední konc.paraproteinu >20g/l vysoká konc.paraproteinu
Stanovení lehkých řetězců kappa	S_KAPP	NEF	S, M	1x týdně	do 2 týdnů	hodnota slouží pro výpočet indexu LR
Stanovení lehkých řetězců lambda	S_LAMB	NEF	S, M	1x týdně	do 2 týdnů	hodnota slouží pro výpočet indexu LR
Index lehkých řetězců	K/L				do 2 týdnů	index K/L: 0,7-2,3
Stanovení volných lehkých řetězců kappa	S_KAPV	NEF	S	1x týdně	do 2 týdnů	3,3- 19,4 mg/l
Stanovení volných lehkých řetězců lambda	S_LAMV	NEF	S	1x týdně	do 2 týdnů	5,7- 26,3 mg/l
Index volných lehkých řetězců	QVKL		S		do 2 týdnů	index VLŘ: 0,26 – 1,65
Celková bílkovina (CB)	S_CB U_CB		S	1x týdně	do 2 týdnů	pomocná veličina pro výpočet kvantity paraproteinu

Vyšetření isoelektrickou fokusací

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Stanovení oligoklonálních frakcí imunoglobulinů v mozkomíšním moku (IgG)	S_OlgG	IEF	L	Provádění závisí na požadavcích	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení
Stanovení oligoklonálních frakcí	S_OlgK	IEF	L	Provádění závisí	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 79 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

imunoglobulinů v mozkomíšním moku (kappa)				na požadavcích		
---	--	--	--	----------------	--	--

Další parametry

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Ferritin	S_FERI	NEF	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Ženy: 4,63 - 204,00 µg/l Muži: 21,81 - 274,66 µg/l
Eosinofilní kationický protein (ECP)	S_ECP	FEIA-CAP zvláštní podmínky odběru! Viz s. 6	S	dle potřeby	do 2 týdnů	horní mez dle literatury: negativní <20 µg/l pozitivní >20 µg/l
Tryptáza	TRY	FEIA-CAP zvláštní podmínky odběru	S	dle potřeby	do 2 týdnů	horní mez dle literatury: 11.4 µg/l
Histamin	PHIST	ELISA	KE	dle potřeby	do 2 týdnů	<1ng/ml
Histamin degradační test	THDC	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	0-25% nízká až žádná schopnost degradace 25-40% omezená schopnost degradace >40% dostatečná degradace
HLA-B27	BHLAB27	FACS	KH, KE	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení pozitivní/ negativní hraniční - nutná konfirmace mikrolymfocytotoxickým testem
S TřR	S_TřR	NEF	S	dle potřeby	3 dnů	0,83-1,76 mg/l

Vyšetření ve slinách (SL)

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Imunoglobulin G	SaI_IgG	NEF	SL	dle potřeby	do 2 týdnů	0 - 0,05 g/l
Imunoglobulin A	SaI_IgA	NEF	SL	dle potřeby	do 2 týdnů	0,02 - 0,15 g/l
Imunoglobulin M	SaI_IgM	NEF	SL	dle potřeby	do 2 týdnů	0 g/l
Albumin	SaI_ALB	NEF	SL	dle potřeby	do 2 týdnů	0,05 - 0,1 g/l

23.1.12. Molekulární diagnostika infekčních onemocnění pomocí metody polymerázové řetězové reakce (PCR)

Provádí dle potřeby Oddělení lékařské mikrobiologie ZUUL, výsledek je ihned hlášen telefonicky, písemně vydán do 7 dnů.

Přímý průkaz *Mycobacterium tuberculosis complex* (MBT-PCR)

Hodnocení: Pozitivita Real-time PCR reakce vyšetřovaného vzorku je vyjádřena kvalitativně. Pozitivní /negativní.

Přímý průkaz *Bordetella pertussis/parapertussis* (pertusse -PCR)

Hodnocení: Pozitivita Real-time PCR reakce vyšetřovaného vzorku je vyjádřena jako pozitivita *Bordetella pertussis*

a/nebo *Bordetella parapertussis*.

Pozitivní pro *Bordetella pertussis*; pozitivní pro *Bordetella parapertussis*; pozitivní pro *Bordetella pertussis* a *Bordetella parapertussis*; negativní.

Přímý průkaz *Legionella pneumophila* (legionella-PCR)

Hodnocení: Pozitivita Real-time PCR reakce vyšetřovaného vzorku je vyjádřena kvalitativně. Pozitivní /negativní.

Přímý průkaz *Borrelia burgdorferi sensu lato* (borrelia-PCR)

Hodnocení: Pozitivita Real-time PCR reakce vyšetřovaného vzorku je vyjádřena kvalitativně. Pozitivní /negativní.

Přímý průkaz *Chlamydia trachomatis* (chlamydia-PCR)

Hodnocení: Pozitivita Real-time PCR reakce vyšetřovaného vzorku je vyjádřena kvalitativně. Pozitivní /negativní.

Přímý průkaz *Virus Herpes simplex I/II* (HSV-PCR)

Hodnocení: Pozitivita Real-time PCR reakce vyšetřovaného vzorku je vyjádřena kvalitativně. Pozitivní /negativní.

Přímý průkaz *Virus Epstein-Barrové* (EBV-PCR)

Hodnocení: Pozitivita Real-time PCR reakce vyšetřovaného vzorku je vyjádřena jako počet kopií DNA EBV/10⁶ buněk.

Pozitivní (kvantitativně) /negativní.

ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V ÚSTÍ NAD LABEM Centrum imunologie a mikrobiologie, Oddělení laboratorní imunologie	Strana 80 z 86
Laboratorní příručka	Označení: IP-2-LP/ 9

Přímý průkaz *Cytomegaloviru (CMV-PCR)*

Hodnocení: Pozitivita Real-time PCR reakce vyšetřovaného vzorku je vyjádřena jako počet kopií DNA CMV/ml vzorku.

Pozitivní (kvantitativně) /negativní.

Přímý průkaz *Lidského herpetického viru 6 (HHV6-PCR)*

Hodnocení: Pozitivita Real-time PCR reakce vyšetřovaného vzorku je vyjádřena jako počet kopií DNA HHV6/10⁶ buněk.

Pozitivní (kvantitativně) /negativní.

Přímý průkaz *Enteroviru (enterovirus-PCR)*

Hodnocení: Pozitivita Real-time PCR reakce vyšetřovaného vzorku je vyjádřena kvalitativně. Pozitivní /negativní.

Přímý průkaz *Chlamydia pneumoniae (Chlamydia-PCR)*

Hodnocení: Pozitivita Real-time PCR reakce vyšetřovaného vzorku je vyjádřena kvalitativně. Pozitivní /negativní.

Přímý průkaz paramyxovirů - RSV a hMPV (RSV/hMPV – PCR)

Hodnocení: Pozitivita Real-time PCR reakce vyšetřovaného vzorku je vyjádřena kvalitativně. Pozitivní /negativní.

Přímý průkaz *Mycoplasma pneumoniae (Mycoplasma-PCR)*

Hodnocení: Pozitivita Real-time PCR reakce vyšetřovaného vzorku je vyjádřena kvalitativně. Pozitivní /negativní.

23.1.13. Likvorologie

Cytologické vyšetření CSF

normální nález	≤ 10/3 elementů poměr lymfocyty : monocyty ≈ 7:3 ≤ 10% aktivovaných elementů	
patologický nález	(≤10/3 elementů)	(> 10/3 elementů)
typ	oligocytóza	pleiocytóza
lymfocytární	<ul style="list-style-type: none"> chronické záněty RS 	<ul style="list-style-type: none"> serosní neuroinfekce chronické neuroinfekce RS (< 100/3 elementů)
monocytární	<ul style="list-style-type: none"> nezánětlivá onemocnění terminální fáze zánětů kompresivní syndromy - výhřezy disku, tumorosní afekce CNS nebo expanse v páteřním kanálu 	<ul style="list-style-type: none"> kompresivní syndromy - výhřezy disku, tumorosní afekce CNS nebo expanse v páteřním kanálu systémové vaskulitidy postihující CNS mozkové ischemie syndrom Guillain-Barré terminální fáze neuroinfekcí s úklidovou reakcí
	<ul style="list-style-type: none"> makrofágy: dle fagocytovaného materiálu (erytrofágy, siderofágy, leukofágy, lymfocyty, lipofágy - pěníte buňky) 	
granulocytární neutrofilní	<ul style="list-style-type: none"> počínající zánět 	<ul style="list-style-type: none"> bakteriální neuroinfekce
granulocytární eosinofilní	<ul style="list-style-type: none"> některá autoimunitní onemocnění obecně chronická onemocnění 	<ul style="list-style-type: none"> parazitární onemocnění mykotická onemocnění alergická onemocnění autoimunitní onemocnění
tumorosní	<ul style="list-style-type: none"> různorodá doprovodná celulární skladba, většinou monocytárního typu 	<ul style="list-style-type: none"> různorodá doprovodná celulární skladba, většinou monocytárního typu

Průkaz intratekální syntézy protilátek

Věk	IgG [mg/l]	IgG [%]
	IgM [mg/l]	IgM [%]
	IgA [mg/l]	IgA [%]
0- 150 roků	0 – 1,0	0 – 10%

QALB

Věk	QALB / 10 ⁻³
0- 2 týdny	5,6-23,2

2- 4 týdny	7,6 -16,4
1 - 3 měsíců	2,3 – 10,6
1 - 3 měsíců	2,0 – 4,6
½ - 1 rok	1,4 – 4,5
1- 11 roků	1,0 – 4,5
11- 18 roků	1,0 – 5,0
18- 30 roků	1,7 – 5,7
30- 40 roků	1,8 – 6,2
40 - 50 roků	2,0 – 7,2
50- 60 roků	2,1 – 8,9
60 - 150 roků	2,2 – 8,9

Průkaz intratekální syntézy specifických protilátek

LSQrel	Hodnocení	Interpretace
< 1,50	Negativní	Intratekální syntéza specifických protilátek neprokázána
1,50 – 2,00	Hraniční	Intratekální syntéza specifických protilátek je velmi málo pravděpodobná
> 2,00	Pozitivní	Intratekální syntéza specifických protilátek je pravděpodobná

Díličí výsledky jsou v CSF provedeny se stejnou dobou odezvy jako v séru, v případě potřeby nahlášeny telefonicky. Celkové zhodnocení CSF je hotové do 2-3 týdnů.

23.1.14. Základní mikrobiologické vyšetření

Doba odezvy je do 14 dní (7-10 pracovních dní). Nález MRSA a ESBL se hlásí telefonicky.

23.1.15. Imunomodulační přípravky

Doba dodání vakcíny je 6-8 týdnů od odběru.

23.2. Pracoviště Praha

23.2.1. Humorální imunita

Protilátková imunita

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení (dospělí)
Imunoglobulin G	S_IgG	NEF	S	2x týdně	3 dnů	7,0–16,0 g/l
Imunoglobulin A	S_IgA	NEF	S	2x týdně	3 dnů	0,88-4,1 g/l
Imunoglobulin A - nízké hodnoty	S_IgAp	NEF	S	dle potřeby	3 dnů	provádí se při hodnotě IgA cca<0,25g/l
Imunoglobulin M	S_IgM	NEF	S	2x týdně	3 dnů	0,4-2,4 g/l
Imunoglobulin E	S_IgE	FEIA	S	1x týdně	týdne	do 150 kU/l

Věkové normy imunoglobulinů

Věk	IgG [g/l]	IgA [g/l]	IgM [g/l]	Věk	IgE [kU/l]
Novorozenci	7,0 – 16,0	0,01 – 0,3	0,00 – 0,05	Novorozenci	0 - 1
1 – 3 měsíce	2,5 – 7,5	0,10 – 0,7	0,05 – 0,50	1 den - 1 měsíc	0 - 6
4 – 6 měsíců	1,8 – 8,0	0,20 – 1,0	0,08 – 0,80	1 - 12 měsíců	0 - 12
7 – 12 měsíců	3,0 – 10,0	0,30 – 1,0	0,30 – 1,40	1 - 2 roky	0 - 24
1 – 2 roky	3,5 – 10,0	0,40 – 1,4	0,30 – 1,20	3 - 4 roky	0 - 50
3 – 5 roků	5,0 – 13,0	0,40 – 1,8	0,40 – 1,80	4 - 5 roků	0 - 70
6 – 9 roků	6,0 – 13,0	0,40 – 1,6	0,60 – 2,20	6 - 7 roků	0 - 120
10 – 13 roků	7,0 – 14,0	0,40 – 1,5	0,70 – 2,30	od 7 let	0 - 150
Dospělí	7,0 – 16,0	0,70 – 4,0	0,30 – 2,40	Dospělí	0 - 150

Proteiny akutní fáze zánětu

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Normální hodnoty
C reaktivní protein	S_CRP	NEF	S	denně	3 dnů (statim do 24h)	0-5,0 mg/l
Alfa-1-antitrypsin	S A1AT	NEF	S	2x týdně	3 dnů	0,92-3,24 g/l
Ceruloplasmin	S_CPL	NEF	S	2x týdně	3 dnů	0,20-0,60 g/l

23.2.2. Komplement

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Normální hodnoty
C 3 složka komplementu	S C3	NEF	S	2x týdně	3 dnů	0,75-1,4 g/l
C 4 složka komplementu	S C4	NEF	S	2x týdně	3 dnů	0,10- 0,34 g/l

23.2.3. Antiinfekční imunita

Hladiny protilátek po vakcinaci

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Tetanus	S_TETg	ELISA	S	1x týdně	do 2 týdnů	Viz tabulka v textu

Tetanus

IU/ml	vakcinační ochrana	doporučená imunizace
<0,1	žádná	přeočkování
0,1-0,5	krátkodobá	Přeočkování vede k dlouhodobé ochraně
0,51-1,0	dostatečná	sérologická kontrola za 3 roky
1,1-5,0	dlouhodobá	sérologická kontrola za 5 let
5,1-10,0	velmi dlouhodobá	sérologická kontrola za 8 let
>10,0	Dlouhodobá	sérologická kontrola za 10 let

Hepatitidy

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Hepatitida A						
Anti-HAV IgG	HAV IgG	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 1,0 - negativní index > 1,0 - pozitivní
Hepatitida B						
HBsAg	HBS	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 1,0 - negativní index > 1,0 - pozitivní
Anti HBs	AHBs	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Postvakcinační imunita se ověřuje stanovením anti-HBs. Za protektivní titr se považuje hladina >10 IU/l.
Hepatitida C						
Anti HCV IgG	HCVG	CLIA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index < 1,0 - negativní index > 1,0 - pozitivní

23.2.4. Autoimunita

Orgánově nespecifické autoprotilátky I.

Antinukleární protilátky (ANA), ENA

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Skupina antinukleárních protilátek						
Antinukleární protilátky	S ANA	IF	S	2x týdně	do 2 týdnů	Titř 1:160 je pozitivní
Protilátka proti dvouvláknové DNA	S_dDNA	IF	S	1x týdně	do 2 týdnů	titř 1:10 je pozitivní

Laboratorní příručka

Označení: IP-2-LP/ 9

Skupina anti-ENA protilátek						
ENA screening	S_ENAS	EliA	S	1-2x týdně	do 2 týdnů	index <0,7 negativní index 0,7-1,0 hraniční index >1,0 pozitivní
ANA imunobloting	S_ANAb	bloting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení

Průkaz revmatoidního faktoru

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Revmatoidní faktor	S_LFT	NEF	S,P	2x týdně	do 2 týdnů	>20 IU/ml – pozitivní
Revmatoidní faktor IgG	S_RFG	EliA	S, P	denně	do 2 týdnů	<28 U/ml – negativní 28-40 U/ml hraniční >40 U/ml - pozitivní
Revmatoidní faktor IgA	S_RFA	EliA	S, P	denně	do 2 týdnů	<14 U/ml – negativní 14-20 U/ml hraniční >20 U/ml - pozitivní
Revmatoidní faktor IgM	S_RFM	EliA	S, P	denně	do 2 týdnů	<3,5 U/ml – negativní 3,5-5 U/ml hraniční >5 U/ml - pozitivní
Anti CCP IgG	S_CCP	CMIA	S	1x týdně	do 2 týdnů	>5 U/ml – pozitivní <5 U/ml – negativní
Anti CCP IgA	CCP IgA	ELISA	S	1x týdně	do 2 týdnů	<18 U/ml – negativní 18-20 U/ml hraniční >20 U/ml - pozitivní
Anti-MCV	MCV	ELISA	S	denně	Do 2 týdnů	<20U/ml – negativní ≥20U/ml – pozitivní

Protilátky proti cytoplasmě neutrofilů

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
protilátky proti proteináze 3	S_ANCc	EliA, ELISA (ANCA combi)	S	denně	do 2 týdnů	<2 U/ml – negativní 2-3 U/ml hraniční >3 U/ml - pozitivní index <1 – negativní (v rámci ANCA combi) index >1 – pozitivní
Protilátky proti myeloperoxidáze	S_ANCp	EliA, ELISA (ANCA combi)	S	denně	do 2 týdnů (statim do 24h)	<3,5 U/ml – negativní 3,5-5,0 U/ml hraniční >5 U/ml - pozitivní index <1– negativní (v rámci ANCA combi) index >1 – pozitivní
protilátky proti katepsinu G	S_ANCg	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index <1 – negativní index >1 – pozitivní
protilátky proti laktoferinu	S_ANCI	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index <1 – negativní index >1 – pozitivní
protilátky proti elastáze	S_ANCe	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index <1 – negativní index >1 – pozitivní
protilátky proti BPI	S_ANCb	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index <1 – negativní index >1 – pozitivní
protilátky proti lysozymu	S_ANCy	ELISA	S	dle potřeby	do 2 týdnů	index <1 – negativní index >1 – pozitivní

Antifosfolipidové protilátky

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Antikardiolipinové protilátky ve třídě IgG	ACLA IgG	EliA	S	denně	do 2 týdnů	<10 GPL – negativní 10-40 GPL hraniční ≥40 GPL – pozitivní
Antikardiolipinové protilátky ve třídě IgM	ACLA IgM	EliA	S	denně	do 2 týdnů	<10 MPL – negativní

třídě IgM						10-40 MPL hraniční ≥40 MPL – pozitivní
Anti-beta-2-glykoprotein 1 IgG	Beta-2 GP 1 IgG	EliA	S	denně	do 2 týdnů	<7 U/ml – negativní 7-10 U/ml – hraniční >10 U/ml – pozitivní
Anti-beta-2-glykoprotein 1 IgM	Beta-2 GP 1 IgM	EliA	S	denně	do 2 týdnů	<7 U/ml – negativní 7-10 U/ml – hraniční >10 U/ml – pozitivní
Protilátky proti fosfatidylserinu IgG		blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti fosfatidylserinu IgM		blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti fosfatidylinositolu IgG		blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti fosfatidylinositolu IgM		blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti protrombinu IgG		blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti protrombinu IgM		blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti kyselině fosfatidové IgG		blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti kyselině fosfatidové IgM		blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti fosfatidylcholinu IgG		blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti fosfatidylcholinu IgM		blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti fosfatidyletanolaminu IgG		blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti fosfatidyletanolaminu IgM		blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti fosfatidylglycerolu IgG		blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti fosfatidylglycerolu IgM		blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti annexinu V IgG		blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti annexinu V IgM		blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní

Další orgánově nespecifické autoprotilátky

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Protilátky proti mitochondriím (AMA)	S_AMAi	IF	S	1x týdně	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti příčně pruhovanému svalu	S_srd	IF	S	1x týdně	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti hladkému svalu (ASMA)	S_ASMA	IF	S	1x týdně	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti mikrozomům jater a ledvin - LKM (liver-kidney microsomes Ab)	S_LKM	IF	S	1x týdně	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Imunoblot jaterních antigenů	S_LKMB	blotting	S	dle potřeby	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení

Autoimunita - orgánově specifické autoprotilátky II.

Orgánově specifické autoprotilátky

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
Protilátky proti protonové pumpě parietálních buněk	S_APCA	EliA	S	denně	do 2 týdnů	<7 U/ml – negativní 7-10 U/ml – hraniční

						>10 U/ml – pozitivní
Protilátky proti vnitřnímu faktoru	S_AIFA	EliA	S	denně	do 2 týdnů	<7 U/ml – negativní 7-10 U/ml – hraniční >10 U/ml – pozitivní
Protilátky proti tkáňové transglutamináze IgA	aTG IgA	EliA	S	denně	do 2 týdnů	<7 U/ml – negativní 7-10 U/ml – hraniční >10 U/ml – pozitivní
Protilátky proti tkáňové transglutamináze IgG	aTG IgG	EliA	S	denně	do 2 týdnů	<7 U/ml – negativní 7-10 U/ml – hraniční >10 U/ml – pozitivní
Protilátky proti endomyziu IgA		IF	S	2x týdně	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
Protilátky proti endomyziu IgG		IF	S	2x týdně	do 2 týdnů	Kvalitativní hodnocení negativní/pozitivní
ASCA (protilátky proti sacharomycétám) IgG	S_ASCG	EliA	S	denně	do 2 týdnů	<7 U/ml – negativní 7-10 U/ml – hraniční >10 U/ml – pozitivní
ASCA (protilátky proti sacharomycétám) IgA	S_ASCA	EliA	S	denně	do 2 týdnů	<7 U/ml – negativní 7-10 U/ml – hraniční >10 U/ml – pozitivní

23.2.5. Vyšetření specifického IgE proti směsím a jednotlivým alergenům

Materiál	Metoda	Provádí se	Výsledek do
S	FEIA	dle potřeby	do 2 týdnů

Hodnocení: Kvantitativní, výsledek udáván v jednotkách [kU/l].

Třída pozitivity	Výsledek vyšetření /kU/l/	Hladina specifických protilátek IgE
6	více než 100	velmi vysoká
5	50 až 100	velmi vysoká
4	17,5 až 50	velmi vysoká
3	3,5 až 17,5	vysoká
2	0,7 až 3,5	střední
1	0,35 až 0,7	nízká
0	méně než 0,35	žádná/ nedetekovatelná/ velmi nízká

Alergologické bloty

Materiál	Provádí se	Výsledek do
S	dle potřeby	do 2 týdnů

Třída	Koncentrace [kU/l]	Hodnocení
0	<0.35	Nebyly detekovány žádné specifické protilátky
1	0,35-0,7	Velmi nízký titr protilátky, často za přítomnosti senzitivace žádné klinické symptomy
2	0,7-3,5	Nízký titr protilátky, existující senzitivace, často s klinickými symptomy v horním rozmezí třídy
3	3,5-17,5	Významný titr protilátek, klinické symptomy obvykle přítomné
4	17,5-50	Vysoký titr protilátky, téměř vždy s klinickými příznaky
5	50-100	Velmi vysoký titr protilátek
6	>100	Velmi vysoký titr protilátek

Další parametry

Název	Zkratka	Metoda	Materiál	Provádí se	Výsledek do	Hodnocení
kalprotektin		EliA	ST	1x za 10dnů	2 týdnů	>50 µg/g pozitivní

23.3. Vysvětlivky k tabulkám

Název - název vyšetření

Zkratka - pod touto zkratkou je vyšetření vedeno v laboratorním informačním systému. Zkratky se používají např. ve zprávách

z vyšetření pacientů v ambulanci imunologického oddělení.

Metoda

- způsob provedení vyšetření uvedený zkratkou:

A - aglutinační reakce
CLIA -chemiluminiscenční reakce
ELISA - enzymová imunoanalýza
FACS - průtoková cytometrie
HA - hemaglutinace
IEF - isoelektrická fokusace
IELFO - imunoelektroforéza
IF - nepřímá imunofluorescence
IMUFIX - imunofixace
KLPA – kvantitativní laterální průtoková analýza
NEF- nefelometrie
PEG - precipitace s polyetylenglykolem
PIE - protisměrná imunoelektroforéza
RID - jednoduchá radiální imunodifúze
TUR -turbidimetrie

Materiál

- druh materiálu:

BAL - bronchioalveolární laváž
CP - citrátová plasma
KD - kostní dřev
KE - nesrážlivá krev s EDTA
KH - heparinizovaná krev pro vyšetření buněčné imunity
L - mozkomíšní mok
M - moč (ranní, stačí cca 5 ml vzorek)
P - punktát
S - sérum
SL - sliny (odebírat ráno mezi 7.- 8. hod., bez čištění zubů, nalačno)
SP - sérum z pupečnickové krve
ST - stolice

Provádí se

orientační informace o časovém intervalu, kdy se dané vyšetření provádí (denně, 1x týdně, 1 x měsíčně)

Výsledek do

informace o době nutné pro vlastní provedení vyšetření od zahájení laboratorního zpracování do získání výsledku

**Normální
rozmezí
hodnot,
hodnocení**

základní informace pro posouzení výsledku