

Časopis pro klienty Roche Diagnostics v České a Slovenské republice

# LABOR AKTUELL

číslo 1  
rok 2022  
ročník 26



# Proč časopis Labor Aktuell CS vydáváme a jaké budou změny?

Vidíme to tak, že Roche tím jednak dokládá svůj skutečný zájem o lidi a jejich životy, ať už jsou to pacienti, nebo pracovníci ve zdravotnictví, či široká veřejnost, jednak závazek a touhu být průkopníkem smysluplných změn a neúnavně se snažit o nalezení odpovědí na otevřené otázky

medicíny. Společnost Roche svá rozhodnutí opírá o fakta, spolupracuje a z neúspěchů si bere ponaučení. Důkladně a cíleně, vedena vědeckými výzkumy, posouvá obor, přičemž je díky rodinným tradicím a hodnotám ve svých jednáních konzistentní, trvalá a udržitelná.

Po 26 letech vydávání časopisu v České a Slovenské republice si uvědomujeme, že informací je stále víc a jsou mnohem snadněji dostupné, a mnohdy nás dokonce zaplavují a tříští naši pozornost. V letošním roce vydáváme jedno číslo, ale už v první půlce roku 2023 se můžete těšit na další.

Budeme se vás, milí čtenáři, ale ptát, zda je časopis pro vás přínosem a jakou formu by do budoucna měl mít. Napište nám kdykoliv svůj názor na e-mail redakce: [czech.labor\\_aktuell@roche.com](mailto:czech.labor_aktuell@roche.com).

*Rádi bychom Vám poděkovali za spolupráci a důvěru.*

*Přejeme Vám klidné prožití vánočních svátků a mnoho úspěchů v novém roce 2023.*

*ROCHE s.r.o., Diagnostics Division*

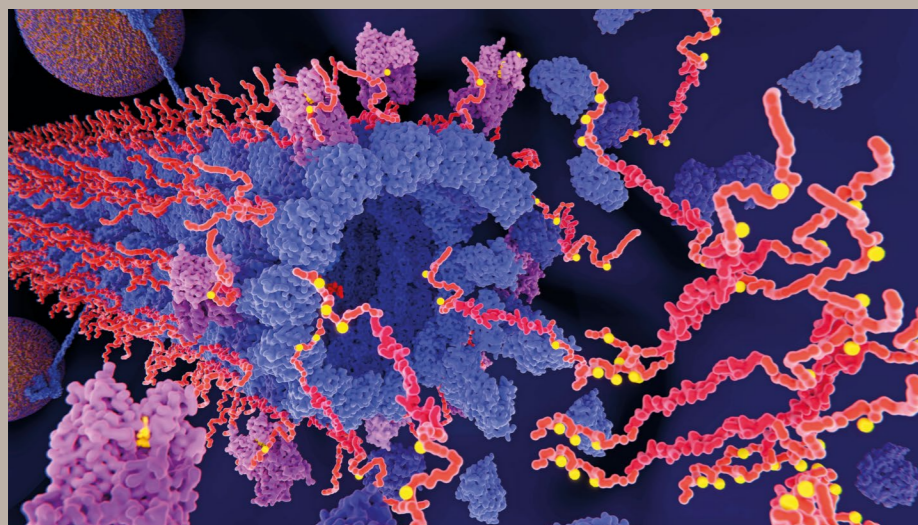


Foto na obálce: Tau protein u Alzheimerovy choroby, ilustrace. Podrobnější informace naleznete na str. 22. Autor: selvanegro, iStock/Getty Images Plus.

## KLINICKÁ HODNOTA DIAGNOSTIKY

Fibrilace síní a NT-proBNP, zkušenosti z praxe kardiologa  
**MUDr. Antonín Novák** 4

Alzheimerova choroba  
**Redakční příspěvek** 10

Stanovení tau proteinu, fosforylovaného tau proteinu a  $\beta$ -amyloidu (1-42) v likvoru u pacientů s Alzheimerovou chorobou a dalšími vybranými neurologickými diagnózami  
**M. Beňovská, V. Vybíhal, S. Skutilová, A. Korberová, N. Michálková** 12

Likvorový triplet u pacientů s idiopatickým normotenzním hydrocefalem  
**MUDr. Václav Vybíhal, Ph.D., RNDr. Miroslava Beňovská, Ph.D., MUDr. Martin Plevko, prof. MUDr. Martin Smrčka, Ph.D., MBA** 16

Mechanismus působení  $\beta$ -amyloidu a tau proteinu u Alzheimerovy choroby  
**Redakční příspěvek** 22

Stanovení  $\beta$ -amyloidu (1-42), tau proteinu celkového a tau proteinu fosforylovaného – srovnání reagentů Roche 1. a 2. generace  
**RNDr. Miroslava Beňovská, Ph.D., Ing. Martina Podborská, Ph.D.** 25

Přehled využití biomarkeru S-100B v klinické praxi  
**Mgr. Alice Hoffmannová, Ph.D., MUDr. Luboš Bouček, MUDr. Jana Tůmová** 29

## INOVACE KOLEM NÁS

Digitalizace zdravotnictví – výzvy a přínosy  
**Ing. Tomáš Procházka** 33

„RBSS je, když...“  
**Mgr. Petra Trachtulcová, Ph.D.** 39

Laboratorní automatizace včera, dnes a zítra  
**Mgr. Anežka Hucíková** 44

## ZKUŠENOSTI Z LABORATOŘÍ

cobas® pro modul e 801 – první instalace a zkušenosti v zařízení transfuzní služby FNKV  
**RNDr. Petra Vojvodová** 48

Možnosti diagnostiky klostrídiové kolitidy pomocí POCT PCR v klinické praxi  
**MUDr. Martin Novotný, Ph.D., MUDr. Ján Hockicko** 52

## PŘEDSTAVUJEME...

Aktualizace IVDR v Roche Diagnostics  
**Redakční příspěvek** 56

Někdy stačí málo...  
**Mgr. Linda Bradáčová** 57

## Z KUCHYNĚ ROCHE

Capuns (mangoldové závitky)  
**Lukas Muller** 59

**MUDr. Antonín Novák**

Kardiologická ambulance – EUC Klinika Ústí nad Labem, Interní oddělení – Nemocnice Děčín, Interní oddělení – pracoviště Rumburk, Kardiologická klinika – Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, Krajská zdravotní, a.s.

## Fibrilace síní a NT-proBNP, zkušenosti z praxe kardiologa

Výskyt fibrilace síní stoupá se stářím. Stejnou měrou, jako přibývá věk ošetřujícímu lékaři, je sycen spravedlivě léty i každý pacient. A prevalence fibrilace síní v každodenní praxi kardiologa či internisty narůstá a nevyhýbá se ani lékařům.

**Úvod**

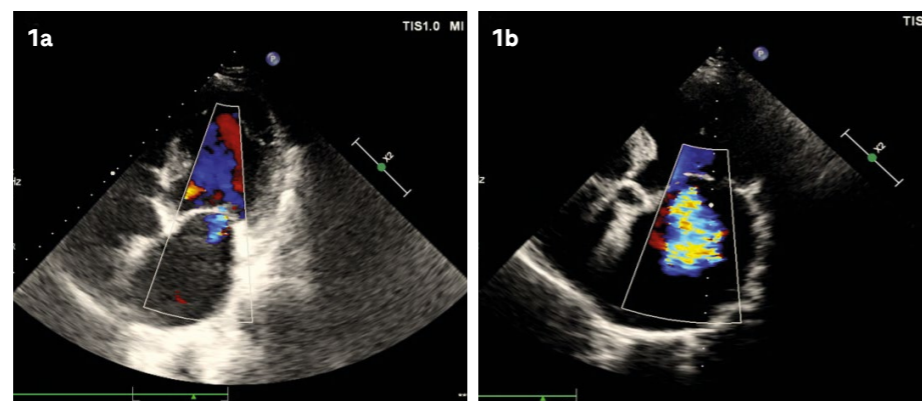
Se zhoršující se a podceňovanou personální situací interních spádových nemocnic je zaštitění ambulantní péče okamžitou dostupností spádové nemocnice někdy problematické. Je důležité, aby pacient s fibrilací síní měl ambulantně nastavenou optimální léčbu a aby co nejméně vyhledával pomoc v nejbližší (mnohdy ale vzdálené) nemocnici.

A v tomto ohledu může být kardiologický marker NT-proBNP významným pomocníkem. Na několika krátkých kazuistikách z naší letité praxe chceme v článku poukázat na možnosti hodnocení léčby pacienta s fibrilací síní pomocí NT-proBNP, jednoduchým a dostupným laboratorním markerem pro hodnocení funkce srdce.

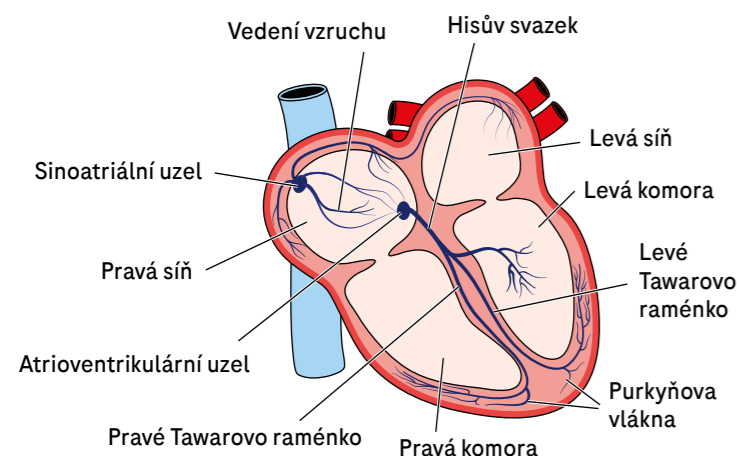
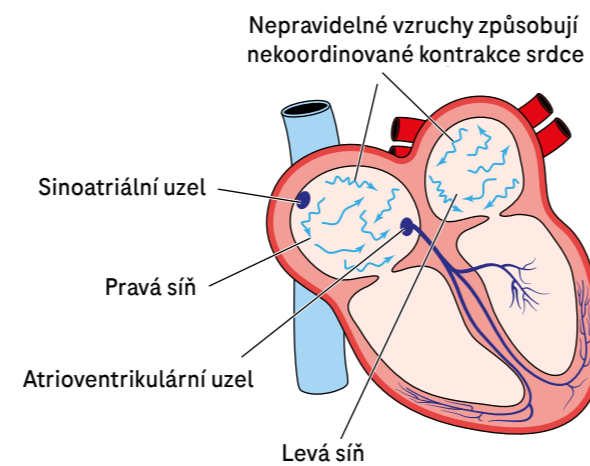
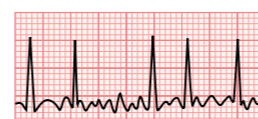
**Diskuse**

V péči o pacienta s fibrilací síní máme dvě možné strategie. Za prvé snahu o nastolení

a udržení sinusového rytmu a za druhé kontrolu srdeční frekvence při ponechání fibrilace síní. Prakticky všichni pacienti by měli mít antikoagulační léčbu (ne pacient



> Obr. 1a,b: Transthorakální echokardiografie, čtyřdutinová projekce z hrotu, na druhém snímku je již významně dilatována – remodelována levá síň, se středně významnou mitrální insuficiencí (jet s barevnou mozaikou)

**Normální EKG****Fibrilace síní**

s CHADs-VASc score 0-1). Obvyklou komorbiditou u pacientů s fibrilací síní je arteriální hypertenze, tu zvládneme kombinační léčbou, často ve fixní podobě. Pokud se rozhodujeme pro elektrickou kardioverzi, neotálíme, než pokročí remodelace levé síně (obr. 1). Při úvodním nasazení nových antikoagulancií odpadávat kontroly INR, které zbytečně prodlužují čekání na kardioverzi, pokud pacienta warfarinizujeme. Toto čekání můžeme zkrátit vyloučením trombu v oušku levé síně jícnovou echokardiografií (obr. 2). Po domluvě s anesteziologem lze pak provést kardioverzi i na kterémkoli interním příjmu spádové nemocnice. Indikaci ke katetrizační izolaci plicních žil vždy zvažujeme individuálně, preferenčně u mladších pacientů, symptomatických pacientů a pacientů se srdečním selháním, obecně u pacientů bez pokročilé remodelace levé síně. Ke kontrole srdeční frekvence máme širokou škálu betablokátorů a nebojíme se ani maximálních dávek betablokátorů (obr. 3). Jsou-li kontraindikovány, lze zkusit také verapamil, který je současně i anti hypertenzivem.

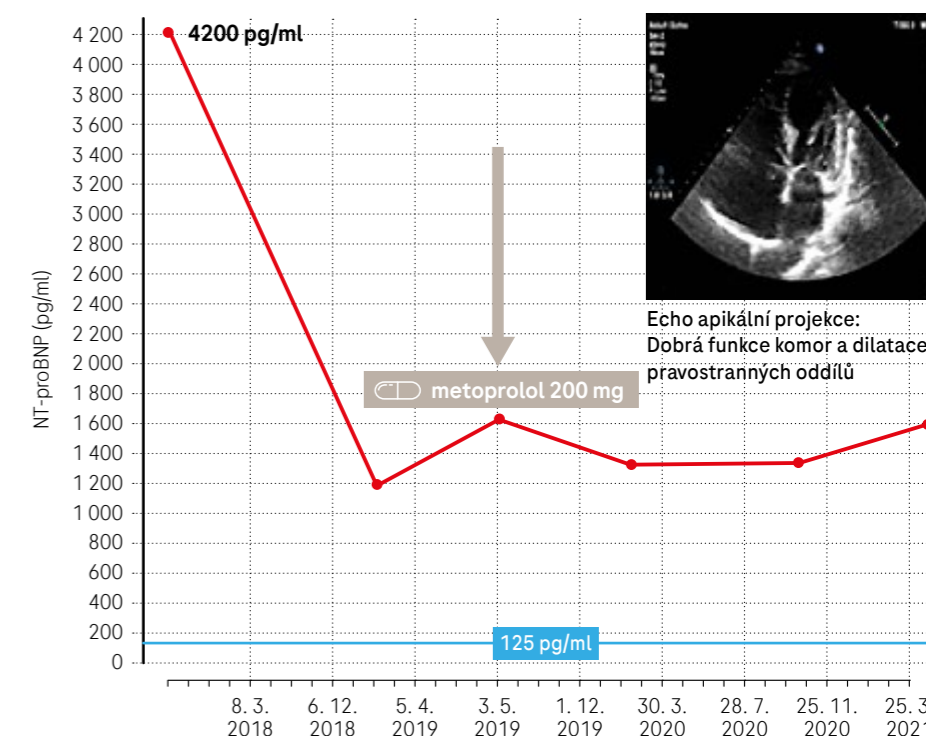
A digoxin? Zastaralý lék, který navíc komplikuje již tak mnohočetnou farmakologii pacienta. Má úzkou terapeutickou šíři, časté dyspepsie, nepředvídatelný proarytmogenní účinek a jeho snadná kumulace v organismu při již i lehké renální insuficienci je základná. To jsou argumenty pro jeho opuštění v praxi.

Měli bychom se zamyslet, jaké vhodné a bezpečné antiarytmikum zvolíme u pacientů s fibrilací síní. Zde situace není složitá díky užší nabídce léků. U pacientů se srdečním selháním a sníženou ejekční frakcí je indikován preferenčně amiodaron a u pacientů se zachovalou systolickou funkcí je indikován jako antiarytmikum propafenon. Jde o účinné antiarytmikum, dle klasifikace Vaughana Williamse se řadí do třídy Ic, má ale i aktivitu betablokátorů. V perorální formě se používá k prevenci recidiv fibrilace síní a udržení sinusového rytmu.

V kterékoli fázi péče o pacienta s fibrilací síní můžeme stupeň „zatižení“ levé síně hodnotit právě pomocí NT-proBNP. Výhodou jsou jistě opakovaná měření NT-proBNP, kdy dynamika hodnot tohoto markeru ukazuje, zda se farmakologická i nefarmakologická



> Obr. 2: Jícnová echokardiografie, projekce na ouško levé síně, zvětšení (zoom); trombus na dně ouška, lehce mobilní; pacient před kardioverzí, warfarinizován, INR 2,1 na spodní hladině; kardioverze odložena; převeden na nízkomolekulární heparin dle váhy

**Pacient 79 let, rychlá fibrilace síní a navýšení dávky betablokátoru**

> Obr. 3: Pacient původně referovaný jako počínající demence, po maximální dávce betablokátoru klinicky asymptomatický a duševně svěží; koresponduje s jasným poklesem NT-proBNP po navýšení dávky metoprololu na 200 mg



léčba fibrilace síní ubírají správným směrem. Pro rutinní, denní praxi jednoduché.

#### Kazuistika č. 1

76letá hypertonička, 12 let arteriální hypertenze, 5 let paroxysmální fibrilace síní, hyperlipoproteinémie. Sama konzultovala arytmologa, katetrizační ablace nedoporučena, vzhledem k věku pacientky. Před dvěma lety převzata k nám z ambulance kardiologa končícího praxi, subjektivně často záchvaty bušení srdce. Na EKG holteru paroxysmy fibrilace síní, echokardiogram s normální systolickou funkcí, hraniční tloušťka septa levé komory, střední dilatace levé síně, při sinusovém rytmu s dobrou mechanickou funkcí síně hodnocené z průtoku na mitrální chlopi. Užívá při převzetí do péče perindopril 4 mg, apixaban 2x 5 mg, atorvastatin 20 mg, metoprolol 25 mg denně. Navýšen metoprolol na 50 mg a přidán propafenon pravidelně denně 3x 150 mg a při záchvatu arytmie navíc 1–2 tablety propafenonu 150 mg. Od té doby jsou záchvaty fibrilace síní sporadické, jednou za dva měsíce,



> Pacient po elektrické kardioverzi s obnovením sinusového rytmu

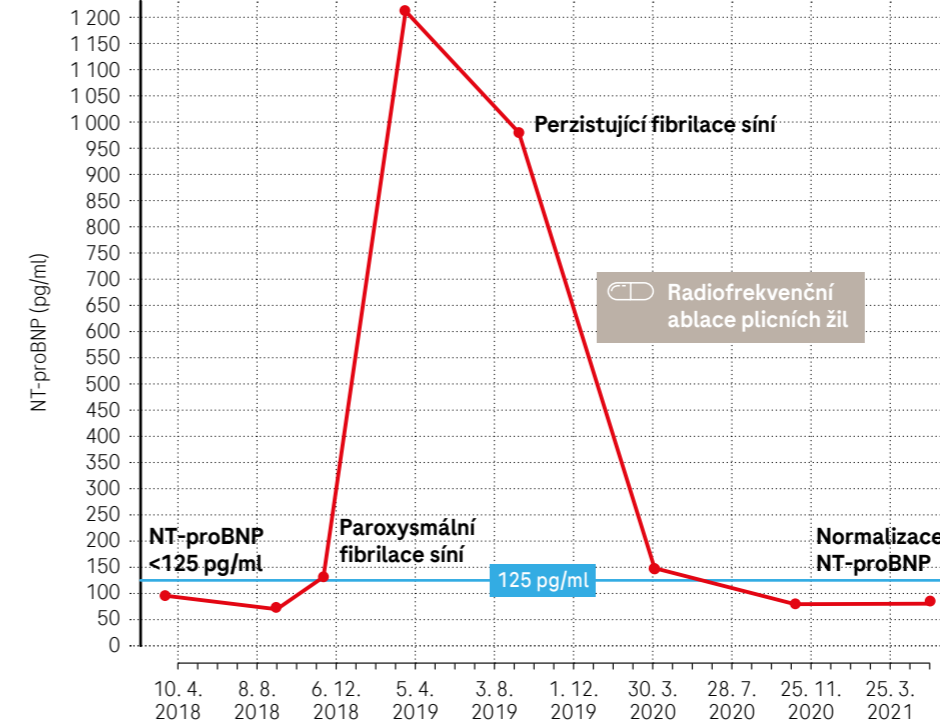
krátké. Subjektivně spokojena, běžnou fyzickou zátěž vykonává bez dušnosti. NT-proBNP po této úpravě medikace s významným a trvajícím poklesem téměř k normě, viz obr. 4. Jde o laboratorní doklad v dynamice NT-proBNP, kdy arytmie je jen

občasné záchvatovitá a pacient má převážně sinusový rytmus. U pacientů s častými záchvaty fibrilace síní nebo perzistující fibrilací síní vidíme v ambulanci hodnoty NT-proBNP obvykle 1 000–2 000 pg/ml, tak tomu bylo i u této pacientky před nastavením kombinované léčby betablokátor a propafenon. Výjimečně u mladších pacientů bez komorbidit s perzistující fibrilací síní je NT-proBNP v průměru kolem 400–600 pg/ml, dle našich zkušeností.

#### Kazuistika č. 2

Pacient, muž, 68letý, sledován v ambulanci 4 roky, první rok občasné paroxysmy fibrilace síní, dvakrát elektrická kardioverze s dočasným udržením sinusového rytmu. Warfarin pro kolísavé hodnoty INR zaměněn za dabigatran 150 mg 2x denně, který dobře toleruje. Fibrilace síní posléze perzistující, subjektivně ale s únavou a dušností po námaze, indikován proto ke katetrizační ablací, izolaci plicních žil. Po roce čekání – vzhledem k průběhu virové epidemie – nakonec tato ablace úspěšně provedena. Dále je trvale rytmus sinusový, subjektivně bez arytmií, echokardiogram s normální funkcí levé komory i levé síně. EKG holter bez arytmie, málo časté supraventrikulární extrasystoly. Poučen, že při záchvatu arytmie, kterou subjektivně dobře pozná, užije 1–2 tablety propafenonu 150 mg. Zatím nepotřeboval. Na obr. 5 vidíme průběh NT-proBNP při paroxysmální a perzistující fibrilaci síní a pak téměř normalizaci NT-proBNP

#### 68 let, muž, 10 let hypertenze, DM 2. typu na PAD, od 2018 paroxysmální fibrilace síní



> Obr. 5: Kazuistika č. 2, vidíme průběh NT-proBNP při paroxysmální a perzistující fibrilaci síní a pak téměř normalizaci NT-proBNP po katetrizační ablací plicních žil a trvalém sinusovém rytmu

po katetrizační ablací plicních žil a obnovení a udržení sinusového rytmu.

#### Kazuistika č. 3

Žena, 86letá, ale plně vitální, vysokoškolsky vzdělaná v oboru chemie, léčena asi 15 let na arteriální hypertenzi, v posledních 3 letech občasné, ale subjektivně velmi nepříjemné záchvaty rychlejší fibrilace síní. K léčbě hypertenze trandolapilem přidán kalciový blokátor, warfarin změněn na dabigatran 110 mg 2x1. Zpočátku užívá propanorm 150–300 mg s efektem do 6 hodin při záchvatu arytmie. Protože jsou arytmie relativně časté, indikován propafenon 150 mg 3x1. Opět dochází k poklesu NT-proBNP k téměř normálním hodnotám. Koreluje s výrazným subjektivním zlepšením pacienta.

#### Kazuistika č. 4

Muž, 69 let, má významně symptomatickou fibrilaci síní, kterou vnímá jako podstatné omezení fyzických schopností, aktivní rekreační tenista. Před 2 lety při warfarinizaci provedena před kardioverzí jícnová echokardiografie, zjištěn malý, mobilní trombus



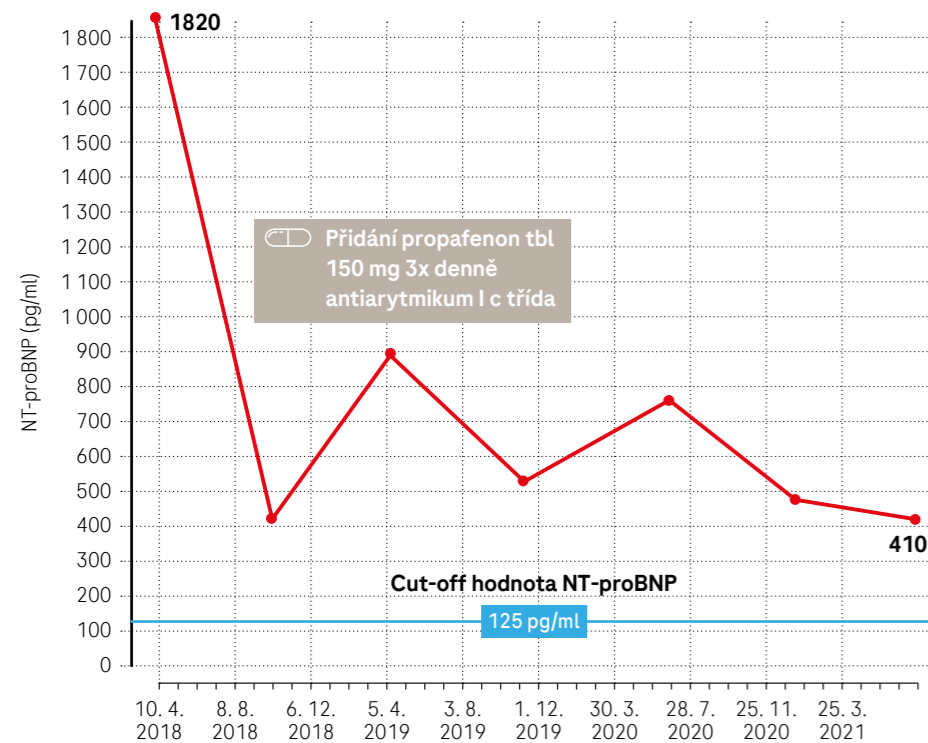
COVID-19 virové pneumonii, se středně těžkým průběhem. Přichází symptomaticky s fibrilací síní, chronicky na malé dávce betablokátoru, bisoprolol 5 mg. Vzhledem k tomu, že měl před první kardioverzí (obr. 2), provedena promptně opět jícnová echokardiografie, ouško je volné se středně omezenou vyprazdňovací rychlostí, poté úspěšná kardioverze, nastolen rytmus sinusový, ponechán na stávající dávce betablokátoru. Za dva měsíce při návratu z lázní, v rámci rehabilitace po COVID-19 onemocnění, opět fibrilace síní s nutností další kardioverze. K betablokátoru přidán propafenon 150 mg 3x denně a indikován ke katetrizační ablací plicních žil, na kterou doposud čeká. Dochází k významnému vzestupu NT-proBNP.

#### Kazuistika č. 5

Tento pátý pacient je tentokrát lékař, 63letý, asi 10 let trpí záchvatovitou fibrilací síní. Po stabilizaci rodinného i profesního života je arytmie velmi sporadická, vždy řeší záchvat 1–2 tbl propafenonu 150 mg, sám si vytitoval jako chronickou léčbu propafenon 300 mg 2x1. Echokardiogram bez patologie, NT-proBNP normální. Je mladší 65 let, antikoagulační léčba není nutná. Zde na zklidnění arytmie se kromě chronické léčby propafenonem také podílelo ukončení vleklých stresových problémů. **Tedy vždy důkladná anamnéza, psychosociální (mnohdy je i překvapující a zajímavá), by měla být součástí preskripce antiarytmika.**

#### Žena 76 let, časté paroxysmy fibrilace síní

##### Významný pokles NT-proBNP a paroxysmů fibrilace síní po úpravě medikace



> Obr. 4: Žena, hypertonička, po přidání propafenonu 150 mg 3x1 jsou paroxysmy fibrilace síní sporadické, subjektivně spokojena, významný pokles NT-proBNP v čase, pacientka má převážně rytmus sinusový

**Kazuistika č. 6**

Samostatnou kapitolou je pacient s chronickým srdečním selháním s doposud rytmem sinusovým, který se zkomplikuje fibrilací síní (mnohdy kardiologové nazývána „děbelská kombinace“ – srdeční selhání zkomplikované fibrilací síní). Zde pak vidíme okamžité, až řádově skokové zvýšení NT-proBNP!!! Ze stovekových hodnot na hodnoty tisícové, zpravidla se zhoršením dušnosti o jeden až dva stupně dle NYHA. Při léčbě takto zkomplikovaného pacienta je i určitou „laboratorní výzvou“ pokusit se doložit zlepšení a obnovu sinusového rytmu opětovným poklesem NT-proBNP na původní hodnoty. Na této kazuistice demonstrujeme zajímavého pacienta švýcarské národnosti, 76letého, který v 48 letech po banálním pádu na lyžích prodělal rupturu závěsného aparátu mitrální chlopně, akutně provedena úspěšná plastika zadního cípu a jeho závěsného

aparátu, na kardiologické klinice v Curychu. Pak léta bez potíží. V 66 letech přichází pro dušnost NYHA II a hůře korigovanou arteriální hypertenzi, funkce operované mitrální chlopně je dobrá, i normální funkce levé komory, chronický blok levého Tawarova raménka. Za dva roky, v roce 2016, rozvoj středně těžké dysfunkce levé komory. Nasazena optimální farmakologická léčba, včetně sacubitril-valsartan. Zlepšen, pokles NT-proBNP. Další dva roky stabilní, pak ale stav komplikován v roce 2018 výskytem fibrilace síní a dušností až NYHA IV. stupně. Provedena elektrická kardioverze, katetrizační ablace plicních žil, implantace BIV-ICD (biventrikulární kardioverter-defibrilátor). Při posledních kontrolách asymptomatický, věnuje se aktivně dále jachtingu na moři. Přehled NT-proBNP v čase ukazujeme na obr. 6. Současně je tato kazuistika ukázkou, jak moderní farmakologická a nefarmakologická



léčba dokážou zvrátit nepříznivou prognózu u pacienta s chronickým srdečním selháním a prodloužit život, při jeho dobré kvalitě.

**Závěr**

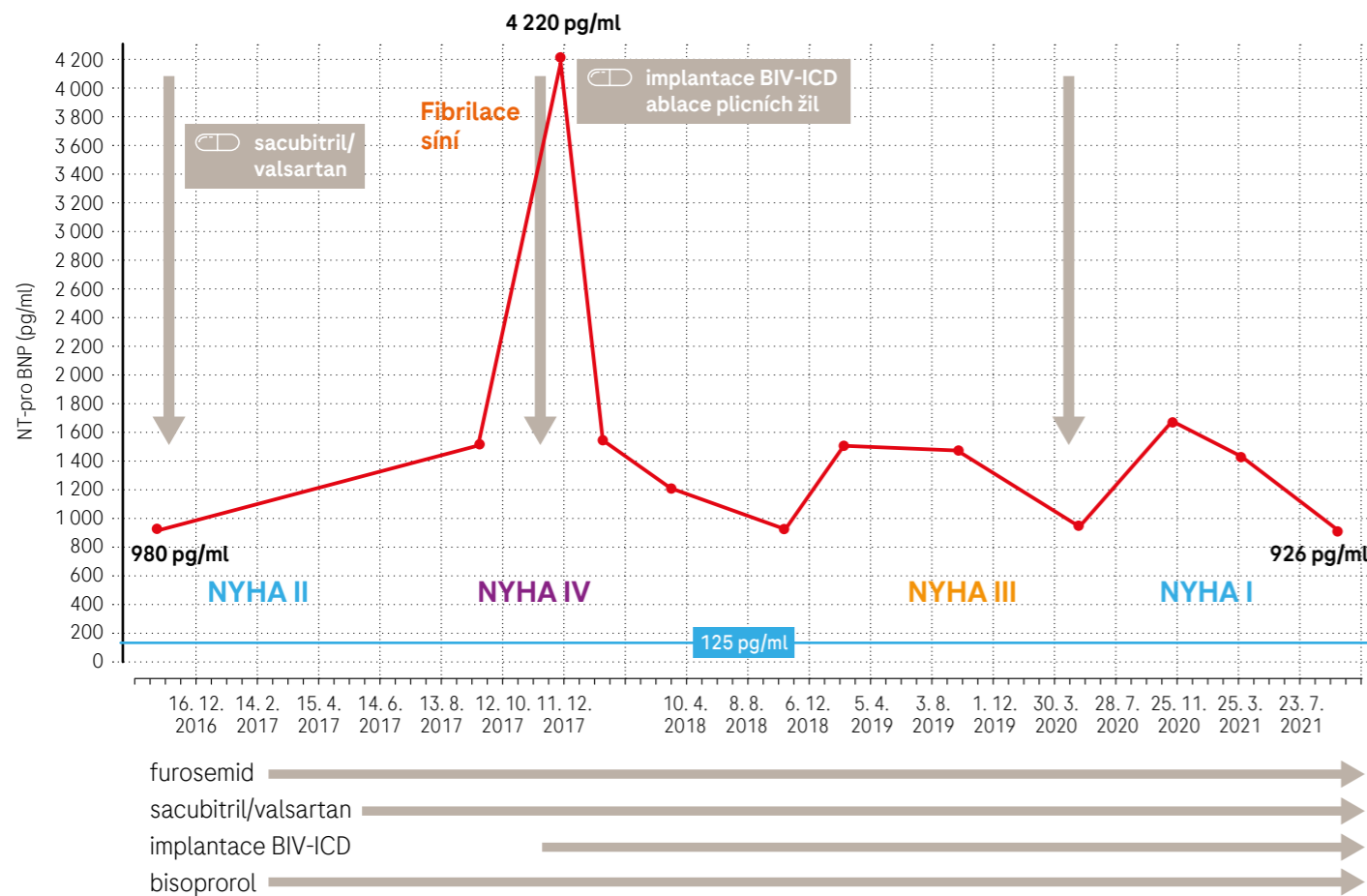
Na několika kazuistikách ukazujeme užitečnost pravidelných kontrol hodnot NT-proBNP u pacientů s paroxysmální nebo perzistující fibrilací síní jakékoli etiologie. Tento jednoduchý a užitečný marker můžeme vyšetřit v současné době i pomocí „bedside“ přístroje **cobas h 232** přímo v ordinaci, s dostupností výsledku do 8 minut! Povolená frekvence vykazání výkonu je dokonce 1x denně, což lze chápat i jako snahu plátců zdravotní péče o usnadnění

k přístupu podání optimální kardiologické léčby. Při racionální indikaci NT-proBNP lze vystačit s několika vyšetřeními za rok, jak ukazují naše kazuistiky. Možnost vyšetření NT-proBNP v ordinaci praktického lékaře může zlepšit i jeho spolupráci s kardiologem. Také pacient snadno rozumí „číselnému vyjádření funkce svého srdce“ pomocí NT-proBNP (**a těší se na další pokles při následujících kontrole**). Zásadní chybou by bylo provázet pacienta léčbou bez monitorace NT-proBNP. Platí to i pro pacienty s fibrilací síní. Jisté je, že u těchto pacientů pokles až normalizace NT-proBNP svědčí o zlepšení kondice levé síně.

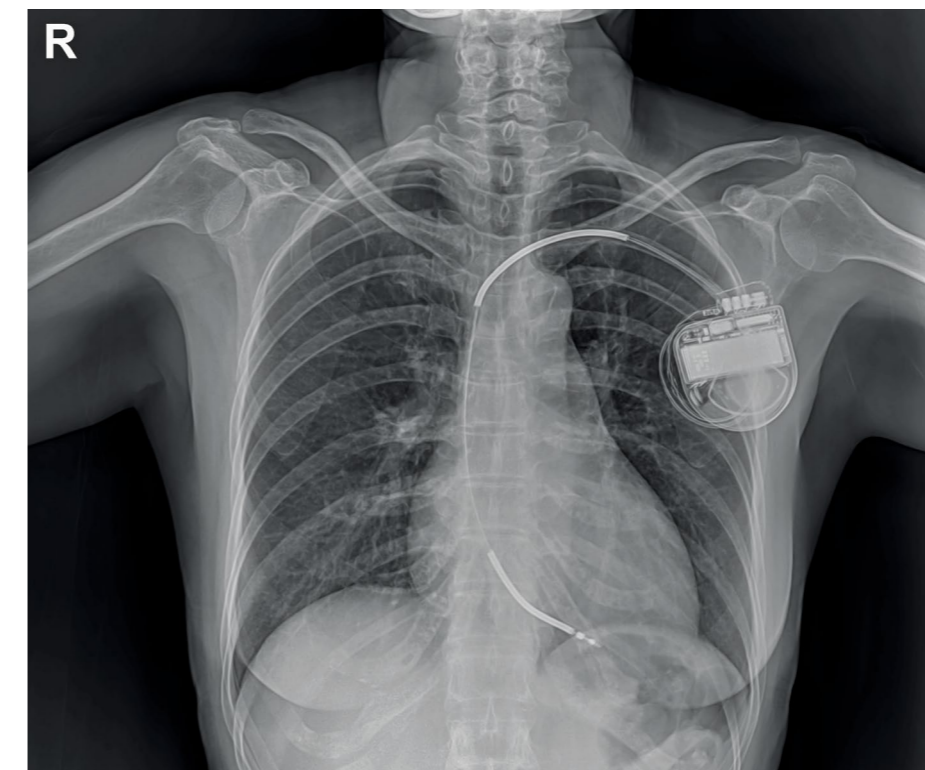
Literatura u autora.



**MUDr. Antonín Novák**  
Klinika EUC Ústí nad Labem, interní oddělení Děčín, Česká Lípa, Rumburk, Kardiologická klinika Masarykovy nemocnice, Krajská zdravotní, a.s., Ústí nad Labem  
Kontakt: novak59@kzcr.eu  
Narodil se v září r. 1960 v Ústí nad Labem. V roce 1985 absolvoval I. lékařskou fakultu VFN. První atestaci z vnitřního lékařství získal r. 1988, druhou atestaci r. 1993 a v r. 1997 atestaci z kardiologie. Téhož roku obdržel funkční licenci pro jícnovou echokardiografii. V letech 1986–2003 pracoval jako sekundární lékař I. interní kliniky ILF v Ústí nad Labem, mezi lety 2003–2012 byl zástupcem primáře Kardiologické kliniky Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem; oddělení neinvazivní kardiologie. V období 2013–2016 zastával funkci primáře Interního oddělení v Nemocnici Děčín. Od roku 2017 až doposud pracuje v Kardiologické ambulanci EUC Kliniky Ústí nad Labem, přičemž zároveň slouží na JIP v Děčíně, Rumburku či České Lípě. Zajímá se především o jícnovou echokardiografii, kontrastní echokardiografii, ambulanci srdeční slabosti a echokardiografii z pohledu záchranné služby. Je investigátorem klinických studií Finesse, Remedy, Recover II, Resonate, Relax-AHF. Ovládá němčinu, angličtinu i španělštinu, a tak přednáší nejen na tuzemských, ale i zahraničních kongresech. Je ženatý a má tři děti.

**Muž 76 let, dysfunkce LK EF 35%**

► **Obr. 6:** Muž, 76letý, průběh léčby a NT-proBNP od roku 2016, stabilizace při léčbě sacubitril/valsartan a výrazné zhoršení při vzniku fibrilace síní, pak implantace BIV-ICD v roce 2018, katetrizační ablace plicních žil, dále biventrikulární stimulace, poměrně rychle návrat na původní hodnotu NT-proBNP, poté téměř asymptomatický



► Biventrikulární kardiostimulátor (BIV-ICD) a implantabilní kardioverter-defibrilátor (ICD) je malé, lehké zařízení napájené bateriemi. Tento přístroj pomáhá udržovat normální činnost srdce.



Může zasáhnout vás nebo vaše blízké.  
Výskyt Alzheimerovy choroby se do roku 2050  
trojnásobně zvýší (celosvětová data).<sup>2,3</sup>



Prevence a časná diagnostika Alzheimerovy choroby  
mohou posunout první projevy o celé dekády.

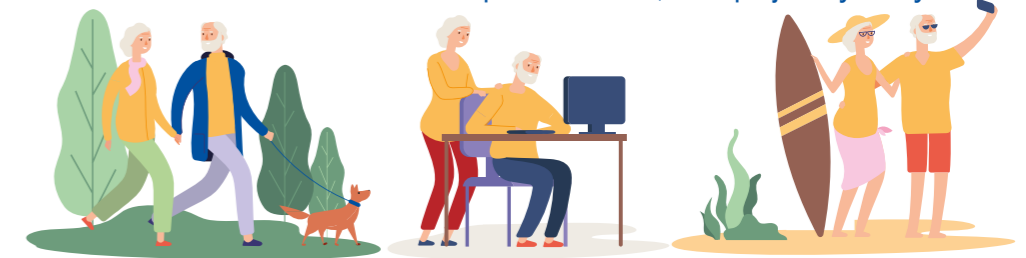


**CÍLENÁ LÉČBA NENÍ  
DOSTUPNÁ (PROZATÍM)**



**EFEKTIVNÍ PREVENCE = AKTIVNÍ ŽIVOTNÍ STYL**

Přibližně 35 % rizikových faktorů se dá ovlivnit, a tím onemocnění předejít nebo ho oddálit.<sup>5</sup> Čím dříve se s prevencí začne, tím lepší jsou výsledky.



**PROČ DIAGNOSTIKOVAT?**

- > Laboratorní diagnostika pomocí stanovení hladin tau proteinu předchází prvním projevům onemocnění o 15 let, stanovení beta amyloidu (1-42) dokonce až o 25 let<sup>7</sup>
- > Alzheimerova choroba je příčinou 62 % demencí. Určení diagnózy při prvních projevech pomáhá snížit úzkost a přinést pocit úlevy<sup>1,4</sup>

**CO DĚLAT?<sup>5</sup>**

**Úprava životního stylu:**

- > Zařazení pohybové aktivity
- > Trénink kognitivních funkcí
- > Zohlednění léčebného režimu u přidružených onemocnění
- > Udržování sociálních vazeb
- > Zajištění pravidelné a dlouhodobé péče



**Literatura:** 1. <https://www.alzheimer-europe.org/Research/Value-of-Knowing>. 2. Alzheimer's Disease International. World Alzheimer Report 2018. Available at: <https://www.alz.co.uk/research/WorldAlzheimerReport2018.pdf>. 3. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>. 4. Carpenter et al. Reaction to a Dementia Diagnosis in Individuals with Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment. 5. World Health Organization Guideline, Risk reduction of cognitive decline and dementia (2019). 6. <https://www.alzheimer.cz/alzheimerova-choroba/priznaky/>. 7. Bateman RH, et al. NEJM 2012; 367: 795-804.



M. Beňovská<sup>1,2</sup>, V. Vybíhal<sup>3,4</sup>,  
S. Skutilová<sup>5,6</sup>, A. Korberová<sup>1</sup>,  
N. Michálková<sup>5,6</sup>

<sup>1</sup> Ústav laboratorní medicíny – OKB FN Brno,

<sup>2</sup> Katedra laboratorních metod LF MU,

<sup>3</sup> Neurochirurgická klinika LF MU,

<sup>4</sup> Neurochirurgická klinika FN Brno,

<sup>5</sup> Neurologická klinika LF MU,

<sup>6</sup> Neurologická klinika FN Brno

# Stanovení tau proteinu, fosforylovaného tau proteinu a $\beta$ -amyloidu (1-42) v likvoru u pacientů s Alzheimerovou chorobou a dalšími vybranými neurologickými diagnózami

Cílem práce bylo zhodnotit význam a využití výsledků stanovení celkového tau proteinu (tTau), fosforylovaného tau proteinu (pTau) a amyloidu beta (1-42) ( $\beta$ -amyloidu) v likvoru u pacientů s Alzheimerovou nemocí a pacientů s jinou neurologickou diagnózou.

## Úvod

Alzheimerova nemoc je nejběžnější formou progresivní demence u starší populace. Histologicky ji lze charakterizovat akumulací  $\beta$ -amyloidu v extracelulárních placích a ukládáním hyperfosforylovaného tau proteinu v intracelulárních neurofibrilárních klubkách.<sup>1,2</sup> Změny na mozku se objevují řadu let před prvními příznaky choroby. Stanovení biochemických markerů ukazujících na průběh uvedených dějů může mít proto značný prognostický význam.<sup>3</sup>

Na výzkumu Alzheimerovy choroby (AD) se významně podílel britský chemik Christopher Martin Dobson (1949–2019), který objevil a popsal konformační přeměny proteinů (obr. 1). Ukázal, že vlivem nesprávné konformace vznikají nerozpustné proteinové agregáty, dochází k usazování amyloidových vláken a že k neurodegenerativním onemocněním dochází následkem kumulace těchto struktur. Je tak narušena fyziologická schopnost mozku odstraňovat metabolický odpad včetně  $\beta$ -amyloidu. Tato vlastnost se postupně ztrácí s věkem, což zvyšuje pravděpodobnost vzniku Alzheimerovy choroby. Dobsonovy poznatky nastínily cestu k léčbě AD v budoucnu.<sup>4,5,6</sup>

Dosavadní dostupná léčba pouze zpomaluje průběh onemocnění. Výzkum se zaměřuje na lék, který by měnil terciální strukturu proteinů tak, aby se zabránilo formování amyloidových fibril a tvorbě plaků.<sup>4,5,6</sup>

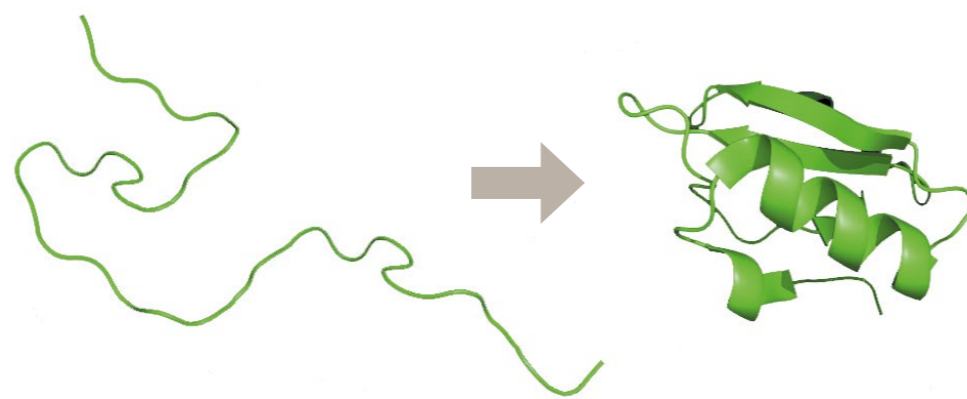
## Biochemické markery Alzheimerovy choroby

### tTau

Tau protein je bílkovina vázaná na mikrotubuly neuronů. Podílí se na stabilizaci sítě

jejich cytoskeletu. Vyšší koncentrace tau proteinu se do likvoru uvolňují při degeneraci neuronů.

Za patologických podmínek může docházet k tvorbě nerozpustných agregátů způsobujících synaptickou dysfunkci a smrt neurálních buněk.<sup>7</sup> Patologické zvýšení tau proteinu v likvoru je popisováno především u Alzheimerovy choroby, ale v některých případech roste také při cévní mozkové příhodě, poranění mozku či u jiných neurodegenerativních onemocnění.<sup>8,9</sup>



> Obr. 1: Ukázka „skládání“ proteinů<sup>5</sup>

### pTau

Tau protein často podléhá posttranslačním úpravám, mezi něž patří acetylace, deamidace, glykace, methylace a patologicky velmi významná fosforylace. Ta nejčastěji probíhá na hydroxyskupinách aminokyselin serinu a threoninu. Enzymy, které označujeme jako kinázy, hydroxyskupiny substrátu fosforylují, enzymy, které označujeme jako fosfatázy, substrát defosforylují. Za normálních okolností existuje rovnováha mezi defosforylací a fosforylací. Problém nastává, když fosforylace proteinu převáží nad jeho defosforylací, tau protein začne poškozovat mikrotubuly a může docházet k jeho agregaci. V mozku pacientů s AD je tau protein hyperfosforylovaný.<sup>8,9</sup>

### $\beta$ -amyloid

Amyloid beta (1-42) vzniká z amyloidového prekurzorového proteinu. Tvoří hlavní komponentu amyloidových plaků. V likvoru u Alzheimerovy choroby je hydrofobní  $\beta$ -amyloid snížen vzhledem ke své agregaci a ukládání. Představuje nejčasnější změny během rozvoje AD.<sup>10</sup>

### Homocystein

Jedním z rizikových faktorů pro neurologická onemocnění je zvýšená koncentrace homocysteinu v plazmě. Koncentrace homocysteinu v mozku vzrůstá s věkem. Vyšší koncentrace S-adenosyl homocysteinu v likvoru souvisí se zvýšenou koncentrací a nižší degradací pTau. Lze se tedy domnívat, že snížení hladin homocysteinu může chránit mozek proti kumulaci fosforylovaného tau proteinu.<sup>11</sup>

### Leptin

K nezávislým rizikovým faktorům AD patří obezita a životní styl. V tomto smyslu může hrát významnou roli stanovení leptinu – anorexigenního hormonu syntetizovaného v adipocytech. Leptin vykazuje neuroprotektivní vlastnosti, inhibuje amyloidogenní procesy, redukuje koncentraci fosforylovaného tau proteinu, a tak zlepšuje kognitivní funkce.<sup>1</sup>

Při hodnocení výsledků tTau, pTau a  $\beta$ -amyloidu byly využity cut-off hodnoty Roche uvedené v tabulce 1. V patologických případech dochází ke zvýšení tTau, pTau,

Parametr	Cut-off
tTau	>300 ng/l
pTau	>27 ng/l
$\beta$ -amyloid	$\leq 1,030$ ng/l
tTau/ $\beta$ -amyloid	>0,28
pTau/ $\beta$ -amyloid	>0,023

> Tab. 1: Cut-off hodnoty<sup>3</sup>

poměrů tau proteinů/ $\beta$ -amyloidu a snížení  $\beta$ -amyloidu.

## Materiál a metody

Stanovení tTau, pTau i  $\beta$ -amyloidu 1-42 bylo provedeno na přístroji **cobas® 8000**, modul **e 801**, s využitím elektrochemiluminiscenčního nekompetitivního stanovení pomocí reagensí Roche 2. generace (kat. č. 08821941 190 –  $\beta$ -amyloid, 08846685 190 – tTau, 08846715 190 – pTau). Biomarkery byly měřeny v likvoru získaném lumbální punkcí. Pracovali jsme se souborem 47 pacientů z Neurologické a Psychiatrické kliniky Brno. Projekt byl schválen Etickou komisí FN Brno (č. j. 01-090119/EK) jako Start-up grant. Všichni pacienti poskytli informovaný souhlas a byli rozděleni do dvou skupin. Skupina 1 zahrnovala 24 probandů s demencí neurodegenerativního rázu (AD, frontotemporální demence, smíšená demence, CMP + sekundární kognitivní deficit, ethylismus). Průměrný věk pacientů v této skupině byl 70 (55–85) roků. Do skupiny 2 bylo zařazeno 23 probandů s jinou neurologickou diagnózou (neuroborelióza, cefalea, myelomalácie, serózní meningitida). Věkový průměr v této skupině byl 56 (29–81) roků. Ke statistickému vyhodnocení byl použit nepárový Mann-Whitney test (pro tTau, pTau, tTau/ $\beta$ -amyloid a pTau/ $\beta$ -amyloid) a dvouvýběrový t-test (pro  $\beta$ -amyloid) v programu MedCalc, verze 12.5.0.

## Výsledky

Procentuální zastoupení patologických výsledků v souboru pacientů s demencí neurodegenerativního rázu a v souboru pacientů s jinou neurologickou diagnózou

u parametrů  $\beta$ -amyloid, tTau, pTau, tTau/ $\beta$ -amyloid a pTau/ $\beta$ -amyloid je uvedeno v tabulce 2. Nejvíce patologií jsme zaznamenali u  $\beta$ -amyloidu – 96 % ve skupině 1 a 48 % ve skupině 2. Parametr tTau se zvýšil u 54 % pacientů ve skupině 1 a zůstal pod hodnotou cut-off u všech pacientů ze skupiny 2 (viz tabulka 2).

Při statistickém porovnání parametrů  $\beta$ -amyloid, tTau, pTau, tTau/ $\beta$ -amyloid a pTau/ $\beta$ -amyloid u souboru pacientů s demencí neurodegenerativního rázu a souboru pacientů s jinou neurologickou diagnózou byl pozorován statisticky významný rozdíl u tTau a tTau/ $\beta$ -amyloid ( $P < 0,0001$ ), viz tab. 3. U ostatních sledovaných parametrů byly rozdíly mezi skupinami statisticky nevýznamné. V grafické podobě prezentujeme pouze srovnání skupin u poměru tTau/ $\beta$ -amyloid (obr. 2).

## Diskuse

Ve shodě s literárními údaji<sup>2,8</sup> naše výsledky ukazují, že v likvoru u pacientů s Alzheimerovou chorobou dochází k nárůstu tau proteinu celkového i fosforylovaného a ke snížení amyloidu beta (1-42). U Alzheimerovy choroby je významné diagnostikovat onemocnění co nejdříve, protože léky zpočátku mohou pozastavit progresi onemocnění a ovlivnit vývoj a kvalitu života nemocného i jeho rodiny.<sup>12</sup> K tomu přispívá stanovení tTau, pTau a  $\beta$ -amyloidu. Znalost koncentrace a vývoje těchto parametrů a jejich poměrů v likvoru má význam prognostický, k upřesnění stupně a vývoje Alzheimerovy choroby a v neposlední řadě v diferenciální diagnostice u neurodegenerativních onemocnění. Ukazuje se, že s využitím zmíněných laboratorních údajů není obtížné odlišit pacienty s AD jak od zdravých



	$\beta$ -amyloid	tTau	pTau	tTau/ $\beta$ -amyloid	pTau/ $\beta$ -amyloid
Skupina 1 – patologie [%]	96	54	23	75	54
Skupina 2 – patologie [%]	48	0	0	4	4

> **Tab. 2:** Procentuální zastoupení patologických výsledků v souboru pacientů s demencí neurodegenerativního rázu (Skupina 1 – 24 probandů) a souboru pacientů s jinou neurologickou diagnózou (Skupina 2 – 23 probandů) u sledovaných parametrů  $\beta$ -amyloid, tTau, pTau, tTau/ $\beta$ -amyloid a pTau/ $\beta$ -amyloid

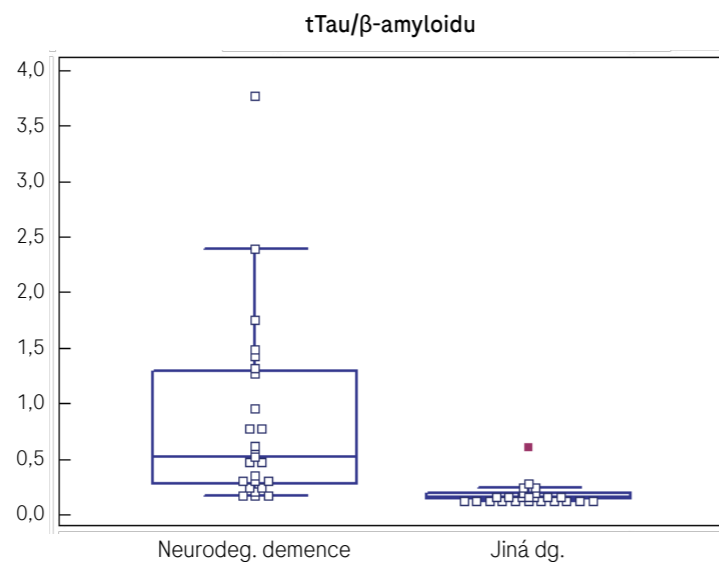
Parametr	Statistická metoda	Skupina 1 – medián	Skupina 2 – medián	P
tTau [ng/l]	Mann-Whitney test	315 (211,0–448,2)	160 (141,2–183,8)	<0,0001*
pTau [ng/l]	Mann-Whitney test	20,3 (13,0–28,3)	13,1 (11,1–16,0)	0,0132
tTau/ $\beta$ -amyloid	Mann-Whitney test	0,53 (0,0300–1,270)	0,16 (0,140–1,184)	<0,0001*
pTau/ $\beta$ -amyloid	Mann-Whitney test	0,026 (0,017–0,062)	0,014 (0,011–0,016)	0,0001

Parametr	Statistická metoda	Skupina 1 – průměr	Skupina 2 – průměr	P
$\beta$ -amyloid [ng/l]	Dvouvýběrový t-test	697 (539,0–853,9)	988 (851,2–1125,0)	0,0060

\* statisticky významný rozdíl mezi skupinami

> **Tab. 3:** Výsledky statistického srovnání souboru pacientů s demencí neurodegenerativního rázu (Skupina 1 – 24 probandů) a pacientů s jinou neurologickou diagnózou (Skupina 2 – 23 probandů) u sledovaných parametrů  $\beta$ -amyloid, tTau, pTau, tTau/ $\beta$ -amyloid a pTau/ $\beta$ -amyloid



> **Obr. 2:** Statistické porovnání poměru tTau/ $\beta$ -amyloid souboru pacientů s demencí neurodegenerativního rázu (Skupina 1 – 24 probandů) a pacientů s jinou neurologickou diagnózou (Skupina 2 – 23 probandů)

jedinců, tak i od pacientů s jiným typem demence včetně vaskulární, normotenzního hydrocefalu a také sekundární demence způsobené vlivy, jako je například alkoholismus.<sup>2</sup> V souboru sledovaném v této studii jsme pracovali s pacienty s různými diagnózami a bylo v něm pouze 5 pacientů s diagnostikovanou Alzheimerovou nemocí. Rozborem

výsledků se ukazuje, že u pacientů s AD dochází mnohem častěji k patologii všech sledovaných parametrů současně (u 4 jedinců z 5). U pacientů s jinou neurodegenerativní demencí tomu tak není. Tito pacienti mají mimo normu pouze 2–3 z pěti sledovaných parametrů. K patologii zde dochází nejčastěji u  $\beta$ -amyloidu (96 % ve skupině s demencí

neurodegenerativního rázu a 48 % ve skupině s jinou neurologickou diagnózou). To ho řadí k citlivým prognostickým parametrům, který klesá již před vypuknutím klinických příznaků demence, ale také snižuje jeho význam při odlišení jednotlivých diagnóz. Parametry tTau, pTau a používané poměry se jeví výrazně specifičtější (viz tabulky 2 a 3).

Situaci komplikuje pozorování, že značné procento pacientů trpí demencí smíšenou.

Lehmann a kol. měřili tTau, pTau a  $\beta$ -amyloid v likvoru v multicentrické studii s 1 743 pacienty s různými neurologickými onemocněními a vysokou hodnotou tTau s cílem získat cut-off pro diferenciální diagnostiku AD versus ostatní onemocnění. Ve sledovaném souboru bylo 105 pacientů trpících Alzheimerovou nemocí. Dle autorů pro Alzheimerovu chorobu svědčí pTau >60 pg/ml,  $\beta$ -amyloid <550 pg/ml a  $\beta$ -amyloid/pTau >8,3.<sup>13</sup> Tato kritéria umožňují jasnou diagnostiku. V našem souboru však nebyl jediný pacient s koncentrací pTau >60 pg/ml. Při hodnocení výsledků jsme proto vycházeli z cut-off hodnot v příbalových informacích firmy Roche<sup>3</sup> – viz tabulka 1. Při určení diagnózy neurologové vycházeli především z výsledků zobrazovacích metod

a z klinického stavu pacientů. V některých případech však došlo k upřesnění diagnózy právě s využitím výsledků tau proteinů a  $\beta$ -amyloidu. V práci budeme pokračovat, abychom při dalším hodnocení významu stanovení tTau, pTau a  $\beta$ -amyloidu měli k dispozici výsledky většího počtu pacientů. Za nevýhodu považujeme, že stanovení tTau, pTau a  $\beta$ -amyloidu použitou metodou je nutno provádět pouze z likvoru a je k němu tedy třeba invazivní odběr pomocí lumbální punkce.

Závěrem můžeme konstatovat, že stanovení tau proteinu celkového i fosforylovaného a amyloidu beta (1-42) má význam při diferenciální diagnostice, zjišťování závažnosti postižení i sledování progresu Alzheimerovy choroby a dalších neurodegenerativních onemocnění.



RNDr. Miroslava Beňovská, Ph.D.

Ústav laboratorní medicíny – Oddělení klinické biochemie FN Brno  
Kontakt: miroslava.benovska@fnbrno.cz  
V Ústavu laboratorní medicíny FN Brno pracuje jako primářka OKB. Dlouhodobě se zabývá analytickou i perianalytickou automatizací, ale také zaváděním nových progresivních parametrů do klinické praxe. Od r. 2005 je zástupkyní vedoucího/přednosty Katedry laboratorních metod Lékařské fakulty MU, kde působí jako odborný asistent.

#### Literatura

- Magalhães CA, Carvalho MG, Sousa LP, Caramelli P, Gomes KB. Leptin in Alzheimer's disease. *Clin Chim Acta*, 450, 2015, 162-168.
- Verbeek MM, Olde Rikkert MGM. Cerebrospinal Fluid Biomarkers in the Evaluation of Alzheimer Disease. *Clin Chem*, 54, 10, 2008, 1589-1591.
- Elecsys  $\beta$ -Amyloid (1-42) CSF II. Příbalový leták Roche.
- Holmes RO, Edison J, Baethge BA, Jacobson DR. Amyloidosis. *Medscape* 2021. <https://emedicine.medscape.com/article/335414-overview?fbclid=IwAR2rqYzOtGnG-4kQ6LFlzvkvVLeIP4t3v15WQz6mFp54qtQOKJonYg8mwY>.
- Rogers MB. Chris Dobson, Master of Protein Folding Research, Dies at 69. *Alzforum*, 2019. [https://www.alzforum.org/news/community-news/chris-dobson-master-protein-foldingresearch-dies69?fbclid=IwAR1EnxttYjdPhtYuQyxJtvoXBRXOdMhtwnQ0NTs3E5T54eBy1\\_POOb1zhd01](https://www.alzforum.org/news/community-news/chris-dobson-master-protein-foldingresearch-dies69?fbclid=IwAR1EnxttYjdPhtYuQyxJtvoXBRXOdMhtwnQ0NTs3E5T54eBy1_POOb1zhd01).
- Guo T, Noble W, Diane P, Hanger DP. Roles of tau protein in health and disease. *Acta Neuropathol* (2017) 133: 665-704.
- García Muñoz S, Martínez Salazar L, Imaz Ocharan M, Kapetanovic García S, Pérez Garay R, Aguayo Gredilla FJ. Cerebrospinal fluid Tau protein as a marker of brain injury. *Clin Chim Acta*, 493, Supplement 1, 2019, 610.
- Avila J, Jiménez JS, Sayas CL, Bolós M, Zabala JC, Rivas G et al. Tau Structures. *Front Aging Neurosci*. 8, 2016. DOI: 10.3389/fnagi.2016.00262.
- Irvine GB, El-Agnaf OM, Shankar GM, Walsh DM. Protein Aggregation in the Brain: The Molecular Basis for Alzheimer's and Parkinson's Diseases. *Mol Med* 14, 2008, 451-464.
- Obeid R, Kasoha M, Knapp LP, Kostopoulos P, Becker G, Fassbender K, Herrmann W. Folate and Methylation Status in Relation to Phosphorylated Tau Protein(181P) and  $\beta$ -Amyloid(1-42) in Cerebrospinal Fluid. *Clin Chem*, 53, 6, 2007, 1129-1136.
- Hájková L ... a jak je na tom vaše paměť? *Labor Aktuell*, 23. 4. 2019.
- Lehmann S, Paquet C, Malaplate-Armand C, Magnin E, Schraen S, Quillard-Muraine M. et al. Diagnosis associated with Tau higher than 1200 pg/mL: Insights from the clinical and laboratory practice. *Clin Chim Acta*, 495, 2019, 451-456.



MUDr. Václav Vybíhal, Ph.D.<sup>1,2</sup>,  
RNDr. Miroslava Beňovská, Ph.D.<sup>3,4</sup>,  
MUDr. Martin Plevko<sup>1,2</sup>,  
prof. MUDr. Martin Smrčka, Ph.D., MBA<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Neurochirurgická klinika, LF MU, Brno;

<sup>2</sup> Neurochirurgická klinika, FN Brno;

<sup>3</sup> Katedra laboratorních metod, LF MU, Brno;

<sup>4</sup> Ústav laboratorní diagnostiky – OKB, FN Brno

Podpořeno MZ ČR – RVO  
(FNBr, 65269705)

## Likvorový triplet u pacientů s idiopatickým normotenzním hydrocefalem

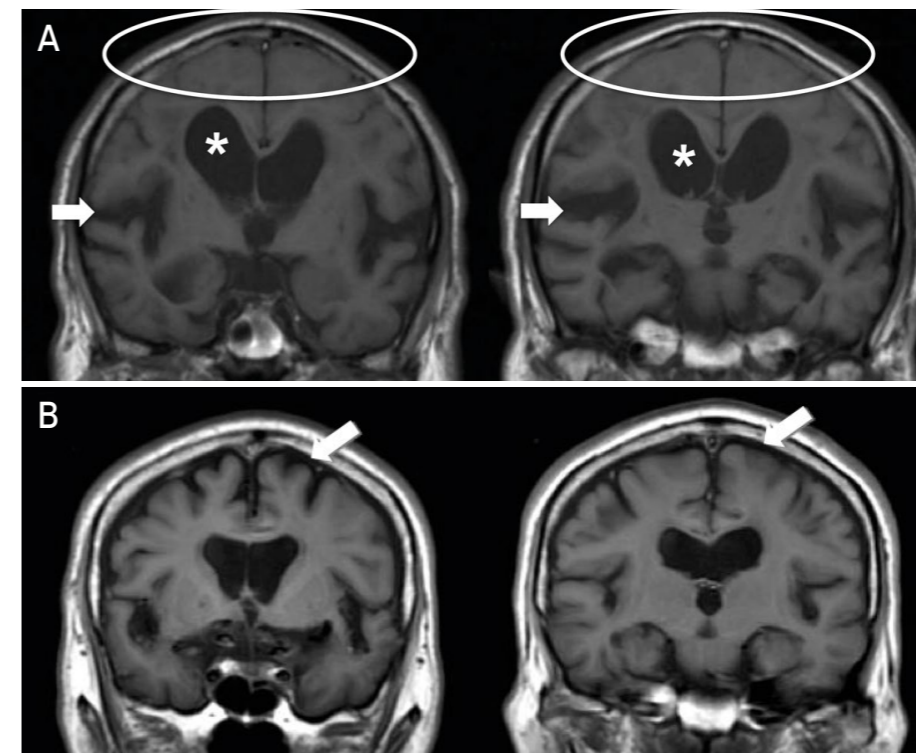
Idiopatický normotenzní hydrocefalus je onemocnění vyskytující se typicky u seniorů. Manifestuje se poruchou chůze, demencí a sfinkterovými potížemi. Zkratová operace může mít terapeutický efekt na všechny příznaky včetně demence, která je u tohoto onemocnění léčitelná. Hlavní roli ve výběru pacientů, u nichž lze předpokládat pozitivní vliv operace, má řádná diferenciální diagnostika a provádění suplementárních testů. Použití likvorového tripletu u těchto pacientů je přínosem v diferenciální diagnostice, pro zjištění koincidence dalších nemocí, sledování efektu zkratové operace a získání dalších poznatků v této oblasti.

případů ale žádný takový faktor známý není a pak je NTH v tomto případě označován jako idiopatický (iNTH).

Kompletní trias bývá ale vyjádřena u necelé poloviny pacientů. Ojemann a Fischer<sup>4</sup> byli mezi prvními, kteří zdůrazňovali poruchu chůze jako hlavní klinický příznak NTH. Zároveň je typicky prvním symptomem.<sup>5</sup> Kognitivní profil u pacientů s NTH připomíná subkortikální demenci. Je charakteristický poruchou pozornosti, zpomalením myšlenkového procesu, apatií, netečností, poruchou učení, ztrátou motivace a poruchou paměti.<sup>1</sup> V kognitivním profilu bývá u jednotlivých pacientů poměrně velká variabilita. Porucha kognitivních funkcí je při včasné a adekvátní léčbě reverzibilní. Proto také bývá NTH označován jako léčitelná demence. Inkontinence je nejméně prozkoumaným symptomem z klasické trias. V počátečních stádiích choroby se objevuje zvýšená frekvence a urgence močení bez inkontinence.<sup>1</sup> Později s progresí se může změnit na močovou inkontinenci intermitentní či trvalou. V pozdní fázi onemocnění se vzácně může objevit i inkontinence stolice.

Za základní zobrazovací metodu při diagnostice NTH lze považovat magnetickou

rezonanci (MR) (obrázek 1). Oproti výpočetní tomografii (CT) nabízí několik výhod.<sup>6</sup> Umožňuje jednoznačně se vyjádřit k případné stenóze Sylviova mokovodu, která má podobné klinické příznaky, ale zcela rozdílnou terapii (endoskopické ošetření). Nabízí také potenciál v diferenciální diagnostice a vyšetření komorbidit – cerebrovaskulární choroby, identifikace periventrikulárních změn aj.



> **Obr. 1:** MR obraz pacienta s iNTH (obrázek A) a mozkovou atrofií (obrázek B). Pramen: Hashimoto M, Ishikawa M, Mori E et al. Diagnosis of idiopathic normal pressure hydrocephalus is supported by MRI-based scheme: a prospective cohort study. *Cerebrospinal Fluid Res.* 2010; 7(1): 18.

Na horním obrázku (A) typický MR obraz v koronárním řezu na T1-vážené sekvenci u pacienta s iNTH s nálezem dilatovaného komorového systému (\*), oploštělé gyri a vymizelé sulky (označeno oválem) a zvětšená Sylviova rýha (označeno šipkou). Na dolních snímcích (B) pacient s difúzním rozšířením subarachnoidálních prostor proporcionálně k ventrikulomegalii s otevřenými subarachnoidálními prostory na konvexitě (označeno šipkou) odpovídající atrofii mozku.

Diferenciální diagnostika (tabulka 1) zahrnuje řadu onemocnění, která mohou určitým způsobem napodobit alespoň některý z příznaků NTH.<sup>1</sup> Je nutno vyloučit, že klinické potíže způsobuje jiné onemocnění. Navíc pacient může trpět jak NTH, tak i dalšími chorobami. Pouhá selekce pacientů na základě klinického vyšetření a nálezů na zobrazovacích metodách nebyla příliš přesná.<sup>7</sup> Predikce efektu zkratové operace se pohybovala na základě pouze klinických příznaků mezi 27 % až 53 % a v kombinaci s CT vyšetřením dosahovala 58 %. Proto bylo do klinické praxe zavedeno několik suplementárních testů, jejichž účelem bylo zvýšit prediktivní hodnotu efektu zkratové

operace. Mezi nejvíce rozšířené patří tzv. tap test neboli jednorázové (některými autory popřípadě i opakované) odpouštění MM, dále lumbální infuzní test se stanovením tzv. výtokového odporu (test schopnosti vstřebávat MM) a zevní lumbální drenáž (sledování efektu derivace MM na klinický stav pacienta). Poslední dva zmiňované testy jsou v současnosti považovány za nejvíce senzitivní a specifické testy.<sup>8</sup>

Jak vyplývá z tabulky, jedná se o poměrně širokou škálu onemocnění, která mohou mít alespoň jeden z příznaků podobající se klinickému obrazu iNTH. U některých z uvedených nemocí, zejména v počátečních stádiích, může být rozlišení obtížnější. Naopak u jiných nemusí činit diferenciální diagnostika výraznější obtíže. A také nelze opomenout, že jednotlivá onemocnění se pak mohou u některých pacientů vyskytovat současně. Ojedinele je zařazen chorob v tabulce diskutabilní – amyotrofická laterální skleróza.

### Biomarkery

Měření biomarkerů v MM odráží neuropatologické změny mozkové tkáně a hraje tak

### Diferenciální diagnostika pacientů s idiopatickým normotenzním hydrocefalem

Neurodegenerativní onemocnění
Alzheimerova choroba
Parkinsonova choroba
Huntingtonova choroba
Demence s Lewyho tělísky
Frontotemporální demence
Kortikobazální degenerace
Progresivní supranukleární obrna
Multisystémová atrofie
Spongiformní encefalopatie
Amyotrofická laterální skleróza
Vaskulární demence
Cerebrovaskulární onemocnění
Iktus
Multiinfarktová demence
Binswangerova choroba
Cerebrální autozomálně dominantní arteriopatie se subkortikálními infarkty a leukoencefalopatií (CADASIL)
Vertebrobasilární insuficience
Infekční onemocnění
Borelióza
HIV
Syfilis
Urologická onemocnění
Infekce močových cest
Nádor močového měchýře či prostaty
Benigní hyperplazie prostaty
Další onemocnění
Deficit vitamínu B12
Kolagenózy
Epilepsie
Deprese
Trauma mozku
Spinální stenóza
Chiariho malformace
Wernickeova encefalopatie
Karcinomatóza mening
Tumor míchy
Jiné typy hydrocefalu
Stenóza Sylviova mokovodu
Arestovaný hydrocefalus
LOVA (long-standing overt ventriculomegaly syndrome)
Obstrukční hydrocefalus

> **Tab. 1:** Zdroj: Relkin N, Marmarou A, Klinge P et al. Diagnosing idiopathic normal-pressure hydrocephalus. *Neurosurgery.* 2005; 57(Suppl 3): S4-16.

důležitou roli ve stanovení etiologických mechanismů vedoucích k tomuto stavu. Navíc biomarkery mohou upřesnit diagnózu NTH a také odlišit jiná neurologická onemocnění, která mohou napodobovat NTH, ale nelze u nich očekávat efekt zkratové operace. Demence bývá jednou z nejčastěji zvažovaných onemocnění v rámci diferenciální diagnostiky NTH, u kterého porucha chůze zpravidla předchází poruše kognitivních

funkcí. Nejčastěji se vyskytující Alzheimerova demence (AD) je pak první demencí zvažovanou v rámci diferenciální diagnostiky. Přehled srovnání biomarkerů u iNTH a AD je uveden v tabulce 2.<sup>9</sup>

**Materiál a metody**

Vzorky MM byly získány od pacientů, u kterých byly prováděny suplementární

testy (lumbální infuzní test a zevní lumbální drenáž) na iNTH a/nebo podstoupili zkratovou operaci. Zkratové operace jsou indikovány u pacientů, kteří mají předpoklad zlepšení klinického stavu po operačním výkonu. Nemocní, kteří na základě provedeného testování nemají předpoklad příznivého efektu chirurgické terapie, podstupují pouze zmíněné testy. Všem pacientům byla odebrána důkladně anamnéza, především se zaměřením na onemocnění a poškození centrální nervové soustavy, současně byli řádně klinicky vyšetřeni včetně analýzy videodokumentace pořízené při 10metrovém testu chůze. Kognice byla vyšetřena pomocí Mini-Mental State Examination (MMSE) neboli krátkého testu kognitivních funkcí, Addenbrookského kognitivního testu revidovaného v roce 2010 (ACE-R) a Montrealského kognitivního testu (MoCA). Standardní zobrazovací metodou bylo provedení MR mozku, která je nezbytná pro klasifikaci hydrocefalu a verifikaci, že lze provést suplementární testy (ty nelze provádět v případě obstrukčního hydrocefalu).

Vzorky MM byly odebrány pomocí lumbální punkce a u pacientů se zavedeným shuntem punkcí z rezervoáru nebo komůrky ventilu, které jsou umístěny v podkoží na hlavě a odběr je tak minimálně zatěžující na rozdíl od lumbální punkce. Všichni pacienti podepsali informovaný souhlas schválený Etickou komisí FN Brno. Stanovení β-amyloidu 1-42, celkového tau proteinu i fosforylovaného tau proteinu probíhalo na přístroji firmy Roche **cobas**® 8000 s modulem **e 801**, který využívá elektrochemiluminiscenčního nekompetitivního stanovení pomocí reagentů 2. generace (tabulka 3).

Parametr	Hraniční hodnota
tTau	<300 ng/l
pTau	<27 ng/l
β-amyloid	>1 030 ng/l
tTau/β-amyloid	<0,28
pTau/β-amyloid	<0,023

> **Tab. 3:** Normální hodnoty, jejichž překročení znamená patologii

**Přehled biomarkerů u idiopatického normotenzního hydrocefalu a Alzheimerovy demence**

Biomarker	iNTH	AD
Aβ42 (amyloid-β-42)	↓	↓
tTau (total tau – celkový tau protein)	↓/-	↑
pTau (phosphorylated tau – fosforylovaný tau protein)	↓/-	↑
NFL (neurofilament light chains – lehké řetězce neurofilament)	↑	není dostupné
MBP (myelin basic protein – myelinový bazický protein)	↑	↑
LRG (Leucine-rich-α2-glycoprotein – α2 glykoprotein bohatý na leucin)	↑	↑
TNF-α (Tumor-necrosis factor α – tumor nekrotizující faktor α)	↑	není dostupné
TGF-β1 (Transforming growth factor β1 – transformující růstový faktor β1)	↑	není dostupné
IL-1β (interleukin-1β)	↑	↑
IL-6 (interleukin-6)	↑	↑
IL-10 (interleukin-10)	↑	↑
TFPI-2 (Tissue factor pathway inhibitor 2 – inhibitor tkáňového faktoru 2)	↑	↑
YKL-40 (Chitinase-3-like protein-1 – protein podobný chitináze 3)	↑	↑
MCP-1 (Monocyte chemoattractant protein-1 – monocytární chemotaktický protein 1)	↑	↑
SOM (somatostatin)	↑/↓	není dostupné
VIP (Vasoactive intestinal peptide – vazoaktivní intestinální peptid)	↓	není dostupné
NPY (Neuropeptide Y – neuropeptid Y)	↓	není dostupné
DSIP (Delta-sleep inducing peptide – delta spánek indukující peptid)	↓	není dostupné
NGF (Nerve growth factor – nervový růstový faktor)	↑↑	není dostupné
VEGF (Vascular endothelial growth factor – vaskulární endotelový růstový faktor)	↑	není dostupné
GFAP (Glial fibrillary acidic protein – gliální fibrilární acidický protein)	↑	není dostupné
PGDS (Prostaglandin D synthase – prostaglandin D syntáza)	↓	-

> **Tab. 2:** Biomarkery jsou uvedeny zkratkou, anglickým a českým názvem. Symbol „-“ znamená normální hodnotu, „↓“ sníženou a „↑“ zvýšenou hodnotu. Upraveno podle: Zhang XJ, Guo J, Yang J. Cerebrospinal fluid biomarkers in idiopathic normal pressure hydrocephalus. Neuroimmunol Neuroinflammation 2020; 7:109-119. <http://dx.doi.org/10.20517/2347-8659.2019.018>

**Hodnoty biomarkerů u 30 sledovaných pacientů s iNTH (2019–2021)**

	Celkem (průměr/medián minimum–maximum)	Před operací (průměr/medián minimum–maximum)	Po operaci (průměr/medián minimum–maximum)	Neoperovaní (průměr/medián minimum–maximum)
<b>Věk</b> (roky)	68,8 / 71,5 (51,0–78,6)	67,9 / 67,9 (51,0–78,4)	67,9 / 67,9 (51,0–78,4)	70,8 / 72,6 (58,1–78,6)
<b>MMSE</b> (body)	25 / 26 (17–29)	25 / 25 (19–29)	26 / 27 (17–29)	25 / 26 (17–29)
<b>β-amyloid</b> (ng / l)	633 / 537 (200–1437)	568 / 487 (228–1434)	606 / 374 (200–1414)	635 / 492 (387–1437)
<b>tTau</b> (ng / l)	194 / 139 (80–1300)	136 / 107 (80–329)	165 / 109 (80–415)	255 / 130 (95–1300)
<b>pTau</b> (ng / l)	13,2 / 10,8 (8,0–33,6)	11,5 / 9,3 (8,0–28,5)	14,1 / 8,5 (8,0–36,5)	11,9 / 9,0 (8,0–24,6)
<b>tTau/β-amyloid</b> (ng / l)	0,31 / 0,28 (0,14–0,90)	0,29 / 0,23 (0,15–0,79)	0,33 / 0,33 (0,14–0,77)	0,32 / 0,25 (0,18–0,90)
<b>pTau/β-amyloid</b> (ng / l)	0,026 / 0,023 (0,014–0,062)	0,024 / 0,020 (0,014–0,062)	0,028 / 0,026 (0,015–0,029)	0,019 / 0,019 (0,015–0,029)

> **Tab. 4:** Přehled výsledků naměřených parametrů v jednotlivých skupinách

**Výsledky**

Od 1. 1. 2019 do 31. 12. 2021 bylo odebráno celkem 41 vzorků MM u 30 pacientů s iNTH. Průměrný věk pacientů byl 68,9 let, medián 71,5 roku. Nejmladšímu pacientovi bylo 51,0 roku a nejstaršímu 78,6 let. 11 pacientů podstoupilo pouze testování a zkratová operace u nich nebyla indikována. U 19 nemocných byla indikována zkratová operace a u 11 těchto pacientů byly získány vzorky jak před operací, tak i po ní,

průměrně za 9,3 měsíce s minimem 1,9 měsíce a maximem 20,0 měsíce. Výsledky jsou přehledně uvedeny v tabulce 4.

Celkově byla ve skupině těchto pacientů snížena hladina β-amyloidu a hladiny tTau a pTau proteinů byly sniženy. Statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými podskupinami nebyly prokázány. Mírně zvýšený byl poměr tTau/β-amyloidu a také poměr pTau/β-amyloidu kromě podskupiny pacientů pouze testovaných. Dva pacienti

s implantovaným shuntem (10,5% operovaných) nebyli zlepšeni. Oba měly nízkou (podprůměrnou vzhledem k ostatním pacientům ve skupině) hladinu β-amyloidu a výrazněji zvýšené patologické poměry tTau/β-amyloidu a pTau/β-amyloidu. U tří pacientů (10%) byla snižená hladina β-amyloidu a zároveň zvýšená hodnota tTau a pTau proteinu a u osmi (26,7%) pacientů byl nález snížené hladiny β-amyloidu doprovázen patologickými poměry tTau/β-amyloidu a pTau/β-amyloidu.



## Diskuse

Porucha resorpce MM vede k jeho patologickému toku do periventrikulárních oblastí mozku a indukuje tak kaskádu patologických procesů, jako je edém a následné neuronální degenerativní změny.<sup>10</sup> Měření různých biomarkerů v MM tak odráží neuropatologické změny mozkové tkáně a může hrát důležitou roli ve stanovení etiologických mechanismů vedoucích k tomuto stavu. Navíc biomarkery mohou upřesnit diagnózu iNTH a zároveň odlišit jiná neurologická onemocnění, která mohou napodobovat iNTH, ale nelze v nich očekávat efekt zkratové operace.<sup>11</sup> Limitujícím faktorem těchto biomarkerů je ale multifaktoriální etiologie iNTH, kdy většina těchto biomarkerů není specifická pro iNTH a výsledky mohou být navíc zkráceny koincencí s řadou dalších neurologických onemocnění. Typickým příkladem je pak například limitace v rozlišení samotného iNTH a jeho koincidence s AD<sup>12</sup> a predikce efektu zkratové operace na kognitivní funkce v tomto případě.<sup>13</sup> Významné je sledování biomarkerů v čase a jejich změna, typicky před operací a po ní, kdy můžeme sledovat efekt operace a také případnou progresi komorbidit.

Na odstraňování mozkových metabolitů se podílí glymfatický systém mozku, kdy MM a intersticiální tekutina proudí přes perivaskulární prostory do meningeálních a cervikálních lymfatických cév. Glymfatický flux je ovlivňován arteriálními pulzacemi vzniklými během srdečního cyklu a změněnou intrakraniální tlakovou pulzabilitou. Proces očištění mozkové tkáně probíhá především v době spánku. U pacientů s iNTH se popisuje spánková porucha, respektive obstrukční spánková apnoe až u 90 % pacientů, která způsobuje dysfunkci glymfatického systému a tím zvýšenou agregaci  $\beta$ -amyloidu. Porucha glymfatického systému se vyskytuje jak u AD, tak u iNPH. Kromě toho se setkáváme s dalšími patologickými jevy u obou těchto nemocí – zánětlivými změnami nebo změnami aquaporinu 4.<sup>14</sup> Lze se tak v literatuře setkat i s pojmem AD-NTH syndrom, kde autoři popisují, že porucha likvordynamiky vede ke vzniku těchto onemocnění. U pacientů se sníženou produkcí MM vzniká AD a u pacientů se sníženou resorpcí MM NTH.



Vznik jednoho onemocnění pak potencuje vznik toho druhého.<sup>15</sup>

$\beta$ -amyloid je snížený jak u iNTH, tak i u AD ve srovnání s kontrolní skupinou zdravých pacientů. Tau protein je mikrotubulární protein a je ukazatelem neuronální degenerace.<sup>16</sup> Tau a fosforylovaný tau protein jsou zvýšené u AD, ale u pacientů iNTH a zdravých kontrol jsou normální nebo snížené, což je možné využít k rozlišení pacientů s AD a iNTH. U iNTH se předpokládá, že snížená produkce  $\beta$ -amyloidu vzniká v důsledku sníženého mozkového metabolismu v periventrikulárních oblastech<sup>17,18</sup> a intersticiální depozita  $\beta$ -amyloidu jsou následkem porušené funkce glymfatického systému. Někteří autoři také upozorňují na rostrokaudální dynamiku biomarkerů MM (rostrokaudální – podél dlouhé osy těla, od hlavy sestupně ke konci těla).<sup>19</sup>

Výsledky v našem souboru pacientů potvrzují celkově sníženou hladinu  $\beta$ -amyloidu u pacientů s iNTH a snížené hladiny tTau a pTau proteinů. U pacientů s elevovanými hladinami těchto proteinů, popřípadě patologickými hodnotami tTau/ $\beta$ -amyloidu a pTau/ $\beta$ -amyloidu, lze předpokládat AD nebo kombinaci iNTH a AD. Limitem našeho souboru je menší množství pacientů a nezanedbatelné individuální rozdíly mezi nimi.

## Závěr

Použití likvorového tripletu je užitečné v diferenciální diagnostice idiopatického normotenzního hydrocefalu vzhledem k přesnějšímu odlišení od Alzheimerovy demence nebo stanovení koincidence těchto dvou onemocnění. Sledování biomarkerů s časovým odstupem dovede zhodnotit efekt operace na biochemické úrovni, lépe porozumět těmto procesům a také potvrdit případný rozvoj Alzheimerovy demence v průběhu času.



MUDr. Václav Vybíhal, Ph.D.

Kontakt:

Václav Vybíhal pracuje jako neurochirurg na Neurochirurgické klinice FN Brno a je odborným asistentem na Lékařské fakultě Masarykovy univerzity v Brně. Dlouhodobě se věnuje problematice hydrocefalu. Je autorem nebo spoluautorem řady odborných publikací. Je členem České neurochirurgické společnosti ČLS JEP, CENS a EANS.

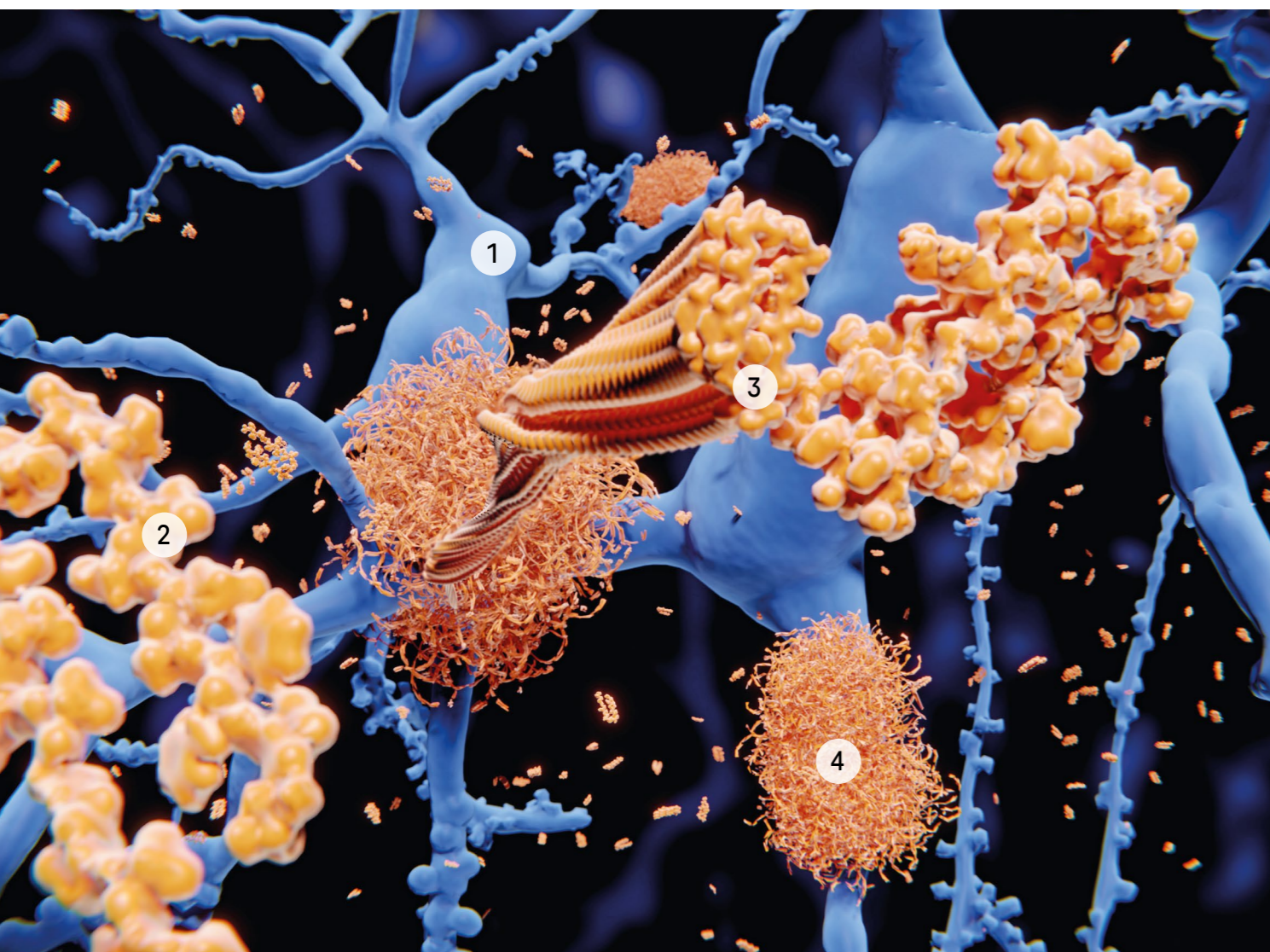
## Literatura

1. Relkin N, Marmarou A, Klinge P et al. Diagnosing idiopathic normal-pressure hydrocephalus. *Neurosurgery*. 2005; 57 (3 Suppl): S4-16; discussion ii-v. doi: 10.1227/01.neu.0000168185.29659.c5.
2. Hakim S. Some observations on CSF pressure. *Hydrocephalus syndrome in adults with 'normal' CSF pressure (Recognition of a new syndrome)* [dissertation]. Bogotá (Colombia): Javeriana University; 1964.
3. Adams RD, Fischer CM, Hakim S et al. Symptomatic occult hydrocephalus with "normal" cerebrospinal-fluid pressure. A treatable syndrome. *N Engl J Med*. 1965; 273: 117-126.
4. Ojemann RG, Fisher CM, Adams RD et al. Further experience with the syndrome of "normal" pressure hydrocephalus. *J Neurosurg* 1969; 31(3): 279-294.
5. Shprecher D, Schwalb J, Kurlan R. Normal pressure hydrocephalus: diagnosis and treatment. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2008; 8: 371-376.
6. Hashimoto M, Ishikawa M, Mori E et al. Diagnosis of idiopathic normal pressure hydrocephalus is supported by MRI-based scheme: a prospective cohort study. *Cerebrospinal Fluid Res*. 2010; 7(1): 18.
7. Vanneste J, Augustijn P, Dirven C et al. Shunting normal-pressure hydrocephalus: do the benefits outweigh the risks? A multicenter study and literature review. *Neurology*. 1992; 42(1): 54-59.
8. Marmarou A, Bergsneider M, Klinge P et al. The value of supplemental prognostic tests for the preoperative assessment of idiopathic normal pressure hydrocephalus. *Neurosurgery*. 2005; 57(Suppl 3): S17-28.
9. Zhang XJ, Guo J, Yang J. Cerebrospinal fluid biomarkers in idiopathic normal pressure hydrocephalus. *Neuroimmunol Neuroinflammation* 2020; 7: 109-119. <http://dx.doi.org/10.20517/2347-8659.2019.018>
10. Keong NC, Pena A, Price SJ et al. Imaging normal pressure hydrocephalus: theories, techniques, and challenges. *Neurosurg Focus* 2016;41: E11.
11. Pomeranec IJ, Bond AE, Lopes MB et al. Concurrent Alzheimer's pathology in patients with clinical normal pressure hydrocephalus: correlation of high-volume lumbar puncture results, cortical brain biopsies, and outcomes. *J Neurosurg* 2016; 124: 382-388.
12. Graff-Radford NR. Alzheimer CSF biomarkers may be misleading in normal-pressure hydrocephalus. *Neurology* 2014; 83: 1573-1575.
13. McGovern RA, Nelp TB, Kelly KM et al. Predicting cognitive improvement in normal pressure hydrocephalus patients using preoperative neuropsychological testing and cerebrospinal fluid biomarkers. *Neurosurgery* 2019; 85: E662-669.
14. Reeves BC, Karimy JK, Kundishora AJ et al. Glymphatic system impairment in Alzheimer's disease and idiopathic normal pressure hydrocephalus. *Trends Mol Med* 2020;26: 285-295.
15. Silverberg GD, Mayo M, Saul T et al. Alzheimer's disease, normal-pressure hydrocephalus, and senescent changes in CSF circulatory physiology: a hypothesis. *The Lancet Neurology* 2003; 8(2): 506-511, [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(03\)00487-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(03)00487-3).
16. Gao Y, Tan L, Yu JT. Tau in Alzheimer's disease: mechanisms and therapeutic strategies. *Curr Alzheimer Res* 2018; 15: 283-300.
17. Momjian S, Oowler BK, Czosnyka Z et al. Pattern of white matter regional cerebral blood flow and autoregulation in normal pressure hydrocephalus. *Brain* 2004; 127: 965-972.
18. Jeppsson A, Wikkelso C, Blennow K et al. CSF biomarkers distinguish idiopathic normal pressure hydrocephalus from its mimics. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2019; 90: 1117-1123.
19. Tarnaris A, Toma AK, Chapman MD et al. Rostrocaudal dynamics of CSF biomarkers. *Neurochem Res*. 2011; 36(3): 528-322. doi: 10.1007/s11064-010-0374-1.

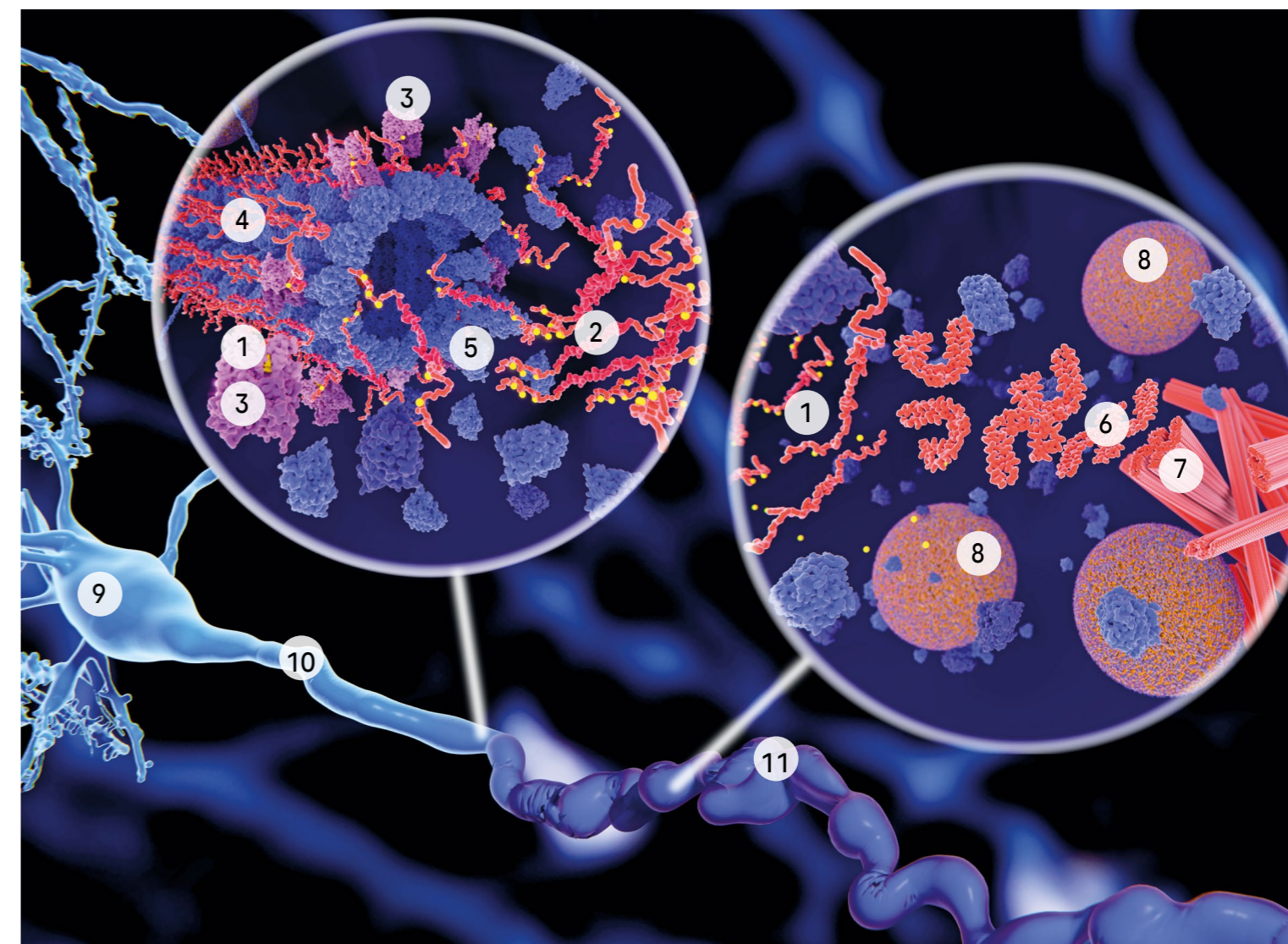


# Mechanismus působení $\beta$ -amyloidu a tau proteinu u Alzheimerovy choroby

Počítačové ilustrace mechanismu působení s komentářem. Autor: J. GAERTNER. <https://stories.sciencephoto.com/portfolio/juan-gaertner/>. Zdroj: SCIENCE PHOTO LIBRARY



> **Amyloid beta.** Ilustrace procesu vedoucího k tvorbě amyloidních plaků na neuronech (1, modře). Zde zobrazené buněčné děje probíhají poté, co je amyloidní prekurzorový protein rozštěpen gama a beta sekretázami. Vzniklý amyloid beta (2, oranžová) opouští membránu a agreguje (3), přičemž tvoří nerozpustné husté plaky (4), které jsou charakteristickým znakem Alzheimerovy choroby. Amyloid beta je toxický, vyvolává synaptickou dysfunkci, narušuje konektivitu a souvisí s odumíráním neuronů ve specifické oblasti mozku.



> **Tau protein.** Výřezy znázorňují dva způsoby dopadu patologické fosforylace (1, žlutá) proteinů tau (2, červenooranžová) kinázami (3, modrofialová) na nervové buňky. Tau protein přirozeně spoluutváří a stabilizuje strukturu mikrotubulů (4, výřez vlevo). V důsledku hyperfosforylace ale ztrácí tuto schopnost, což způsobuje rozpad mikrotubulů (5). Uvolněný protein agreguje (6, výřez vpravo) do nerozpustných vláken (7) a tvoří tzv. neurobrilární klubka, která se typicky nacházejí v dendritech a v buněčných tělech nervových buněk. Neurony tím ztrácejí svůj tvar i funkci a posléze se rozpadají. Přerušeno je také transport synaptických vezikul (8, oranžovomodré kuličky, výřez vpravo). Hlavní obrázek znázorňuje nervovou buňku (9, neuron, modře, vlevo dole) a její axon (napříč dole), zobrazený v normálním (10) a deformovaném (11) stavu.

Alzheimerova choroba (AD) se vyznačuje rozsáhlou neurodegenerací, zánětlivým procesem a zhoršením kognitivních funkcí. Patologicky je charakterizována hromaděním extracelulárního amyloidu a intraneuronálních klubek tvořených hyperfosforylovaným tau. Ačkoliv onemocnění bylo popsáno Aloisem Alzheimerem před více než sto lety, stále zůstává zcela nejasným klíčovým mechanismem, který spouští procesy na různých úrovních a jejich kauzalitě. Vedle celé plejády genetických faktorů od potvrzené asociace s apolipoproteinem E, genů ovlivňujících metabolismus amyloidu beta až po cholesterolový metabolismus, funkčnost synapsí a membránové procesy epidemiologické studie poukázaly na významnou korelaci vzniku a rozvoje AD s přítomností kardiovaskulárních rizikových faktorů. To vedlo ke vzniku tzv. vaskulární hypotézy. Rizikové faktory, jako je hypertenze, diabetes

a hyperhomocysteinémie, signifikantně zvyšují pravděpodobnost rozvoje AD, což naznačuje jejich přídavný nebo dokonce synergický účinek. Narušení normální hemodynamiky mozku způsobuje např. chronickou mozkovou hypoperfuzi (CCH), ischemii nebo hypoxii. Následný oxidační stres, úzce spojený se zánětem, může podle této hypotézy chronickým působením vést k abnormální agregaci amyloidu a tau proteinu. Příčinná souvislost těchto vaskulárních rizikových faktorů na vznik AD však zůstává z velké části neznámá.

Sanny Scheffer, Dorien M.A. Hermkens, Louise van der Weerd, Helga E. de Vries and Mat J.A.P. Daemen Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2021;41:1265–1283. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.120.311911>



RNDr. Miroslava Beňovská, Ph.D.<sup>1,2</sup>

Ing. Martina Podborská, Ph.D.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Ústav laboratorní medicíny – OKB FN Brno

<sup>2</sup> Katedra laboratorních metod LF MU

## Úvod

V srpnu roku 2021 byly na český trh uvedeny reagentie 2. generace pro automatizované metody Roche. Výhodou analýzy tau proteinu celkového (tTau), tau proteinu fosforylovaného (pTau) a beta amyloidu (1-42) ( $\beta$ -amyloid) reagentiemi 2. generace je možnost provedení na všech široce dostupných imunochemických modulech **cobas e**, zajišťující snadné zavedení do běžného laboratorního provozu. Ve srovnání s reagentiemi předchozí generace došlo k největší změně u stanovení  $\beta$ -amyloidu. Metoda byla restandardizována na IFCC CRM, byl zvýšen rozsah měření (z 200–1 700 na 150–2 500 ng/l). Cut-off hodnota se u  $\beta$ -amyloidu změnila z 1 000 na 1 030 ng/l. Dále byl zjednodušen preanalytický protokol. Odběr i analýzy se provádějí ve zkumavkách pro CSF kat. č. 63.614.625 (Sarstedt) a je možné standardně pracovat s čerstvým vzorkem. Výsledky jsou konzistentní s PET.<sup>4,6</sup>

Vzhledem k tomu, že na našem pracovišti byly do 8/2021 používány reagentie 1. generace a měli jsme zájem využít výhod nových setů, provedli jsme srovnání obou metod a výsledky statisticky vyhodnotili.

## Materiál a metoda

Stanovení tTau a pTau 1. generace bylo prováděno na přístroji **cobas e 411**

# Stanovení $\beta$ -amyloidu (1-42), tau proteinu celkového a tau proteinu fosforylovaného – srovnání reagentií Roche 1. a 2. generace

Stanovení beta amyloidu (1-42), tau proteinu celkového a tau proteinu fosforylovaného je využíváno při diagnostice Alzheimerovy choroby a jiných neurodegenerativních onemocnění. Kromě automatizovaných metod<sup>1</sup> je laboratorně prováděna především ELISA<sup>2</sup> a multiplexové techniky<sup>3</sup>.

a stanovení  $\beta$ -amyloidu na přístroji **cobas**<sup>®</sup> 6000, modul **e 601** (v Lab Med spol. s r.o., Brno). Metody tTau, pTau i  $\beta$ -amyloid 2. generace byly měřeny na přístroji **cobas**<sup>®</sup> 8000, modul **e 801**. Projekt byl schválen Etickou komisí FN Brno (č. j. 01-090119/EK) v rámci Start-up grantu. Katalogová čísla

jednotlivých souprav jsou uvedena v tab. 1. Principem testů je elektrochemiluminiscenční nekompetitivní analýza. Srovnání bylo provedeno na souboru 67 vzorků a zhodnoceno za použití Passing-Bablokovy regresní analýzy a Bland-Altmanova rozdílového grafu (sw MedCalc, verze 12.5.0).

Produkt	Katalogové číslo – Gen1	Katalogové číslo – Gen2
beta-Amyloid (1-42)	06986811 190	08821941 190
Total-Tau protein	07357036 190	08846685 190
Phospho-Tau protein	07356994 190	08846715 190

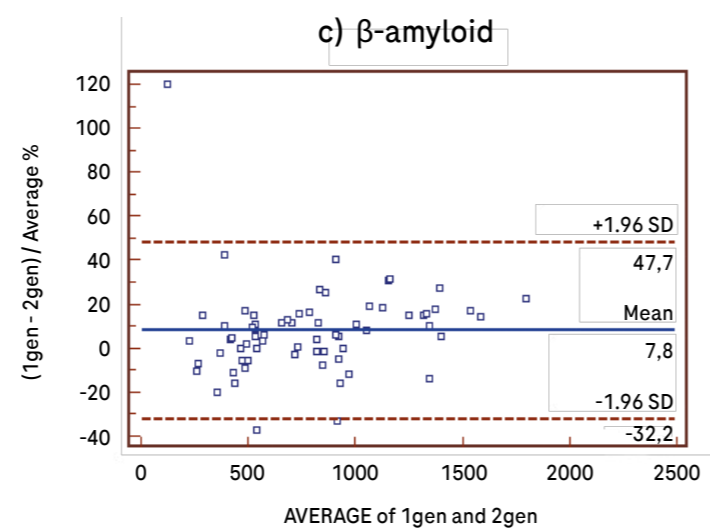
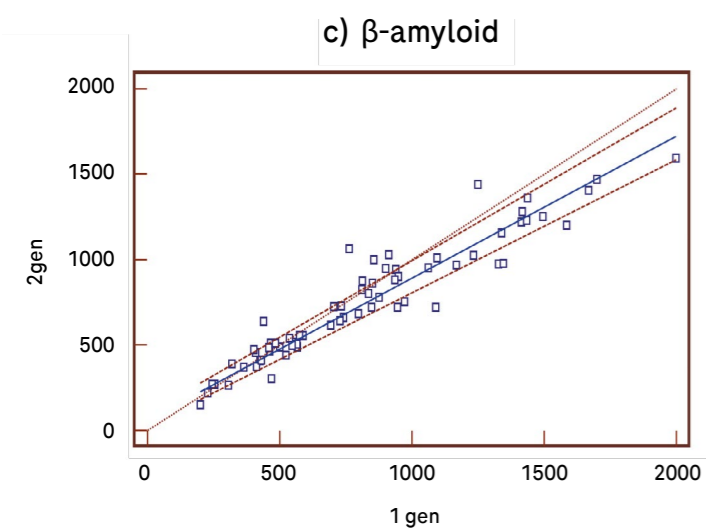
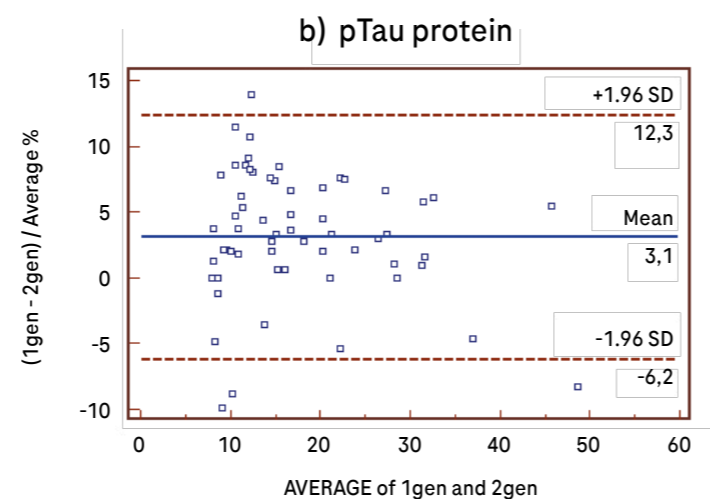
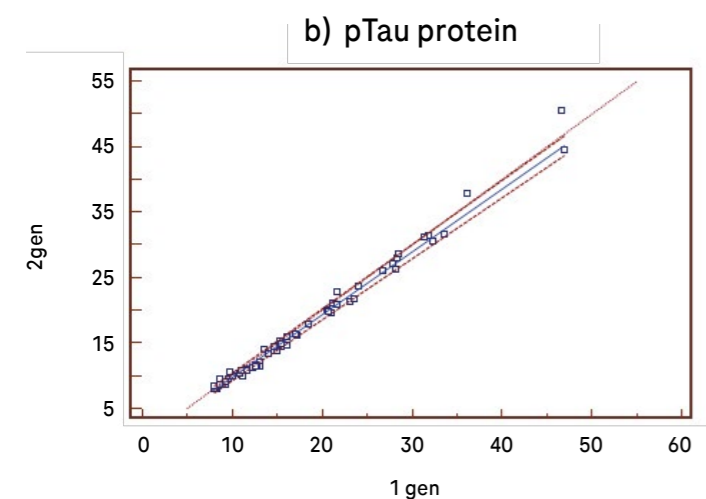
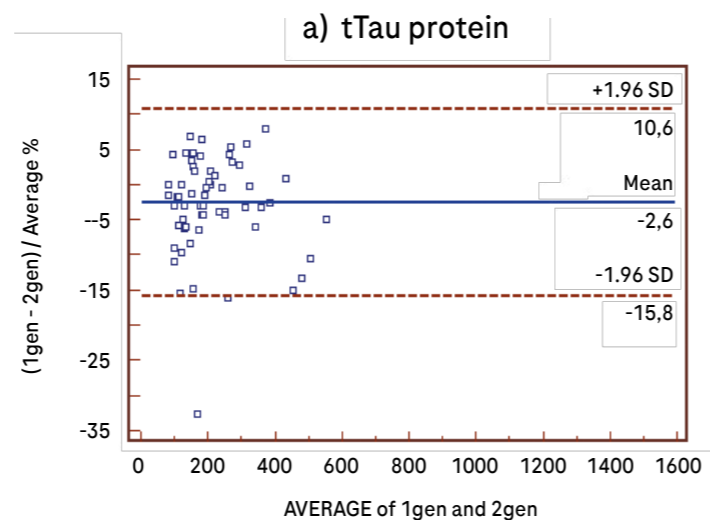
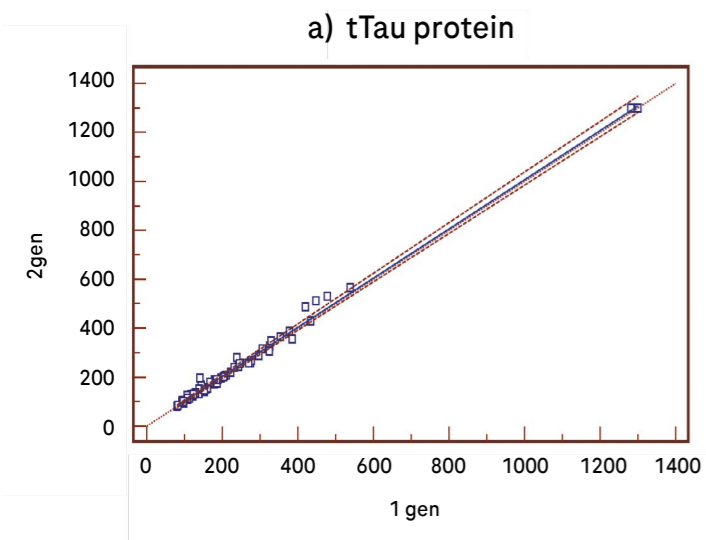
> **Tab. 1:** Katalogová čísla použitých reagentií

Parametr	Rovnice regrese	95% CI		P
		Úsek na ose y	Směrnice	
tTau	$y = 1,37 + 1,01 x$	-2,326 - 5,334	0,988 - 1,033	>0,10
pTau	$y = 0,243 + 0,956 x$	-0,177 - 0,510	0,935 - 0,983	<0,01
$\beta$ -amyloid	$y = 62,87 + 0,83 x$	27,190 - 100,111	0,7778 - 0,891	<0,01

> **Tab. 2:** Výsledky Passing-Bablokovy regrese pro tTau, pTau a  $\beta$ -amyloid – srovnání 1. a 2. generace reagentií (67 vzorků)

Parametr	Průměrná diference [%]	Dolní mez	Horní mez
tTau	-2,6	-15,8	10,6
pTau	3,1	-6,2	12,3
$\beta$ -amyloid	7,8	-32,2	47,7

> **Tab. 3:** Shrnutí výsledků srovnání 1. a 2. generace reagentií (Roche) ke stanovení tTau, pTau a  $\beta$ -amyloidu pomocí Bland-Altmanova rozdílového grafu (67 vzorků)



› Obr. 1: Srovnání 1. a 2. generace reagensů (Roche) ke stanovení tTau (a), pTau (b) a beta-amyloidu (c) – Passing-Bablokova regrese (67 vzorků; výsledky v ng/l)

› Obr. 2: Grafické znázornění srovnání 1. a 2. generace reagensů (Roche) ke stanovení tTau, pTau a beta-amyloidu 1-42 za použití Bland-Altmanova rozdílového grafu (67 vzorků; výsledky v ng/l)



### Výsledky

Při srovnání 1. a 2. generace reagensů ke stanovení tTau, pTau a beta-amyloidu na 67 vzorcích bylo dosaženo výsledků uvedených v tab. 2 a obr. 1. U stejného souboru vzorků byl dále ke srovnání použit Bland-Altmanův rozdílový graf (tab. 3). Grafické znázornění zachycuje obrázek 2.

### Diskuse

Z vyhodnocení srovnání biomarkerů neurodegenerativních onemocnění Passing-Bablokovou regresí vyplynulo, že není statisticky významný rozdíl u stanovení tTau analyzovaného 1. či 2. generací reagensů, zatímco u stanovení pTau a beta-amyloidu byl na hladině  $P = 0,01$  statisticky významný rozdíl mezi generacemi zaznamenán. Tomu odpovídají výše uvedené výsledky: 95% interval spolehlivosti (CI) úseku na ose y pro beta-amyloid nezahrnuje 0 a 95% interval spolehlivosti směrnice přímkou pro beta-amyloid a pTau nezahrnuje 1.

Z Bland-Altmanova rozdílového grafu (obr. 2) je patrné, že mezi srovnávanými soubory je malý systematický posun u parametrů tTau a pTau – průměrná diference 12,61 %

a 3,1 %. Významnější posun je u beta-amyloidu – průměrná diference 7,8 %. Reagenzie 2. generace poskytovaly výsledky vyšší u tTau, zatímco průměrně nižší hodnoty byly u pTau a beta-amyloidu, kde se projevily vliv nové generace reagensů, tak i restandardizace. Při hodnocení velikosti maximálních odchylek zjištěných pomocí Bland-Altmanova rozdílového grafu se většinou využívá srovnání s biologickou intraindividuální variabilitou uvedenou v databázi dle Westgarda<sup>7</sup> nebo v databázi EFLM (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine). Námí sledované biomarkery, nové v oblasti IVD, však v těchto databázích dosud nejsou zařazeny. Vypočítanou průměrnou diferencí lze pro imunanalytické metody hodnotit jako obvyklou a z klinického pohledu vyhovující.

Reagenzie 2. generace jsou stejně jako předchozí generace stabilní, interní kontrola kvality vychází dlouhodobě v požadovaném rozmezí, bez nutnosti časté recalibrace. Nevýhodou zůstává, že stanovení tTau, pTau a beta-amyloidu danou metodikou je nutno provádět pouze z likvoru a vyžaduje tedy invazivní odběr s využitím lumbální punkce. Závěrem lze konstatovat, že výsledky získané reagenziemi pro stanovení beta amyloidu

(1-42), tau proteinu celkového a tau proteinu fosforylovaného obou generací jsou z klinického hlediska dobře porovnatelné. Pokud laboratoř původně využívala 1. generaci, může plynule navázat měření vzorků reagenziemi 2. generace a využít tak její výhody.



RNDr. Miroslava Beňovská, Ph.D.  
Ústav laboratorní medicíny – Oddělení klinické biochemie FN Brno  
Kontakt: miroslava.benovska@fnbrno.cz  
V Ústavu laboratorní medicíny FN Brno pracuje jako primářka OKB. Dlouhodobě se zabývá analytickou i perianalytickou automatizací, ale také zaváděním nových progresivních parametrů do klinické praxe. Od r. 2005 je zástupkyní vedoucího/přednosty Katedry laboratorních metod Lékařské fakulty MU, kde působí jako odborný asistent.



Reagenční souprava **Elecsys® Phospho-Tau (181P) CSF** je diagnostický zdravotnický prostředek *in vitro*. Test slouží ke kvantitativnímu měření fosforylovaného tau proteinu v lidském CSF. Spolu se stanovením Elecsys  $\beta$ -Amyloid (1-42) CSF II se používá na zjištění poměru jejich koncentrací u dospělých jedinců s kognitivní poruchou, u nichž se zvažuje diagnóza Alzheimerovy choroby a jiné příčiny kognitivní poruchy. Rozsah měření: 8–120 pg/ml.

Reagenční souprava **Elecsys®  $\beta$ -Amyloid (1-42) CSF II** je diagnostický zdravotnický prostředek *in vitro*. Test je určen pro imunochemické kvantitativní stanovení koncentrace  $\beta$ -amyloidového (1-42) proteinu v lidském mozkomíšním moku (CSF). Rozsah měření: 150–2500 pg/ml.

Reagenční souprava **Elecsys® Total-Tau CSF** je diagnostický zdravotnický prostředek *in vitro*. Test je určen pro kvantitativní měření celkového tau proteinu v lidském CSF. Rozsah měření: 80–1300 pg/ml.

Elektrochemiluminiscenční imunostanovení „ECLIA“ se používá na analyzátoch **cobas e**. Sendvičový princip. Určeno k použití odborníky ve zdravotnictví.

## Literatura

1. Elecsys  $\beta$ -Amyloid (1-42) CSF II, Elecsys Total-Tau CSF, Elecsys Phospho-Tau (181P) CSF. Příbalové letáky Roche.
2. Pérez-Ruiz E, Decrop D, Ven K, Tripod L, Leirs K, Rosseels J, et al. Digital ELISA for the quantification of attomolar concentrations of Alzheimer's disease biomarker protein Tau in biological samples. *Anal Chim Acta*, 1015, 2018, 74-81.
3. Reijn TSM, Rikkert MO, Geel WJA, Jong D, Verbeek MM. Diagnostic Accuracy of ELISA and xMAP Technology for Analysis of Amyloid  $\beta_{42}$  and Tau Proteins. *Clin Chem*, 53, 5, 2007, 859-865.
4. Hansson O, Rutz S, Zetterberg H, Bauer E, Hahl T, Manuilova E, et al. Pre-analytical protocol for measuring Alzheimer's disease biomarkers in fresh CSF. *Alzheimer's & Dementia DADM*. 2020, 12, 1.
5. Blennow K, Zetterberg H, Rutz S, Manuilova E, Logan Ch, et al. Analytical characteristics of the updated elecsys Abeta42 Gen 2 assay, including comparisons with the Gen 1 assay. *The journal of the Alzheimer's & Dementia*. 2020, 16, 3.
6. Hansson O, Stomrud E, Zetterberg H, Rutz S, Manuilova E, Logan Ch, et al. Improved performance of Elecsys CSF Abeta measurement achieved using the simple, unified routine-use protocol for CSF collection. *The journal of the Alzheimer's & Dementia*. 2020, 16, 3.
7. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, Minchinela J, Perich C, Simon M. Current databases on biologic variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest* 1999, 59, 491-500.

Mgr. Alice Hoffmannová, Ph.D.,  
MUDr. Luboš Bouček, MUDr. Jana Tůmová  
FN Brno, ÚLM-OKB

## Přehled využití biomarkeru S-100B v klinické praxi

Rodina proteinů S-100 je tvořena skupinou přibližně 20 bílkovin s molekulovou hmotností mezi 10–12 kDa, které se vyznačují vazbou vápenatých iontů.<sup>1</sup> Tyto proteiny lze lokalizovat imunohistochemickými metodami (např. za použití protilátky polyclonal rabbit anti-S-100) zejména v jádře a cytoplasmě u rozmanité skupiny buněk, jakými jsou např. Schwannovy buňky, melanocyty, gliové buňky, chondrocyty, adipocyty, makrofágy, Langerhansovy buňky, dendritické buňky či keratinocyty.<sup>2</sup> Jejich funkce spočívá především v regulaci buněčného cyklu a procesu diferenciaci.<sup>3</sup>

Proteiny S-100 fungují převážně ve formě homodimerů, v některých případech též heterodimerů, tvořených s ostatními členy S-100 rodiny (např. S-100B a S-100A6). Vazba vápníku indukuje konformační změny v proteinech S-100, které vedou k expozici hydrofobního místa schopného rozpoznat a vázat potenciální cílové struktury.<sup>1</sup> S-100B je izomerem S-100, který je exprimován v nejrůznějších buňkách a zastává řadu úloh v lokálních regulačních procesech zahrnujících také buněčné dělení, proliferaci, apoptózu, energetický metabolismus či zánětlivou odpověď.<sup>4</sup> Mnoho proteinů z této rodiny hraje roli v prognóze a progresi onkologických onemocnění, přičemž některé z nich byly dokonce navrženy jako biomarkery pro určité typy rakovinného bujení.<sup>1</sup> Konkrétně u cholangiokarcinomu a rakoviny slinivky břišní byla exprese proteinů S-100A2, S-100A4, S-100A6 či S-100P zvýšena v nádorových buňkách. Tato skutečnost z nich činí potenciální diagnostické a prognostické biomarkery.<sup>3</sup>

Protein S-100B byl poprvé popsán v roce 1965 ve snaze identifikovat marker, který by dokázal reflektovat poškození mozkové tkáně. Byly provedeny mnohé studie, ve kterých se podařilo potvrdit patologické zvýšení koncentrace tohoto proteinu u osob po prodělaném traumatu hlavy. Z výsledků výzkumů vyplynulo, že zvýšená hladina



S-100B má schopnost predikovat nepříznivý klinický vývoj u těchto pacientů a mohlo by se jednat o vhodný marker odrážející poškození na úrovni mozkové tkáně.<sup>5</sup> Možnost použít časný indikátor neuronálního poškození může sehrát roli při určení doby trvání a stupně mozkového poškození. Mimo to může přispět ke stanovení prognózy. Jak již bylo zmíněno výše, z klinické praxe bylo vypořazováno, že vzrůst koncentrace proteinu S-100B v krvi souvisí s akutním poškozením mozku, taktéž byla nalezena souvislost

mezi vysokými sérovými hladinami S-100B a fokální epilepsií se zvýšenou záchvatovou aktivitou. Z tohoto důvodu bylo doporučeno tento protein využívat také u pediatrických pacientů jako vhodný periferní biomarker určující poškození mozku.<sup>7</sup> Zvýšená hladina S-100B byla zaznamenána i u kardiopulmonálních bypassů či srdeční zástavy.<sup>6</sup>

V úvahu byl brán fakt, že i poranění tkáně či fraktury by mohly stát za zvýšenými hodnotami S-100B. Z nedávno publikovaných

výsledků pak skutečně vyplývá, že zvýšené hladiny S-100B se vyskytují i u pacientů s mnohačetnými poraněními, a to hlavně u fraktur či při poranění měkkých tkání. Silná asociace byla objevena zejména u zlomenin dlouhých kostí, páteře (hrudní, bederní, křížové) a lebky. Mimoto vysoká hladina proteinu korelovala se zlomeninami žebere.<sup>5</sup> S vysokou koncentrací S-100B pak byla u pacientů snižena šance na přežití a zvýšený výskyt fatálních následků. Zvýšení hladiny S-100B bylo asociováno s 33% zvýšením úmrtnosti endoteliálních buněk ve srovnání se zdravými jedinci, a navíc bylo doprovázeno zvýšenými hladinami prozánětlivých cytokinů. Tyto skutečnosti vedou k závěru, že apoptóza endoteliálních buněk urychluje prozánětlivou odpověď, tedy hlavní příčinu rozvoje vážných komplikací (systémová zánětlivá odpověď nebo multiorgánové selhání) u velkých traumat. Tímto způsobem lze vysvětlit, jak zvýšená koncentrace S-100B přispívá ke sníženému přežívání pacientů po traumatech.<sup>4</sup>

V rámci shromažďování dat a informací stran S-100B jsme statisticky vyhodnotili výsledky měření S-100B ve FN Brno za uplynulých 5 let. Cílem bylo zjistit, u jakých diagnóz se nejčastěji setkáváme s vysokými hodnotami tohoto markeru a která pracoviště naší FN o toto vyšetření jeví dlouhodobě největší zájem.

### Výsledky

Pokud data za posledních 5 let hodnotíme z pohledu oddělení, která si nejčastěji vyšetření S-100B indikovala, na prvním místě je ambulance dětské onkologie následovaná oční klinikou, viz. graf. 1. V předešlých letech se taktéž objevovala indikace k vyšetření tohoto markeru ze strany interní kardiologické kliniky.

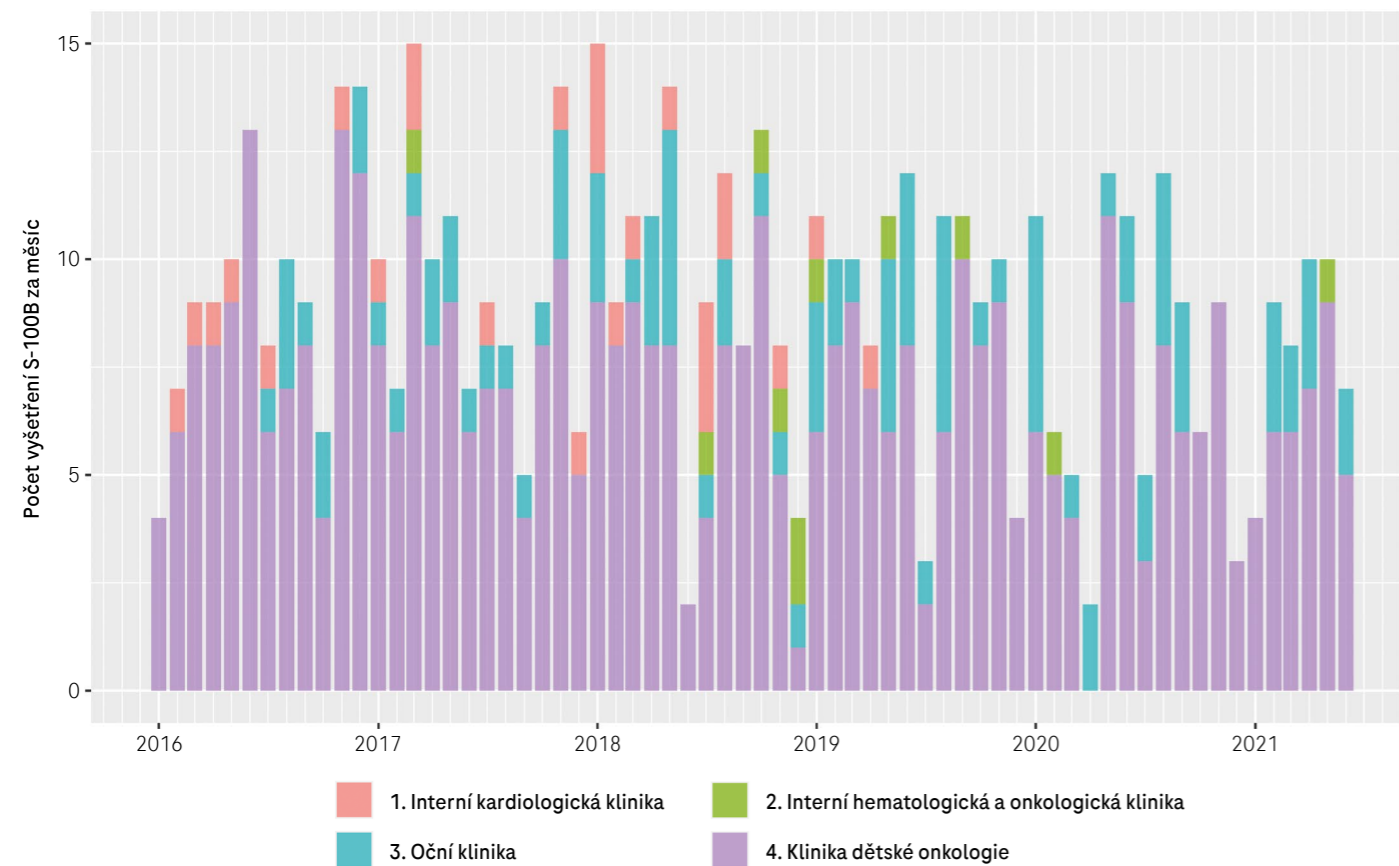
Nejvyšších hodnot pak marker S-100B dosahoval u pacientů s primární diagnózou kardiálního charakteru (akutní transmuralní infarkt myokardu, komorový flutter či

fibrilace, kardiogenní šok a srdeční zástava s úspěšnou defibrilací). Vzhledem k převaze využití S-100B u maligních melanomů však dochází ke zkreslení dat a nelze tedy na jejich základě objektivně interpretovat naměřené hodnoty. (Jedná se o orientační přehled z dostupných dat, viz grafy 2 a 3)

Stabilně je po celou dobu marker S-100B využíván jako auxiliární marker ke stanovení diagnózy a prognózy maligních melanomů. Velký rozptyl hodnot u této sledované skupiny je způsoben skutečností, že se jedná jak o nově diagnostikované pacienty, tak i o pacienty ve všech stadiích nemoci a pravidelného sledování (viz graf 2 a 3).

### Diskuse

Z dat získaných v rámci měření hodnot S-100B ve FN Brno bylo zjištěno několik skutečností. Jednou z nich je fakt, že nejvyšší naměřené hodnoty S-100B za posledních 5 let byly objeveny u pacientů s akutním



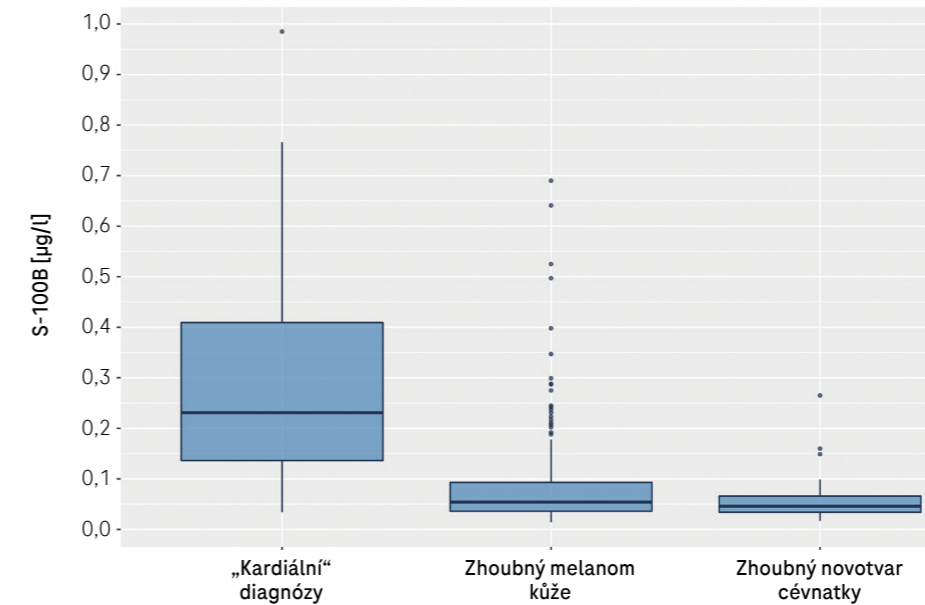
> **Graf 1:** Měsíční četnost vyšetření markeru S-100B v období leden 2016 – červen 2021. Vybraná oddělení v součtu představují 85,3% celkového objemu provedených vyšetření za toto období.

transmurálním infarktem myokardu přední nebo spodní stěny. Vysoké hodnoty S-100B byly taktéž zjištěny u dalších diagnóz vztahujících se k onemocněním srdce, jako jsou např. komorové fibrilace, kardiogenní flutter nebo stav po resuscitaci. Tento poznatek je ve shodě s předešlými nálezy. Bylo například zjištěno, že měření hodnot S-100B u přeživších pacientů během 24 hodin po srdeční

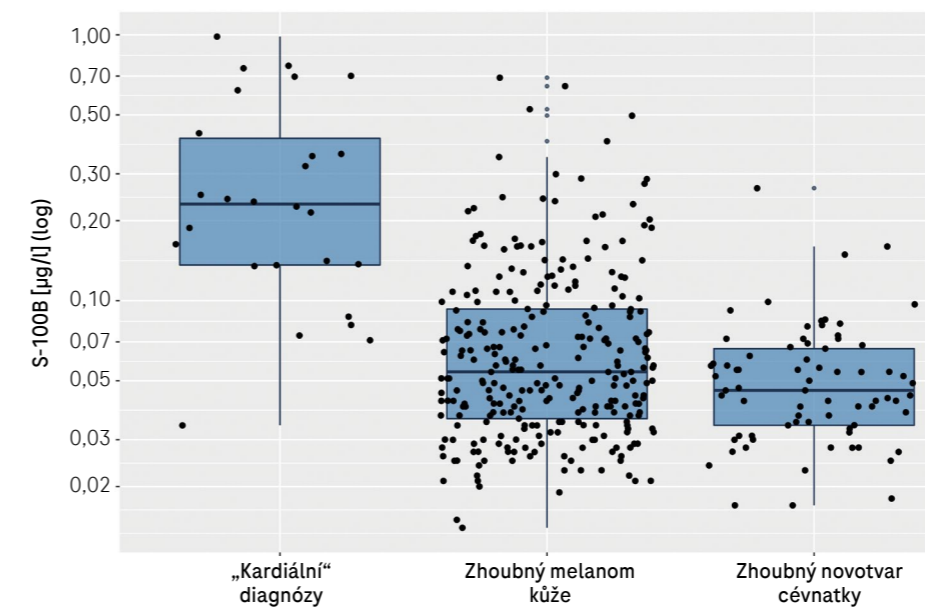
zástavě může být více relevantní než měření hodnot neuron specifické enolázy (NSE) pro predikci neurologických poškození.<sup>8</sup> Důvodem, proč je ve FN Brno marker S-100B prakticky využíván u akutních infarktů myokardu, může být dán i skutečností, že zde byla již dříve provedena studie týkající se vypovídající hodnoty tohoto proteinu u pacientů po resuscitaci. Ze získaných výsledků

vyplývá, že S-100B je časný a senzitivní marker poškození mozku po předchozí zástavě srdce. Toto zjištění tedy lékařům pomáhá posoudit rozsah poškození mozku a následně rozhodnout o vhodné léčbě.<sup>9</sup>

Indikace související s onkologií vychází ze skutečnosti, že hodnoty S-100B jsou využívány v diagnostice zhoubného melanomu. V rámci tohoto onemocnění bylo provedeno mnoho studií ve snaze najít vhodný biomarker k určení rizika progresu onemocnění, avšak žádný z nich se nedá označit jako ideální. Nicméně S-100B se rutinně používá pro imunohistochemickou diagnostiku primárního i metastatického melanomu. Jelikož je S-100B vylučován i buňkami melanomu, byla jeho detekce v krvi taktéž zkoumána jako potenciální nádorový marker.<sup>10</sup> Bylo provedeno množství studií zaměřených na sledování sérové hladiny S-100B u pacientů s diagnózou maligního melanomu a v některých evropských centrech (Německo, Švýcarsko) je dokonce doporučováno mezinárodními směrnicemi využívat tento marker při rozhodování o léčbě u asymptomatických pacientů. Avšak jeho role při detekci časných recidiv je sporná. Mnoho výzkumů došlo k závěru, že vysoká nebo průběžně se zvyšující hodnota S-100B v séru během dosledování pacientů je obecně spojena s vyšším rizikem progresu onemocnění a horší prognózou. Nicméně prediktivní hodnota hladin S-100B pro časné lokální nebo vzdálené metastázy je omezená kvůli relativně vysoké míře falešně negativních i falešně pozitivních výsledků. V rámci jedné ze studií bylo zjištěno, že pokud je sledována hladina S-100B každý měsíc, lze zlepšit senzitivitu včasné detekce progresu onemocnění. Je totiž možné pozorovat nárůst hladiny S-100B v čase, přestože jednotlivé hodnoty se mohou nacházet v rámci referenčních mezí.<sup>11</sup> Toto zjištění platí i pro sledování pacientů s uveálními melanomy, které jsou podskupinou maligních melanomů. Sledování koncentrace S-100B u těchto pacientů taktéž vedlo ke zjištění, že významně vyšší hodnoty se nacházejí u pacientů s metastázami ve srovnání se skupinou pacientů bez metastáz. Hodnocení hladiny S-100B má tedy svůj význam i při identifikaci metastáz u uveálního melanomu, což vysvětluje zájem oční kliniky o vyšetření tohoto markeru.<sup>12</sup>



> **Graf 2:** Vizualizace statistického souboru u vybraných diagnóz. V součtu představují téměř 80% celkového objemu provedených vyšetření v letech 2016–2021. „Kardiální“ diagnózy zahrnují akutní infarkt myokardu přední a spodní stěny a srdeční zástavu s úspěšnou resuscitací.



> **Graf 3:** Identická data za stejné období 2016–2021 vynesena na logaritmickou stupnici, doplněná o „jitter“ pro lepší představu o rozdílnosti četnosti a rozložení hodnot mezi „kardiálními“ diagnózami a melanomy.



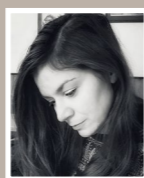


Jakkoliv je prognostický a prediktivní význam hladiny S-100B v rámci diagnostiky maligního melanomu diskutován, jedná se stále o jeden z nejčastěji používaných biomarkerů v diagnostice tohoto onemocnění a jeho monitorování je doporučeno zejména u pacientů s vysokým rizikem vzniku maligního melanomu,<sup>11</sup> což je v souladu s daty získanými ve FN Brno.

Přestože protein S-100B byl historicky objeven a popsán jako marker specifický pro neurální tkáň a využívaný pouze pro traumatické poranění hlavy, brzy vyšlo najevo, že jeho zvýšené hodnoty se vyskytují i u pacientů bez traumatu mozku, což značí, že k expresi proteinu dochází i v dalších tkáních.

Tím lze vysvětlit falešně pozitivní výsledky u pacientů bez poranění hlavy.<sup>4,5</sup> Navíc se uvažuje o tom, že i extrakraniální tkáň musí nějakým způsobem přispívat ke zvýšení hodnot S-100B, protože zvýšené hladiny se vyskytují mimo jiné i u zdravých maratonských běžců.<sup>5</sup> Stejně tak žlutá i červená kostní dřeň, které obsahují velké množství adipocytů, mohou přispívat k vysoké hladině S-100B u pacientů se zlomeninami dlouhých kostí či hrudníku. Kromě toho každá zlomenina je neoddělitelně spojena s poškozením okolní měkké tkáně. To vše pravděpodobně ovlivňuje zvýšení hladin S-100B a vysvětluje tak asociaci s celkovou vážností traumatického zranění.<sup>5</sup> Kromě toho by tento fakt vysvětloval i to, proč mnohé studie nalezly

zvýšené hladiny S-100B u pacientů s jinými traumatickými zraněními nepostihujícími oblast hlavy.<sup>4</sup> Pokud jde o skutečnost, že v rámci FN Brno není toto vyšetření častěji indikováno na neurochirurgické klinice, vysvětluje nám to dostupnost zobrazovacích metod a velký počet dalších vyšetření. Použití markeru S-100B by v takovém případě neposkytlo ošetřujícím lékařům novou informaci o stavu pacienta. Lze předpokládat, že i v těchto případech by S-100B korelovalo s dalšími vyšetřovanými parametry a výsledkem by neovlivnil diagnostické a terapeutické postupy. Avšak na pracovištích, kde nejsou dostupné zobrazovací techniky, může S-100B představovat ideální marker schopný svou výpovědní hodnotou přispět ke správné diagnostice a léčbě.



**Mgr. Alice Hoffmannová, Ph.D.**  
Kontakt: Hoffmannova.Alice@fnbrno.cz  
Vystudovala bakalářské a magisterské studium na Fakultě chemicko-technologické Univerzity Pardubice se zaměřením na speciální chemicko-biologické obory. Následně navázala na doktorské studium biochemie na Masarykově univerzitě v Brně. V současné době pracuje na oddělení klinické biochemie ve FN Brno a předtím se několik let profesně věnovala biobankování na Masarykově onkologickém ústavu v Brně.

**Ing. Tomáš Procházka**  
ROCHE s.r.o., Diagnostics Division

## Úvod

Tradičně poskytovatelé zdravotních služeb a laboratoře zajišťují sběr většiny dat týkajících se zdraví populace. K nim se v poslední době připojují také údaje z výstupů genetických analyzátorů, specifických registrů a soukromé vlastních zařízení, která například monitorují tepovou frekvenci, zásobení organismu kyslíkem či krevní tlak atd. Množství záznamů klinických, laboratorních, genetických anebo vyvozování nových poznatků exponenciálně roste. S tímto se pojí zvýšený tlak na zpracování, zabezpečení a standardizaci dat. Poslední zmíněná soukromá zařízení se vyznačují ukládáním datových kolekcí na izolovaných platformách, které nejsou navzájem propojeny, a tím se celá situace komplikuje.

Dlouhodobým cílem pro zdravotnictví je digitální transformace, která by pomohla

# Digitalizace zdravotnictví – výzvy a přínosy

Rychlý technologický pokrok zaznamenal v posledních letech každý z nás, nejen díky pandemii byl tento trend ještě urychlen. Jako klíčová se pro vyrovnání s tímto pokrokem jeví digitalizace jednotlivých sektorů.

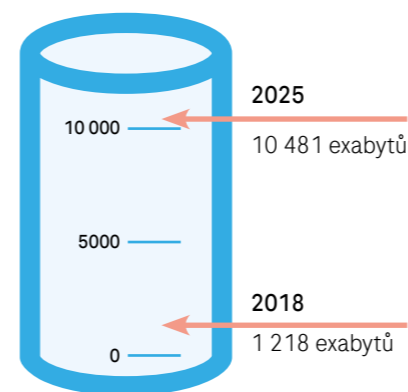
zabezpečení a sběru dat, analýze, parametrizaci a zejména interoperabilitě mezi poskytovateli zdravotní péče. Velkou výzvou se jeví standardizace výměny zdravotních záznamů a její nasazení v praxi. Tento problém by mohly řešit sdílené centrální služby, které by sloužily k propojování a poskytování dat z centrálních registrů ČR, kde jsou data v drtivé většině agregována a dále zpracovávána. Prozatím se ale jako více realistická jeví varianta, kde zdravotnická zařízení na vlastní náklady upgradují softwarové vybavení a tzv. NIS (nemocniční informační systémy), v nichž je drtivá většina dat uchovávána, jsou upgradovány na novější verze, které dokážou komunikovat v nadnárodně uznávaných messaging standardech, jako je například HL7 v.2 nebo FHIR. Samostatnou skupinou je messaging standard DASTA (<https://www.dastacr.cz>), který je českou specialitou a není mezinárodním standardem, čímž uživatele omezuje

v interoperabilitě. Z tohoto důvodu je řada českých poskytovatelů zdravotní péče nucena zřizovat komunikační a integrační platformy, které slouží k převodu dat mezi jednotlivými standardy.

Cíle digitalizace zdravotnictví a hlavní opatření jsou uvedeny ve Strategickém rámci rozvoje péče o zdraví v ČR do roku 2030, „Zdraví 2030“, schváleném vládou ČR.<sup>1</sup>

Vůbec největší výzvou je zabezpečení exponenciálně rostoucího množství zdravotních dat. Státní úřady jsou si této hrozby vědomy, a proto stále více a více investují do pracovníků a nabírají nové zaměstnance. **Tabulka 1** popisující mzdové náklady Národního úřadu pro kybernetickou a informační bezpečnost (NÚKIB), **uvedená níže**, mluví za vše.

## Více dat bude zachyceno a ukládáno než kdy předtím



**Zdravotnická data<sup>1</sup>**  
exabytů zachyceno

- Počet sportovních a zdravotních mobilních zařízení třikrát zvýšil svůj objem z 26 mil. v 2014 na 87 mil. v 2017
- V USA se elektronické zdravotnické záznamy na onkologických klinikách zvýšily z ~10% na >95%<sup>2</sup>
- Poskytovatelé zdravotní péče agregují elektronické zdravotní záznamy z nemocničních informačních systémů (každý provozovatel v odhadovaném objemu 50 petabytů – zahrnutý obrázek a anotace<sup>3</sup>)

> Zdroj: a) IDC, "Data Age 2025: The Digitization of the World from Edge to Core," November 2018 using 2018 data volume and predicted 36% CAGR. b) <https://www.seagate.com/files/www-content/our-story/trends/files/idc-seagate-dataage-whitepaper.pdf>

### Literatura

- LIU, Yidong; MYRVANG, Helene K.; DEKKER, Lodewijk V., A nnextin A 2 complexes with S 100 proteins: structure, function and pharmacological manipulation. *British journal of pharmacology*, 2015, 172 (7), 1664-1676.
- GÜNGÖR, Olcay, et al., Evaluation of blood neuron specific enolase and S-100 beta protein levels in acute mercury toxicity. *Trace Elements and Electrolytes*, 2018, 35 (3), 131-135.
- SATO, Yasunori, et al., Clinicopathological significance of S 100 protein expression in cholangiocarcinoma. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 2013, 28 (8), 1422-1429.
- PFORTMUELLER, Carmen Andrea, et al., S-100 B concentrations are a predictor of decreased survival in patients with major trauma, independently of head injury. *PLoS One*, 2016, 11 (3), e0152822.
- MÜLLER, Martin, et al., Increased S-100 B levels are associated with fractures and soft tissue injury in multiple trauma patients. *Injury*, 2020, 51 (4) 812-818.
- CHAPARRO-HUERTA, Verónica, et al., Proinflammatory cytokines, enolase and S-100 as early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy following perinatal asphyxia in newborns. *Pediatrics & Neonatology*, 2017, 58 (1), 70-76.
- CALIK, Mustafa, et al., Interictal serum S-100B protein levels in intractable epilepsy: a case-control study. *Neuroscience letters*, 2014, 558, 58-61.
- WOJTCZAK-SOSKA, K.; LELONEK, M., S-100B protein: An early prognostic marker after cardiac arrest. *Cardiology journal*, 2010, 17 (5), 532-536.
- HELÁNOVÁ, K., et al., S-100B protein elevation in patients with the acute coronary syndrome after resuscitation is a predictor of adverse neurological prognosis. *Vnitřní lékařství*, 2012, 58 (4), 266-272.
- MOCELLIN, S.; ZAVAGNO, G.; NITTI, D., The prognostic value of serum S100B in patients with cutaneous melanoma: A meta-analysis. *International journal of cancer*, 2008, 123 (10), 2370-2376.
- ERTEKIN, S. S., et al., Monthly changes in serum levels of S100B protein as a predictor of metastasis development in high-risk melanoma patients. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 2020, 34 (7), 1482-1488.
- MISSOTTEN, G. S., et al. S-100B protein and melanoma inhibitory activity protein in uveal melanoma screening. *Tumor Biology*, 2007, 28 (2), 63-69.





### Mzdové náklady Národního úřadu pro kybernetickou a informační bezpečnost (NÚKIB)

	2018	2019	2020
Platy a podobné související náklady	141,66 mil. CZK	165,01 mil. CZK	191,75 mil. CZK

Tab. 1: Zdroj: <https://monitor.statnipokladna.cz/kapitola/378/prehled?obdobi=1812&rad=t>

### Personální náklady Agentury Evropské unie pro kybernetickou bezpečnost (ENISA)

	2015	2016	2017
Personální náklady	5,9 mil. €	6 mil. €	6,4 mil. €

Tab. 2: Zdroj: [https://www.enisa.europa.eu/about-enisa/accounting-finance/files/annual-budgets?b\\_start:int=20](https://www.enisa.europa.eu/about-enisa/accounting-finance/files/annual-budgets?b_start:int=20)

Stejný trend lze pozorovat i za hranicemi a **tabulka 2**, která zachycuje personální náklady ENISA (Agentura Evropské unie pro kybernetickou bezpečnost), vykazuje také rostoucí tendenci.

V řechi čísel lze jasně a jednoduše demonstrovat, jaká důležitost je kladena nejvyššími orgány na kybernetickou bezpečnost. Není divu, když NÚKIB oznámil k datu 31. 12. 2019 celkem 78 řešených kybernetických bezpečnostních incidentů pouze za rok 2019. Přičemž nejvíce určených informačních systémů základní služby bylo ze sektoru zdravotnictví – v celkovém počtu 34 z 56 celkově možných. Pro srovnání: chemický průmysl měl celkem 4 určené informační systémy základní služby k datu 31. 12. 2019. Závěrem lze konstatovat, že sektor zdravotnictví je ze všech sektorů ten nejvíce zranitelný.

### Minimální bezpečnostní standard

Nejen mzdové náklady NÚKIB, ale i *zákon o kybernetické bezpečnosti*<sup>2</sup>, který vešel v platnost 1. ledna 2015, napovídá, že se prostor s informacemi mění. Vymezení působnosti zákona však není vůbec jednoduché a ne vždy je jasné, zda subjekt spadá pod tento zákon anebo nikoliv. Z tohoto důvodu NÚKIB ve spolupráci s NAKIT (Národní agentura pro komunikační a informační technologie) a Ministerstvem vnitra vydalo 17. července 2020 *Minimální bezpečnostní standard*<sup>3</sup>, což je podpůrný materiál pro subjekty, které nespádají pod zákon o kybernetické bezpečnosti.

V technické části tohoto dokumentu se lze dočíst minimální technické požadavky, které by měl subjekt splňovat:

1. Fyzická bezpečnost (kamerový systém, chráněné servery, klimatizace prostor, nezávislý zdroj napájení atd.)
2. Řízení přístupů
  - > registrace, autentizace a identifikace uživatelů
  - > politika hesel pro uživatelské a privilegované účty
3. Požadavky v oblasti ochrany před škodlivým kódem
4. Kybernetické bezpečnostní události a incidenty (log systém)
5. Požadavky v oblasti aplikační bezpečnosti
6. Kryptografické prostředky
  - > šifrování disků a externích USB disků (mezi preferované patří AES, Camellia a Serpent – v uvedeném pořadí – a velikost klíče 256 bitů)
  - > ukládání hesel (nejlépe použitím k tomu určenému hašovacímu

algoritmu spolu s náhodně vygenerovanou „solí“)

- Argon2 (nejlépe ve verzi „id“)
  - Scrypt
  - Bcrypt
  - Pbkdf2 (s použitím schváleného hašovacího algoritmu)
7. Požadavky v oblasti zajišťování úrovně dostupnosti informací
    - > řešení vysoké dostupnosti (určeno dle SLA, které vychází z jednotlivých hodnot RPO a RTO)
    - > SPOF (Single Point of Failure) – to znamená, že porucha jedné komponenty nezpůsobí výpadek celého informačního nebo komunikačního systému
    - > zálohování
  8. Požadavky v oblasti cloudových služeb
    - > deklarace místa uložení zákaznických dat v rámci jurisdikce EU
    - > deklarace úrovně bezpečnosti poskytovaných cloudových služeb (doporučíme doložení certifikátu ČSN ISO/IEC 27001 nebo Auditní zprávu SOC 2 Type II (AT 101), případně zajištění auditu na místě)
    - > šifrovaná komunikace (TLS/VPN) přes internet s využitím kryptografických algoritmů publikovaných v doporučení NÚKIB
    - > smlouva s provozovatelem cloudových služeb obsahující vymezení provozních podmínek (SLA) a tzv. exit strategii (exit plán) včetně předání dat
    - > smluvní podmínky s provozovatelem cloudových služeb, které jsou v souladu s požadavky na zpracovatele dle čl. 28 obecného nařízení GDPR (v případě zpracování osobních údajů v informačním nebo komunikačním systému)
    - > smlouva s provozovatelem cloudových služeb obsahující povinnost informovat o bezpečnostních incidentech týkajících se daného zákazníka a spolupracovat při jejich zvládnutí
    - > další požadavky (například ochrana před SQL injection útoky atd.)<sup>4</sup>

### Iniciativa ministerstva zdravotnictví

Další, kdo nabídl pomocnou ruku zdravotnickým zařízením, je Ministerstvo zdravotnictví, které 2. 8. 2017 zpracovalo *Metodický*

*pokyn poskytovatelům zdravotních služeb k problematice kybernetické bezpečnosti*<sup>5</sup>. Nás bude zajímat jeho poslední verze 2.0 z 12. 6. 2019 a konkrétně sekce „Bezpečnostní opatření – Technická opatření“.

Obsahuje tyto body:

1. fyzická bezpečnost
2. nástroj pro ochranu integrity komunikačních sítí
3. nástroj pro ověřování identity uživatelů
4. nástroj pro řízení přístupových oprávnění
5. nástroj pro ochranu před škodlivým kódem
6. nástroj pro zaznamenávání činnosti informačních systémů, jejich uživatelů a administrátorů
7. nástroj pro detekci kybernetických bezpečnostních událostí
8. nástroj pro sběr a vyhodnocení kybernetických bezpečnostních událostí
9. aplikační bezpečnost
10. kryptografické prostředky
11. nástroj pro zajišťování úrovně dostupnosti informací
12. bezpečnost průmyslových a řídicích systémů<sup>6</sup>

### Hackerské útoky

Na chvíli opustíme teorii a zaměříme se na praxi. Nyní by se mohlo zdát, že zdravotnické záznamy jsou jedny z nejvíce zabezpečených dat. Nicméně stále se objevují nové a nové zprávy o úspěšném napadení nemocničních systémů hackery. Například společnost IBM (<https://www.ibm.com/us-en/>) a její tým „IBM Security research“ narazil na online prodej balíku skenů dokumentů z lékařské dokumentace, včetně informací o zdravotním pojištění nebo platebních kartách. To celé pouze za 69,99 USD. **Obrázek 1** ukazuje reklamu na prodej skenů.

V posledních letech pandemie COVID-19 dopadá na zdravotnická zařízení po celém světě a kritická infrastruktura čelí další výzvě – zvyšujícímu se počtu kybernetických útoků během pandemie. Interpol vydal zprávu na začátku pandemie, v níž oznámil významný nárůst kybernetických útoků. Více zde: <https://www.interpol.int/en/News-and-Events/News/2020/INTERPOL-report-shows-alarming-rate-of-cyberattacks-during-COVID-19>. Interpol se také nechal slyšet,

### Reklama společnosti IBM na prodej skenů

The image shows a screenshot of a dark web advertisement for document scans. The ad is titled 'Contents' and lists various items for sale, including 'Healthcare data at rising risk', 'Healthcare records up for ransom', and 'Data compromise through third-party vendors'. It also mentions 'Insider threat' and 'Prevalent mechanisms of attack targeting the healthcare industry'. The ad is for a product called 'HIGH QUALITY USA FULLZ ID DOCUMENT SCANS! HUGE ARCHIVE!' and is priced at USD69.99. The ad is displayed on a dark background with a grid pattern.

Figure 1. Screenshot of record for sale on the dark web. Source: IBM Security research.

Obr. 1: Zdroj: <https://www.ibm.com/downloads/cas/PLWZ76MM>



že hackeři využívají výhody probíhající pandemie zvláště u zdravotnických zařízení.

Bohužel nemusíme chodit do zahraničí, abychom se dočetli o hackerských útocích. Na počátku pandemie české nemocnice čelily řadě útoků. Jejich úspěšné odrazení se povedlo krajské nemocnici v Olomouci, v Karlových Varech, Nemocnici Pardubického kraje a Fakultní nemocnici v Ostravě. Bohužel útok v benešovské nemocnici nebo Fakultní nemocnici v Brně byl pro hackery úspěšný.

Dne 11. prosince 2019 došlo k útoku na Nemocnici Benešov, kde ransomware, počítačový vir, který šifruje data na serverech a PC, ochromil chod nemocnice. Omezené byly zejména lékařské výkony a transfúzní stanice. Pachatele se ani po půl roce nepovedlo odhalit. Nakonec vyšetřovatelé rozkryli pachatele až začátkem roku 2021.

Dne 13. března 2020 byla napadena jedna z největších nemocnic, a to Fakultní nemocnice v Brně. Jednalo se o stejný typ útoku. „Podle odborníků bylo v loňském roce napadeno podobným způsobem devatenáct procent nemocničních a zdravotnických počítačů či zařízení. „Ransomwarevé útoky na nemocnice se v poslední době objevují poměrně často, což poukazuje na fakt, že nejde jen o slabou ochranu zdravotnických zařízení. Tento problém je dalekosáhlejší, protože celá IT infrastruktura moderních nemocnic není řádně organizována

a chráněna, s čímž mají problém organizace po celém světě. Například řada těchto zařízení běží na systému Windows XP a má stovky starých, nijak nezaplátovaných zranitelností, které by mohly vést k úplnému prolomení vzdáleného systému. V některých případech mají navíc tato zařízení nezměnná výchozí hesla, která lze snadno zjistit pomocí manuálů dostupných na internetu,“ okomentoval za firmu Kaspersky Miroslav Kořen.<sup>7</sup>

Hlavní překážkou zajištění kybernetické bezpečnosti v nemocnicích je nízký rozpočet dedikovaný na tuto oblast. Kybernetická bezpečnost je v nemocnicích podfinancována a nestačí na zakoupení potřebných technologií. Zde se nabízí řešení v podobě SaaS (software as a service), kdy nemocnice nemusí řešit náklady na například provozování serverů, jejich pravidelnou obnovu a personál, který je obsluhuje. Mnohem zajímavější je možnost delegovat tuto odpovědnost na dodavatele služeb, kteří jsou profesionálové v oboru a mají potřebné finance plynoucí z výnosů z rozsahu, které nemocnice z podstaty věci nemůže mít. Její soustředění se tak může zpět obracet k pacientům a ne k zabezpečení systémů.

### Komerční řešení

Příkladem může být skupina produktů NAVIFY® od firmy Roche, divize RIS (Roche Information Solutions). NAVIFY® produkty jsou nadstavba nad NIS a dokážou

díky standardizované komunikaci v HL7 v.2, FHIR anebo DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine, <https://www.dicomstandard.org>) přijímat datové sady a pomocí machine learning a vyhledávacích algoritmů je „pročesávat“ a pomáhat lékařům při jejich rozhodování v mnoha oborech, jako je virologie, onkologie nebo patologie.

První dostupný produkt NAVIFY® Tumor Board byl spuštěn v roce 2017 a jedná se o softwarové řešení na základě cloudového úložiště, které zásadně mění způsoby, jak týmy onkologů připravují, provádějí a dokumentují klinická rozhodnutí o ošetřování. Produkt dokáže zpracovávat velmi komplexní onkologická data z různých zdrojů, od elektronického lékařského záznamu, údajů a reportů z laboratoře či patologie přes obrázky různých druhů a formátů až po DICOM snímky z CT nebo magnetické rezonance. Produkt se průběžně aktualizuje a rozšiřuje o další řešení pro podporu klinického rozhodování.

První aplikace, které byly zveřejněny, jsou:

1. Clinical Trial Search App – hledání klinických studií pomocí vyhledávacích algoritmů běžících na enginu od společnosti MolecularMatch
2. Guidelines App – hledání v databázi NCCN nebo vytváření vlastních léčebných postupů
3. Publication Search App – hledání publikací pomocí vyhledávacích algoritmů

Nabídka je od roku 2019 rozšiřována o další inteligentní aplikace, aby ulehčila lékařům výběr toho nejlepšího ošetření pro jednotlivého pacienta.

Interoperabilita a standardizace formátů není jedinou výzvou, které digitální produkty obecně čelí. Firma Roche zpracovává po více než 120 let lékařská data pacientů a je si vědoma, že bezpečnost informací a ochrana dat je stěžejní. Společnost Roche proto zavedla četné kontroly, aby mohla spravovat data pacientů bezpečně a v souladu s mezinárodními a národními zákony, a zajišťuje, aby byly tyto kontroly pravidelně ověřovány externími stranami.

Infrastruktura NAVIFY® pracuje s IaaS (Infrastructure as a service), spravovanou přes Amazon Cloud Web Service (pro evropský trh úložiště ve Frankfurtu), aby mohla dodržet četné aspekty bezpečnosti a ochrany. Infrastruktura podstupuje časté kontroly, aby zajistila bezpečný přístup ke službám a zpracování citlivých dat:

1. oblast ochrany dat (kódování na více úrovních, popsáno níže)
2. kontrola přístupu (fyzická kontrola serverů, kontrola přístupu do platformy na základě udělení práv, možnost dvoufaktorového ověření atd.)
3. kybernetická ochrana (zabezpečení sítě na více úrovních, popsáno níže, pravidelné kontroly zranitelnosti systému a patch management, ročně jsou prováděny interní a externí penetrační testy, které prověřují vše, od síťového systému přes kontrolní systém až po procesy použití)
4. Change a Incident management (metodou „follow the sun“ neboli 24/7)



Infrastruktura NAVIFY® disponuje certifikací podle ISO 27001, 27701, 27017, 27018. V Prohlášení k použitelnosti jsou popsány kontrolované oblasti: management bezpečnosti informací identifikovatelných dat pacientů v rámci informačních řešení, vývoje softwaru, globálních řešení problémů a kontrolních procesů, jakož i globálních podpůrných procesů RIS včetně produktů, podpůrných procesů a IT, dálkové údržby, personalistiky a facility managementu.

NAVIFY® Tumor Board splňuje certifikační kritéria HITRUST CSF v8.1. HITRUST CSF vychází z celosvětově známých standardů, jako jsou ISO, NIST, EU GDPR, HIPAA a CCPA. Zaměstnanci Roche RIS nikdy nemají přístup k žádným datům. Průběžně je zajišťováno enkryptování dat. Kompetentní pracovníci zákazníka jsou jako jediní schopni zpracovávat data o uživateli nebo třídě integrace (připojovat, číst,

měnit nebo mazat). Pouze v případě výrobně-technických problémů může být do dat pacientů nahlédnuto, pokud se na tom shodne zákazník a firma Roche, a to jen po omezené časové období.

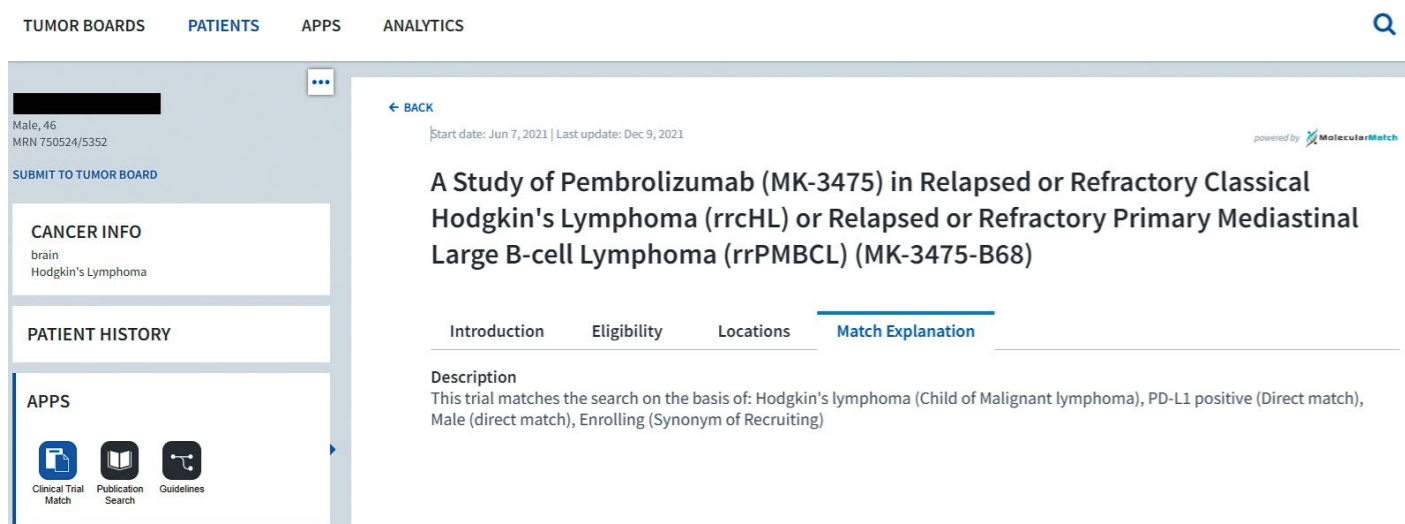
Všechna data jsou ve všech fázích zakódována pomocí AES nebo TLS se silou 256bitového klíče:

- > TLS pro datový přenos (256 bitů)
- > S3-Buckets jsou zakódovány
- > RDS zakódování
- > zakódování diskové jednotky
- > zakódování virtuálního stroje

O ochranu sítě se stará firewall se třemi úrovněmi ochrany:

- > DNS – Domain Network Service
- > VPC – Virtual Private Cloud
- > NACL – Network Access List

Všechny porty jsou na všech úrovních blokovány.



> Obr. 2: Náhled do aplikace Clinical Trial Match, software NAVIFY Tumor Board (vlastní zdroj)

HL7 v.2 – Health Level Seven version two; FHIR – Fast Healthcare Interoperability Resources; Petabyt – přibližně 1000 terabytů je petabyt (měrná jednotka uložených dat); Exabyt – přibližně 1000 petabytů je exabyt (měrná jednotka uložených dat); Hašovací algoritmus spolu s náhodně vygenerovanou „solí“ – šifrovací algoritmus určený k bezpečnému ukládání hesel, sůl v IT: používá se pro ukládání zakódovaného tvaru hesla, protože díky této „solí“ bude mít stejné heslo různý zakódovaný tvar a nebude z něj možné získat pomocí slovníkového útoku zpětně původní heslo (další stupeň ochrany nad kódování hesel, přidává zakódovanému tvaru speciální charakter, aby se nemohla stejná hesla opakovat a nešla rozluštit) – sůl zná pouze autor kódování; SLA – service-level agreement (servisní smlouva); RPO – Recovery Point Objective (jak moc dozadu lze obnovit data při útoku/ztrátě); RTO – Recovery Time Objective (za jak dlouho lze dostupná data obnovit při útoku/ztrátě); SQL injection – je to druh útoku na databázi programu, spočívá ve vsunutí škodlivého kódu do SQL (Structured Query Language – programovací jazyk) příkazu; Ransomwarevé útoky – druh kyberútku, při kterém jde o znemožnění přístupu k přístroji nebo datům (pozmění PIN nebo vypne monitor atd.).



### Referenční centra a publikované výsledky

Software NAVIFY® Tumor Board, určený na podporu rozhodování, byl nejprve spuštěn a testován na západ od nás.

#### Referenční nemocnice:

- > Hospital Del Mar (Španělsko)
- > University Hospital of Missouri (USA)
- > Summit Cancer Centers (USA)
- > AKH Vienna (Rakousko)
- > Medical University of Graz (Rakousko)
- > Marien-Hospital Wesel (Německo)
- > MITO (Itálie)
- > Fondazione GSTU (Itálie)
- > Fakultní nemocnice Olomouc (ČR)

Důkazem užitečnosti software v klinické praxi je například studie, provedená na jednom z uvedených pracovišť, Univerzitní nemocnici státu Missouri. Ta prokázala významné

úspory času přípravy multidisciplinárních komisí napříč uživateli u 4 kategorií nádorových onemocnění, což odráží generalizovatelnost Navify Tumor Boardu. Přijetí takového řešení by mohlo zlepšit efektivitu a mít přímý ekonomický dopad na nemocnice.<sup>8</sup>

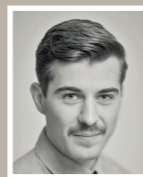
K dnešnímu dni se NAVIFY® Tumor Board testuje v několika vybraných onkologických centrech v České republice s cílem nejen zjistit, jak taková platforma funguje, ale také poskytnout zpětnou vazbu pro další vývoj.

### Cíl digitalizace zdravotnictví

Cílem by mělo být zlepšení:

1. kyberochrany
2. interoperability vlivem standardizace datových formátů a komunikace
3. přesnější a větší zachycení dat nejen díky parametrizaci a jejich další vytěžování („data mining“)

Závěrem lze říct, že v minulém století byla snaha digitalizovat data zejména pro snadný přenos a sdílení. Nyní je s digitalizací spojeno motto „good for something“, za kterým se skrývá „data mining“ proces, jenž pomocí AI (Artificial Intelligence) neboli „machine learning“ a vyhledávacích algoritmů přináší přidanou hodnotu pro konkrétní pacienty v podobě lépe cílené léčby, zkrácení doby k získání definitivního výsledku, zvětšení kapacity diagnostických úseků nebo možnosti zapojit se do klinických studií.



Ing. Tomáš Procházka

ROCHE s.r.o., Diagnostics Division  
Kontakt: tomas.prochazka@roche.com  
Své zkušenosti přinesl z partnerské společnosti Microsoft Corporation, kde pracoval na cloudových produktech a vývoji uživatelských aplikací. Do Roche vstoupil v květnu 2020 a nyní působí na pozici Cloud Platform Specialist. Věnuje se digitálním produktům v oblasti onkologie ze skupiny „Clinical Decision Support“, od uvedení produktů na trh až po nasazení integrovaného řešení u zákazníka. Volný čas věnuje rodině, sportu, zálibě v automobilech a akvaristice.



#### Literatura

1. Ministerstvo zdravotnictví České republiky, Národní plán obnovy (duben 2021 – eHealth).
2. <https://www.nukib.cz/cs/kyberneticka-bezpecnost/regulace-a-kontrola/legislativa/>.
3. [https://archi.gov.cz/\\_media/dokumenty:2020-07-17\\_minimalni-bezpecnostni-standard\\_v1.0.pdf](https://archi.gov.cz/_media/dokumenty:2020-07-17_minimalni-bezpecnostni-standard_v1.0.pdf).
4. [https://archi.gov.cz/\\_media/dokumenty:2020-07-17\\_minimalni-bezpecnostni-standard\\_v1.0.pdf](https://archi.gov.cz/_media/dokumenty:2020-07-17_minimalni-bezpecnostni-standard_v1.0.pdf).
5. <https://ncez.mzcr.cz/cs/dokumenty/metodicky-pokyn-poskytovatelum-zdravotnich-sluzeb-k-problematice-kyberneticke-bezpecnosti>.
6. <https://ncez.mzcr.cz/cs/dokumenty/metodicky-pokyn-poskytovatelum-zdravotnich-sluzeb-k-problematice-kyberneticke-bezpecnosti>.
7. [https://brnensky.denik.cz/zpravy\\_region/brno-nemocnice-hacker-bohunic.html](https://brnensky.denik.cz/zpravy_region/brno-nemocnice-hacker-bohunic.html).
8. (Hammer, R. D., et al., 2020. JCO Clinical Cancer Informatics, 4, pp.757-768. Zdroj: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32816529/>).



NAVIFY Tumor Board je zdravotnický prostředek v podobě softwaru. Představuje cloudové řešení pracovních procesů pro onkologické týmy, které bezpečně integruje a zobrazuje relevantní agregovaná data do jediného uceleného přehledu tak, aby komise mohly posoudit, sladit a rozhodnout o optimální léčbě pacienta. Více na <https://www.navify.com/>

Mgr. Petra Trachtulcová, Ph.D.  
ROCHE s.r.o., Diagnostics Division

## „RBSS je, když...“

Transfuzní lékařství představuje v celé řadě klinických oborů neoddelitelnou součást komplexní léčebné péče o nemocné pacienty.

Podávání krevních přípravků a krevních derivátů je mnohdy laickou veřejností považováno za bezproblémový výkon, nicméně je nutné si uvědomit, že jakákoliv krevní transfuze či podání krevních derivátů s sebou nesou celou řadu rizik. Tato rizika a jejich velikost je možné díky soustavnému rozvoji diagnostických a technologických postupů při zpracování a skladování krve minimalizovat, nicméně je nelze nikdy zcela vyloučit.

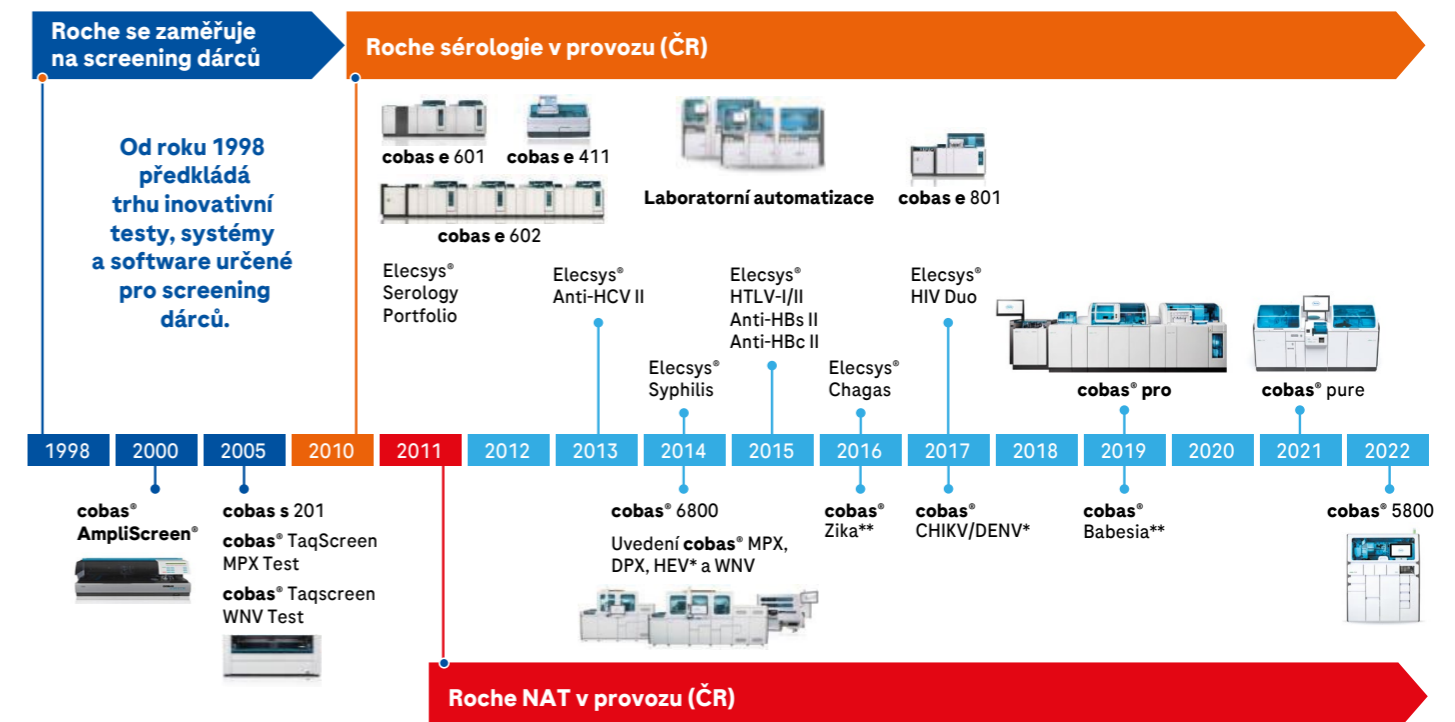
Mimořádně závažné riziko, které s sebou může nést krevní transfuze, představuje přenos infekce prostřednictvím krevního přípravku či krevního derivátu. Zásadním úkolem transfuzních zařízení a zpracovatelů plazmy při zajištění bezpečnosti krevních přípravků a derivátů je tudíž minimalizace rizika přenosu infekce.

Zajištění bezpečnosti krevních přípravků a derivátů a jejich dostupnost pro pacienty se tedy stává klíčovým prvkem a velkou výzvou jak pro zařízení transfuzní služby a zpracovatele krevní plazmy, tak i pro diagnostické firmy, které laboratorím mohou nabídnout technologie určené pro screening dárců.

Firma Roche si klade za cíl zajistit co nejkomplexnější řešení v oblasti bezpečnosti krve a krevních produktů. Strategie **Roche Blood Safety Solution (RBSS)** se snaží přispět ke zvýšení bezpečnosti krevních produktů jedinečným a komplexním řešením, které přináší laboratorním zařízením transfuzní služby spolehlivé systémy a vyšetřovací testy společně s personalizovanou laboratorní automatizací a managementem dat. Tato řešení splňují požadavky, které jsou kladeny na screening dárců jak na globální, tak na regionální úrovni.

V současné době jsou v České republice povinně všechny odebrané krevní vzorky testovány na přítomnost HIV1/2, HCV, HBV a Syphilis pomocí sérologických testů. Tento typ testů s sebou nese poměrně velké riziko nepřesného výsledku v důsledku tzv. diagnostického okna (HIV 2–3 týdny, HBV 4–6 týdnů, HCV 2–6 měsíců). Možností, jak toto riziko snížit, je rozšířit screening o molekulárně biologické metody, kterými se zjišťuje přítomnost nukleové kyseliny daného viru (Nucleic acid testing – NAT). Citlivost těchto metod je vyšší ve srovnání se sérologickými metodami, což umožňuje zkrácení diagnostického okna (u HIV o 7–9 dnů, u HCV o 59–65 dnů a u HBV o 25–30 dnů). Tento typ vyšetření není zatím v České republice legislativně předepsán, nicméně jeho značné rozšíření v řadě vyspělých i rozvíjejících se zemí celého

### Neustálé zavádění inovací



> Historie uvádění na trh inovativních produktů Roche klíčových pro transfuzní lékařství



Portfolio metod Roche pro transfuzní lékařství a jejich nejzásadnější přednosti

Citlivá detekce RNA viru Zika.

Umožňuje detekci 4 běžných druhů Babesia (*B. microti*, *B. divergens*, *B. venatorum*, *B. duncani*).

Metoda s dvojitým cílem pro HIV-1 skupiny M, detekce HIV-1 skupiny O a HIV-2; duální sondy pro HCV

Detekce a diskriminace HIV, HCV a HBV v reálném čase z jediného testu. Zajišťuje kvalitu krve a plazmy před novými variantami virů.

Unikátní duální design rekombinantního antigenu – nejlepší kombinace citlivosti a specifčnosti.

Jedinečná konstrukce testu s trojím antigenem vykazuje vysokou specifčnost<sup>2</sup>, jasný cut-off a eliminuje problémy související se zkříženou reaktivitou.

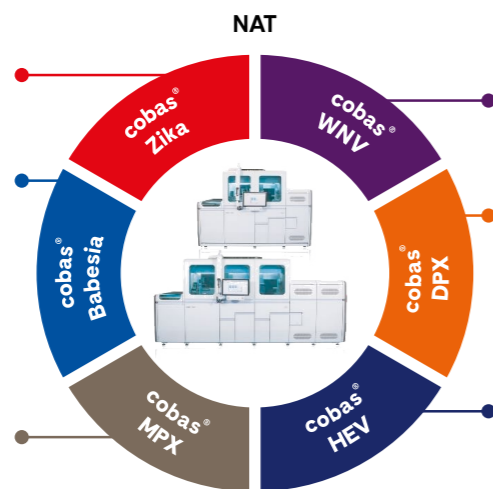
Nejlepší citlivost ve své třídě na sérokonverzi<sup>1</sup> umožňuje nejčasnější možnou detekci potenciálně infekčních vzorků.

světa naznačuje, že tímto směrem se bude postupně ubírat i ČR.

Společnost Roche nabízí zákazníkovi nejmodernější řešení, které významně napomáhá zajistit co nejbezpečnější přípravu krevních produktů. Nabízí využití dvou vysoce kvalitních a citlivých technologií pro screening krve společně s automatizovanými systémy nejen pro sérologické, ale i NAT vyšetření.

Sérologické testování pomocí technologie elektrochemiluminiscence (ECL)

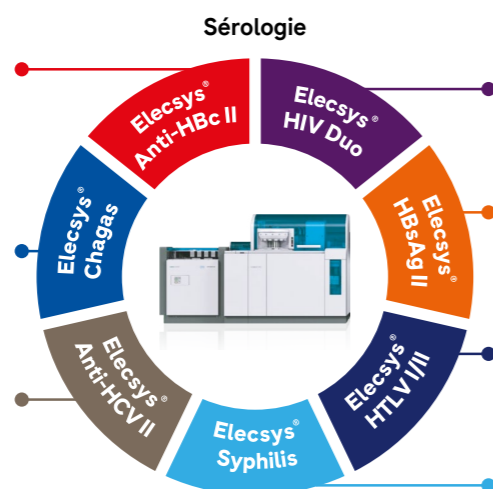
ECL (elektrochemiluminiscence) je patentovaná technologie Roche používaná pro sérologickou diagnostiku. Na základě této technologie v kombinaci s dobře navrženými, specifickými a citlivými imunochemickými principy poskytují aplikace Elecsys<sup>®</sup>



Citlivá detekce obou linií WNV 1 a 2.

Pokrytí více genotypů B19V (1, 2, 3) a HAV (I, II, III).

Záchyt všech 4 hlavních genotypů HEV.



Specifický design testu zajišťuje detekci všech hlavních skupin a subtypů HIV-1 a HIV-2, které se vyskytují po celém světě, a zajišťuje tak mimořádnou úroveň bezpečnosti.

Vynikající analytická citlivost a komplexní pokrytí mutací umožňuje spolehlivou detekci infekčních vzorků.

Široké spektrum detekovaných variant HTLV-I/II pro zabezpečení nezávadných dodávek krve ve všech zeměpisných oblastech.

Vysoká klinická senzitivita ve všech stádiích infekce umožňuje zajistit bezpečnost krevních produktů.

spolehlivé výsledky. Koncept imunometod Elecsys<sup>®</sup> je založen na využití značení rutheniovým chelátem a substrátu tripropylaminu. Elektrochemiluminiscenční reakce pro detekci vytvořeného imunokomplexu je spuštěna přivedením napětí na pracovní elektrodu v měřicí cele, čímž dochází k přesně řízené reakci. Technologii ECL lze využít u mnoha imunoanalytických principů, kde vykazuje nadstandardní funkční vlastnosti. Technologie ECL poskytuje sérologickým metodám Elecsys<sup>®</sup> vysokou senzitivitu a krátký reakční čas (max. 27 min.) a usnadňuje tak spolehlivou identifikaci infekčních agens s časovou a nákladovou efektivitou. Vysoká senzitivita také dovoluje použití nízkého objemu vzorků (max. 50 (mikro) l) a zejména detekci nízkých koncentrací agens v počátečních stádiích onemocnění po sérokonverzi. Pečlivá selekce protilátek a aplikace moderních principů imunoreakcí

mají pozitivní vliv rovněž na klinickou a analytickou specifčnost metod Elecsys<sup>®</sup>, což výrazně omezuje výskyt falešně pozitivních výsledků a nutnost jejich konfirmace.

V současné době již můžeme nabídnout novou generaci harmonizovaných integrovaných řešení cobas<sup>®</sup>, založenou na systémech cobas<sup>®</sup> pro a cobas<sup>®</sup> pure. Tyto analyzátoři jsou k dispozici v moderním modulárním provedení, díky kterému lze navrhnout to nejvhodnější řešení pro transfuzní laboratoř jakékoli velikosti a potřeb. Při vývoji těchto platform došlo k dalšímu zvýšení úrovně automatizace laboratorních procesů, jejich bezpečnosti a hospodárnosti. K nejvýznamnějším inovacím patří především zavedení plně „ready-to-use“ reagenčních kazet cobas<sup>®</sup> green packs s deklarovanou 4měsíční stabilitou na paletě analyzátorů a zvýšeným počtem testů

(300), ultrazvukové mytí vzorkových pipetů cobas<sup>®</sup> SonicWash, kalibrace bez použití reagensů cobas<sup>®</sup> AutoCal, automatizace údržby a řada dalších.

Zjistěte více o našich preanalytických řešeních na [go.roche.com/preanalytika](http://go.roche.com/preanalytika).

NAT vyšetření

Za účelem NAT vyšetření společnost Roche nabízí v současnosti plně automatizovaný systém cobas<sup>®</sup> 6800, který pro screening dárců využívá molekulární testování pomocí polymerázové řetězové reakce. Pro zařízení transfuzní služby jsou k dispozici multiplexní testy, které v jedné reakci dokážou identifikovat a rozlišit infekci HCV, HBV, HIV1/2, případně duplexní testy identifikující infekci HAV a Parvo B19. Portfolio určené pro transfuzní laboratoře je možné rozšířit podle přání zákazníka a podle epidemiologické situace o další testy (např. detekce West Nile Virus, HEV a další).

Systém cobas<sup>®</sup> 6800 může být doplněn zařízením umožňujícím laboroři provádět poolování vzorků, které výrazně zvýší efektivitu provozu. V současné době jsou v provozu dva typy poolovacích automatů, jednak cobas p 680 a jednak novější systém Microlab STAR spolu s softwarem cobas<sup>®</sup> Synergy. Produkt cobas<sup>®</sup> Synergy software byl vyvinut speciálně pro zařízení transfuzní služby a představuje řešení pro správu dat umožňující optimalizovat pracovní proces, a tím zvyšovat produktivitu a efektivitu provozu transfuzní laboratoře.

Historie RBSS v České republice

Celý příběh RBSS v České republice započal v roce 2010, kdy bylo spuštěno sérologické testování v laboratoři Transfuzního a tkáňového oddělení FN Brno na platformě cobas e 411. V té době ještě nebylo portfolio testů povinných pro sérologický screening kompletní, ale od roku 2014 je firma Roche schopná zajistit veškeré testy vyžadované legislativními požadavky pro sérologický screening.

Pro sérologické vyšetření mohly laboratoře využívat systémy cobas<sup>®</sup> 6000, cobas<sup>®</sup> 8000, v současné době i cobas<sup>®</sup> pro a v blízké budoucnosti budeme moci zařízením transfuzní služby nabídnout nejnovější cobas<sup>®</sup> pure. Laboratoř podle své velikosti a typu provozu může zvolit optimální sestavu, která plně vyhovuje jejím potřebám. Protože v legislativních požadavcích na testování dárců krve je i testování IgG a celkové bílkoviny, je možné kromě imunochemických modulů použít i biochemický modul, který tento typ testů zajistí. Vzhledem k tomu, že tyto testy jsou ale méně časté, standardně se v laboratorních transfuzní služby nevyužívají. Výjimkou je jedno pracoviště, které se díky intenzivní spolupráci s plazmaferetickými centry, a tedy i počtem zpracovávaných vzorků, vymyká běžnému „českému provozu“ a je schopné tyto moduly dostatečně kapacitně využít.

V současné době jsou systémy cobas<sup>®</sup> určité pro screening infekčních markerů instalovány ve čtyřech zařízeních, která se liší svou velikostí a v jejich laboratořích jsou vlastně využity všechny dosud dostupné varianty (cobas e 411, cobas e 601, cobas e 801, cobas<sup>®</sup> pro). Kromě základního kvadrupletu, tedy screeningu na přítomnost protilátek proti HIV1/2, HCV, Syphilis a přítomnost antigenu HBsAg, využívají některá pracoviště i další doplňkový parametr, konkrétně test na protilátky proti HbC, který jsou nejspecifičtější a nejcitlivější sérologickým markerem HBV infekce.

Přestože testování dárců molekulárně genetickými metodami (NAT) není v České republice legislativně vyžadováno, několik pracovišť se vydalo na „vizionářskou“ cestu a rozhodlo se systém NAT využít. V prvních instalacích se v laboratořích umísťoval systém cobas s 201, společně s poolovacím automatem Microlab STAR. V průběhu dalších let se pro další zařízení transfuzní služby využil již systém cobas<sup>®</sup> 6800, který ve srovnání s cobas s 201 nabízí vyšší stupeň automatizace a „větší dávku uživatelské pohody“. Na obou zmíněných systémech lze vyšetřovat povinné virové markery, tedy přítomnost HIV1/2, HBV, HCV. Všechny uvedené virové markery jsou detekovány v rámci jediného testu, který je navíc schopen přesně je identifikovat a rozlišit.



Kromě tohoto multiplexního testu nabízíme zákazníkům také duplexní test, který slouží k detekci přítomnosti HAV a Parvo B19. Tyto testy jsou vyžadovány pro vyšetření plazmy k dalšímu průmyslovému zpracování a již několik zákazníků je do svého portfolia zařadilo. V případě potřeby je možné laboratořím transfuzní služby nabídnout i další testy, jako je například test pro screening přítomnosti viru západonilské horečky. Tento typ testu byl v ČR poprvé využit v roce 2019, kdy se tato infekce vyskytla v moravských regionech a firma Roche byla schopná velmi rychle zareagovat na požadavek zákazníka o zavedení tohoto testu.

V letošním roce v České republice uvádíme na trh kompaktní inovativní systém cobas<sup>®</sup> 5800, který Vám představíme v některém z dalších vydání časopisu.

V současné době se molekulárně genetické testování na systémech Roche provádí ve čtyřech zařízeních, nicméně vzhledem k jejich velikosti a počtu odběrů je možné říci, že zhruba čtvrtina odběrů plné krve je vyšetřena kromě sérologického screeningu i NAT. Pracoviště, která zavedla NAT do svého vyšetřovacího schématu, tak vycházejí vstříc požadavkům léčebných složek, neboť některá zdravotnická zařízení již vyžadují pouze transfuzní přípravky vyšetřené molekulárně genetickým testováním.



Mgr. Petra Trachtulcová, Ph.D.  
ROCHE s.r.o., Diagnostics Division  
Kontakt: [petra.trachtulcova@roche.com](mailto:petra.trachtulcova@roche.com)  
Od roku 2018 pracuje ve společnosti Roche Diagnostics s.r.o. jako aplikační specialista pro koagulační analyzátoři a věnuje se spolupráci s laboratořemi v zařízeních transfuzní služby. Přivítala by den alespoň o pár hodin delší, aby kromě práce stihla jógu, kreslení, filmy, dobrou muziku a knížky a spoustu dalších věcí, které dodávají životu tu správnou chuť.



Následující přístroje a korespondující testy jsou zdravotnickými prostředky *in vitro*. Jsou určeny pouze k použití laboratorními profesionály vyškolenými v laboratorní technice a instruovanými v používání systému. Více informací najdete na [go.roche.com/Navody](http://go.roche.com/Navody).

### PŘÍSTROJE PRO MOLEKULÁRNÍ DIAGNOSTIKU (NAT)

<b>cobas<sup>®</sup> 6800</b>	Systém zajišťuje proces plně automatické izolace nukleové kyseliny přímo v primárních nebo sekundárních vzorkových zkumavkách s automatickým nastavením PCR a real-time PCR.
<b>cobas s 201</b>	Analýzátor určený pro screening vzorků lidské plazmy od jednotlivých dárců (nebo směsí lidské plazmy složené ze stejných alikvotních podílů vzorků od jednotlivých dárců) na obsah infekčních látek pomocí technologie amplifikace polymerázovou řetězovou reakcí (PCR) a 5' nukleázové detekční technologie v reálném čase.
<b>cobas<sup>®</sup> 5800</b>	Plánuje se uvedení na trh.

### TESTY MOLEKULÁRNĚ DIAGNOSTICKÉ

<b>cobas<sup>®</sup> DPX</b>	Test pro použití na systémech <b>cobas<sup>®</sup> 6800</b> určený ke kvantifikaci DNA genotypů 1, 2 a 3 parvoviru B19 a k přímé kvalitativní detekci RNA genotypů I, II a III viru hepatitidy A (HAV) v lidské plazmě.
<b>cobas<sup>®</sup> MPX</b>	Kvalitativní test pro použití na systémech <b>cobas<sup>®</sup> 6800</b> pro přímé zjištění RNA lidského viru selhání imunity typu 1 (HIV-1) skupiny M, RNA viru HIV-1 skupiny O, RNA lidského viru selhání imunity typu 2 (HIV-2), RNA viru hepatitidy C (HCV) a DNA viru hepatitidy B (HBV) v lidské plazmě a séru.
<b>cobas<sup>®</sup> HEV</b>	Kvalitativní test nukleových kyselin pro použití na systémech <b>cobas<sup>®</sup> 6800</b> k přímé detekci RNA viru hepatitidy E (HEV) (genotypy 1-4) v lidské plazmě.
<b>cobas<sup>®</sup> WNV</b>	Kvalitativní test pro použití na systémech <b>cobas<sup>®</sup> 6800</b> k přímé detekci RNA západonilského viru (WNV) v lidské plazmě.
<b>cobas<sup>®</sup> TaqScreen MPX Test</b>	Kvalitativní test určený pro použití na systému <b>cobas s 201</b> pro přímou detekci RNA lidského viru selhání imunity typu 1 (HIV-1) skupiny M, RNA HIV-1 skupiny O, RNA lidského viru selhání imunity typu 2 (HIV-2), RNA viru hepatitidy C (HCV) a DNA viru hepatitidy B (HBV) v lidské plazmě.
<b>cobas<sup>®</sup> Taqscreen WNV Test</b>	Kvalitativní test určený pro použití na systému <b>cobas s 201</b> k přímé detekci RNA západonilského viru (WNV) v lidské plazmě.
<b>COBAS<sup>®</sup> AmpliScreen<sup>®</sup></b>	Není již v nabídce firmy Roche.
<b>cobas<sup>®</sup> Zika*</b>	Plánuje se uvedení na trh.
<b>cobas<sup>®</sup> CHIKV/DENV*</b>	Plánuje se uvedení na trh.
<b>cobas<sup>®</sup> Babesia*</b>	Plánuje se uvedení na trh.

### PŘÍSTROJE PRO IMUNOCHEMICKOU A FOTOMETRICKOU ANALÝZU V SÉROLOGII

<b>cobas<sup>®</sup> 6000</b>	Série automatických analyzátorů pro imunochemické a fotometrické analýzy, určená pro kvalitativní a kvantitativní <i>in vitro</i> stanovení široké palety testů. Stavební koncept (modulární) umožňuje několik kombinací systému složeného z modulu s iontově selektivními elektrodami ( <b>cobas<sup>®</sup> ISE</b> ), fotometrických analytických jednotek ( <b>cobas c 501</b> ) a imunochemického modulu ( <b>cobas e 601</b> ).
<b>cobas<sup>®</sup> 8000</b>	Série automatických analyzátorů pro imunochemické a fotometrické analýzy určené pro kvalitativní a kvantitativní <i>in vitro</i> stanovení široké palety testů. Stavební koncept (modulární) umožňuje několik kombinací systému složených z modulu s iontově selektivními elektrodami ( <b>cobas<sup>®</sup> ISE</b> ), fotometrických analytických jednotek ( <b>cobas c 502</b> , <b>cobas c 701</b> a <b>cobas c 702</b> ) společně s imunochemickými moduly ( <b>cobas e 602</b> a <b>cobas e 801</b> ).
<b>cobas<sup>®</sup> pro</b>	Série automatických analyzátorů je určená k provádění kvalitativních a kvantitativních stanovení v oblastech klinické chemie (modul <b>cobas c 503</b> ) a imunochemie (modul <b>cobas e 801</b> ), stejně jako k provádění iontově selektivních měření ( <b>cobas<sup>®</sup> ISE</b> ).
<b>cobas<sup>®</sup> pure</b>	Série automatických analyzátorů je určená k provádění kvalitativních a kvantitativních stanovení v oblastech klinické chemie (modul <b>cobas c 303</b> ) a imunochemie (modul <b>cobas e 402</b> ), stejně jako k provádění iontově selektivních měření.
<b>cobas<sup>®</sup> ISE</b>	Modul je součástí linky všech sérií analyzátorů
<b>cobas c 303</b>	Modul je součástí linky série <b>cobas<sup>®</sup> pure</b>
<b>cobas e 411</b>	Plně automatický analyzátor určený pro provádění kvalitativních, semikvantitativních a kvantitativních imunochemických testů.
<b>cobas e 402</b>	Modul je součástí linky série <b>cobas<sup>®</sup> pure</b>

<b>cobas c 501</b>	Modul je součástí linky série <b>cobas<sup>®</sup> 6000</b> .
<b>cobas c 502</b>	Modul je součástí linky série <b>cobas<sup>®</sup> 8000</b> .
<b>cobas c 503</b>	Modul je součástí linky série <b>cobas<sup>®</sup> pro</b>
<b>cobas e 601</b>	Modul je součástí linky série <b>cobas<sup>®</sup> 6000</b> .
<b>cobas e 602</b>	Modul je součástí linky série <b>cobas<sup>®</sup> 8000</b> .
<b>cobas c 701</b>	Modul je součástí linky série <b>cobas<sup>®</sup> 8000</b> .
<b>cobas c 702</b>	Modul je součástí linky série <b>cobas<sup>®</sup> 8000</b> .
<b>cobas e 801</b>	Modul je součástí linky série <b>cobas<sup>®</sup> 8000</b> .

### TESTY IMUNOCHEMICKÉ (SÉROLOGICKÉ)

<b>Elecsys<sup>®</sup></b>	Všechna stanovení Elecsys jsou založena na patentované technologii elektrochemiluminiscenčního imunostanovení „ECLIA“ a určena pouze pro použití na všech seriích analyzátorů, které obsahují analytický modul <b>cobas e</b> .
<b>Elecsys<sup>®</sup> Anti-HBs II</b>	Kvantitativní stanovení lidských protilátek proti povrchovému antigenu hepatitidy B (HBsAg) v lidském séru a plazmě na sendvičovém principu. Senzitivita stanovení 100 % (n = 669), relativní specifita 99,78 % u dárců krve (n = 2 673) a 99,45 % u rutinních netříděných vzorků (n = 1 623).
<b>Elecsys<sup>®</sup> Anti-HBc II</b>	Kvalitativní stanovení IgM a IgG protilátek proti core antigenu viru hepatitidy B v lidském séru a plazmě na principu kompetice. Senzitivita 100 % (n = 793), specifita 99,93 % (n = 6 850; dárci krve) a 100 % (n = 20 101; hospitalizovaní pacienti).
<b>Elecsys<sup>®</sup> Anti-HCV II</b>	Kvalitativní stanovení protilátek proti viru hepatitidy C (HCV) v lidském séru a plazmě. Test je proveden jedнокrokovou sendvičovou imunoanalýzou s dvojitým antigenem. Senzitivita 100 % (n = 765), specifita 99,84 % (n = 6 850; dárci krve) a 99,66 % (n = 3 922; hospitalizovaní pacienti).
<b>Elecsys<sup>®</sup> Syphilis</b>	Kvalitativní stanovení celkových protilátek proti <i>Treponema pallidum</i> v lidském séru a plazmě. Test slouží jako pomůcka při diagnostice nákazy syfilis. Test je proveden jedнокrokovou sendvičovou imunoanalýzou s dvojitým antigenem. Senzitivita 100 % (n = 924), specifita 99,80–99,93 % (dle testované skupiny).
<b>Elecsys<sup>®</sup> Chagas*</b>	Plánuje se uvedení na trh.
<b>Elecsys<sup>®</sup> HIV Duo</b>	Kvalitativní stanovení antigenu p24 HIV-1 a protilátek proti HIV-1, včetně skupiny O a HIV-2, v lidském séru a plazmě. Test je proveden sendvičovou imunoanalýzou s dvojitým antigenem nebo dvojitou protilátkou pro detekci HIV antigenu p24 a protilátek proti HIV. Senzitivita 100 %, specifita 99,87 % (n = 13 330; dárci krve) a 99,92 % (n = 2 368; běžné pacientské vzorky).
<b>Elecsys<sup>®</sup> HTLV-I/II</b>	Kvalitativní stanovení protilátek proti HTLV-I/II v lidském séru a plazmě. Sendvičový princip s využitím 2 antigenů. Senzitivita stanovení 100 % (n = 1 149), specifita ve studii byla 99,95 % u dárců krve (n = 11 575) a 99,83 % v diagnostické skupině včetně těhotných žen (n = 2 399).

### PREANALYTICKÉ SYSTÉMY A SOFTWARE

<b>cobas p 680</b>	Používá se jako volitelný předstupeň systémů <b>cobas<sup>®</sup> 6800</b> v laboratorních screeningu krve, kde slouží k pipetování vzorků za účelem vytvoření jejich poolů.
<b>Microlab STAR</b>	Poolovací zařízení, není produktem firmy Roche.
<b>cobas<sup>®</sup> Synergy</b>	Software provádějící správu vzorků určených ke zpracování na preanalytických přístrojích <b>cobas<sup>®</sup> 6800</b> . Shromažďuje data z poolovacích a analytických přístrojů a umožňuje uživateli kontrolu výsledků z jednotlivých (i poolovaných) vzorků. Vytváří z dat výstupní soubory k odeslání do laboratorního informačního systému.
<b>cobas p 612</b>	Je počítačem řízený plně automatický preanalytický systém pro třídění otevřených a uzavřených zkumavek s čárovým kódem a centrifugovaných zkumavek, jejich odvíčkování a opětovné uzavírání, jakož i alikvotaci primárních a sekundárních zkumavek. Dále obsahují moduly pro registraci zkumavek s čárovým kódem, detekci hladiny kapaliny a kvality vzorku a tisk čárových kódů.
<b>cobas p 512</b>	Je počítačem řízený, plně automatický preanalytický systém pro třídění otevřených a uzavřených zkumavek s čárovým kódem a centrifugovaných vzorků, jakož i pro jejich odvíčkování a opětovné uzavírání. Dále obsahuje moduly pro registraci zkumavek s čárovým kódem, detekci hladiny kapaliny a kvality vzorku.

Methodické listy ke všem uvedeným metodám naleznete na webu eLabDoc, [/go.roche.com/Navody](http://go.roche.com/Navody)

#### Literatura

- Esteban JI et al. (2013). Multicenter Evaluation of the Elecsys<sup>®</sup> Anti-HCV II Assay for the Diagnosis of Hepatitis C Virus Infection Journal of Medical Virology 85:1362–1368.
- Flores-Chavez MD et al. (2018). Evaluation of the Elecsys Chagas Assay for Detection of Trypanosoma cruzi-Specific Antibodies in a Multicenter Study in Europe and Latin America J. Clin. Microbiol. 56.





Mgr. Anežka Hucíková  
ROCHE s.r.o., Diagnostics Division

## Laboratorní automatizace včera, dnes a zítra

V 80. letech 20. století, v dobách, kdy hlavním problémem klinických laboratoří byl „pouze“ nedostatek personálu, vymýšlel Dr. Masahide Sasaki a jeho spolupracovníci to, co se mělo stát největší revolucí v klinické laboratorní technologii od dob prvního analytického systému (AutoAnalyzer, 1957<sup>1</sup>). Komplexní automatizace laboratorního provozu byla popisována vizí laboratorního řešení „umožňujícího přiřazení vzorku konkrétnímu pacientovi ihned po odběru materiálu a zachovávajícího tuto identifikaci během zpracování vzorku v mechanizovaném analytickém řetězci až po konečnou registraci a prezentaci platných výsledků“<sup>1,2,3</sup>. Mechanizovaný analytický řetězec se stal realitou v roce 1985, kdy Dr. Sasaki se svým týmem medicínských technologií dokončil instalaci prvního automatizovaného transportního systému v nemocnici přidružené ke Kochi Medical School v Japonsku. Kombinace dopravníkových pásů a připojených preanalytických a analytických systémů dostala název *Total Laboratory Automation*<sup>4</sup>.

Firma Roche na globální vývoj v diagnostické automatizaci navázala před více než 20 lety preanalytickými systémy RSD 800



> Obr. 1: Instalace první automatizované laboratorní linky (1985, Japonsko). Linka byla umístěna blízko u stropu, tzn. nad hlavami laboratorního personálu.<sup>3</sup>

a RSA, které se i na českém trhu těšily velké oblibě. Automatizaci centrifugace, odzátkování, alikvotace, zátkování a třídění naše společnost následně rozšířila také o transport vzorků k analyzátorům prostřednictvím své první online linky *Modular Pre-Analytics (MPA)*. Postupem času (2016) ji na trhu nahradil nynější koncept Roche integrovaného řešení pro centrální laboratoře nabízející novou generaci analyzátorů *cobas® pro* a *cobas® pure*, které mohou být se současnými perianalytickými řešeními *cobas p 512/p 612* nebo *cobas p 501/p 701* propojeny pomocí transportních drah *cobas® connection modules (CCM)*.

Původní vize Dr. Sasakiho o mechanizovaném analytickém řetězci byla nepochybně naplněna. Vývoj však pokračuje dále a ve srovnání s předchozí myšlenkou jednoznačné identifikace patientského vzorku během celého analytického procesu jsou současné nároky na online zpracování vzorků mnohem vyšší.

Kromě základního cíle laboratorní automatizace, za který obecně považujeme zvýšení efektivity lidské práce, je velký důraz kladen na 3 základní oblasti: **flexibilita řešení, kvalita výsledků a jejich doručování v krátkém a predikovatelném čase (TAT)**.



Funkcionality a parametry Roche analytických systémů, díky kterým naše výsledky odpovídají výše uvedeným 3 kritériím, jsme vám spolu s Ing. Pavlem Prouzou, vedoucím týmu Roche aplikačních a produktových specialistů, shrnuli v krátkém videu. Naleznete ho jednoduše na [go.roche.com/analyzatory](https://go.roche.com/analyzatory). Určitě si na něj najdete čas. Pokud bychom vám z videa měli prozradit alespoň 3 klíčová slovíčka, pak je to #230, #ECL a #SonicWash.

S ohledem na avizované cíle vnímáme jako **důležitý předpoklad každé úspěšné automatizace portfolio metod**. Široká paleta testů dostupná na jedné platformě totiž snižuje počet analytických systémů, které musí vzorek navštívit za účelem kompletace všech výsledků. Tím nejenže dochází k eliminaci rizika kontaminace vzorků a zkrácení doby zpracování všech požadovaných testů daného vzorku, ale také k optimalizaci nákladů nezbytných k celkovému provozu laboratoře a v neposlední řadě i k minimalizaci manuálních úkonů obsluhy. Nadstandardní citlivost měřicí technologie systémů *cobas e* – elektrochemiluminiscence – navíc umožňuje provádět široké spektrum metod i z velmi nízkých objemů séra či plazmy, což je velkou výhodou pro určité skupiny pacientů. Laboratoře jsou tak schopny stanovit všechny markery z jednoho odebraného vzorku.

### Flexibilita a škálovatelnost

Možnosti flexibilního přizpůsobení se potřebám měnícího se laboratorního provozu definujeme na několika úrovních. V rovině analytických systémů, tak jak o tom mluvíme i v našem videu, budeme uvažovat o škálovatelnosti jejich výkonu a rozložení metod v návaznosti na testované portfolio a počet dostupných konfigurací. Integrovaná řešení *cobas® pro* například nabízejí až 11 dostupných konfigurací, přičemž optimální rozložení metod na jednotlivých modulech ověřujeme pomocí našich simulačních nástrojů a dále je efektivně přizpůsobujeme potřebám provozu.

Nadstavbou analytických systémů jsou nepochybně preanalytická řešení a následná plná online automatizace. Roche je z aktuálních poskytovatelů laboratorní automatizace jedinou společností, která nabízí „standalone“ preanalytická řešení umožňující plynulý přechod do plné linky pouhým přidáním dopravníkových drah.

Komplexnost a obrovskou míru flexibility a škálovatelnosti CCM řešení nepochybně přidává *middleware cobas® infinity*. Zjednodušeně si jej můžete představit jako software propojující systémy v laboratoři s laboratorním informačním systémem (LIS). Hlavní funkcí middlewaru je řízení zpracování dat a řízení pohybu vzorků. *cobas®*



Chcete o našich preanalytických řešeních vědět víc? V krátkém videu z naší série o automatizaci vám je rádi představí členové workflow & IT týmu Jakub Žajdlík a Ondřej Meduna. Kromě QR odkazu naleznete video také na [go.roche.com/preanalytika](https://go.roche.com/preanalytika).



*infinity* určuje trasu vzorků do jednotlivých systémů tak, aby bylo stanoveno **co nejvíce požadovaných testů v co nejkratším čase**. Flexibilitu a efektivitu provozu zvyšuje také pružným reagováním na situaci v laboratoři – v případě potřeby operativně přesměruje tok vzorků za účelem udržení optimálního provozu.

V neposlední řadě je otázka flexibility online automatizace často spojována s **možností připojování analytických systémů třetích stran**. Firma Roche je známá širokými možnostmi své multidisciplinární konektivity. Nad rámec připojení disciplín, které již dnes považujeme za běžné (hematologie, koagulace či speciální infekční vyšetření), dokážeme do CCM linky připojit také močové analyzátoři či systémy molekulární diagnostiky. Široké portfolio dostupné na našich SWA analyzátořích nám umožňuje redukovat nutnost připojení klinickochemických a imunochemických systémů třetích stran. Výjimkou zůstávají systémy Diasorin Liaison XL a Phadia XX pro doplnění některých speciálních metod. **Skutečností však nadále zůstává, že dokážeme automatizovanou linkou zpracovat až 97 % všech laboratorních požadavků v oblasti SWA.**

### Kvalita

Pokud se na rozhodnutí o výběru konkrétního integrovaného řešení podíváme optikou kvality, v Roche primární cílení na **poskytování vysoce citlivých, spolehlivých a stabilních technologií reflektujeme důvěryhodností výsledků a provozuschopností našich řešení**.

Věříme, že o výhodách osvědčené Roche patentované technologie elektrochemiluminiscence (ECL) se již nemusíme moc rozepisovat. Doplníme ale, že u klinickochemických modulů integrovaných řešení *cobas®* je kvalita výsledků navíc podpořena technologií ultrazvukového mytí jehel (*cobas® SonicWash*), která kromě zvýšené bezpečnosti stanovení redukuje problémy s ucpáváním jehly a v neposlední řadě minimalizuje počet *high priority*<sup>6</sup> testů. Vysoká doba provozuschopnosti našich systémů (více než 99 %), přispívající jak ke kvalitním výsledkům, tak ke spokojenosti



laboratorního personálu, je rovněž dána několika faktory: **1) Již více než 43 let si zakládáme na spolehlivé Hitachi architektuře.** **2) V případě neplánovaných incidentů se na Roche zkušený servisní tým můžete spolehnout.**

### Doručování výsledků v krátkém a predikovatelném čase

Turn around time (TAT) patří mezi nejintenzivněji sledované metriky každé laboratoře. Pro laboratoře je **důležité, aby byl TAT nejen krátký, ale také predikovatelný.** Důvod je jednoduchý – krátký TAT znamená například výsledky rutinních stanovení do 60 minut. Odhadnutelný TAT ale říká, že 60minutový TAT dosáhneme ne u 50 %, ale u 95 % všech rutinních vzorků.

Pokud bychom v Roche ze všech technologií a funkcionalit přispívajících ke krátkému a predikovatelnému TAT měli vybrat pouze tři, uvedeme:

- > **technologii ECL**, jejíž časy analýz jsou na rozdíl od jiných společností pouze 3 (9 minut pro statimy, 27 minut pro vybrané metody a 18 minut pro cca 93 % všech ostatních metod),
- > **vysoký výkon a robustnost našich řešení** (analytický výkon základní **cobas® pro SWA** konfigurace až 2200 testů/hod., preanalytický výkon **cobas p 512/p 612** až 1400 vzorků/hod., transportní výkon CCM až 10 000 vzorků/hod.)
- > **koncepční řešení transportní dráhy mezi perianalytickými a analytickými systémy** (přímé dráhy od preanalytiky až k analyzátorům, inteligentní,

middlewareem řízený přesun vzorků v 5pozičních stojácích do určených cílů, dedikované zásobníky pro každý analytický modul – tzv. Module Sample Buffers).

Na pohyb vzorků v pěti pozičních stojácích se někteří **bezdůvodně dívají kriticky.** Jakékoli potenciální námitky vůči neefektivnosti tohoto procesu jsou jednoduše demontovány skutečností, že **vzorky jsou preanalytickými systémy do 5pozičních stojánek tříděny s ohledem na své analytické cíle a následně hromadně přepravovány přímo do konkrétního analyzátoru za účelem optimalizace pohybu po transportní dráze.** Pro zjednodušení si představte skupinu dětí různých věkových kategorií, které navštěvují stejnou školu. **Když je jejich cesta do školy efektivnější?** Když je všechny posadíme do školního autobusu a ten je odveze přímo do školy, nebo když každé dítě doveze rodič, který se přitom cestou zastaví v pekárně, na poštu, nebo to vezme objížďkou kolem celého města? (O parkování u školy nemluvě.) A stejně je to s našimi RD-5 stojáky. **Pěti poziční stojáky obsazené relevantními vzorky middleware infinity posílá přímo na místo určení, bez zbytečného zajíždění a cirkulování po transportní dráze.** A aby to všechno opravdu nezůstalo jen na papíře, **zve vás také k praktické ukázce.**

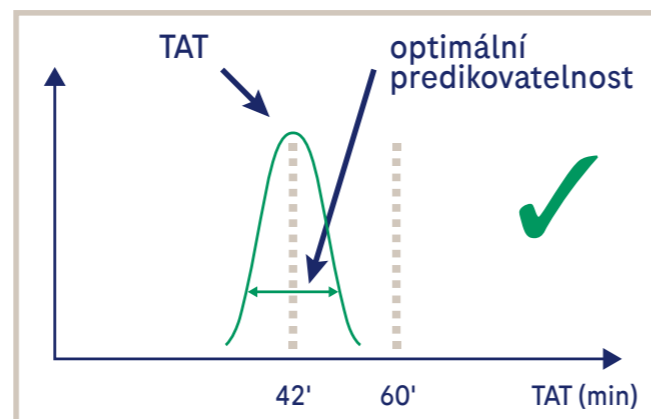
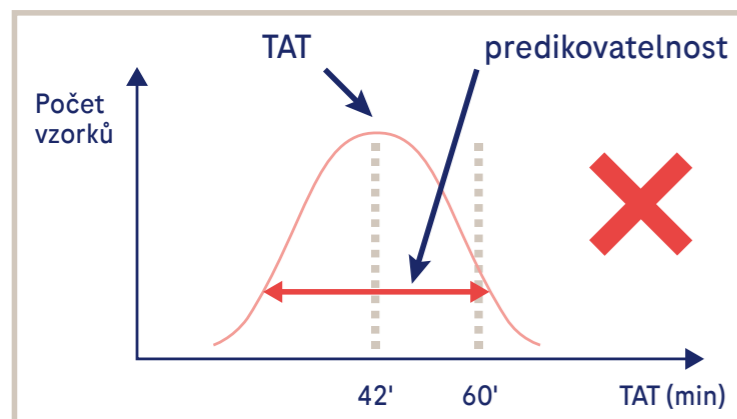


Zjistěte více o Roche laboratorní automatizaci prostřednictvím série našich videí na [go.roche.com/automatizace](http://go.roche.com/automatizace) nebo oslovte svého Roche obchodního zástupce.

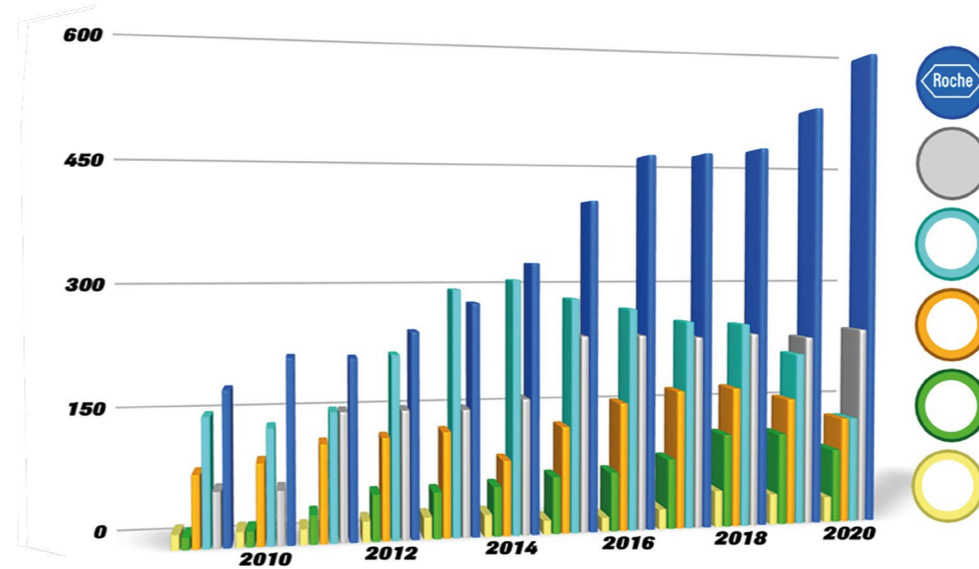


Podívejte se na [go.roche.com/FNUSA](http://go.roche.com/FNUSA) a zjistěte, jak v praxi funguje komplexní automatizace laboratoře založená na CCM v laboratoři Oddělení klinické biochemie ve Fakultní nemocnici u sv. Anny v Brně.

O automatizaci a efektivitě konkrétních prvků našich řešení by se toho dalo napsat ještě mnoho. Pro nás v Roche je důležité, že **víme, proč jsou naše řešení konstruována konkrétním způsobem. Jedná se o přidanou hodnotu, která nevypadá působivě jen na papíře, ale především každý den spolehlivě funguje ve vašich laboratořích.** Důkaz místo slibů podává graf 1, reference našich spokojených zákazníků a také **další inovace, které do oblasti automatizovaných laboratorních řešení Roche již brzy přinese.**



> Obr. 2: Ilustrace predikovatelnosti TAT



> Graf 1: Počet implementací laboratorní automatizace za období 2010–2020. Zdroj: IQVIA (BBC) Automation Report, June 2021



**Mgr. Anežka Hucíková**  
ROCHE s.r.o.; Diagnostics Division  
Kontakt: [anezka.hucikova@roche.com](mailto:anezka.hucikova@roche.com)  
Od začátku září 2020 pracuje na marketingovém oddělení společnosti Roche jako marketingový manažer pro CPS. Má na starosti marketingovou podporu systémů **cobas®** pro centrální laboratoře včetně relevantních softwarových řešení.



**cobas® pro integrated solutions** je plně automatizovaný, počítačem řízený diagnostický zdravotnický prostředek *in vitro*, určený ke kvantitativním a kvalitativním stanovením široké škály biochemických, imunochemických a ionoselektivních parametrů v různých biologických kapalinách, např. v séru, plazmě, moči, mozkomíšním moku, plné krvi, slinách aj. Systém je vytvořen modulárně použitím analytických jednotek **cobas c 503** a **cobas e 801**. K analýze uvedených typů vzorků systém využívá potenciometrii pro stanovení elektrolytů (NA<sup>+</sup>, CL<sup>-</sup>, K<sup>+</sup>) na jednotce ISE, fotometrii na fotometrickém modulu **cobas c 503** a technologii elektrochemiluminiscence na imunochemickém modulu **cobas e 801**.

**cobas p 612 pre-analytical system** a **cobas p 512 pre-analytical system** jsou plně automatizované, počítačem řízené diagnostické zdravotnické prostředky *in vitro*, určené k registraci, selektivnímu odzátkování a konfigurovatelnému třídění zkumavek s různými typem vzorků, např. sérum, plazma, moč, plná krev aj. Preanalytické systémy se používají společně s analyzátorův stanovujícími testy z oblasti klinické chemie, imunochemie, koagulace, hematologie, močové analýzy, analýzy nukleových kyselin.

**cobas® connection modules (CCM)** je plně automatizovaný, počítačem řízený diagnostický zdravotnický prostředek *in vitro*, sestávající ze souboru dopravníkových jednotek, které slouží k přepravě stojánek se vzorky různých biologických kapalin, např. sérum, plazma, moč aj. Tento transportní systém slouží k automatizaci přesunu vzorků z preanalytických systémů Roche do analyzátorů a postanalytických řešení.

Software **cobas® infinity central lab** společností Roche slouží k vytvoření datového komunikačního propojení mezi perianalytickými a analytickými *in vitro* diagnostickými zdravotnickými zařízeními a jedním či více laboratorními/nemocničními informačními systémy. **cobas® infinity** se v laboratořích používá pro správu konfigurace a propojení přístrojů, správu dat týkajících se vzorků, dat pacientů, výsledků testů, dále pro validaci výsledků, kontrolu hodnot (kvalitativní i kvantitativní), správu a uchování informací o archivaci vzorků, správu reagentů a kalibrátorů aj.

Všechna uvedená řešení jsou určena pro provoz vyškolenou obsluhou v klinických laboratořích. Více informací najdete na [go.roche.com/Navody](http://go.roche.com/Navody).

#### Literatura

- 1 Robin A Felder, The Clinical Chemist: Masahide Sasaki, MD, PhD (August 27, 1933–September 23, 2005), *Clinical Chemistry*, Volume 52, Issue 4, 1 April 2006, Pages 791–792, <https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.067686>.
- 2 Kinney TD, Melville RS. Automation in clinical laboratories. *Lab Invest* 1967; 16:803–11.
- 3 Sasaki M, Kageoka T, Ogura K, Kataoka H, Ueta T and Sugihara S, 1998. Total laboratory automation in Japan: Past, present and the future. *Clinica Chimica Acta*, 278(2), pp. 217–227.
- 4 Sasaki M. The belt line system – completely automatic clinical laboratory using a sample transportation system. *Lab Info Man* 1993; 21:119–26.
- 5 Doba provozuschopnosti: Procento času, kdy je systém v provozu a funguje, oproti době, kdy systém nefunguje z důvodu neplánovaných incidentů. Výpočet: (365 dní / střední doba provozu mezi opravami) × (střední doba opravy + doba dopravy).
- 6 „High priority“ označujeme testy, u kterých si minimalizace rizika přenosu (carryover) vyžaduje přednostní pipetování na imunochemickém modulu a až následně pipetování na klinickochemickém modulu.



**RNDr. Petra Vojvodová**

Transfuzní oddělení, Laboratoř infekčních markerů, Fakultní nemocnice Královské Vinohrady

## cobas® pro modul e 801 – první instalace a zkušenosti v zařízení transfuzní služby FNKV

Transfuzní služba je v České republice jednou z integrálních součástí poskytování komplexní zdravotní péče. V celém systému fungování této oblasti je zahrnuta řada pracovišť různých velikostí a zaměření. Od jednotlivých odběrových míst až po velká transfuzní oddělení, která zajišťují velmi širokou škálu činností. Jejich fungování má v rámci zdravotnictví mnoho specifických prvků, které generují i specifické požadavky na partnerské a dodavatelské organizace.

Transfuzní oddělení Fakultní nemocnice Královské Vinohrady (dále „TO FNKV“) je pracovištěm, které zabezpečuje odběr krve a jejích složek. Zajišťuje komplexní zpracování a vyšetření transfuzních odběrů, výrobu standardních i speciálních transfuzních přípravků, jejich skladování a distribuci. Dále zde probíhají základní a speciální imunohematologická vyšetření včetně testů kompatibility před výdejem transfuzních přípravků pacientům. Nadto je TO FNKV součástí systému registrace dárců vzácných krevních skupin do Národního registru dárců.

Je třeba si především uvědomit, že transfuzní přípravky jsou léčivem, a tudíž všechny kroky jejich výroby podléhají závazným předpisům definovaným legislativními pravidly a příslušnými normami. Jednou z povinností každého pracoviště transfuzní služby, které zpracovává odebranou krev na transfuzní přípravky, je zajistit jejich bezpečnost. Legislativně je stanoveno sérologické vyšetření krve přenosných infekčních markerů – protilátek proti viru hepatitidy C (anti-HCV), protilátek a antigenu viru lidské imunodeficiency (anti-HIV 1/2 + p24 antigen), povrchového

antigenu hepatitidy B (HBsAg) a protilátek proti původci syfilis (anti-TP). Pracoviště TO FNKV v rámci programu zvýšené bezpečnosti krevních přípravků zařadilo i další testování nepovinného markeru, tedy protilátek proti core antigenu viru hepatitidy B (anti-HBc). Nadto od roku 2017 pracoviště TO FNKV zavedlo nepovinné testování metodou vyšetřování nukleových kyselin (NAT) kvůli snížení rizika tzv. diagnostického okna. Lze konstatovat, že takto vyšetřené transfuzní přípravky splňují všechna požadovaná kritéria na bezpečnost z hlediska potenciální infekce pacientů krví přenosnými infekčními chorobami.

Sérologická vyšetření jsou na úseku virologické laboratoře TO FNKV v současné podobě prováděna plně automatizovanými systémy. Ne vždy tomu tak v minulosti bylo. Navíc do r. 1988–1990 nebyla žádná možnost výběru vyšetřovacích setů, neboť vše bylo řízeno a dodáváno centrálně, zahraniční soupravy mohly přicházet teprve po roce 1990. Vlastní historie vyšetřování infekčních markerů na pracovišti TO FNKV spadá až do roku 1972, kdy bylo ministerstvem zdravotnictví nařízeno povinné vyšetřování odebraných vzorků krve na přítomnost HBsAg. To bylo tehdy prováděno metodou elektroforetické separace (ELFO) v agarózovém gelu. V letech 1982 a 1988 došlo k přechodu na vyšetřování pomocí souprav ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent

Assay). S rostoucími poznatky o krví přenosných infekcích se postupně do testování na TO FNKV povinně zařazovaly i další testy. Z pokynu hlavního hygienika v roce 1987 přišly první testovací soupravy na HIV 1/2, od roku 1992 i testy na průkaz protilátek proti HCV (metodou ELISA testů). Povinné testování přítomnosti protilátek proti původci syfilis bylo zařazeno na TO FNKV až roku 2005. Stanovení přítomnosti nepovinného markeru anti-HBc je na pracovišti datováno rokem 1995. Testy formátu ELISA na mikrotitračních destičkách byly prováděny na analyzátoch EVOLIS dodaných firmou Bio-Rad. Tato metodika přes svoji robustnost a ekonomickou výhodnost postupně přestala vyhovovat nejnovějším nárokům pracoviště, zejména z důvodu nižší flexibility pracovních protokolů. Vystal zde tedy poměrně naléhavý požadavek plně automatizace virologického laboratorního provozu.

K plně automatizaci testování došlo na pracovišti až s příchodem analyzátorů firmy DiaSorin roku 2017. Přístroje využívaly metodu chemiluminiscence (CLIA) v klasickém formátu za použití paramagnetických mikročastic jako pevné fáze.

Jak dlouholetá praxe na TO FNKV ukázala, je pro transfuzní pracoviště klíčové nepodceňovat technickou stránku vyšetřování. A to jak tu přístrojovou, tak i stránku výběru diagnostik pro testování, resp. specifitu diagnostických testů. Pokud zájemci o darování krve a jejích složek projdou vstupními podmínkami, jsou považováni pro účely dárcovství za skupinu zdravých lidí. V tomto případě je potřebné u testovacích diagnostik brát v úvahu kvalitu specifity testu, tedy spolehlivost v určení skutečně nemocných. Primárním úkolem takového testu je zaručit, aby negativní výsledek byl opravdu negativní, tedy s maximální mírou spolehlivosti. Tato snaha se tedy logicky kříží se schopností určit s maximální mírou spolehlivosti opačný stav, tj. určení pozitivitu na některé infekční onemocnění. Na první pohled se může zdát, že vyšší míra falešně pozitivních stanovení je akceptovatelná daň za vysokou míru spolehlivosti při určení negativity. Je však třeba si uvědomit, že falešně pozitivní výsledek testu v některém z infekčních markerů nevyřazuje pouze dárce krve dočasně/trvale



ze systému dárcovství, ale je také současně důvodem k likvidaci transfuzního přípravku. A to nejen v den konkrétního odběru, ale i zpětně v tzv. režimu look-back. Lze proto hovořit o významné ztrátě lidské a hmotné. Nehledě již na problém etický, kdy „z nějakého“ pro laika těžko pochopitelného důvodu dochází k vyřazení z dárcovské kohorty. Tento krok je často vnímán dárce jako jakási stigmatizace a může vzbuzovat řadu obav o vlastní zdravotní stav.

V rámci nutnosti výběru nového vyšetřovacího systému se pracoviště TO FNKV zaměřilo na hledání řešení, jak při zachování vysoké specifity (tedy schopnosti určit spolehlivě negativitu) snížit co nejvíce množství falešných reaktivit v sérologickém testování.

Jedním ze zásadních kroků k výběru nové vhodné testovací platformy byla účast našeho pracoviště v Serum Evaluation Program (SEP), organizovaném firmou Roche. Tento program umožňuje všem potenciálním zájemcům o technická řešení firmy Roche vyzkoušet si vše „na vlastní kůži“. Program nabízí porovnání produktů Roche s konkurenčními testy, a to na reálných vzorcích od dárců. Celé testování probíhá v dostatečném objemu vzorků tak, aby získané výsledky byly dostatečně validní pro případné rozhodnutí do budoucna. V rámci tohoto programu byly porovnávány testy

provedené pomocí většiny nyní v ČR běžně dostupných firemních platform. Výsledky programu a naše účast v něm pak byly pro naše pracoviště určitým vodítkem pro specifikaci našich kvalitativních požadavků.

Firma Roche nabízí v současné době technologii Elecsys® založenou na principu elektrochemiluminiscence (ECLIA). Tato technologie splňuje všechny náročné požadavky kladené na zajištění kvalitního testování. Vlastní technické řešení analyzátorů v modulovém uspořádání dovoluje každému pracovišti vytvořit si „laboratoř na míru“, a to jak z pohledu kapacitního, tak i z pohledu možného prostorově ergonomického uspořádání.

Dalším velmi rozhodujícím parametrem při výběru nového systému byl čas. Pracoviště TO FNKV je distributorem transfuzních přípravků pro klinické aj. účely se službou 24 h, poskytovaných přímo pro pacienty FNKV dle požadavků různých klinik, ale také mimo nemocnici (nasmlouvaní odběratelů, akutní požadavky jiných nemocnic), dále je i krizovým centrem. Významnou součástí produkce TO FNKV je odběr, výroba a distribuce tzv. trombokoncentrátů. Tento transfuzní přípravek má expiraci 5 dnů, což je limitující faktor při jeho výrobě a vydávání. Odtud tedy vychází požadavek na velice včasné a pružné získávání výsledků pro tuto konkrétní skupinu vzorků.





Pokud se při výrobě transfuzního přípravku jakýkoli článek výrobního a testovacího řetězce opozdí, zbrzdí se i výsledné vydání transfuzního přípravku pro požadovaný medicínský účel. Na úseku virologie je tedy limitní čas vydání výsledku vyšetření dle požadavku, přičemž právě výběr konkrétní přístrojové techniky může časové hledisko významně ovlivnit. Jakékoli technické řešení, které umožní pružnost a dostatečnou průchodnost provozu, je vítanou výhodou. Patří mezi ně např. možnost průběžného vkládání vzorků vč. STATIM, chlazený prostor pro reagenty, automatizované zadávání vyšetření (software), vysoká kapacita zásobníků pro reagenty, jednotné operační doby pro všechny testy, nulová časová náročnost při přípravě reagentů a v neposlední řadě dostatečná technická robustnost a spolehlivost analytických modulů, které tak nevyžadují časté návštěvy servisního technika a minimalizují prostojové časy.

TO FNKV začalo spolupracovat s firmou ROCHE již v roce 2017 při implementaci a instalaci nově zavedeného systému pro testování nukleových kyselin (NAT) **cobas**<sup>®</sup> 6800, přičemž NAT bylo uvedeno do ostřejího provozu v průběhu roku 2018 (odkaz na článek Mgr. Pištkové LA\_03\_18 **cobas** 6800 systém – první instalace a zkušenosti v řízení transfuzní služby v ČR). V rámci výběru nové diagnostiky pro vyšetřování

infekčních markerů byla na základě výběrového řízení v roce 2021 spolupráce rozšířena i na tuto oblast screeningu dárců. Naše transfuzní oddělení se tak stalo třetím pracovištěm v ČR, kde je bezpečnost transfuzních přípravků sledována kompletním řešením od firmy ROCHE.

Pro potřeby naší laboratoře firma nabídla řešení v podobě dvou plně automatizovaných linek analyzátorů **cobas**<sup>®</sup> pro integrated solutions. Pro laboratoř bylo z našeho pohledu ideální mít instalované 2 moduly **cobas e 801**, zcela oddělené kvůli zachování flexibility pracoviště. Na začátku proběhlo několik plánovacích schůzek kvůli zajištění kontinuálního provozu i při změně vyšetřovacího systému sérologie. Jak bylo výše zmíněno, TO FNKV je typem pracoviště, kdy vyšetřování vzorků dárců krve na virologické laboratoři musí být zajištěno nepřetržitě. Proto byla otázka hladkého přechodu na novou platformu bez přerušování práce v laboratoři naprosto zásadní.

Plánován byl nejen časový soulad jednotlivých etap změny, ale i konkrétní technické požadavky a kroky. Byla ověřena statická nosnost stropů při souběhu analyzátorů. Pro laboratoř bylo nově vytvořeno řešení zavedení přívodu demineralizované vody ze samostatné úpravy a svodu odpadu do centrálního odpadu pracoviště. Toto

řešení znamená pro laboratoř velký přínos, neboť původní systém vyžadoval ruční zásobování kanistry a ruční odnášení/likvidaci kapalného odpadu. Při pracovním objemu na našem pracovišti představovala tato činnost nezanedbatelnou zátěž pro obsluhu. Průtok vody novými přístroji dle technické specifikace např. i špičkově 30 l/h je už značný a potenciální fyzická zátěž kladená na laboranty by byla extrémně vysoká, a tak je uvedené řešení kontinuálního přívodu i odvodu optimální. Analyzátoři tak mohou mít i menší vnitřní odpadní meziasobníky a veškeré prostorové nároky se omezují pouze na systémové kapaliny a jednorázové špičky a kyvety.

Vlastní výměna původních a nových analyzátorů se uskutečnila nadvakrát. Na základě dopředu vytvořeného a domluveného postupu prací proběhla instalace rychle, efektivně a pružně. A to zejména díky technikům, kteří tuto instalaci prováděli a kterým také patří nemalé poděkování. Jako při každé přestavbě jsme narazili na neočekávané potíže (přívod elektrické energie v dostatečné kapacitě, způsob připojení úpravy vody a svodu odpadu – např. zde řešeno přečerpávací jednotkou, nebylo možné zabudovat spádem do stoupaček nebo protáhnout přes podlahu). Tady by bylo vhodné uvést jeden postřeh: Je dobré, resp. nutné při plánování umístění analyzátorů pamatovat i na dostatečný prostor pro pravidelné kontroly a případné opravy techniků. Obecně asi můžeme říci, že moderní přístrojová technika sice směřuje k miniaturizaci, ale při požadavku na určitý výkon se nedají fyzikální zákony obejít a je nutno věnovat všem potřebným přístrojům určitý prostor. Na spoustě pracovišť transfuzní služby v ČR je tento fakt podceňován a pro práci laboratoří se vyčleňují prostory, které jsou pro moderní technické platformy nedostačující.

V průběhu výměny bylo domluveno s instalací prvního modulu **cobas e 801** i zaškolení personálu. Instalace znamenala mimo jiné zavedení aplikačních kódů do přístrojů a unikátního kódu dané metody. Pro potřeby laboratoře byla využita funkce „ReRun“ – jedná se o automatické opakování vyšetření, pokud je první výsledek vyšetření reaktivní.



Tato funkce znamená zjednodušení pro pracovníky, a tedy i urychlení analýzy. Uvedený systém využívá pracovního meziasobníku na vzorky, který je součástí každého analytického modulu. Po celou dobu analýzy je vzorek uložen v tomto zásobníku a čeká na výsledky svého testování. V případě negativy u všech parametrů se vzorek uvolní pro další použití, v případě positivity se vzorek použije pro automatické retestování v dubletu. Z toho je tedy zřejmé, že se jedná o další zjednodušení obsluhy, navýšení pracovního komfortu i zvýšení bezpečnosti celého procesu testování.

Následná instalace druhého modulu byla plánována s časovým odstupem vzhledem k závazkům firmy ROCHE na jiných pracovištích, vše ale proběhlo rychle a efektivně, vyšetřovací systém už byl v laboratoři zavedený a pracovníci již byli obeznámeni s jeho obsluhou. Kromě nutnosti vypořádat se s počátečním nastavením přístrojů bylo nutné nastavit také tisk primárních dat přímo z přístrojů. Tato dokumentace podléhá pravidlům Vedení a archivace dokumentace v zařízení transfuzní služby (Doporučení Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP

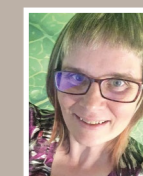
č. STL2017\_13 ze dne 7. 12. 2017 verze 1) a i přes současné možnosti elektronické archivace dat je v transfuzní službě stále povinně vyžadovanou součástí předpisové dokumentace. U modulu **e 801** je přímý tisk z analyzátoru komplikovaný, resp. objemově náročný. Záznam přístroje přiřazuje ke každému výsledku značné množství dat, za jakých podmínek a stavu byl celý výsledek získán. To je sice vítaná věc při zpětných analýzách, ale přímý tisk neumožňuje tato data zestručnit, a tak je přímý výpis výsledků z analyzátoru pro běžnou „papírovou“ archivaci objemný, zvláště s přihlédnutím k poměrně velkému počtu vydaných výsledků. Možným řešením je elektronická archivace dat s prokazatelným písemným dokladem kontroly, který je autorizován např. elektronickým podpisem.

Zajímavým a novým prvkem pro laboratoř je i tzv. **cobas**<sup>®</sup> link – jedná se o změnu způsobu propojení vyšetřovacího systému mezi firmou (aplikační aj. podpora), laboratoří (přístroje) a laboratorním informačním systémem (dále „LIS“) FNKV. V laboratoři může být „před“ **cobas**<sup>®</sup> linkem jakýkoli počet přístrojů, do sítě LIS je vedena pouze jedna linka, kterou spravuje ICT oddělení FNKV, tedy zjednodušení řešení pro FNKV. Zároveň **cobas**<sup>®</sup> link propojuje přístroje a firmu v rámci aplikačních služeb. Jedná se o jakékoli stahování nových dat pro nastavení přístrojů (např. hodnoty nových kalibrátorů, kontrol aj.). Pracovníci jsou přístrojem upozorněni vizuálně, jakmile je jakékoli stažení dat nutné.

Pro komunikaci s firmou máme nově k dispozici službu DataDialog, tzv. elektronický provozní deník, který je veden jak pro sérologické, tak pro NAT testování. Zápisem v této službě informujeme firmu o potížích, lze přiložit i soubory. Lze zvolit, zda je problém akutní a vyžaduje telefonickou konzultaci,

nebo zda se jedná jen o průběžný zápis. Celkově tak celá komunikace zjednodušuje a zprůhledňuje celý proces správy systémů a umožňuje obsluze vést detailní provozní deníky s dlouhodobou archivací.

Závěrem lze shrnout celkovou spokojenost pracoviště s touto změnou, kapacita obou modulů je více než dostatečná, a když se připočítá kapacita stávajícího vyšetřovacího systému NAT (**cobas**<sup>®</sup> 6800), je zde možnost pro úvahy k zařazení dalších odběrových center do systému vyšetřování na TO FNKV.



RNDr. Petra Vojvodová

Vedoucí laboratoře infekčních markerů Transfuzního oddělení Fakultní nemocnice Královské Vinohrady  
Kontakt: petra.vojvodova@fnkv.cz  
Vystudovala PřF UK, kde se 8 let zabývala vědeckou prací v rámci postgraduálního studia. Vzhledem ke středoškolskému vzdělání zdravotní sestry a k potřebě propojit práci s nabytými znalostmi a zkušenostmi zaměřila do zdravotnických laboratoří. Působení na TO FNKV jí poskytlo možnost propojit přímé služby lidem s laboratorní prací. Momentálně zde má na starost laboratoře virologie a bakteriologie. Mezi její zájmy patří rodinný život a rekreační sportování, zejména turistika a šnorchlování; kreativní tvorba všeho druhu a jakékoli propojování informací napříč spektrem. Dále se dlouhodobě věnuje všemu se zdravím spojenému, jako je umění taiči, aromaterapie a částečně jóga spojená s fyzioterapií.



Následující přístroje jsou zdravotnickými prostředky *in vitro*. Jsou určeny pouze k použití laboratorními profesionály vyškolenými v laboratorní technice a instruovanými v používání systému. Více informací najdete na [go.roche.com/Navody](http://go.roche.com/Navody).

**cobas**<sup>®</sup> pro – Série automatických analyzátorů je určena k provádění kvalitativních a kvantitativních stanovení v oblastech klinické chemie (modul **cobas c 503**) a imunochemie (modul **cobas e 801**), stejně jako k provádění iontové selektivních měření (**cobas**<sup>®</sup> ISE).

**cobas**<sup>®</sup> 6800 – Systém zajišťuje proces plně automatické izolace nukleové kyseliny přímo v primárních nebo sekundárních vzorkových zkumavkách s automatickým nastavením PCR a real-time PCR.

MUDr. Martin Novotný, PhD.

MUDr. Ján Hockicko

 Klinika infektológie a cestovnej medicíny  
 Univerzitnej nemocnice L. Pasteura  
 v Košiciach a UPJŠ LF Košice

## Možnosti diagnostiky klostrídiovej kolidity pomocou POCT PCR v klinickej praxi

*Clostridioides difficile* (CD) je najčastejšou príčinou postantibiotických hnačiek a ich dôležitosť stúpa najmä v súvislosti s nozokomiálnymi infekciami. Infekcie spôsobené *Clostridioides difficile* (CDI, z angl. *Clostridioides difficile* infection) majú podľa údajov v literatúre stúpajúci trend a v období pandémie COVID-19 je tento vzostup akcelerovaný nadmernou preskripciou antibiotík. Závažnosť CDI stúpa s vekom a početnosťou recidív.

Diagnostika CDI a interpretácia výsledkov prináša v klinickej praxi veľa zložitých situácií. Relevantnosť výsledkov môže byť modifikovaná neadekvátnou indikáciou alebo nesprávnou manipuláciou so vzorkou stolice. Všeobecne platí, že na diagnostiku CDI je nutné zvoliť kombináciu minimálne dvoch diagnostických testov. Dôvodom kombinácie testov je ich rozdielna prediktívna hodnota, citlivosť a možná falošná negativita najmä pri stanovení toxínov s ohľadom na ich termolabilitu. Použitie metódy PCR komplikuje otázka kolonizácie netoxigénnymi kmeňmi CD. Vzhľadom

na tepelnú nestálosť klostrídiových toxínov by mala byť vyšetovaná stolica spracovaná bezodkladne. Ak nie je možné túto stolicu vyšetriť ihneď, mala by byť skladovaná pri teplote 5 °C.

**Pri vytváraní diagnostických algoritmov možno využiť kombináciu nasledujúcich testov:**

**Dôkaz klostrídiového antigénu – glutamátdehydrogenáza (EIA)**  
 Glutamátdehydrogenáza (GDH) je špecifický exoenzým produkovaný kmeňmi CD.

Rovnako ako dôkaz toxínov je táto metóda založená zväčša na „enzyme immunoassay“ (EIA). Stanovenie GDH je ideálnym testom na vylúčenie CDI, jeho vysoká negatívna prediktívna hodnota s vysokou pravdepodobnosťou vylučuje prítomnosť CD. Zároveň na základe pozitivity GDH nie je možné odlišiť toxigénne a netoxigénne kmene CD.

**Dôkaz klostrídiových toxínov A/B (EIA)**  
 Stanovenie toxínov metódou EIA má s prihliadnutím na ich termolabilitu nižšiu citlivosť oproti stanoveniu GDH. Pri pozitívnom výsledku ma vysokú pozitívnu prediktívnu hodnotu v stanovení CDI.

**Stanovenie génov kódujúcich toxíny CD (PCR)**

Real-time PCR stanovenie génov kódujúcich toxíny CD sa postupne dostáva do rutinej laboratórnej praxe a to nielen ako konfirmačný, ale aj skríningový test. Okrem extrémnej citlivosti tejto metódy (99–100 %) je výhodou rýchla dostupnosť výsledkov, poprípade stanovením typických delécií je možné určiť najčastejšie hypervirulentné kmene CD. Vysoká citlivosť testu obmedzuje jeho skríningové použitie. Test je natoľko citlivý že zachytí aj minimálne množstvo toxigénnych CD. Tento fakt znižuje jeho pozitívnu prediktívnu hodnotu. Pri skríningovom vyšetrení je nutné test kombinovať s EIA stanovením toxínov CD.



Diagnostický test	Trvanie testu	Senzitívnosť/Špecifickosť	PPH* /NPH**	Výhody	Nevýhody
Anaeróbna kultivácia	2–3 dni	90–98 % / 91 %	– % –	Určenie ATB citlivosti, možnosť ďalšej molekulárnej typizácie	Kolonizácia vs. infekcia trvanie testu
Stanovenie cytotoxicity na tkanivových kultúrach / neutralizačný test	2 dni	80–100 % / 93–97 % 65–90 % / 96–100 %	57–91 % / 87–97 % 50–87 % / 97–99 %	Historický význam	Riziko falošnej pozitivity, náročnosť, trvanie testu
EIA Stanovenie klostrídiového antigénu – glutamátdehydrogenázy (GDH)	15–45 minút	87–100 % / 76–98 %	71–91 % / 97–100 %	Jednoduchosť a rýchlosť testu. Vysoká NPV*	Kolonizácia vs. infekcia
EIA Stanovenie klostrídiových toxínov A a B	2 hod.	40–100 % / 84–100 %	50–100 % / 78–99 %	Jednoduchosť a rýchlosť testu, Vysoká PPV**	Obmedzená citlivosť
Real-time PCR stanovenie génov kódujúcich toxíny A/B	60–120 minút	83–100 % / 87–98 %	46–94 % / 96–100 %	Vysoká citlivosť	Kolonizácia vs. infekcia Znížená PPV**
POCT Real-time PCR stanovenie génov kódujúcich toxíny A/B	do 25 minút	88–96 % / 94–97 %	46–94 % / 86–100 %	Rýchlosť testu Dostupnosť Vysoká citlivosť	Kolonizácia vs. infekcia Znížená PPV**

> Tabuľka 1: Prehľad jednotlivých laboratórnych metód používaných v diagnostike CDI<sup>1,2</sup>

Dôkaz GDH alebo PCR <sup>a</sup>	Dôkaz toxínov A a B (EIA)	Interpretácia výsledkov
pozitívny	pozitívny	Vysoká pravdepodobnosť CDI. Nutná izolácia a liečba CDI.
pozitívny	negatívny	Suspektná CDI. Pri interpretácii výsledkov nutné zohľadniť anamnézu pacienta a ostatné laboratórne výsledky. Vhodná izolácia a podľa závažnosti ochorenia začať empirickú liečbu. Pre potvrdenie diagnózy je vhodné doplniť kultiváciu stolice na <i>C. difficile</i> , alebo zväziť rektoskopiou.
negatívny	pozitívny	Pravdepodobne ide o laboratórnu chybu. Je vhodné zopakovať vyšetrenie.
negatívny	negatívny	CDI laboratórne vylúčená, nutné hľadať iný zdroj ťažkostí.

> Tabuľka 2: Příklad algoritmu diagnostiky *C. difficile* v stolici a interpretácia nálezov podľa Českého odporúčaného postupu pre diagnostiku a liečbu kolidity spôsobenej CD (<sup>a</sup> GDH – glutamátdehydrogenáza; PCR – dôkaz génov pre tvorbu toxínov A a B.)

### Anaeróbna kultivácia CD

Kultivácia CD je prístrojovo, časovo a finančne náročná metóda. Tvorba spór CD vytvára priestor na kultiváciu po ich vyklíčení aj po dlhšom čase. Konfirmáciu kultivačného nálezu možno realizovať množstvom metód od latex aglutinačných cez biochemické, až k moderným metódam ako MALDI-TOF alebo PCR. Náročnosť tohoto

procesu predurčuje kultiváciu CD na konfirmačný test, nie ako skríningový. Výhodou kultivácie je možnosť stanovenia citlivosti CD na antibiotiká.

### Dôkaz cytotoxicity na tkanivových kultúrach

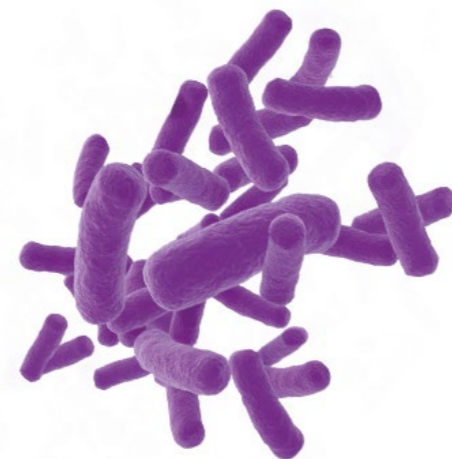
Dôkaz cytotoxicity na tkanivových kultúrach je konfirmačným vyšetrením v malom

množstve laboratórií vzhľadom na náročnosť metódy nielen z pohľadu vybavenia laboratória, ale aj hodnotenia výsledkov.

### Stratégia diagnostiky CDI

Každá z metód popísaných vyššie má svoje výhody a zároveň svoje slabiny. Vytvorené algoritmy diagnostiky CDI kombinujú jednotlivé metódy so snahou maximálne využiť

silné stránky testov a zároveň eliminovať ich slabiny. Zo správnej kombinácie testov profituje nielen pacient, ale aj zdravotnícke zariadenie liečiace pacienta. Pri tvorbe algoritmov zohráva dôležitú úlohu nielen presnosť výsledku, cena testu, ale aj doba dostupnosti výsledku. Skúšky cytotoxicity a kultiváciu CD s ohľadom na časovú náročnosť možno použiť len na doplnkovú – rozšírenú diagnostiku. Real-time PCR bola donedávna ťažšie dostupná a drahá metóda, čo ju významne eliminovalo pri jej použití v algoritmoch diagnostiky CDI. Posledné obdobie sme svedkami nevidaného pokroku pri použití molekulárnych metód v medicínskej praxi, čo nám poskytuje priestor na častejšie použitie PCR v diagnostike CDI. Dostupnosť POCT PCR v praxi významne znižuje časové okno na potvrdenie pravdepodobnej infekcie CDI.



identifikácii pacienta s infekčnou chorobou a správnom manažmente pacienta vrátane karanténnych opatrení.

Extrémna citlivosť POCT real-time PCR je výhodou aj slabosťou tejto metodiky. Ako je uvedené v tabuľke 1, PCR diagnostika má vyššiu citlivosť oproti stanoveniu GDH. PCR dokáže zachytiť už minimálny počet toxigénnych kmeňov CD, a tak je na jednoznačné potvrdenie CDI nutné doplniť aj vyšetrenie toxínov EIA. Pri použití iba PCR testu bez doplnujúceho testu podľa algoritmov sme

vystavení riziku falošnej pozitivity na podklade kolonizácie tráviaceho traktu CD. U pacienta s pozitívnou PCR, ale negatívnym toxínom, je nutné v diagnostike CDI zohľadniť aj klinický stav pacienta, rizikovú anamnézu a laboratórny nález, poprípade zväžiť rektoskopické vyšetrenie.

Priemerná dostupnosť laboratórnych výsledkov je za ideálnych podmienok menej ako 18 hodín. Moderné POCT prístroje dokážu stanoviť výsledok vrátane odberu do pol hodiny. Praktické trvanie testu však

závisí od organizácie práce pracoviska, množstva zaškoleného personálu a umiestnenia prístroja. Pri použití v ambulancii je popisovaný čas najkratší.

Problém ekonomickej výhodnosti POCT PCR je nutné analyzovať nielen z pohľadu jednotkovej ceny testu, ale najmä vo vzťahu k umiestneniu POCT PCR v algoritme diagnostiky. Trojstupňový algoritmus (GDH + Toxín EIA+PCR) je ekonomicke nevýhodný, a oproti dvojstupňovému s PCR testom (PCR + toxín EIA) významne nezvyšuje citlivosť algoritmu. V porovnaní dvojstupňových algoritmov s PCR (PCR + toxín EIA + PCR) a bez neho (GDH + toxín EIA), je test z ekonomickeho pohľadu výhodnejší, avšak menej senzitivný. Finančná výhoda pri skorej diagnostike s nastavením adekvátnej liečby karanténnych opatrení so zabránením ďalších nozokomiálnych nákaz bola publikovaná v množstve prác. Jednoduchá obsluha a skorá dostupnosť výsledku významne zjednodušuje určenie správnej diagnózy liečby a ďalšieho postupu.

Aj z našej praktickej skúsenosti pri validácii metodiky cobas® Cdiff Nucleic acid test

pre cobas® Liat® System sme sa presvedčili o vysokej citlivosti testu. Vyšetřili sme 6 pacientov s prítomnými hnačkami po liečbe antibiotikami. Všetkým pacientom bol súčasne realizovaný dôkaz GDH a klostrídiových toxínov imunoenzymaticky. Zo 6 vyšetření bola CDI vylúčená u 2 pacientov (negatívne POCT PCR, súčasne negatívne GDH a dôkaz toxínov EIA), u 2 bola s PCR pozitívou potvrdená pozitívita GDH aj toxínov EIA. U 2 pacientov sme CDI suponovali s ohľadom na klinickú symptomatológiu a typický laboratórny nález, pričom imunoenzymatické vyšetřenie toxínov bolo opakovane negatívne. POCT PCR bolo u oboch pozitívne, pričom u jedného pacienta bola CDI verifikovaná aj rektoskopickým vyšetřením. Po nasadení liečby vankomycínom došlo u všetkých 4 pacientov k zlepšeniu stavu, zníženiu frekvencie hnačiek a poklesu zápalovej aktivity.

Skorá a správna identifikácia nie je kľúčová len pri ochorení COVID-19, ale aj pri CDI. Pri zavádzaní metodiky do praxe je preto nutné zohľadniť nielen citlivosť testu, ale aj rýchlosť dostupnosti výsledku. Na základe skorého určenia správnej diagnózy, adekvátnej liečby a karanténnych opatrení vychádza

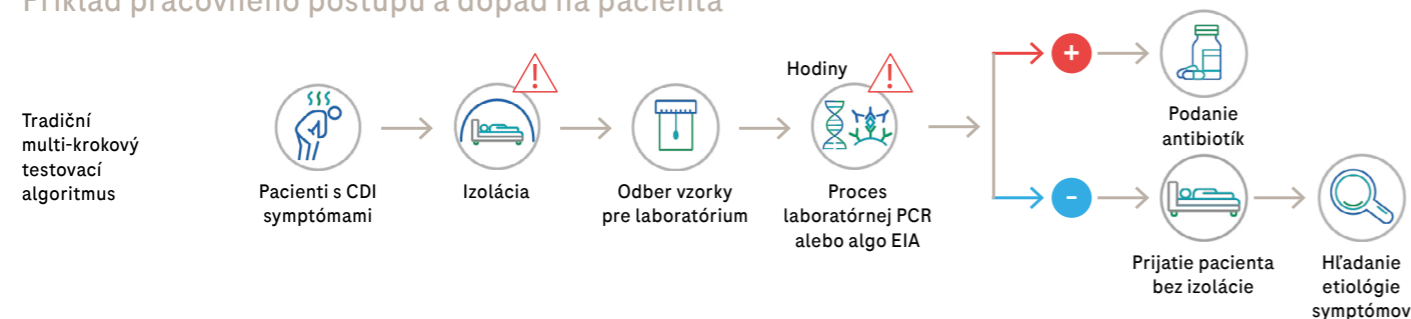
na prvý pohľad drahšia metodika nakoniec ako výhodnejšia, s významnou úsporou finančných nákladov.



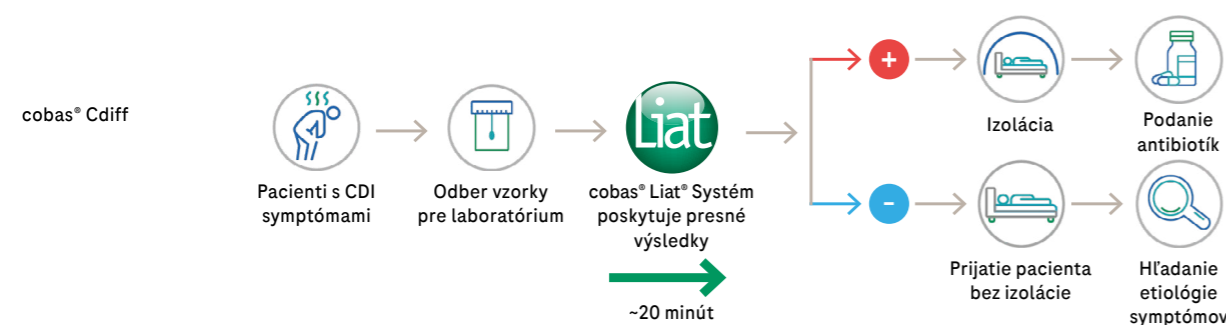
MUDr. Martin Novotný, PhD.

Klinika infekčológie a cestovnej medicíny Univerzity nemocnice L. Pasteura v Košiciach a UPJŠ LF Košice  
Kontakt: martin.novotny@unlp.sk  
Zastupca prednostu a VŠ učiteľ Kliniky infekčológie a CM UNLP a UPJŠ LF v Košiciach. Absolvent Lekárskej Fakulty UPJŠ v Košiciach je členom Infektologickej spoločnosti SLS. V odbore infekčológie sa špecializuje na diagnostiku a liečbu infekcií spôsobených Clostridioides difficile, so zameraním na transplantáciu fekálnej mikrobioty a jej implementáciu do bežnej praxe. Svoj voľný čas venuje najmä rodine, manželke a dvom synom.

### Príklad pracovného postupu a dopad na pacienta



Spoliehajú sa na rýchle a presné výsledky z cobas® Cdiff, sú teraz zdravotnícki pracovníci schopní zefektívniť diagnostiku CDI, aby sa znížila zbytočná izolácia, empirické používanie antibiotík a iniciovali sa vhodné opatrenia na kontrolu infekcie.



Test cobas® Cdiff je in vitro zdravotnícky prostriedok pro použití v systému cobas® Liat®. Test je automatizovaný, kvalitativní a využívá polymerázovou řetězovou reakci (PCR) v reálném čase pro detekci genu pro toxin B (tcdB) toxigenního Clostridioides difficile (C. difficile) v neformovaných (tekutých nebo měkkých) vzorcích stolice, získaných od pacientů s podezřením na infekci C. difficile (CDI). Test nukleových kyselin cobas® Cdiff v kombinaci s analyzátořem cobas® Liat® je určen k použití jako pomůcka při diagnostice CDI u lidí ve spojení s klinickými a epidemiologickými rizikovými faktory. Analytická citlivosť je 45 až 90 CFU/stěr v závislosti na izolátu. Určeno k použití odborníky ve zdravotnictví.

#### Literatúra

- > BENEŠ, Jiří, Petr HUSA a Otakar NYČ. Doporučený postup diagnostiky a léčby kolitidy vyvolané Clostridium difficile. Klinická mikrobiologie a infekční lékařství. Praha: Trios s.r.o., 2012, roč. 18, č. 5, s. 160-167. ISSN 1211-264X. <https://www.infekce.cz/dpCDI14.htm>.
- > Via practica. Supplement . Odporúčaný postup diagnostiky a liečby kolitidy spôsobenej Clostridium difficile. - ISSN 1336-930X. - Bratislava : SOLEN, 2015. - Roč. 12, supl. S1 (2015), s. 4-11.
- > Boly FJ, Reske KA, Kwon JH. The Role of Diagnostic Stewardship in Clostridioides difficile Testing: Challenges and Opportunities. Curr Infect Dis Rep. 2020 Mar;22(3):7. doi: 10.1007/s11908-020-0715-4. Epub 2020 Feb 17. PMID: 33762897; PMCID: PMC7987129.
- > Krehelová M, Sinajová E: Možnosti laboratórnej diagnostiky infekcií vyvolaných Clostridium difficile. Newslab, 2018; roč. 9 (2): 86 – 90
- <https://www.newslab.sk/moznosti-laboratornej-diagnostiky-infekcii-vyvolanych-clostridium-difficile/>.
- > Goldenberg SD, Bisnauthsing KN, Patel A, Postulka A, Wyncoll D, Schiff R, French GL. Point-of-Care Testing for Clostridium Difficile Infection: A Real-World Feasibility Study of a Rapid Molecular Test in Two Hospital Settings. Infect Dis Ther. 2014 Dec;3(2):295-306. doi: 10.1007/s40121-014-0038-6. Epub 2014 Sep 10. PMID: 25205503; PMCID: PMC4269636.
- > Jones WS, Rice S, Power HM, Maniopoulos G, Suklan J, Beyer F, Wilcox MH, Permain M, Simpson AJ, Price DA, Allen AJ. Cost Consequences for the NHS of Using a Two-Step Testing Method for the Detection of Clostridium difficile with a Point of Care, Polymerase Chain Reaction Test as the First Step. Diagnostics (Basel). 2020 Oct 14;10(10):E819. doi: 10.3390/diagnostics10100819. PMID: 33066456; PMCID: PMC7602277.



## Aktualizace IVDR v Roche Diagnostics

26. květen 2022 představuje datum aplikace nařízení Evropské unie o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro (IVDR) i v naší firmě. Posledních 5 let jsme se na tuto událost připravovali a snažili se zajistit, aby naše portfolio diagnostických řešení bylo v souladu s IVDR. Dnes jsme rádi, že se s vámi můžeme podělit o náš dosavadní pokrok směřující ke shodě s IVDR.

Naším cílem vždy bylo plnit jak regulační požadavky, tak potřeby našich zákazníků zajištěním dostupnosti nezbytně nutných produktů pro zdravotnické pracovníky a pacienty. Chceme tedy především poděkovat vám, našim zákazníkům, za důvěru, kterou jste v průběhu let vložili do společnosti Roche.

Vzhledem k tomu, že IVDR k uvedenému datu vstoupila plně v platnost, jsme hrdí na to, že můžeme konstatovat, že drtivá většina našich výrobků je nyní certifikována podle nového nařízení, a to díky několikaletým intenzivním přípravám, které nás dovedly k tomuto historickému milníku.

Naše největší úspěchy za posledních 5 let jsou stručně shrnuty na obr. 1, dále vám předkládáme i aktualizované informace o tom, jak společnost Roche plní požadavky přechodu z původní směrnice (EU směrnice 98/79/EC, dále jen IVDD) na nové nařízení (EU nařízení 2017/746, dále jen IVDR) u produktů in vitro diagnostiky (dále jen IVD).

## Plánování přechodu na IVDR

Protože se stále snažíme zdokonalovat tento proces tak, aby vedl k dokonalé shodě s nařízením IVDR, budeme vás i nadále aktuálně informovat o našich pokrocích, a to dle rizikové třídy. Momentálně je situace taková:

- Zdravotnické prostředky (nesterilní) rizikové třídy A: Přechodná ustanovení nařízení IVDR stanovují, že IVDR vstoupila v plném rozsahu v platnost 26. května 2022 v souvislosti s diagnostickými zdravotnickými prostředky in vitro třídy A (nesterilní), což znamená, že verze produktů dle IVDD již nesmí být uvedena na trh po tomto datu, ačkoli do 26. května 2025 platí období výprodeje, během něhož mohou být zásoby dle IVDD vyrobené před tímto datem distribuovány. K datu platnosti nařízení IVDR má již více než 90 % nesterilních zdravotnických prostředků Roche třídy A *Prohlášení o shodě s IVDR* a očekáváme, že během

- několika měsíců dosáhneme 100%. V průběhu roku vyčerpáme zásoby produktů IVDD a dáme do distribuce první várky výrobků vyhovujících IVDR.
- Zdravotnické prostředky ostatních rizikových tříd mají poněkud delší přechodná období, ale jsme odhodláni zveřejnit *Prohlášení o shodě s IVDR* co nejdříve. Zdravotnické prostředky třídy B a C jsou již na dobré cestě ke shodě.
- Prostředky se zvláštním postupem posuzování shody: V rámci rizikových tříd C a D musí (mohou) být zdravotnické prostředky podrobeny zvláštnímu posouzení shody, u něhož jsme značně závislí na externí infrastruktuře EU a dostupnosti oznámených subjektů. Připravujeme technickou dokumentaci pro tato zvláštní posouzení shody.
- Závěrem také oslovujeme všechny naše dodavatele IVD třetích stran, abychom posoudili jejich připravenost na nařízení IVDR, protože všichni výrobci in vitro diagnostických zdravotnických prostředků (IVD) musí podstoupit recertifikaci dle IVDR. Budeme vás informovat o zpětné vazbě, kterou obdržíme ohledně jejich připravenosti na IVDR.

## Kontakt

Během přechodného období budeme i nadále poskytovat včasné aktualizace zákazníkům, dodavatelům, distributorům a dalším.

Naším cílem je úspěšný přechod a dokonalá shoda s nařízením Evropské unie o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro.

Jednou z našich zásad je být transparentní, a proto bychom vám rádi předložili odpovědi na výše uvedené otázky.

V minulosti jsme u některých zákazníků jednou za rok prováděli šetření, které nám mělo přinést informace o tom, jak si u zákazníka celkově stojíme (respektive, jak jsme si stáli během uplynulého roku). Dotazník byl rozsáhlý, ale pokrýval v zásadě celé spektrum aktivit, ve kterých jsme byli se zákazníkem v kontaktu. To, co mohlo dříve vypadat jako výhoda, se ukázalo jako neefektivní, protože respondent byl málokdy schopen posoudit všechny procesy najednou (nebyl vždy jejich součástí) a hlavně jsme zpětnou vazbu získali příliš pozdě na to, abychom mohli dostatečně rychle reagovat.

Naši zákazníci si však zaslouží rychlejší odezvu a tu jsme mohli zajistit pouze za předpokladu, že upravíme a především zrychlíme celý proces.

## Jak to funguje nyní?

Zpětnou vazbu získáváme bezprostředně po interakci se zákazníkem, ať už se

## Někdy stačí málo...

Někteří z vás už asi stačili během posledního roku zaznamenat v e-mailové schránce zprávu s názvem „Pomozte nám zlepšit svou zkušenost...“. Co to vlastně znamená? Proč vám tyto maily chodí? Proč chodí jen někdy? A co s tím pak děláme my? A kam se poděl ten dotazník, který jste dostávali jednou ročně?

Jedná o objednání zboží, dodávku, servisní zásah, návštěvu obchodního zástupce nebo instalaci nového přístroje. A v tomto případě se neptáme na celkovou zkušenost s poskytovanými službami, ale na onu konkrétní interakci. Jestliže zákazník není s něčím spokojen, můžeme jej neprodleně kontaktovat a zjistit, kde vznikl problém. Rychlost nám dovolí nejen včas reagovat a udělat maximum pro zajištění spokojenosti zákazníka, ale také předejít opakování stejné chyby do budoucna. Pokud naopak vyjádříte spokojenost, máme potvrzené, že svou práci děláme správně.

Průběžně analyzujeme výsledky a pravidelně sledujeme také všechny komentáře, které nám k dotazníkům píšete. Pokud to situace vyžaduje, vždy se vás snažíme kontaktovat, abychom zjistili, co byste od nás potřebovali a jak to zařídít. Upřímně, ne vždy je to v našich silách, ale usilujeme alespoň o to, abychom pro vás byli transparentní a abychom si vzájemně rozuměli.

Každou vaši zpětnou vazbu bereme vážně a řešíme na úrovni vedoucích oddělení. Žádná reakce není zbytečná.

## Proč to děláme?

Ptáme se, protože se bez zpětné vazby neobejdeme. Mnohdy je to jediný způsob, jak identifikovat příležitost pro zlepšení. Jinak můžeme setrvávat ve vlastním omylu, že vše funguje, jak má. Spokojenost zákazníka je pro nás prioritou. Spokojený zákazník je pro nás společníkem a prostředníkem při zajištění nejlepší možné péče pacientům. A to dává naší práci smysl.

Projevením názoru využíváte svou šanci usnadnit/zpříjemnit naši spolupráci v budoucnu. Máme velký respekt k času a úsilí, které do toho investujete nad rámec svých povinností. Aby toho nebylo moc, nastavili jsme taková pravidla, aby vám po vyplnění našeho dotazníku minimálně následující 2 měsíce žádný další nepřišel, tudíž se pak může stát, že ne vždy vám žádost o zpětnou vazbu přijde.

## Máte něco na srdci a zrovna vám nepřišel žádný dotazník?

Vaši zpětnou vazbu oceníme kdykoli, ne jen ve chvíli, kdy jsme o ni požádali. Místo pro





ni jsme vám vyčlenili na našich webových stránkách. Jednoduše zde napište vše, co byste nám rádi sdělili. Pokud to bude potřeba, ozveme se vám zpět.

Stejný odkaz na zpětnou vazbu mají naši zaměstnanci v podpisu v zápatí e-mailů.



[https://go.roche.com/Zpetna\\_vazba](https://go.roche.com/Zpetna_vazba)

### A jak naše výsledky vypadají?

Za poslední rok jsme od vás dostali 574 reakcí. Ačkoli si podle vašeho hodnocení stojíme ve většině případů velmi dobře, neznamená to, že není co zlepšit. Soustředíme se právě na ty oblasti, na které vaše připomínky směřují. Během jednoho roku od spuštění nového systému pro získávání zpětné vazby jsme k dotazníkům obdrželi celkem 319 komentářů. Ty nám pomáhají lépe porozumět tomu, jaké jsou vaše skutečné potřeby. Proto se kupříkladu nyní soustředíme na úpravu objednávkového modulu, aby pro vás bylo objednávání co nejjednodušší.

Děkujeme vám všem, kteří jste si naši čas podělili se o osobní zkušenost, která nám umožňuje posunout naši spolupráci na ještě lepší úroveň.



**Mgr. Linda Bradáčová**  
ROCHE s.r.o., Diagnostics Division  
Kontakt: linda.bradacova@roche.com  
Pracuje v Roche Diagnostics již od roku 2006 a v poslední době se věnuje zejména digitálnímu marketingu a spokojenosti zákazníků. Je specialistkou přípravy newsletterů. Absolvovala sociologii na Karlově univerzitě. Ve volném čase se věnuje především svým dětem, ráda tráví čas v přírodě, a pokud ji něco přinutí zůstat doma, pak kreativním činnostem, při kterých se realizuje i její láska k jídlu. Je členkou divadelního souboru, kde má na starost scénografii a světla.

### Lukas Muller

Roche Diagnostics, AG, Švýcarsko

Ahoj, moji milí přátelé v České republice!

Přestože jsem ve Švýcarsku už více než 1,5 roku, nezapomněl jsem na vás. Dnes bych se s vámi rád podělil o chuť Švýcarska – o capuns. Jedná se o vynikající mangoldové závitky z kantonu Graubünden, oblasti, která se vyznačuje spoustou hor a údolí a vlastními tradicemi. Mimo jiné je to část Švýcarska, kde se mluví čtvrtým úředním jazykem – rétorománštinou. Můj tchán pochází právě z této oblasti a já miluji jeho capuns. Říká se, že v Graubündenu je tolik různých receptů na capuns, kolik je babiček. E Guetel! (= Dobrou chuť!)

### Potřebujete

- > 40 listů mangoldu
- > 1 hrst petrželky nakrájené nadrobno
- > 1 hrst pažitky nakrájené nadrobno
- > 1 hrst lístků máty peprné nakrájených nadrobno
- > 1 cibule nakrájená nadrobno
- > 100 g slaniny nakrájené na tenké proužky
- > 1 sušená klobása – cca 100 g (Salsiz ve Švýcarsku nebo jiná mírně uzená klobása) bez střívka, nakrájená na malé kousky
- > 75 g bílého chleba bez kůrky nakrájeného na malé kousky
- > 200 g hladké mouky
- > 50 g másla
- > 2 vejce
- > ½ čajové lžičky soli
- > 0,5 dl mléka
- > 0,5 dl vody
- > 5 dl zeleninového vývaru
- > 100 g strouhaného sýra (pokud možno alpský sýr, případně sýr Gruyere nebo Emmentaler)

### Příprava

- 1) Náplň: Sušené klobásy, slaninu, chléb a cibuli osmažte na pánvi na mírném ohni cca 3 minuty. Sundejte pánev

## Capuns (mangoldové závitky)

Pro cca 4 osoby



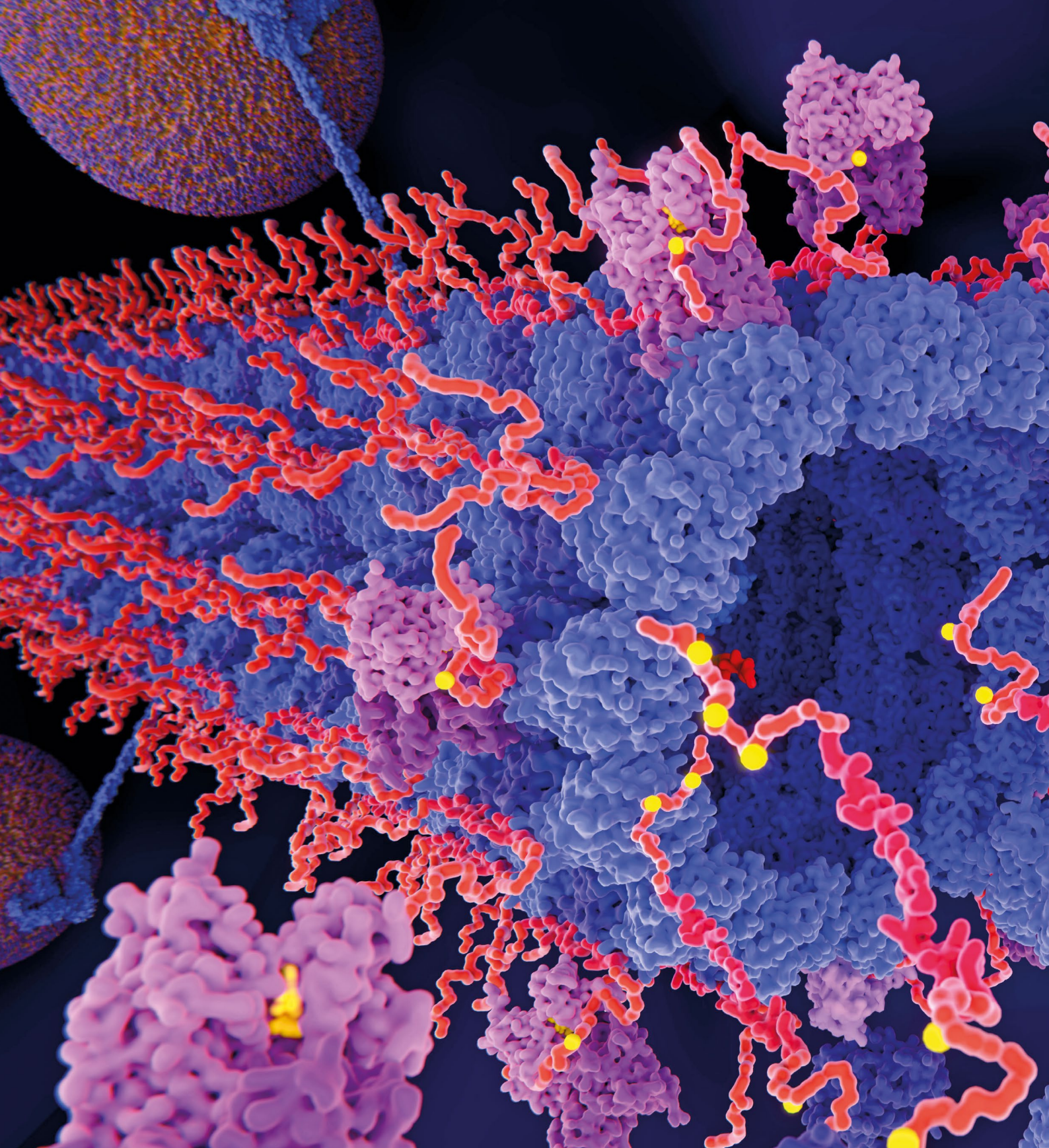
z plotny, přidejte bylinky (petrželku, pažitku, mátu) a vše promíchejte. V dalším kroku přípravy náplně smíchejte v míse mouku se solí a uprostřed udělejte důlek. Rozmíchejte mléko, vejce a nalejte je do důlku. Poté celou směs míchejte, dokud není vše hladké a nevytvoří se bubliny.

- 2) Do těsta přidejte směs masa, bylinek a chleba a dobře ji zapracujte.
- 3) Listy mangoldu vložte na 1–2 minuty do vroucí slané vody (cca 0,5 dl). Poté listy mangoldu ihned opláchněte studenou vodou. Tento proces se nazývá blanšírování. Nechte vodu z listů okapat a položte je na kuchyňskou utěrku.
- 4) Do středu listů mangoldu přidejte 1 polévkovou lžici náplně (použijte vnitřní stranu listů). Listy srolujte přes náplň. Nyní máte syrové capuns.
- 5) Surové capuns vložte do široké pánve a přidejte zeleninový vývar. Pánev přikryjte a duste 15–20 minut při teplotě pod bodem varu. Závitky vyjímejte velkou lžicí jeden po druhém a udržte je teplé na talíři.

- 6) Rozehřejte máslo na pánvi, dokud se nevytvoří pěna, a pak pánev sundejte z plotny. Posypte capuns strouhaným sýrem a pokapejte je tekutým máslem.



**Lukas Muller**  
Roche Diagnostics, AG, Švýcarsko  
Kontakt: lukas.mueller.lm2@roche.com  
Po návratu z České republiky v prosinci 2020, kde zastával pozici vedoucího marketingu, se stal vedoucím mezinárodních projektů ve společnosti Roche Diagnostics. Žije v Adligenswilu, malém městečku poblíž Lucernu, v samém srdci Švýcarska. Svůj volný čas s potěšením věnuje poznávání přírody i měst se svou ženou a dvěma malými dětmi (Elena & Nicolas). Rád pracuje na zahradě, vaří a griluje skvělá jídla.



Roche s.r.o., Diagnostics Division, Na Valentince 3336/4, 150 00 Praha 5  
www.roche-diagnostics.cz, www.labor-aktuell.cz, redakce: czech.labor\_aktuell@roche.com



Určeno pro odborné pracovníky ve zdravotnictví.

Vychází pololetně, uzávěrka tohoto čísla: 30. 4. 2022. Časopis je možné bezplatně objednat na adrese vydavatele či zaslání zrušit na webu časopisu: www.labor-aktuell.cz. Stanoviska a názory podepsaných příspěvků se nemusejí shodovat se stanovisky a názory redakce a vydavatele.

Copyright © Roche 2022. Registrace MK ČR 7374, ISSN 1214-7672.

Foto na obálce: Protein tau u Alzheimerovy choroby, ilustrace. Protein tau je hojně se vyskytující nervový protein, jehož agregace se považuje za příčinu Alzheimerovy choroby a dalších nervových poruch. Autor: selvanegra, iStock/Getty Images Plus.