

# LABOR AKTUELL

ročník 23 | číslo 1 | rok 2019

Časopis pro klienty Roche Diagnostics v České a Slovenské republice



Vážení čtenáři,

asi jako každý rodič jsem si před pár lety užívala skvělou příležitostí se společně se synem znovu setkat s hrdiny svého dětství. Mezi jinými zde měl své významné postavení medvídek Pú. Jedním z mých oblíbených a často reprodukováných výroků kreslené varianty příběhů je skvělá poznámka, která mi přišla na mysl při listování obsahem a již cituji volně: „Nejlepším způsobem, jak začít den, je šťastným koncem.“ A tak začnu právě od takového konce – jaro je zde a je potřeba jej patřičně oslavit! Mrkvový dort, na jehož přípravu nás vybroušeným receptem vybavily mé kolegyně z oddělení technického servisu, by sice nebyla mezi námi má první volba – zní podezřele zdravě a dost pracně – ale kupodivu tomu tak není a docela se těším, že jej skutečně zkusím na počest jara připravit. A jak vy slavíte jaro? Proháníte se po svých zahrádkách s lamentací na déšť, který buďto zcela chybí, anebo naopak přebývá? Myjete okna a gruntuje? Anebo si užíváte prodlužování a proteplení dnů a těšíte se jako já na veselé Velikonoce?

Bezpochyby u nás všech jaro navodí myšlenky na zrození, na šťastná, krásná a rozpustilá telátka, kůzlátka, jehňátka, ale také zajíčky, v městském provedení nejčastěji z čokolády. Čas zrození může být vnímán i jako čas splynutí vajíčka se spermií. Meióza, která následuje a kterou nám znázorňuje obrázek na obálce časopisu, ale může bohužel proběhnout mimořádně



nešťastně. Jaké defekty nastávají a jak je co nejdříve diagnostikovat, rozebírá souhrnným článkem pan doc. Krofta. Věřím, že skutečně kvalitní diagnostika, kterou našťastí metody NIPT představují, pomáhá nastávajícím rodičům v nesnadných rozhodnutích alespoň důvěryhodnými výsledky. Ale aby toho nebylo málo, aneuploidie nejsou jediným ohrožením vyvíjejícího se plodu. Porucha placentace je důvodem preeklampsie. Časná

diagnostika může odhalit pozvolna se vyvíjející skryté drama a pomoci správně zvoleným managementem těhotenství – buď častějšími kontrolami v ambulantním režimu, anebo skutečně opodstatněnou hospitalizací s přípravou k porodu, který je jediným řešením problému. Vše uvedené naleznete v letošním prvním čísle časopisu Labor Aktuell. Ale nejenom to.

Tkáňová diagnostika je tentokrát zastoupena poutavým představením metodiky SISH, běžné v histopatologických laboratořích, z pera a objektivu pana MUDr. Rozkoše.

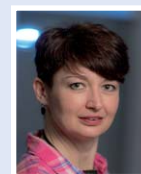
Problematiku perioperační péče o pacienty s poruchou koagulace detailně popisuje souhrnný článek doc. Kvasničky, zatímco téma bezpečnosti krevních přípravků nám přiblíží hned dvojice aktuálních sdělení. Zda jsou analyzátoři Roche schopné zvládnout specifické požadavky transfuzního oddělení, v tomto případě screeningu sérologických markerů infekce, dokumentuje vlastními postřehy paní prim. MUDr. Procházková. Novinky, které zazněly na první regionální akci svého druhu, shrnují v krátkosti sami účastníci z České republiky v rubrice „Události ve zkratce“. A pokud se chystáte na delší cestu letadlem či jiným moderním dopravním prostředkem, pak zbystřete a skočte rovnou na stranu 32. Autorem článku je pan MUDr. Pavlík, který současně pokračuje ve svém mistrovském díle o 30leté historii PCR.

O spolupráci laboratoře a ošetřujícího lékaře na příkladech vybraných biomarkerů si přečtete v reportáži „Když na čase záleží“ ze Symposia Roche 2019, které také můžete zhlédnout ze záznamu na portálu [Mojemedicina.cz](http://Mojemedicina.cz).

Doufám, že vám toto číslo časopisu přinese nejenom mnohé zajímavé náměty, ale i uznání práce laboratorně diagnostické, což dokazují jak příběhy pacientů, tak i klinických pracovníků. Dovoďte mi se s vámi rozloučit opět citátem hloupoučkého medvídka Pú: „Trochu ohleduplnosti, trochu myslet na jiné, v tom je celý ten rozdíl.“

Krásné jaro!

Ing. Kateřina Málková  
šéfredaktorka časopisu



## KLINICKÁ HODNOTA DIAGNOSTIKY



Když na čase záleží (reportáž ze Sympozia Roche 2019)  
*MUDr. Tereza Rádl*

4



Neinvazivní prenatalní test fetálních aneuploidí  
*doc. MUDr. Ladislav Krofta, CSc., MBA*

10



Harmony® Prenatal Test – neinvazivní prenatalní test  
*Ing. Jaroslav Vohánka, Ph.D., MBA*

17



Perioperační péče o pacienty s antikoagulační terapií warfarinem  
*doc. MUDr. Tomáš Kvasnička, CSc.*

19

## ZKUŠENOSTI Z LABORATOŘÍ



Screening markerů infekčních onemocnění u dárců krve na analyzátoru cobas e 601  
*MUDr. Renata Procházková, Ph.D., RNDr. Dagmar Kuřková*

23



Využití in situ hybridizace s detekcí stříbrem (SISH) v rutinní histopatologické diagnostice v laboratořích molekulární patologie  
*MUDr. Tomáš Rozkoš, Ph.D.*

26



Necítíte se po delší cestě letadlem ve své kůži? Možná víme proč...  
*MUDr. Emil Pavlík, CSc., Bc. Viktoriya Gvozdeva, MUDr. Daniela Obitková, Ing. Milan Mráz*

32

## PREVENCE DIAGNOSTIKOU



Nadační fond Petra Koukala  
*Petr Koukal*

39

## INOVACE KOLEM NÁS



Polymerázová řetězová reakce v průběhu třiceti let od první publikace – 7. část  
*MUDr. Emil Pavlík, CSc.*

42



Komplexní klinický management preeklampsie s vyšetřením Elecsys® PIGF v 1. trimestru těhotenství  
*Ing. Igor Klímíček, MBA*

49

## UDÁLOSTI VE ZKRATCE



1st EMEA Roche Blood Safety Solutions Customer Conference 2018  
Share the experience and prepare for the future  
*Mgr. Nikola Hudečková*

51

## NOVINKY NA MOJEMEDICINA.CZ



Sledujte příběhy pacientek s rakovinou děložního čípku a pacienta s maligním melanomem a MEDx Talks  
*Mgr. Veronika Bačová*

53

## Z KUCHYNĚ ROCHE



Jaro by se mělo oslavit... Co třeba mrkvovým dortem?  
*Jana Strnadová, Helena Hružová*

55



Včasné rozpoznání akutních diagnóz má zcela zásadní vliv na prognózu pacientů. Bohužel ne vždy se lze spoléhat pouze na klinické projevy onemocnění a v takových případech může pomoci co nejrychlejší stanovení koncentrace některých klíčových biomarkerů. Přesná interpretace těchto testů není vždy jednoduchá a zpravidla vyžaduje úzkou spolupráci mezi biochemickou laboratoří a ošetřujícím lékařem. Hned několik příkladů, jak taková spolupráce odborníků může vypadat, přineslo odborné sympozium „Když na čase záleží“, které proběhlo koncem ledna v pražském hotelu Park Inn. Vybrané dvojice kliniků a biochemiků z významných českých nemocnic při něm představily konkrétní biomarkery a jejich praktické využití v kontextu urgentních stavů.

## Když na čase záleží (reportáž ze Symposia Roche 2019)

MUDr. TEREZA RÁDL

### *Interleukin-6 a prokalcitonin: Nepostradatelné nástroje pro rozpoznání sepse u dospělých pacientů*

O včasné diagnostice sepse u dospělých hovořili na setkání klinický biochemik a internista MUDr. Petr Malina, Ph.D., a anesteziolog MUDr. Jan Spilka z Nemocnice Písek. Ti připomněli dnes již všeobecně známou III. definici sepse, která vymezuje septický stav jako život ohrožující orgánovou dysfunkci způsobenou deregulovanou odpovědí hostitelského organismu na přítomnost infekce. Septický šok je potom podskupinou sepse, při níž jsou oběhové, metabolické a buněčné poruchy tak závažné, že vedou ke zvýšené mortalitě (> 40 %). „Sepse je hlavní příčinou úmrtí na infekci a od prosté nákazy ji odlišuje neadekvátní reakce organismu. Incidence je relativně vysoká, na našem oddělení ARO bylo loni hospitalizováno s diagnózou sepse nebo septického šoku asi 40 % ze všech přijatých pacientů. Časná diagnostika a léčba jsou zde zcela nepostradatelné, neboť s každým prodloužením prudce narůstá nejenom mortalita, ale

i náklady pro zdravotní systém. Nejčastějším původním zdrojem sepse jsou respirační infekce, následují infekce krevního oběhu, zažívacího traktu a močové infekce. Z etiologického hlediska se do popředí v poslední době dostávají gramnegativní tyčinky, u nichž se potýkáme s významnou antibiotickou rezistencí, stále častější jsou ale i sepsy mykotické, především kandidové,“ uvedl MUDr. Malina. „Mezi nástroje ke screeningu sepse u pacientů patří například skóre qSOFA, které hodnotí jako pozitivní nálezy pro riziko sepse kombinaci respirační frekvence nad 22 dechů za minutu, změnu vědomí a kognice a systolický krevní tlak pod 100 mmHg. V nemocničním prostředí se potom používá komplexnější skóre SOFA. Při přítomnosti infekce a splnění dvou a více kritérií tohoto skóre stoupá mortalita nemocných o 10 %. Jednotlivé parametry SOFA skóre zahrnují snížení poměru PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>, pokles GCS, hypotenzi nebo nutnost použití vazopresorů, snížení koncentrace trombocytů, zvýšení koncentrace bilirubinu a oligurii nebo nárůst sérového kreatininu. Důležité přitom je, že se nelze zcela spoléhat jen na klinické symptomy, které mohou být u celé řady pacientů – například u diabetiků, seniorů nebo imunosuprimovaných nemocných – značně oslabené, a že sepsa může na první pohled imitovat celou řadu jiných onemocnění,“ doplnil MUDr. Spilka z oddělení ARO.

*Roche Sympozium 2019 se konalo v Praze 24. a 25. ledna 2019. První den se nesl v duchu slavnostního odhalení nové řady analyzátorů – cobas® pro. Reportáž čtenáře informuje o průběhu druhého dne, který byl věnován přínosům diagnostiky a spolupráci ošetřujícího lékaře a klinické laboratoře.*



V časném managementu platí princip „zlaté hodiny sepse“. Pokud se během první hodiny od podezření na tuto diagnózu podaří provést základní diagnostické a léčebné kroky, odráží se to ve významně lepší prognóze nemocných. „Nutné je zjistit úvodní koncentraci laktátu, nejprve odebrat hemokultury a ihned potom podat širokospektrá antibiotika, respektive antiinfektiva, zahájit tekutinovou resuscitaci při hypotenzii nebo elevaci laktátu. Pokud se nepodaří dosáhnout středního arteriálního tlaku alespoň 65 mmHg, pak je namístě zahájit vazopresorickou podporu. Antimikrobiální léčba by měla být podaná v maximální dávce, a to i u oligurických pacientů, s tím, že později by mělo dojít k její optimalizaci na základě výsledků kultivací,“ připomněl MUDr. Spilka.



▲ Obr. č. 1: MUDr. Malina, MUDr. Spilka

Zánět představuje odezvu organismu na poškození. Spouštěčů septické reakce je mnoho, může se jednat o bakteriální lipopolysacharid, ale i třeba o zcela neinfekční etiologii. Reakce je kaskádovitá, zpravidla dochází přes TNF-alfa k aktivaci makrofágů a následně k tvorbě IL-1b. IL-1b má však velmi rychlou dynamiku a k diagnostice sepse se tak nehodí. „Proto se v takto časné fázi soustředíme především na IL-1b stimulované markery IL-6 a prokalcitonin (PCT). Ty se rovněž vyznačují poměrně rychlou tvorbou, jsou však stabilnější a vhodnější pro detekci i interpretaci. Teprve IL-6 a PCT vyvolávají syntézu proteinů akutní fáze, mezi které patří například levný a široce používaný marker CRP. Dynamika CRP je ovšem mnohem pomalejší

a k rychlé diagnostice sepse a septického šoku při náhlém klinickém zhoršení pacienta se tak nehodí. CRP je v tomto kontextu možné použít spíše pro monitoring již nastavené léčby v řádu dní,“ vysvětlil MUDr. Malina a pokračoval: „PCT je výborný marker, který vykazuje dobrou senzitivitu i specificitu pro septickou reakci a je tak vhodný k posouzení závažnosti stavu pacienta. K jeho falešné pozitivitě může sice docházet při paraneoplastické produkci u karcinomu plic nebo medulárního karcinomu, u kuřáků a při renálním selhání, v praxi jsou ale takové elevace zpravidla jen mírné a odstraňuje je korelace s klinickým stavem pacienta. Koncentrace PCT naopak významně nestoupá u lokálních infekcí, včetně například pneumonií, při kterých se pohybuje do 2,0 µg/l. Medián koncentrace PCT při sepsi je potom 6 µg/l a při septickém šoku 40 µg/l s tím, že koncentrace může vyšplhat řádově až do stovkových hodnot. Nevýhodou PCT je v současnosti fakt, že jeho stanovení je propláceno jenom u hospitalizovaných pacientů. V případě negativity PCT, krátkého trvání příznaků a silného podezření na sepsi je stanovení PCT vhodné doplnit vyšetřením rychlejšího IL-6.“

Koncentrace IL-6 stoupá velmi časně a maxima dosahuje po 2 až 4 hodinách od nástupu SIRS. Pro srovnání: k významnému vzestupu PCT dochází až asi po 3–6 hodinách a CRP po 6–12 hodinách, u starších osob ovšem někdy řádově až po dnech. Fyziologická koncentrace IL-6 se pohybuje pod 7 ng/l. „IL-6 byl nejenom v naší nemocnici původně zaveden chirurgy k detekci náhlé příhody břišní včetně perforovaného peptického vředu, peritonitidy nebo střevní ischemie. Později našel využití v diagnostice infekce z důvodu nekrózy u akutní pankreatitidy a právě u časné detekce sepse jakéhokoliv původu. V kontextu septických stavů v časné fázi je výborný pro použití u nemocných s velmi krátkou anamnézou, byt krátké diagnostické okno vyžaduje určitou interpretační zkušenost. Koncentrace IL-6 je zpravidla odebrána jednou, pro

delší monitoring stavu se používá PCT a CRP. Nevýhodou IL-6 jsou opět do jisté míry problematické podmínky pro úhradu vyšetření – nemocnice pro ni musí disponovat přítomností odbornosti 813, tedy klinické imunologie a alergologie,“ řekl MUDr. Malina a dodal: „Skutečná síla těchto markerů u rychle probíhající sepse je ale v jejich kombinaci s tím, že je třeba myslet na možnost opakování septické ataky i u již zaléčeného pacienta. Z praktického hlediska je potom dobré zmínit, že jak IL-6, tak PCT lze vyšetřovat z plazmy i séra odebraných do běžných zkumavek. Obě látky jsou při teplotě 2–8 °C stabilní po dobu 24 hodin, IL-6 lze měřit i po několikahodinovém ponechání v pokojové teplotě. V naší reálné klinické praxi se nám nicméně daří vyšetřit statimové vzorky IL-6 a PCT do 45 minut od jejich obdržení laboratorii. Pomocí POCT analyzátorů přímo na oddělení lze potom v současnosti změřit CRP a PCT, IL-6 zatím dostupný není, ale možnost POCT se u něj brzy očekává.“

### ***Poměr sFLT-1/PIGF umožňuje detekci a monitoring preeklampsie a tím i úspěšné prodloužení některých rizikových těhotenství***

O diagnostice preeklampsie pomocí biomarkerů debatovali gynekolog MUDr. Radovan Vlček, Ph.D., a klinický biochemik MUDr. Jan Špička, MBA, z Fakultní nemocnice Královské Vinohrady v Praze. „Vyšetřování markerů preeklampsie jsme v naší nemocnici zahájili na přání gynekologů od ledna 2017. Implementace metody byla díky silnému klinickému partnerovi velmi rychlá, první dva měsíce jsme každý test konzultovali a verifikovali jeho klinický korelát, od března 2017 potom stanovujeme poměr sFLT-1/PIGF rutinně. Vždy však musíme znát týden gravidity pacientky – test se nejčastěji používá mezi 34. a 37. týdnem. Výsledky s kliniky stále jednou měsíčně konzultujeme kvůli zajištění zpětné vazby. Na rozdíl od některých



jiných laboratoří měříme poměr sFLT-1/PIGF ve statimovém režimu i mimo běžnou pracovní dobu, neboť se domníváme, že jinak by to ani nemělo vzhledem k akutní povaze onemocnění smysl," popsal MUDr. Špička.



▲ Obr. č. 2: MUDr. Špička, MUDr. Vlk

Preeklampsie je závažné onemocnění často s perakutním průběhem, které postihuje asi 4 % gravidních žen. Pohled na preeklampsii se historicky významně měnil a ještě do nedávna převládal názor, že se jedná o hypertenzi v těhotenství nad 140/90 mmHg se signifikantní proteinurií nad 0,3 g/24 hodin, při které se objevují spíše nespecifické edémy. „Moderní pohled ale počítá spíše s ústřední patofyziologickou rolí endoteliální dysfunkce a abnormální placentace na základě imunitní, genetické a biochemické etiologie. Preeklampsie vzniká v prvním trimestru u pacientek s prekoncepční dispozicí a projevuje se během konce druhého a zejména třetího trimestru. Choroba je charakterizována rozvojem placentární ischemie, podmíněné abnormální imunitní reakcí, která je doprovázena generalizovanou endoteliální dysfunkcí mateřského organismu, zánětlivou odpovědí a mikrocirkulačními změnami. Preeklampsie se klinicky projevuje jako hypertenze po 20. týdnu gravidity, doplněná o jeden nebo více znaků orgánového poškození. Mezi to sice spadá i významná proteinurie, u některých pacientek ale nemusí být vyjádřená a místo toho vykazují poškození jater či neurologické příznaky. Mohou být přítomné hematologické abnormality nebo intrauterinní růstová retardace

plodu. Extrémními rozvinutými formami onemocnění je potom HELLP syndrom a eklampsie s konvulzivními záchvaty. Plně rozvinutá eklampsie je nicméně i díky lepší diagnostice a léčbě poměrně vzácná, ročně dojde v ČR asi k 70 případům," uvedl MUDr. Vlk.

Soluble Fms-like tyrosine kinase-1 (zkratka sFLT-1) je enzym, který funguje jako receptor pro Placental Growth Factor (zkratka PIGF). Jeho nerozpustná forma je za normálních okolností navázaná na buněčnou membránu endoteliálních buněk, ze které se může uvolnit do oběhu jako sFLT-1. K uvolnění sFLT-1 dochází ve zvýšené míře při endoteliální dysfunkci během preeklampsie. PIGF normálně indukuje fyziologickou angiogenezi v placentě. Při zvýšené koncentraci uvolněného sFLT-1 je tento ligand ve zvýšené míře vychytáván z prostředí a přirozená tvorba placentárních cév je tím patologicky narušena. Zatímco během fyziologické gravidity je poměr sFLT-1/PIGF nízký, při preeklampsii významně stoupá. Vzhledem k patofyziologickým mechanismům, na jejichž podkladě preeklampsie vzniká, je stanovení poměru sFLT-1/PIGF superiorní oproti stanovení koncentrace jednotlivých markerů.

Vyšetřování poměru sFLT-1/PIGF se plošně rozšířilo zejména po publikování klinické studie PROGNOSIS v časopise



▲ Obr. č. 3: MUDr. Vlk

American Journal of Obstetrics and Gynecology v roce 2012. Na jejím základě byly stanoveny přesné hodnoty poměru pro vyloučení a naopak potvrzení diagnózy preeklampsie. „Velmi nízká hodnota poměru sFLT-1/PIGF pod 38 vylučuje preeklampsii s vysokou negativní prediktivní hodnotou (94,8 %). Poměr nad 110 potvrzuje diagnózu s 99,5% specificitou a 88% senzitivitou. Takové pacientky by měly být velmi důkladně sledovány a případně hospitalizovány. Při hodnotách poměru sFLT-1/PIGF mezi 38 a 110 se doporučuje opakovat toto vyšetření ještě po jednom týdnu," komentoval MUDr. Vlk a doplnil: „Tato data a celkový moderní pohled na preeklampsii potvrdila také práce, která byla uveřejněna v časopise Hypertension in Pregnancy v roce 2013. Ta zahrnuje pacientky s hypertenzí a signifikantní proteinurií v graviditě a rozdělila je podle poměru sFLT-1/PIGF na takzvaně non-angiogenní skupinu s poměrem pod 85 a angiogenní skupinu s poměrem nad 85. Ukázalo se, že zatímco v non-angiogenní skupině se nevyskytla ani jedna závažná příhoda včetně abrupce placenty, plicního edému, eklampsie nebo fetálního či neonatálního úmrtí, v angiogenní skupině se tyto události vyskytovaly frekventně a nepříznivý vývoj gravidity byl v angiogenní větvi signifikantně častější.“

MUDr. Špička kolegu doplnil: „Měření poměru sFLT-1/PIGF je poměrně rychlé, největší časovou ztrátu nabíráme především proto, že takových testů provádíme jen několik desítek ročně a před téměř každým vyšetřením tak musí proběhnout kontrola kvality přístroje. I přesto uvolňujeme 72 % výsledků do 2 hodin, všechny potom do 5 hodin od obdržení vzorku. Metoda je velmi stabilní a naši laboratoř necháváme validovat dvakrát ročně v rámci kontroly kvality Instand.“

Z hlediska terapie preeklampsie je jedinou účinnou intervencí v případě plněho rozvinutí patologie ukončení těhotenství.



### Redakce představuje...

Vážený čtenáři, rádi bychom vám tímto představili kolegyni MUDr. Moniku Kamarytovou, která byla scenáristkou, producentkou, manažerkou a moderátorkou v jedné osobě programu druhého dne Roche Symposia 2019 s podtitulem „V jakých situacích a proč na čase záleží“. V moderované diskusi vybraní odborníci přiblížili své zkušenosti a vzájemnou spolupráci laboratoře a klinického pracoviště na příkladech konkrétních biomarkerů. Dotazy za redakci kladla Kateřina Málková (redakce).

#### Redakce: Co vás vedlo k tomuto neobvyklému scénáři namísto běžných sekcí prezentací?

MK: Tento nápad jsem nosila v hlavě víc než 1,5 roku. Neustále kolem sebe slyším, jak důležitá je spolupráce laboratoře a kliniků. Chtěla jsem ukázat, že se nejedná o fikci, ale o skutečnost. Nevím, jaká je realita v jiných nemocnicích, ale v těchto 4 nemocnicích, které jsme oslovili (FN Plzeň, FN Olomouc, FN Královské Vinohrady, Nemocnice Písek), laboratoř a klinici velmi úzce spolupracují. Společně řeší případy pacientů a společně vybírají diagnostické testy. A proč forma moderované diskuse? Myslím si, že debata dokáže přiblížit skutečnou spolupráci a atmosféru mezi dvěma spolupracujícími týmy lépe než klasická přednáška.

**Redakce: Působila jste jako profesionální moderátor, vyzařuje z vás nečekaná jistota i v záznamu. Popravdě, překvapilo mne to.**

MK: (smích) Co k tomu říct? Prostě léta dřiny a odříkání... Ne, teď vážně. Měla jsem to štěstí, že mě moje profesní kariéra v minulosti zavála do ČT1 a rádia Frekvence 1. Musela jsem projít mediálním tréninkem. Hostovala jsem opakovaně v pořadu „Sama doma“ a půl roku v pravidelném rozhlasovém vysílání.

**Redakce: Nicméně se dá čekat, že přišly i nějaké krušné a nečekané momenty. Byly nějaké?**

MK: To rozhodně byly. Vlastně když nad tím zpětně přemýšlím, byla to taková parádní adrenalinová jízda. Scénář každé diskuse a doprovodné slidy byly sice dopředu připravené, ale žádné zkoušení a secvičování předem nebylo. Takže něco jako „živé vysílání“, kdy do poslední chvíle nevíte, jaká bude skutečná odpověď a reakce hostů. Pokud opominu „běžné krušné chvíle“, jako např. časové a zvukové sladění techniky–moderátora–hostů, pak nejlepší byly určitě momenty, kdy odborníci začali zcela nečekaně odpovídat, a navíc velmi kreativně! Smekám před nimi, protože měli odvahu jít s námi do zcela nového formátu symposia



a všichni byli skvělí. Chci jim ještě jednou moc poděkovat!

**Redakce: A co mravenec? :-D**

MK: Nebudu prozrazovat detaily. „Mravenec“ musí diváci (posluchači) odhalit v diskusi o „Akutním koronárním syndromu a biomarkeru hs TnT“ sami. Jsem přesvědčena, že „mravenec“ má šanci stát se diagnostickým fenoménem v kardiologii.

**Co ještě dodat. Budete v podobných scénářích pokračovat?**

MK: Určitě. Věřím, že ze strany odborníků bude o tento formát sdílení zkušeností a spolupráce zájem.

**Děkuji kolegyni Monice za rozhovor a společně se čtenáři se budu těšit na příští akci!**

*Videozáznamy všech moderovaných diskusí můžete zhlédnout na portálu [MojeMedicina.cz](https://www.mojemedicina.cz/cs_cz/akce-vzdelavani/Diagnostika.html) ([https://www.mojemedicina.cz/cs\\_cz/akce-vzdelavani/Diagnostika.html](https://www.mojemedicina.cz/cs_cz/akce-vzdelavani/Diagnostika.html))*

Během odloučení placenty při porodu se uvolní značné množství biologických působků, včetně markeru sFLT-1, a pacientka v riziku by tak měla být sledována po ukončení těhotenství pro závažnou preeklampsii alespoň 24 hodin na JIP. „U rizikových nemocných je možné nasadit v prvním trimestru aspirin, který snižuje riziko rozvoje závažné preeklampsie asi o 50 %. Taková pacientka pak může být s výhodou sledována v dalším období těhotenství pomocí poměru sFLT-1/PIGF, který je při hodnotách

pod 38 odebrán přibližně jednou měsíčně, takže i riziková nemocná může být kontrolována bezpečně v domácím prostředí. Při nízkých hodnotách poměru sFLT-1/PIGF nebo velmi pomalé dynamice laboratorních změn nabízí metoda prodloužení těhotenství a vhodné načasování jeho případného ukončení. Co však pomalá dynamika relativně nízkého poměru sFLT-1/PIGF odhalit nemusí, je riziko eklamptického záchvatu, který se může objevit i u poměrně lehké preeklampsie,“ dodal MUDr. Vlček.

### IL-6 je často jediným nástrojem pro odhalení novorozenecké sepse

O použití IL-6 v diagnostice novorozenecké sepse hovořila další dvojice přednášejících – biochemička RNDr. Jitka Prošková a neonatolog MUDr. Jan Hálek z FN Olomouc. Zdejší laboratoř nabízí stanovení tohoto markeru již od roku 2005. „Neonatalogické oddělení je hlavním zadavatelem vyšetření IL-6. Z žilní krve novorozenců stanovujeme asi 36 % všech testů,



dalších 10 % analyzujeme z pupečnickové krve odebrané bezprostředně po porodu. Celkem v naší nemocnici provádíme asi 1 200 takových vyšetření za rok, přičemž se zde rodí kolem 3 000 novorozenců ročně. Výhodou našeho pracoviště je velmi moderní systém potrubní pošty, který zajišťuje, že se k nám do laboratoře vzorek dostane do deseti minut od odeslání, a to i ve špičce. To je v kontextu onemocnění, které vyžaduje okamžitou intervenci, zcela zásadní. Z preanalytického hlediska je možné IL-6 stanovit ze séra i plazmy, při teplotách 2–8 °C je vzorek stabilní až 24 hodin s možností další indikace vyšetření,“ řekla RNDr. Prošková. „Problémem u novorozenců bývají malé objemy vzorku, hlavně při nutnosti stanovení širšího panelu analytů. Novorozenec má totiž jen asi 90 ml krve na kilogram tělesné váhy. U nedonošeného dítěte s hmotností 600 g tak tvoří i 1 ml poměrně značnou část jeho celkového krevního objemu,“ doplnil MUDr. Hálek.

a rozvoj jedinečného mikrobiomu střeva, a navíc dochází ke zbytečné selekci multirezistentních nozokomiálních kmenů. Novorozenec ošetřený širokospektrými antibiotiky má celoživotně zvýšené riziko, že prodělá závažnou sepsi. Klinické symptomy sepse jsou však bohužel u novorozenců velmi nespecifické. Klasická pediatrická kritéria pro sepsi splňují jen asi dvě třetiny donošených a asi třetina nedonošených novorozenců. Naprosto nepoužitelné jsou potom pro časnou diagnostiku hemokultury, které jsou nejenom pomalé, ale vzhledem k častému antibiotickému ošetření matek navíc vysoce nespolehlivé. Neonatolog se tak musí spolehnout na jiné markery, především právě na marker IL-6. Konvenční CRP je v tomto klinickém kontextu příliš pomalé, koncentrace PCT zase po porodu stoupá i fyziologicky. Jak CRP, tak PCT lze ale použít k monitorování léčby po úvodním zlepšení klinického stavu,“ vysvětlil MUDr. Hálek.

vliv, děti porozené spontánně záhlavím a sekci mají jeho koncentrace srovnatelné,“ vysvětlil MUDr. Hálek.

Stanovení IL-6 by se podle MUDr. Hála měla týkat poměrně rozsáhlé populace. „Například u extrémně nedonošených dětí s odtokou plodovou vodou ho stanovujeme z pupečnickové krve prakticky plošně. Kromě nezralého imunitního systému tyto děti ohrožuje častá lokální infekce placenty, právě intrauterinní infekce může předčasný porod vyvolat. V podstatě platí, že i při minimálním klinickém podezření na sepsi by měl být IL-6 stanoven, protože se často jedná o jedinou spolehlivou indicii, že je třeba podat antibiotika. IL-6 sice patří k dražším analytům, jeho stanovení stojí asi 600 Kč, ale vzhledem k jeho jedinečné vypovídající klinické hodnotě a potenciálnímu vlivu na celý budoucí život novorozence se však na finanční stránku příliš neohlížíme,“ sdělil.



▲ Obr. č. 4: RNDr. Prošková, MUDr. Hálek

Neonatální sepsi je poměrně častá a velmi významně ovlivňuje morbiditu a mortalitu donošených i nedonošených novorozenců. Ti, kteří přežijí, mohou být po jejím prodělání celoživotně handicapováni. Základem je časná diagnostika i terapie, protože sepsi může novorozenec zahubit i v řádu minut. Na druhou stranu nežádoucí důsledky má i nadbytečná antibiotická terapie u dětí, které septické nejsou. „Například v USA se širokospektrá antibiotika podávají těžce nedonošeným novorozencům s odtokou plodovou vodou v podstatě plošně. Tím ale může být narušena jejich imunokompetence

Interleukin 6 (IL-6) je základní cytokin makrofág-dependentní nespecifické imunitní reakce. Vzestup jeho koncentrace je velmi rychlý, v řádu dvou až čtyř hodin, a může dokonce předcházet rozvoji klinických příznaků. Stimuluje syntézu proteinů akutní fáze, včetně CRP. Biologický poločas IL-6 je asi 100 minut. „Pro správnou interpretaci testu je třeba použít věkově specifické cut-off hodnoty, kde bohužel nemáme k dispozici nomogramy dle gestačního věku. Koncentrace v pupečnickové krvi se fyziologicky pohybuje v rozmezí 5 až 100 ng/l, postnatálně může vystoupat až na 150 až 250 ng/l. Během 24 hodin od porodu by ale měla klesnout pod 30 ng/l a během 48 hodin pod 20 ng/l. Kromě toho se ukázalo, že stanovení IL-6 z pupečnickové krve má dostatečnou senzitivitu jen u nedonošených dětí po předčasném odtoku plodové vody. To potvrzuje i naše zkušenost, kdy jsme zjistili značné rozdíly v koncentraci IL-6 při paralelním odběru pupečnickové krve a séra 2 hodiny po porodu. Naopak způsob vedení porodu nemá na koncentraci IL-6 významnější

### **Vysoce senzitivní troponin T: Zlatý standard diagnostiky akutního koronárního syndromu**

Akutní bolest na hrudi je jedním z nejčastějších symptomů, který přivádí nemocné k neodkladnému vyšetření na interních ambulancích a urgentních příjmech. Rychlé a bezpečné odlišení nekardiální příčiny od akutního koronárního syndromu (AKS) je zcela klíčové nejenom pro diagnostiku a prognózu pacientů, ale i pro zajištění hladkého chodu pracoviště. O možnostech hodinového diagnostického algoritmu NSTEMI s využitím vysoce senzitivního troponinu T (TnT hs) v tandemu hovořili kardiolog prof. MUDr. Richard Rokyta, Ph.D., a klinický biochemik MUDr. Daniel Rajdl, Ph.D., z FN Plzeň. „Infarkt myokardu (IM) je podle IV. univerzální definice buněčnou smrtí kardiomyocytů, navozenou prolongovanou ischemií. Jedná se o vystupňování buněčného poškození, během kterého postupně stoupá koncentrace srdečních troponinů v séru. IM lze rozdělit na STEMI





a NSTEMI s pokračující ischemií a hemodynamickou nestabilitou, při které pacient vyžaduje okamžitou perkutánní koronární intervenci (PCI), a NSTEMI bez pokračující ischemie nebo hemodynamické nestability. Nestabilní angina pectoris je potom AKS bez ST-elevací a zvýšené koncentrace srdečních troponinů. IM se dále dělí na IM 1. typu, který vzniká na podkladě koronární aterosklerózy při disrupci aterosklerotického plátu, a IM 2. typu, za jehož patofyziologií stojí jiné onemocnění, jako je například těžká anémie,“ připomněl prof. Rokyta.



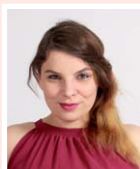
▲ Obr. č. 5: MUDr. Rajdl, prof. Rokyta

MUDr. Rajdl kolegu doplnil: „Kardiální troponiny mají 100% orgánovou specificitu pro myokard. Přínos hodnocení vysoce senzitivních troponinů spočívá zvláště v posílení negativní prediktivní hodnoty testu nad 95 % a tím i síly vyloučit akutní IM. Falešně negativní může být test zejména u velmi časných prezentérů, tedy osob, u nichž od nástupu symptomů uběhly méně než dvě hodiny. Lze tak detekovat již nekrózu 40 mg myokardiální tkáně. Pro srovnání: zobrazovací metody, jako je MRI srdce, zvládnou rozpoznat nekrózu až od 1 g. Biochemické stanovení je tak v tomto klinickém kontextu zcela nenahraditelné. TnT hs představuje velmi časný marker, jehož koncentrace začne strmě narůstat asi po dvou hodinách

od rozvoje ischemie, následuje rychlá a prudká elevace koncentrace, fáze plató a velmi pozdně koncentrační pokles. Biologický poločas TnT hs je asi dvě hodiny a koncentrace v plazmě je tak závislá především na jeho uvolňování z nekrotického ložiska. Naopak při chronickém poškození myokardu je koncentrace TnT hs velmi konstantní, a byť může být zvýšená, chybí jí dynamika v čase. Jako cut-off hodnotu pro IM používáme 99. percentil koncentrace, což má ovšem své limitace. TnT hs totiž sice vykazuje nízkou intraindividuální, ale vysokou interindividuální variabilitu. Může být zvýšený i při absenci IM například u osob se srdečním selháním nebo u hemodialyzovaných pacientů. V praxi by ale byl hodinový algoritmus s více cut-off hodnotami příliš složitý, a tak je cenou za dostatečnou senzitivitu protokolu fakt, že screeningově test vyhodnotí jako pozitivní i některé osoby bez IM, které pak vyžadují další vyšetřování. Dalším velmi důležitým faktem je, že se jednotlivé kity od různých výrobců značně liší a protokol tak musí být uzpůsoben lokálním podmínkám a musí být postaven na metodě konkrétního a předem definovaného výrobce. Tuto skutečnost si musí uvědomit také lékaři zaměstnaní v konkrétní nemocnici. Cut-off hodnoty totiž mohou být zcela odlišné od jejich předchozího pracoviště, kde se mohlo pracovat s jiným typem srdečního troponinu s jinou selektivitou, senzitivitou a dynamikou,“ zdůraznil MUDr. Rajdl.

Pacienti se STEMI na křivce EKG jsou okamžitě přijímáni na katetizační sál a podstupují PCI. Potíž nastává u nemocných s bolestí na hrudi, u nichž dynamické změny charakteru STEMI na křivce EKG nejsou. Hodinový algoritmus pro suspektní NSTEMI počítá se změřením

TnT hs v čase 0 a 60 minut, u pacientů s velmi krátkou anamnézou s bolestmi na hrudi kratšími než jednu hodinu je čas druhého odběru posunut na 180 minut od odběru prvního. „Jestliže je koncentrace v čase 0 pod 5 ng/l, nebo v čase 0 pod 12 ng/l a zároveň není rozdíl (hodnota delta) výsledku z druhého odběru vyšší než 3 ng/l, pak je NSTEMI s vysokou pravděpodobností vyloučen a pacient může odejít domů. Také u pacientů s nízkou úvodní koncentrací se v naší nemocnici odebírá druhý vzorek, což je pravděpodobně nadbytečné, ale vzhledem k závažnosti diagnózy akceptujeme vyšší náklady a nároky na pracoviště k zajištění vysoké bezpečnosti protokolu. Naopak pokud je TnT hs v čase 0 vyšší než 52 ng/l nebo delta mezi prvním a druhým odběrem dosahuje 5 ng/l a více, pak je NSTEMI předběžně potvrzeno a pacient je hospitalizován. Pozitivní prediktivní hodnota testu je v takovém případě vyšší než 85 %. Zbytek pacientů je zařazen do observační skupiny a prochází dalším vyšetřováním, například změřením dalšího TnT hs po třech hodinách od druhého odběru. NSTEMI je nakonec potvrzeno asi u 15 % z nich. I zde samozřejmě platí, že je laboratorní výsledky nutné korelovat s reálným klinickým stavem pacienta a každý odběr doplnit křivkou EKG. Je to nakonec klinik, kdo rozhoduje o hospitalizaci nebo propuštění, a to i proto, že se sice jedná o protokol pro diagnostiku NSTEMI, TnT hs je ale zvýšený také při řadě dalších diagnóz, jako je plicní embolie nebo disekce aorty. Vysoce senzitivní troponin by zároveň neměl být nabírán pacientům bez jakýchkoliv příznaků plošně „v panelu“, protože jeho diagnostická síla spočívá právě v kombinaci s klinickou symptomatologií,“ doplnil v závěru diskuse prof. Rokyta.



### MUDr. Tereza Rádlová

Kontakt: terouk@gmail.com

LF MU v Brně dokončila v roce 2016. Profesně se věnuje anesteziologii a urgentní medicíně, kromě toho je studentkou postgraduálního studia. V současné době je na mateřské dovolené a píše pro zdravotnická média. Mezi její koníčky patří cestování, outdoorové sporty, běhání a amatérské divadlo.



Screening nejčastějších aberací autozomů na podkladě volných fetálních fragmentů DNA v mateřské plazmě reprezentuje v současné době nejefektivnější vyhledávací test trizomie 21. Stále je nutné mít na paměti, že se jedná o test vyhledávací, ne diagnostický. V případě pozitivního nálezu je nutné nález potvrdit invazivní diagnostickou metodou. Testování mikrolečních syndromů pomocí NIPT má horší pozitivní prediktivní hodnotu vzhledem k nízké prevalenci onemocnění v populaci. Je vhodné dbát a myslet na mateřské faktory, které mohou mít vliv na výsledek testu. Mezi tyto faktory patří obezita matky, aktivní autoimunitní onemocnění, neoplastický proces a mozaicismus. Rychlý rozvoj technologií v této oblasti zcela jistě ovlivní směr a vývoj prenatální diagnostiky.

## Neinvazivní prenatální test fetálních aneuploidií

doc. MUDr. LADISLAV KROFTA, CSc., MBA<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Ústav pro péči o matku a dítě, Podolské nábřeží 157, 147 00 Praha 4 – Podolí; <sup>2</sup> 3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy; <sup>3</sup> Katedra gynekologie a porodnictví IPVZ

### Úvod

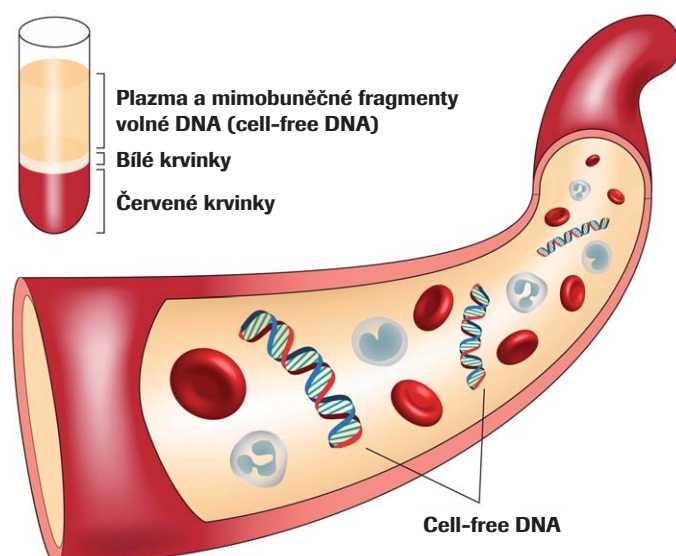
Fragmenty volné DNA a RNA jsou přítomny ve všech tělních tekutinách v určitém dynamickém stavu, který podléhá neustálé obměně. Jedná se o malé extracelulární fragmenty DNA cirkulující v krevním oběhu, pro které se v anglosaské odborné literatuře vžilo označení cell-free DNA (cfDNA). Technologický progres molekulárně genetických postupů posledních dvaceti let učinil tento jedinečný genetický materiál dostupným

pro zcela novou generaci krevních testů vhodných detekovat a monitorovat onemocnění.

V roce 1997 byly publikovány první práce o fetálním a placentárním původu cfDNA v mateřské cirkulaci.<sup>1</sup> V rámci péče o těhotnou ženu byla problematika fetální cfDNA a technologie DNA sekvenace velice rychle implementována do širší klinické praxe formou vyhledávacích testů prenatálního screeningu nejčastějších chromozomálních aberací. Jedná se o průlomovou technologii, která představuje revoluci v rámci screeningu vývojových vad.

### Biologie cfDNA

Naprostá většina plazmatické cfDNA je uvolněna z hematopoetických buněk



▲ Obr. č. 1: Extracelulární fragmenty DNA cirkulující v krevním řečišti



v rámci normálního buněčného cyklu. Zároveň se na celkovém poolu cfDNA spolupodílí i řada jiných orgánů, příkladem jsou adipocyty tukové tkáně.<sup>2</sup> Za normálních okolností, není-li žena těhotná, reflektuje genomický profil plazmatické cfDNA individuální karyotyp jedince. Během těhotenství se placentární cfDNA rovněž uvolňuje do mateřské plazmy a tuto lze využít pro účely prenatalní diagnostiky. Tento typ DNA fragmentů pochází ze zevního cytotrofoblastu, do mateřské cirkulace se dostává prostřednictvím apoptózy.<sup>3</sup> První průkaz fetoplacentární DNA v cirkulaci matky byl detekován pomocí specifických sekvencí Y chromozomu. CfdDNA mající fetoplacentární původ je označována jako cffDNA (cell-free fetal DNA) a je detekována v cirkulaci matky od pátého gestačního týdne. Představuje přibližně 10–15 % celkového objemu cfDNA.<sup>4</sup> Koncentrace cffDNA se zvyšují s gestačním týdnem a po ukončení těhotenství se koncentrace rychle snižuje až k absolutní eliminaci. CffDNA reprezentuje zdroj informací o probíhající graviditě a neperzistuje do dalšího těhotenství.<sup>5</sup>

### Terminologie

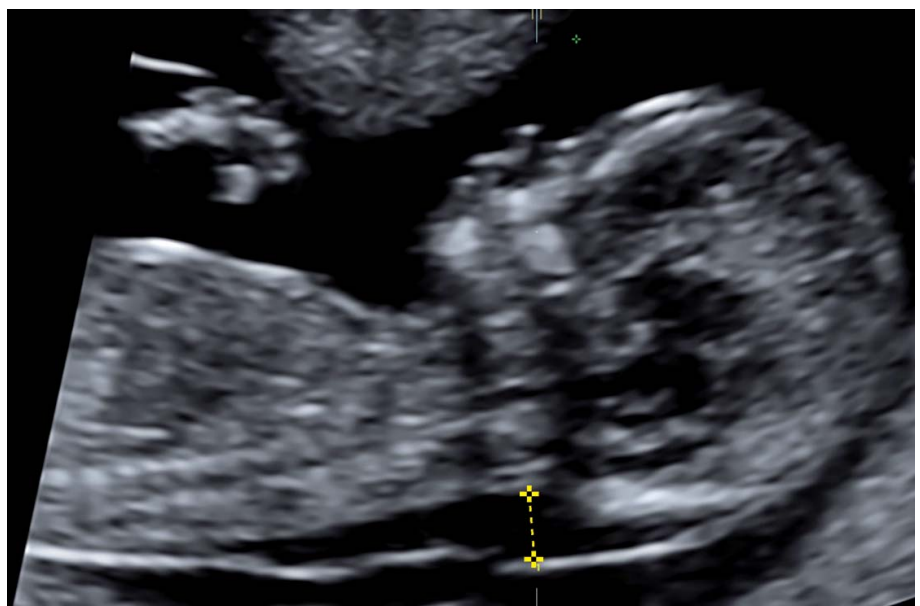
V souvislosti s volnou DNA v cirkulaci jsou často ne zcela správně používány některé termíny a označení. Pro klinickou praxi je však nutné znát jejich správný význam. Prenatální test založený na analýze cffDNA mateřské plazmy je označován v anglosaské odborné literatuře pomocí zkratky NIPT (noninvasive prenatal testing). Rovněž se lze v této souvislosti setkat možná s výhodnějším termínem, kterým je neinvazivní prenatální screening (NIPS – noninvasive prenatal screening). Toto označení přesněji vystihuje povahu testu a diferencuje jej od tradičních diagnostických a invazivních diagnostických intervencí hodnotících fetální karyotyp na základě analýzy buněk získaných biopsií choriových klků a odběru plodové

vody. Test fetálních aneuploidií pomocí cffDNA z mateřské plazmy nedosahuje přesnosti diagnostického vyšetření pro aneuploidii a v případě pozitivity vyžaduje provedení diagnostického vyšetření karyotypizací. Existují však i testy využívající cffDNA z mateřské plazmy, splňující požadavky diagnostického testu bez nutnosti verifikace invazivní intervencí. Jedná se o NIPD (noninvasive prenatal diagnosis), tyto jsou však primárně určeny pro detekci paternálních dědičných stavů plodu (unikátní fetální DNA sekvence, které nejsou obsaženy v mateřském genotypu).<sup>6</sup>

### Tradiční screeningové metody fetálních aneuploidií

U fyziologicky se vyvíjejícího plodu lze koncem prvního trimestru gestace prokázat kumulaci tekutiny v podkoží oblasti fetálního krku a záhlaví. Sonografický náleznahromaděné tekutiny je v anglosaské odborné literatuře označován termínem nuchal translucency.<sup>7</sup> V české odborné literatuře se pro nálezn kolekce tekutiny v oblasti záhlaví plodu pozorovaného koncem prvního trimestru vžil termín

šijové projasnění. U zdravých plodů se šíře šijového projasnění zvětšuje s hodnotou CRL. Maximální hodnota se pozoruje kolem 13. týdne a následně se šíře snižuje. Po 14. gestačním týdnem je parametr neměřitelný.<sup>8,9</sup> Šijové projasnění reprezentuje nejvýznamnější sonografický minor marker I. trimestru těhotenství, který nevykazuje významnou vazbu na biochemické markery mateřského séra I. trimestru free  $\beta$ -hCG a PAPP-A. Závislost mezi parametrem projasnění šíje a biochemickými markery nebyla prokázána u plodů s trizomií 21 ani u plodů s normálním karyotypem. Vzhledem k neexistující závislosti sonografického markeru na biochemických markerech lze obě skupiny kombinovat a využít k individuální kalkulaci rizika chromozomální aberace (trizomie 21) v rámci screeningu. Kombinací hodnoty šijového projasnění, hodnot biochemických markerů a věku těhotné lze detekovat 90 % plodů s trizomií 21 při 5% falešné pozitivitě.<sup>10</sup> Využitím algoritmu pro detekci trizomie 21 lze potvrdit 75 % procent plodů s trizomií 18 a 13. Kombinací s určením srdeční frekvence a zařazením specifického algoritmu pro trizomii 18 a 13 lze docílit 91% detekce trizomie 18 a 87% detekce trizomie



▲ Obr. č. 2: Plod s abnormální hodnotou šijového projasnění (NT 5 mm) u kterého byla následně prokázána abnormální chromozomální výbava (47+21). Šijové projasnění představuje nejvýznamnější sonografický minor marker I. trimestru gestace



13.<sup>11</sup> Společně se šijovým projasněním lze individuální riziko pro chromozomální aberaci dále upřesnit s využitím dalších sonografických markerů I. trimestru gestace. Jedná se o nosní kost, obličejový úhel a dva dopplerovské parametry zahrnující vyšetření fetálního venózního ductu a hodnocení toku na trikuspidální chlopní. Zatímco nosní kost a obličejový úhel mají vztah k chromozomálním aberacím, u dopplerovských parametrů lze v případě venózního ductu navíc prokázat vztah k přítomnosti závažné srdeční vady a riziku fetálního úmrtí. Odchylky toku na trikuspidální chlopní vykazují asociaci s aberacemi chromozomů a se srdečními vadami.

fetálního chromozomu 21 (dvě nebo tři kopie) prostřednictvím určení počtu fragmentů vycházejících z každého chromozomu. Počet fragmentů 21 chromozomu je následně porovnán a vztažen k referenčnímu počtu ostatních předpokládaných diploidních chromozomů. Následná statistická analýza určí, zda je přítomen vyšší počet chromozomu 21. K dispozici je několik NIPT platforem využitelných k detekci aneuploidii:

a) **Masivní paralelní sekvenace:** v anglosaské odborné literatuře je tento přístup označován jako MPS (massively parallel sequencing) nebo také náhodná celogenomová sekvenace (random whole genome sequencing).

MPS metoda počítá směrodatnou odchylku odhadovaného počtu každého chromozomu a stanoví z-skóre. Pokud je počet fragmentů 21 chromozomu v testovaném vzorku zvýšený o více než 3 směrodatné odchylky oproti normě, je riziko trizomie 21 chromozomu zvýšené.

b) **Chromozom selektivní cílená sekvenace:** v anglosaské odborné literatuře je tento přístup označován jako CSS (chromosome-selective sequencing). Na rozdíl od předešlé metody, kdy dochází k sekvenaci směsi DNA fragmentů plazmy, je u CSS plazma obohacena o preselektované fragmenty chromozomů 13, 18, 21 a pohlavních chromozomů. Proces obohacení je realizován prostřednictvím metody PCR (polymerase chain reaction), kdy dochází k amplifikaci segmentů DNA, které jsou jedinečné pro daný chromozom. Finální DNA směs, která je podrobena sekvenaci, je bohatá na fragmenty uvedených chromozomů a náklady a čas sekvenace jsou tímto redukovány. Individuální odhad rizika trizomií nebo aberací gonozomů je následně počítán s využitím parametrů populačního rizika (mateřský věk a gestační stáří), výsledku sekvenace a fetální frakce. Riziko 1 : 100 a více reprezentuje vysoce rizikovou skupinu.

c) **SNP sekvenace:** v anglosaské odborné literatuře je tento přístup označován jako single nucleotide polymorphism based sequencing (sekvenace na podkladě jednonukleotidového polymorfismu). U této metody je DNA extrahována z mateřské plazmy (obsahuje mateřskou cfDNA a cffDNA) a z mateřských leukocytů (pouze mateřská celulární DNA). Následně dochází k cílené amplifikaci ~ 20 000 SNPs chromozomů 21, 18, 13, X a Y. Poté je měřena variabilita na každém SNP lokusu. Fetální genotyp je odvozen na základě porovnání výsledku sekvenace mateřských leukocytů a plazmy. SNP sekvenace je



### Využití NIPT pro detekci trizomie 21, 18 a 13

Základní princip NIPT u trizomie 21 je založen na detekci zvýšeného počtu DNA fragmentů 21 chromozomu v mateřské plazmě. Plod s trizomií 21 uvolňuje do mateřské cirkulace – v důsledku přítomnosti třetí kopie 21 chromozomu – více DNA fragmentů 21 chromozomu v porovnání s ostatními chromozomy.

DNA sekvenace cfDNA mateřské plazmy, obsahující směs mateřské a fetální DNA, umožňuje podrobný odhad dávky

Metoda umožní rychlou sekvenaci malých oddílů „reads“, náhodně vybraných DNA fragmentů na úrovni jednotlivých nukleotidů. Pouze část každého DNA fragmentu je sekvenována. Většinou se jedná o fragment o 36 párech bází. I tato malá část však postačí, aby byl fragment DNA mapován a umístěn na odpovídající chromozom původu.<sup>12</sup> I když uvedená metoda pracuje se směsí DNA fragmentů a nerozlišuje mezi fragmenty mateřskými a fetálními, byly v roce 2008 publikovány práce demonstrující identifikaci fetální trizomie.<sup>13,14</sup>



schopna rozlišit mezi mateřským a fetálním zdrojem DNA a může rovněž obsahovat paternální zdroj genetické informace.<sup>15</sup>

### Fetální frakce

Důležitým faktorem ovlivňujícím provedení NIPT je údaj o fetální frakci. Fetální frakce udává podíl cfDNA v celkové cfDNA mateřské plazmy.<sup>16</sup> Pokud je podíl fetální frakce nízký, je detekce aneuploidie plodu obtížnější. Je celá řada biologických faktorů, které mají na podíl frakce vliv. Například zvýšená hmotnost těhotné ženy významně negativně souvisí s fetální frakcí. Až 7 % těhotných žen s hmotností nad 100 kg má fetální frakci < 4 %. Řada laboratoří udává podíl fetální frakce kolem 4 % jako hraniční pro analýzu. Vedle hmotnosti matky ovlivňuje hodnotu frakce gestační stáří a typ chromozomální aberace.

### Senzitivita a specifita NIPT

Efektivita NIPT v rámci screeningu fetálních aneuploidií je vysoká a dosahuje lepších výsledků než standardní rutinně používané vyhledávací testy. Metaanalýza prací publikovaná v roce 2016 prokázala senzitivitu NIPT pro detekci trizomie 21; 99,3 %, trizomie 18; 97,4 % a trizomie 13; 97,4 %.<sup>17</sup> V témže roce vydává Americká společnost lékařské genetiky a genomiky stanovisko, že lze na základě recentních dat informovat těhotné ženy o možnosti využití NIPT jako nejefektivnějším screeningovém testu pro trizomii 21, 18 a 13.<sup>18</sup> Pro klinickou praxi je rovněž důležitý údaj o specifitě screeningového testu. Test s vysokou specifitou znamená málo falešně pozitivních výsledků, tento parametr vyhledávacího testu je žádoucí, jelikož klesá skupina žen indikovaných k invazivní intervenci pro pozitivitu (falešnou) testu. Specifita pro trizomii 21 je vysoká, 99,9 %. Celková kumulativní falešná pozitivita testu pro

aneuploidie 21, 18, 13 a aberace gonozomů je 0,72 %. Tedy přibližně 1 : 140. Tato relativně suboptimální hodnota jde na vrub X chromozomu a je způsobena nepoznaným mateřským mozaicismem a většinou podmíněnými ztrátami.<sup>19</sup> Pozitivní prediktivní hodnota (PPH) je parametr charakterizující vyhledávací test. Udává pravděpodobnost onemocnění v případě, že je výsledek screeningového testu pozitivní. To znamená v případě NIPT, že výsledek vyšel v pásmu zvýšeného rizika. Senzitivita a specifita jsou charakteristiky testu vlastní, negativní a pozitivní prediktivní hodnota záleží na charakteru složení populace a frekvenci výskytu nemoci, kde je test prováděn. PPH bude nižší v nízkorizikové populaci žen a naopak. PPH je nižší pro chromozomy 13, 18 a pohlavní chromozomy v porovnání s chromozomem 21.

Iniciální studie a využití NIPT byly původně prováděny na vysoce rizikových populacích. Zde dosahovala PPH pro trizomii 21 80–90 %. Recentní data demonstují, že PPH NIPT předčí výsledky kombinovaného screeningu I. trimestru v neselektované populaci. V kohortě těhotných s průměrným věkem 30 let (riziko trizomie 1 : 700) je PPH NIPT pro trizomii 21 45,5 a pro trizomii 18 40 %. Z uvedeného je zřejmé, že pozitivní výsledek NIPT je nutno potvrdit diagnostickou metodou, zvláště pak, je-li ve hře varianta ukončení těhotenství. V případě, že pár obdrží informaci, že je výsledek NIPT testu negativní a riziko aneuploidie je nízké, je pravděpodobnost přítomnosti fetální aneuploidie velice nízká. I když je tato informace velice uklidňující, test 100% nevyloučil přítomnost fetální aneuploidie. Pravděpodobnost falešně negativního testu pro trizomii 21 v rizikové populaci (1 : 100) je udávána v poměru 1 : 10 000. Abychom znali skutečnou falešnou negativitu testu, potřebujeme mít k dispozici rozsáhlé studie na neselektované populaci s větším počtem falešně negativních nálezů.

### Selhání metody

Neschopnost předat páru výsledek NIPT testu je spojen s nízkou fetální frakcí, selháním laboratorní metody nebo administrativní chybou. V anglosaské odborné literatuře jsou tyto stavy označeny termínem „no call results“. Jednou z nejčastějších příčin nedostupnosti výsledků NIPT testu je nízká fetální frakce vyšetřovaného vzorku. Podmínkou pro získání výsledku je minimální přítomnost fetální frakce 2–4 %.<sup>20</sup> Fetální frakce je ovlivněna řadou biologických faktorů, jako je například váha matky, četnost těhotenství, gestační stáří. Typ NIPT testu má rovněž vliv na frekvenci jeho selhání. Nejvyšší pravděpodobnost selhání je uváděna u sekvenace na podkladě jednonukleotidového polymorfismu (6,4 %). Naopak nejnižší pravděpodobnost selhání je udávána u masivní paralelní sekvenace (1,6 %).<sup>21</sup> Určité typy fetálních aneuploidií, mezi které patří například trizomie 13 a triploidie, bývají rovněž často spojeny se sníženou fetální frakcí a selháním metody. Proto je nutné počítat s možností přítomnosti fetální aneuploidie v případě, kdy není dostupný výsledek z důvodu nízké fetální frakce, a přizpůsobit tomu genetickou konzultaci. Zvýšená mateřská hmotnost rovněž snižuje fetální frakci a je nutno tímto směrem obězít těhotné informovat.

V roce 2016 publikovaná metaanalýza udává selhání testu mezi 0–12,7 %. V souboru 5 789 žen, které měly iniciální selhání testu a u nichž proběhl druhý odběr, jich 13,9 % mělo opět selhání metody.

Management v případě selhání metody by měl být veden v souladu s možnými příčinami, které k selhání mohou vést. Na prvním místě je třeba uvažovat o možnosti selhání v důsledku možné přítomnosti fetální aneuploidie. Možnosti, které máme k dispozici, jsou následující: a) kombinovaný screening I. trimestru, pokud se těhotná nachází ve vhodném období I. trimestru; b) podrobné



sonografické vyšetření se zaměřením na ultrazvukové markery chromozomální aberace; c) diagnostickou invazivní intervenci. Opakovat NIPT může být úspěšné až v 50 % případů, nicméně může nastat časová prodleva v případě opakovaného selhání metody. Těhotná se může dostat do vyšších gestačních týdnů, což v případě průkazu přítomnosti fetální aneuploidie a případného ukončení gravidity ve vyšším gestačním týdnu není žádoucí. Americká společnost lékařské genetiky a genomiky nedoporučuje NIPT v případě selhání opakovat.<sup>13</sup>

## Klinická implementace

Existuje několik návrhů klinické implementace NIPT. V současné době se diskutuje kontingenční model provedení NIPT. Pacientkám, které podstoupily kombinovaný test v I. trimestru s výsledkem vysokého individuálního rizika, je nabídnuta invazivní diagnostická intervence. Ženám s intermediálním individuálním rizikem je nabídnut NIPT.<sup>22</sup> Ve Velké Británii proběhly studie sledující efektivitu kontingenčního provedení NIPT u pacientek s kombinovaným testem I. trimestru nebo II. trimestru, u nichž bylo individuální riziko vyšší než

1 : 1000. Výsledky demonstrovaly zvýšenou detekci plodů s trizomií 21, nižší incidenci invazivních diagnostických intervencí a pokles těhotenských ztrát v důsledku komplikace v návaznosti na amniocentézu či biopsii choria, bez rozdílu finančních nákladů mezi skupinami.<sup>23,24</sup> Na základě uvedených studií subjekt ve Velké Británii mající na starosti

screeningové programy doporučil NIPT u všech těhotných s individuálním rizikem vyšším než 1 : 150. Obdobný trend lze zaznamenat i v ostatních zemích Evropy (Nizozemsko) a Ameriky (Kanada). Americká společnost lékařské genetiky a genomiky navrhuje doporučení NIPT ženám s rizikem fetální aneuploidie.<sup>13</sup>

Další z možností, jak aplikovat NIPT, je jeho univerzální využití v kombinaci se sonografickým vyšetřením konce I. trimestru. Tato varianta je spojena s nejvyšší detekcí, ale i nejvyššími ekonomickými náklady.<sup>25</sup>

## Případy nevhodné k NIPT

NIPT představuje výborný screeningový test pro nejčastější aberace autozomů a gonozomů, ale není schopen podat tak detailní popis stavu jako invazivní diagnostika. Před NIPT by mělo být provedeno sonografické vyšetření mezi 11–14. gestačním týdnem. Až v 16 % případů rizikových pacientek lze detekovat nález popisující odlišnou dataci, vícečetnou

### Před podstoupením NIPT je zapotřebí

- Poskytnout rodičům informaci o možnostech a dostupnosti vyhledávacích (screeningových) testů, test není povinný.
- Vysvětlit rozdíl mezi testem screeningovým a diagnostickým.
- Vysvětlit klinické znaky, důsledky a perspektivy onemocnění, které vyhledáváme.
- Jak a kdy test provést: odběr mateřské krve po 10. týdnu gestace.
- Přibližně vysvětlit technologii testu.
- Vysvětlit, v jakém formátu jsou předány výsledky: vysoké riziko; nízké riziko; výsledek nestanoven (no call).
- Vysvětlit výsledek testu: míra detekce; falešná pozitivita, falešná negativita; negativní prediktivní hodnota; pozitivní prediktivní hodnota.
- Nastínit možné kroky pro případ, že výsledek testu bude pozitivní → potvrzení výsledku testu pomocí amniocentézy nebo biopsie choria.
- Vysvětlit limitace testu v případě podezření na jiné chromozomální aberace vyžadující invazivní diagnostickou intervenci s následným testováním.

▲ Tab. 1: Body, které by měly být konzultovány společně s rodiči před absolvováním NIPT



graviditu, zamlklé těhotenství nebo přítomnost strukturální vady.<sup>26</sup> Pokud je NIPT proveden u pacientky se zvýšeným rizikem méně běžné chromozomální aberace (jiná než trizomie 21, 18, 13 a X nebo Y), je nutné pacientku informovat o potenciální možnosti nedetekovat klinicky významnou chromozomální aberaci, kterou bychom bez obtíží detekovali pomocí klasické invazivní diagnostiky. Dalšími skupinami, kdy není NIPT vhodný, je sonografický nález strukturální vady, hodnoty abnormálního šířového projasnění > 3,5 mm nebo extrémně abnormální nález sérových analytů mateřského séra v I. trimestru (byl-li proveden).<sup>27</sup> Není vhodné indikovat NIPT u pacientek s vysokým individuálním rizikem na základě výsledku kombinovaného testu I. trimestru. V případě vysokého rizika je indikovaná invazivní diagnostika. Trizomie 21, 13 a 18 představují zhruba 71 % všech chromozomálních aberací.<sup>28</sup> Pokud bychom u pacientek s rizikem vyšším než 1 : 50 nebo závažným morfologickým ultrazvukovým nálezem volili NIPT, nepodaří se detekovat 1 případ závažné aneuploidie z 302.<sup>29</sup> Pokud konzultujeme pár, který vyžaduje maximum informací týkajících se těhotenství, je vhodnější indikovat rovnou diagnostický test stanovující karyotyp.

### **NIPT a aberace gonozomů**

Prevalence monozomie X (Turnerův syndrom) je udávána mezi 1–1,5 %.<sup>30</sup> Je doprovázena vysokým rizikem těhotenské ztráty. NIPT u monozomie X byl zaveden v roce 2012 a řada výrobců v současné době test nabízí. Řada aberací gonozomů však zcela nespĺňuje klasická kritéria pro celoplošný screening. Z tohoto důvodu se kolem NIPT u aberací gonozomů objevují četné, hlavně etické diskuse. Dalším potenciálním zdrojem diskusí je přesnost NIPT u aberací gonozomů, která není tak vysoká jako u trizomie 21, 18 a 13. Příčinou je vyšší potenciál pro maternální biologickou variabilitu X chromozomu.

Míra detekce (detection rate) Turnerova syndromu pomocí NIPT se pohybuje kolem 90,3 % při falešné pozitivitě 0,23 %.

### **Subchromozomální abnormality**

Jsou zodpovědné za celou řadu dobře definovaných genetických syndromů, jako je například 22q11.2 deleční syndrom (Di George sy.), Cri du chat, Prader-Willi sy., Angelman sy. a jiné. Jejich příčina tkví v duplikaci nebo deleci DNA v rámci chromozomu. Řada těchto subchromozomálních abnormalit je příliš malá, aby byla detekována v rámci klasického vyšetření karyotypu, a tak jsou detekovány molekulárně cytogenetickými metodami (microarray). U 1,7 % sonograficky nepodezřelých plodů s normálním výsledkem klasického cytogenetického vyšetření je pomocí microarray detekována klinicky významná abnormalita na subchromozomální úrovni.<sup>31</sup> Od roku 2013 řada výrobců nabízí NIPT platformu pro screening subchromozomálních abnormalit. Vzhledem k jejich nízké prevalenci (klinicky významné) je pozitivní prediktivní hodnota NIPT screeningu podstatně nižší než u ostatních aberací. Vysoká negativní prediktivní hodnota reflektuje spíše vzácnost jejich výskytu než efektivitu testu samotného.<sup>32</sup>

### **Neshoda výsledku screeningového a diagnostického testu**

Karyotyp materiálu získaného amniocentézou odráží skutečný karyotyp plodu, jelikož je stanoven ze skutečně fetálních buněk. V případě NIPT však mohou nastat stavy falešné positivity, jelikož je analyzován materiál DNA mateřského a fetoplacentárního původu. Můžeme tak detekovat odchylku, která má mateřský či placentární původ, nevyskytuje se však u plodu. Příčinami této biologické falešné positivity jsou například syndrom

mizejícího dvojčete, placentární mozaicismus, mateřská mikrodelece nebo neoplazie matky.<sup>33</sup>

Zavedení NIPT zásadně změnilo koncepci screeningu vrozených vývojových vad. Jeho dostupnost klade větší nároky na konzultující lékaře a vyžaduje dokonalé pochopení principu, výhod a limitací tohoto testu, včetně jeho umístění do stávajících a etablovaných vyhledávacích testů. Body vhodné k diskusi s rodiči před podstoupením NIPT jsou uvedeny v tabulce 1.



### **Závěr**

Screening nejčastějších typů autozomálních aneuploidií (trizomie 21, 18 a 13) na podkladě cfDNA v mateřské cirkulaci patří v současné době k nejlepšímu vyhledávacímu testu s mimořádnou senzitivitou a specifitou. Implementace tohoto testu do klinické praxe představuje pro zdravotníky výzvu. Důvodů je několik, technologie je zcela nová a rychle se dále vyvíjí, stále se učíme správně porozumět biologii cfDNA v mateřské plazmě a nelze opomenout ani ekonomické hledisko. Co se týče trizomie 21, 18 a 13, jedná se o screeningový test pro nízko i vysoko rizikovou populaci těhotných, který však kvůli existenci vzácné falešné positivity nedosahuje přesnosti diagnostického testu. Přesah NIPT k ostatním chromozomálním odchylkám a mikrodelečním syndromům nás nutí revidovat naše dosavadní zažitá pohledy na prenatalní screening.



### doc. MUDr. Ladislav Krofta, CSc., MBA

Ústav pro péči o matku a dítě, Podolské nábřeží 157, Praha 4 – Podolí

Kontakt: ladislav.krofta@post.cz

Pracuje jako zástupce ředitele ÚPMD, je odborným asistentem na 3. LF UK v Praze a člen katedry gynekologie a porodnictví Institutu postgraduálního vzdělávání. Vystudoval 1. LF UK v Praze s atestací z gynekologie a porodnictví, urogynekologie a fetomaternální medicíny. Mimo to působí v řadě českých a zahraničních odborných organizací.

### LITERATURA

1. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997; 350: 485–487.
2. Hagliac M, Vora NL, Basu S et al. Increased death of adipose cells, a path to release cell-free DNA in to systemic circulation of obese women. *Obesity (Silver Spring)* 2012; 202213–2219.
3. Alberry M, Maddocks D, Jones M et al. Free fetal DNA in maternal plasma in anembryonic pregnancies: confirmation that the origin is the trophoblast. *Prenat Diagn* 2007; 27: 415–418.
4. Wang E, Batey A, Struble C et al. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *Prenat Diagn* 2013; 33: 662–666.
5. Hui L, Vaughan JI, Nelson M. Effect of labor on postpartum clearance of cell-free fetal DNA from the maternal circulation. *Prenat Diagn* 2008; 28: 304–308.
6. Hill M, Twiss P, Verhoef T et al. Non-invasive prenatal diagnosis for cystic fibrosis: detection of paternal mutations, exploration of patient preferences and cost analysis. *Prenat Diagn* 2015; 35: 950–958.
7. Nicolaidis KH, Azar G, Byrne D, Mansur C, Marks K. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *BMJ* 1992; 304: 867–869.
8. Braithwaite J, Morris R, Economides D. Nuchal translucency measurements: frequency distribution and changes with gestation in a general population. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; 102: 957–962.
9. Pajkrt E, de Graaf I, Mol B et al. Weekly nuchal translucency measurements in normal fetuses. *Obstet Gynecol* 1998; 91: 208–211.
10. Kagan KO, Wright D, Baker A et al. Screening for trisomy 21 by maternal age, fetal nuchal translucency thickness, free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; 31: 618–624.
11. Kagan KO, Wright D, Valencia C et al. Screening for trisomy 21, 18 and 13 by maternal age, fetal nuchal translucency, fetal heart rate, free  $\beta$ -hCG and pregnancy-associated plasma protein-A. *Human Reproduction* 2008; 23: 1968–1975.
12. Lo YM. Non-invasive prenatal testing using massively parallel sequencing of maternal plasma DNA: from molecular karyotyping to fetal whole-genome sequencing. *Reprod Bio-med Online* 2013; 27: 593–598.
13. Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U et al. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 16266–16271.
14. Chiu RW, Chan KC, Gao Y et al. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 20458–20463.
15. Zimmerman B, Hill M, Gemelos G et al. Noninvasive prenatal aneuploidy testing of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y, using targeted sequencing of polymorphic loci. *Prenat Diagn* 2012; 32: 1233–41.
16. Canick JA, Palomaki GE, Kloza et al. The impact of maternal plasma DNA fetal fraction on next generation sequencing tests for common fetal aneuploidies. *Prenat Diagn* 2013; 33: 667–74.
17. Taylor-Phillips S, Freeman K, Geppert J et al. Accuracy of non-invasive prenatal testing using cell-free DNA for detection of Down, Edwards and Patau syndromes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* 2016; 6: e010002.
18. Gregg AR, Skotko BG, Benkendorf JL et al. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med* 2016; 18: 1056–1065.
19. Gil MM, Quezada MS, Revello R et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45: 249–266.
20. Fiorentino F, Bono S, Pizzuti F et al. The importance of determining the limit of detection of non-invasive prenatal testing methods. *Prenat Diagn* 2016; 36: 304–311.
21. Yaron Y. The implications of non-invasive prenatal testing failures: a review of an under-discussed phenomenon. *Prenat Diagn* 2016; 36: 391–396.
22. Gil MM, Revello R, Poon LC et al. Clinical implementation of routine screening for fetal trisomies in the UK NHS: cell-free DNA test contingent on results from first-trimester combined test. *Ultrasound Obstet Gynecol*; 47: 45–52.
23. Chitty LS, Wright D, Hill M et al. Uptake, outcomes, and costs of implementing non-invasive prenatal testing for Down's syndrome into NHS maternity care: prospective cohort study in eight diverse maternity units. *BMJ*; 354: i3426.
24. Chitty LS, Cameron L, Daley R et al. RAPID Non-invasive prenatal testing (NIPT) evaluation study. *Executive Summary*. 2015.
25. Nicolaidis KH, Syngelaki A, Ashoor G et al. Noninvasive prenatal testing for fetal trisomies in a routinely screened first-trimester population. *Am J Obstet Gynecol* 2012; 207: 374.e1–6.
26. Vora NL, Robinson S, Hardisty SS et al. The utility of a prerequisite ultrasound at 10-14 weeks in cell free DNA fetal aneuploidy screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 47: 465–469.
27. Petersen OB, Vogel I, Ekelund C et al. Potential diagnostic consequences of applying non-invasive prenatal testing: population-based study from a country with existing first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014; 43: 265–71.
28. Wellesley D, Dolk H, Boyd PA et al. Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe. *Eur J Hum Genet* 2012; 20: 521–526.
29. Maxwell S, Dickinson JE, Murch et al. The potential impact of NIPT as a second-tier screen on the outcomes of high-risk pregnancies with rare chromosomal abnormalities. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2015; 55: 420–426.
30. Hook EB, Warburton D. Turner syndrome revisited: review of new data supports the hypothesis that all viable 45, X cases are cryptic mosaics with a rescue cell line, implying an origin by mitotic loss. *Hum Genet* 2014; 133: 417–424.
31. Wapner RJ, Martin CL, Levy B et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med* 2012; 367: 2175–2184.
32. Hui L. Cell-free DNA testing for 22q11.2 deletion syndrome: appraising the viability, effectiveness and appropriateness of screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 47: 137–141.
33. Hartwig TS, Ambye L, Sorensen S et al. Discordant non-invasive prenatal testing (NIPT)-a systematic review. *Prenat Diagn* 2017; 37: 527–539.





Od roku 2012, kdy se poprvé na trhu objevily neinvazivní prenatalní testy, se toho příliš v technologii a principech nezměnilo. Vyšetření postižení plodu nejčastějšími a nejzávažnějšími chromozomálními vadami (Downův syndrom, Edwardsův syndrom, Patauův syndrom) je založeno na odběru krve těhotné ženy, ze které se izoluje volná mimobuněčná DNA plodu. Provedení neinvazivního testu se s výhodou může využít především tam, kde kvůli abnormálnímu výsledku biochemického screeningu z krve ženy nebo vyššímu věku matky, případně rizikové rodinné anamnéze u nejbližších příbuzných či nálezům v předchozím těhotenství, je zvýšené riziko Downova, Edwardsova či Patauova syndromu.

## Harmony® Prenatal Test – neinvazivní prenatalní test

Ing. JAROSLAV VOHÁNKA, Ph.D., MBA  
Roche s.r.o., Diagnostics Division

Testy Harmony® (správně Harmony® Prenatal Test) jsou zasílány do certifikované CLIA laboratoře v San José (Kalifornie) nebo do certifikovaných laboratoří v Evropě, kde jsou nejpozději do jednoho pracovního týdne zpracovány. Výsledky jsou po provedení validního testu zasílány zpět lékaři prostřednictvím e-mailu.

Za úspěšností testu Harmony® stojí velká zaslepená studie NEXT, která zahrnovala 23 tisíc těhotných žen ve věku od 18 do 48 let.<sup>1,2,3,4,5</sup> V současné době se pomocí Harmony® vyšetřuje ve více než 100 zemích celého světa a počet provedených a reportovaných testů přesáhl 1,4 milionu.

Velmi důležitým parametrem pro správné posouzení výsledku je měření obsahu fetální frakce, která je v testu sledována. Test Harmony® má extrémně nízkou falešnou pozitivitu (< 0,1%) a vysokou pozitivní prediktivní hodnotu pro trizomii 21. Ve studii NEXT s Harmony® činila pozitivní prediktivní hodnota 81% v porovnání s 3,4% pro kombinovaný screeningový test v prvním trimestru. Vyšší přesnost

**harmony®**

a nižší falešná pozitivita krevního testu Harmony® současně minimalizují obavy žen z invazivního vyšetření.

### Cílený přístup k sekvenování

Testy Harmony® jsou založeny na unikátní kombinaci chromozomální

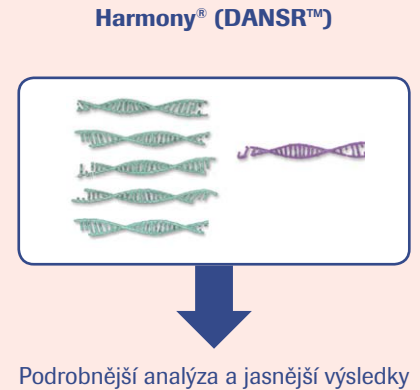
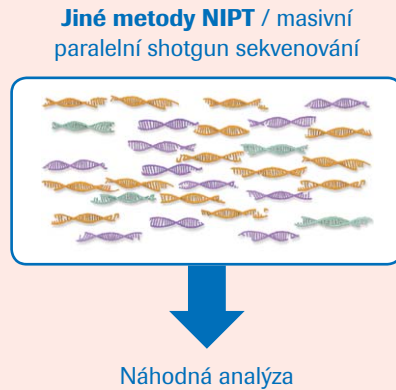
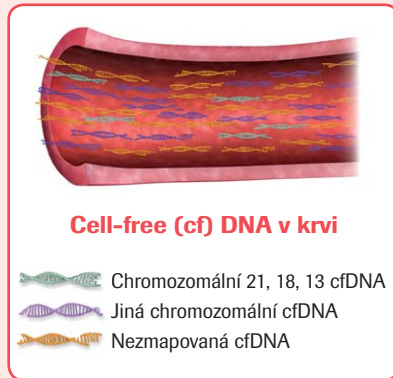
<b>Harmony® Test – základní vyšetření</b>	Trizomie 21 (Downův syndrom) Trizomie 18 (Edwardsův syndrom) Trizomie 13 (Patauův syndrom)
<b>Doplňkové testy</b>	Určení pohlaví plodu Monozomie X* Aneuploidie chromozomu X a Y* 22q11.2 delece* <i>*Jednočetná těhotenství</i>
<b>Validované pro širokou populaci</b> (u žen od ukončeného 10. týdne těhotenství)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Jednočetná i vícečetná těhotenství</li> <li>Těhotenství, která vznikla přirozeným početím nebo při umělém oplodnění vlastních oocytů</li> <li>Vysoce riziková a méně riziková těhotenství</li> <li>Věk matky nižší i vyšší 35 let</li> </ul>
<b>Klinické využití ve screeningu u běžné populace</b>	Harmony® je nejrozšířenější test založený na principu cell-free DNA, což dokládá více než 148 000 těhotenství popsaných ve 48 recenzovaných publikacích <sup>6</sup>



## KLINICKÁ HODNOTA DIAGNOSTIKY

### Cílený přístup k sekvenování

Chromozomy 13, 18 a 21 dohromady tvoří méně než 10 % genomu. Cílené sekvenování pouze vybraných regionů umožňuje podrobnější analýzu a díky tomu přesnější a spolehlivější výsledky.<sup>7,9-11</sup>



Seznam zkratk: NIPT (Non-invasive Prenatal Testing) – neinvazivní prenatální testy; SNP (Single Nucleotide Polymorphism), technologie založená na principu rozlišení nukleových kyselin dle jednotlivých nukleotidových polymorfizmů, nikoliv celých genomů; MPSS (Massive Parallel Shotgun Sekvenování) – masivní paralelní shotgun sekvenování.

kvantifikace a SNP technologie, která se nazývá DANSR™ (**D**igital **A**nalysis of **S**electe**d** **R**egions), a na početním algoritmu FORTE™ (**F**etal **F**raction **O**ptimized **R**isk of **T**risomy). DANSR cílí na oblasti, které jsou na chromozomech specifické a umožňují tak daleko hlubší analýzu chromozomu oproti běžnému a náhodnému masivnímu paralelnímu

shotgun sekvenování MPSS nebo SNP sekvenování, jež se často používají u jiných konkurenčních NIPT testů. Navíc DANSR™ a celý design testu byly přizpůsobeny měření fetální frakce cell-free DNA ve vzorku reprezentujícím procento DNA, které přechází z plodu do oběhu matky. Technologicky je poté analýza provedena pomocí DNA microarrays.

### Přesné stanovení fetální frakce

FORTE™ algoritmus umožňuje přesně odlišit mezi vysoce a nízké rizikovými výsledky dokonce i při malé fetální frakci.<sup>8,9</sup>

- započítává maternální rizikové faktory a přesné měření fetální frakce DNA,
- započítává individuální skóre každého pacienta.



#### Ing. Jaroslav Vohánka, Ph.D., MBA

Roche s.r.o., Diagnostics Division

Kontakt: jaroslav.vohanka@roche.com

Ve společnosti Roche pracuje od roku 2007. Do konce roku 2018 vedl molekulární, tkáňovou a sekvenační skupinu.

Od ledna 2019 řídí novou divizi Roche DIS (Diagnostics Information Solutions) s cílem zavést nejnovější řešení pro

onkologické multioborové týmy a pomoci jim v klinickém rozhodování. Volný čas tráví především s rodinou, na zahradě, na rybách nebo na výletech.

### LITERATURA

- 1 Stokowski et al (2015), *Prenat Diagn*, doi: 10.1002/pd.4686.
- 2 Norton et al (2015), *N Engl J Med*. Apr 23; 372(17): 1589-97.
- 3 Nicolaidis et al (2012), *Am J Obstet Gynecol*. 207: 374.e1-6.
- 4 Gil et al (2013), *ULTRASOUND Obstet Gynecol*. Jul; 42(1): 34-40.

- 5 Verweij et al (2013), *Prenat. Diagn. Jun*; 33(6): 1-6.
- 6 Demonstrated by 48 peer-reviewed published studies using the Harmony prenatal test as of Jan 2018. For the entire 48 references, please go to [harmonytest.com/references](http://harmonytest.com/references)
- 7 Sparks et al (2012), *Prenat Diagn. Jan*; 32(1): 3-9.

- 8 Sparks et al (2012), *Am J Obstet Gynecol. Apr*; 206(4): 319.e1-9.
- 9 Juneau et al (2014), *Fetal Diagn Ther.*; 36(4): 282-6.
- 10 Rava et al (2014), *Clin Chem. Jan*; 60(1): 243-50.
- 11 Jensen et al (2013), *PLoS One.*;8 (3): e57381.



V perioperačním období je u každého pacienta léčeného antikoagulancii potřeba vyhodnotit poměr mezi rizikem krvácení a rizikem tromboembolické příhody vyplývajícím ze samotného chirurgického výkonu. Výsledky z velkých randomizovaných studií, které se zabývaly optimálním perioperačním režimem, jsou omezené. Aktuální doporučení pro perioperační postup vycházejí z očekávaného rizika krvácení. U elektivních výkonů spojených s vysokým rizikem krvácení lze zvážit ukončení perorální antikoagulační léčby bez přemostění, při nízkém riziku krvácení se po vysazení perorálního antikoagulačního léčiva zahájí přemostující terapie nefrakcionovaným nebo nízkomolekulárním heparinem. Doba vysazení warfarinu nutná před chirurgickým výkonem vychází z jeho delšího poločasu. K poklesu INR pod 2,0 jsou zpravidla zapotřebí 2–3 dny, k normalizaci INR je potřeba 5 dní.

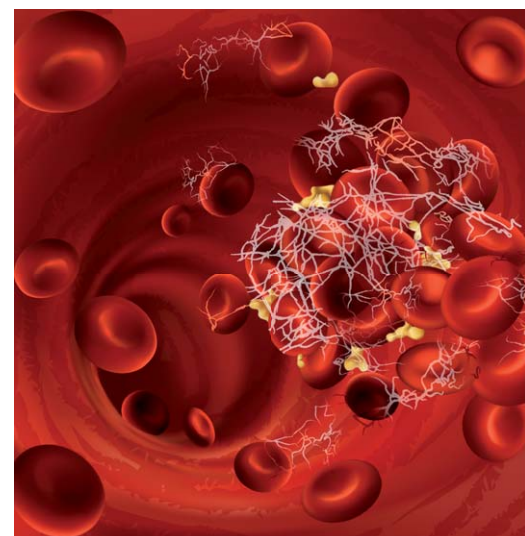
## Perioperační péče o pacienty s antikoagulační terapií warfarinem

doc. MUDr. TOMÁŠ KVASNIČKA, CSc.

Trombotické centrum, ÚLBDL, 1. LF UK a VFN, Praha

### Úvod

Tento přehledový článek shrnuje aktuální doporučení týkající se perioperační úpravy antikoagulační terapie při elektivních chirurgických výkonech. Vychází hlavně z posledních doporučení společnosti American College of Chest Physicians (ACCP) a dalších odborných společností zaměřených na kardiovaskulární systém, krvácivé a trombotické komplikace. V naší klinické praxi využíváme doporučení České společnosti pro trombózu a hemostázu (ČSTH). Významnou součástí každého předoperačního vyšetření je zhodnocení poměru aktuálního rizika krvácení a rizika tromboembolické příhody, spojených s různými výkony. Toto hodnocení provádíme u každého pacienta s antikoagulační léčbou standardně dva až tři týdny před elektivním intervenčním nebo chirurgickým výkonem. Přerušování antikoagulační léčby zvyšuje u pacienta připraveného k invazivnímu výkonu riziko tromboembolických příhod. Opačně zase současné podávání antikoagulační léčby zvyšuje riziko perioperačního krvácení. Riziko krvácení je u každého pacienta individuální a je dáno součtem vrozených a získaných



rizikových faktorů. Anamnesticky významné je zhodnocení krvácivých příhod, podávané antikoagulační medikace a ostatních typů léků, které mají samy tendenci zesilovat krvácení nebo mohou zesilovat účinek, např. účinek perorálních antikoagulancií. Dále je nutné zhodnocení chorob, které mohou ovlivnit hemostázu (jaterní onemocnění, poruchy ledvin, kardiovaskulární a eventuálně hematologická onemocnění).<sup>1</sup>

### Riziko žilního tromboembolismu (TEN)

Pro perioperační postup je nutné posoudit rizikovost TEN při přerušování antikoagulační léčby, současně také stanovit riziko potenciálních krvácivých komplikací spojených s operačním/invazivním výkonem, posoudit dobu vysazení



antikoagulační léčby a ev. nutnost zavedení překlenovací léčby, nejčastěji s nízkomolekulárními hepariny (LMWH).

Riziko TEN zvyšuje samotný operační výkon, ale i další faktory typu fibrilace síní, zavedená mechanická chlopenní náhrada nebo recentní žilní nebo tepenná tromboza. Dle těchto faktorů můžeme pacienty rozdělit z hlediska rizikivosti TEN/rok na skupiny:

1/ s vysokým rizikem (> 10 %)

- endoprotézy, fraktury v oblasti kyčelní, velké chirurgické abdominální výkony, onkochirurgie;

2/ se středním rizikem (5–10 %)

- operace horních nebo dolních končetin, břišní, gynekologické a urologické výkony nad 30 minut, operace plic, hrudní stěny a mediastina, cévní chirurgie a operace varixů;

3/ s nízkým rizikem (< 5 %)

- břišní, gynekologické a urologické výkony pod 30 minut, odstranění kovových předmětů, operace v blízkosti kloubů bez imobilizace.

Kumulativní riziko TEN příhody u pacientů s nevalvulární fibrilací síní (FiS) lze s vysokou pravděpodobností odhadnout podle skórovacího rizika CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASC, viz tabulka 1.<sup>1,2</sup>

U pacientů s porematickým chlopenním onemocněním a FiS je vysoké riziko TEN.<sup>3</sup>

Rizikový faktor	Body
<b>C</b> Kongestivní srdeční selhání (EF < 40 %)	+1
<b>H</b> Hypertenze	+1
<b>A2</b> Věk ≥ 75 let	+2
<b>D</b> Diabetes mellitus	+1
<b>S2</b> iCMP/TIA/TE	+2
<b>V</b> Cévní onemocnění (IM/ICHs, ICHDK, aterosklerotické postižení karotid, aorty)	+1
<b>A</b> Věk 65–74 let	+1
<b>Sc</b> Pohlaví (ženy)	+1
<b>Souhrnné skóre</b>	<b>Rozmezí 0–9</b>

▲ Tab. 1: Skórovací riziko CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASC

Rizikový faktor		Body
<b>H</b> Hypertenze	Systolický TK nad 160 mmHg	1
<b>A</b> Abnormální jaterní/renální funkce	ALT/AST ≥ 3x nad normu Hemodialýza nebo kreatinin ≥ 200 μmol/l	1–2
<b>S</b> Cévní mozková příhoda	Předchozí CMP	1
<b>B</b> Krvácení	Krvácivé projevy	1
<b>L</b> Labilní INR	Kolísající hodnoty INR při warfarinizaci	1
<b>E</b> Věk	Věk ≥ 65 let	1
<b>D</b> Léky/Alkohol	Antiagregační léky, nesteroidní antiflogistika	1–2

▲ Tab. 2: HAS-BLED skóre (≥ 3 vyšší riziko závažných krvácivých komplikací)

Riziko recidivy TEN je nejvyšší po vysazení antikoagulační léčby během prvních 3 měsíců po trombotické příhodě a pohybuje se u nich nad 10 % ročně. Další skupinou nemocných se zvýšeným rizikem TEN jsou nemocní na antikoagulační léčbě pro prodělané manifestaci TEN (hluboká žilní tromboza a/nebo plicní embolizace) a s aktivní formou nádorového onemocnění. U nich je roční riziko recidivy TEN cca 15%.<sup>4</sup> Po prodělané

TEN je velmi vysoké riziko recidivy TEN v 1. měsíci a operační výkon v této době kontraindikovaný s výjimkou výkonů prováděných z vitální indikace. Proto se doporučuje plánovaný výkon odložit na dobu 3–6 měsíců (podle naléhavosti) od manifestace TEN. Specifickou skupinou jsou pacienti s TEN, u nichž byl zjištěn zhoubný nádor řešitelný operací (1–3 měsíce od vzniku TEN). U nich je indikováno zavedení dočasného





kaválního filtru a dále pokračování dle současných doporučení s LMWH. Další velmi rizikovou skupinu představují pacienti s významnými trombofilními stavy (deficit inhibitorů koagulace: protein C, protein S, antitrombinu, antifosfolipidový syndrom<sup>5</sup> nebo pacienti s významnými geneticky determinovanými trombofilními stavy – homozygotní mutace FV Leiden nebo FII protrombin nebo jejich kombinace v heterozygotních formách). U této skupiny pacientů se doporučuje konzultovat perioperační postup se specialisty na trombofilní stavy.

### **Posouzení rizika krvácení u chirurgického nebo invazivního výkonu**

Riziko krvácení souvisí především s typem chirurgického či invazivního výkonu. Zvyšují jej faktory související se samotným pacientem a přítomnost přidružených onemocnění (např. starší věk, renální insuficience) nebo užívání léků ovlivňujících hemostázu.<sup>6</sup> Výkony se zpravidla dělí na výkony s nízkým rizikem (0–2 %), např. kožní operace nebo bioptické výkony, implantace kardiostimulátoru, diagnostické srdeční katetrizace, prostá extrakce zubu, operace katarakty, laparoskopické a arthroscopické výkony, bronchoskopie nebo gastrointestinální endoskopie a další, nebo s vysokým rizikem krvácení (2–4 %), např. velké kardiochirurgické nebo neurochirurgické výkony, totální endoprotézy v oblasti dolních končetin, operace rozsáhlých tumorů a další. Riziko krvácení u konkrétního pacienta lze hodnotit pomocí rizikových skórovacích systémů pro krvácení, jako je např. HAS-BLED skóre, viz tabulka 2. Na základě zhodnocení rizika TEN a krvácení pak můžeme rozhodnout o ev. vysazení antikoagulační terapie. Antikoagulační léčbu lze vysadit při chirurgických výkonech s vysokým rizikem krvácení. U pacientů léčených warfarinem s vysokým rizikem TEN je doporučena překlenovací léčba



heparinem. U výkonu s nízkým rizikem krvácení je možno pokračovat v užívání antikoagulační léčby a u některých výkonů je dokonce pokračování v antikoagulační léčbě výhodné.<sup>7</sup>

### **Péče o pacienty s warfarinem v případě chirurgického/invazivního výkonu**

S antikoagulační terapií formou antagonistů vitamínu K (VKA) jsou zatím v klinické praxi stále největší zkušenosti. Aktuální doporučení pro perioperační postup se v této situaci řídí dle míry rizika krvácení. Během přemostující parenterální antikoagulační léčby je třeba před operací vyhodnotit riziko krvácení, provést klinické a laboratorní vyšetření hemokoagulace. Po provedené operaci se zjišťuje sklon ke krvácení před znovuzahájením podávání perorálních antikoagulancií (krevní obraz, koagulační testy – INR, aktivovaný parciální tromboplastinový čas – aPTT). Pro připomenutí přidávám data z SPC pro warfarin. Preoperační, perioperační a pooperační antikoagulační léčbu je možné provádět podle následujícího rozpisu: INR se stanovuje týden před plánovaným chirurgickým zákrokem. Léčba warfarinem se přerušuje jeden až

pět dnů před chirurgickým zákrokem. U pacientů se zjištěným vysokým rizikem TEN se jako profylaxe používá subkutánně aplikovaný LMWH. Délka přerušování léčby warfarinem závisí na hodnotě INR. Podávání warfarinu se přerušuje pět dnů před chirurgickým zákrokem, je-li INR > 4,0, tři dny před chirurgickým zákrokem, je-li hodnota INR = 3,0–4,0, dva dny před chirurgickým zákrokem, je-li INR = 2,0–3,0; INR se stanovuje večer před chirurgickým zákrokem a podává se 0,5 mg až 1 mg vitamínu K perorálně nebo intravenózně, je-li hodnota INR > 1,8. V den operace je třeba zvážit nutnost podání infuze nefrakcionovaného heparinu nebo profylakticky LMWH. Následujících pět až sedm dnů po chirurgickém zákroku se pokračuje v subkutánní aplikaci LMWH souběžně se znovuzavedením léčby warfarinem. V podávání warfarinu se pokračuje běžnou udržovací dávkou večer po menším chirurgickém zákroku a ode dne, kdy je pacientovi poprvé aplikována parenterální výživa, po velkém chirurgickém zákroku. Zcela odlišná je situace při urgentních výkonech, kdy na rozdíl od výkonů elektivních nelze perioperační postup předem naplánovat. Účinek perorálních antikoagulancií musí být co nejrychleji zrušen. Toho lze dosáhnout mj. nitrožilním podáním 10 mg vitamínu K1



(působí během 24 hodin) nebo koagulačních faktorů závislých na vitamínu K (protrombinový komplex – PPSB, který působí během několika minut). V případě život ohrožujícího krvácení vzniklého při perorální antikoagulační léčbě lze podat současně vitamin K1 i koncentrát PPSB.<sup>8</sup> Ponechání léčby warfarinem u pacientů s nízkým rizikem krvácení a hodnotou INR 2,5 +/- 0,5 je možné u jednoduchých stomatologických výkonů (extrakce zubů), operací katarakty, dermatologických intervencí (např. malá kožní excize), artrocentéz nebo endoskopických vyšetření gastrointestinálního traktu (pokud se neprovádí bioptický odběr vzorku). Pooperační nasazení warfarinizace musí být individualizováno. Pokud nedochází k abnormálním krevním ztrátám, podává se profylaktická dávka LMWH za 6–12 hodin po operaci, u pacientů s vysokým rizikem z hlediska TEN se pak podává terapeutická dávka LMWH za 48–72 hodin po operaci (pokud nejsou krevní ztráty) a současně je zahájeno podávání warfarinu v původní dávce (první den možno podat dávku

dvojnásobnou) a po dosažení terapeutického rozmezí INR je možno ukončit podávání LMWH.

Stanovení hladin INR lze z hlediska pacienta i ošetřujícího lékaře (nejčastěji v předoperační péči praktický lékař) provést pomocí POCT-INR. Přenosná zařízení pro stanovení hodnoty INR (jako např. koagulometr CoaguChek® Pro II) a jejich používání v ambulantním prostředí nabízí bezprostřední informaci o výsledku INR a okamžitou možnost úpravy dávkování (resp. předoperační načasování vysazení) warfarinu.

### Závěr

V článku je uveden přehled praktického postupu perioperační péče u pacientů léčených warfarinem. Je nutné znovu zopakovat, že v případě plánovaného/urgentního operačního výkonu je vždy potřeba u pacienta s perorální antikoagulační terapií individuálně vyhodnotit poměr mezi rizikem krvácení a rizikem



tromboembolické příhody a dle příslušného rizika pak volit další postup. U elektivních výkonů spojených s vysokým rizikem krvácení lze zvážit ukončení perorální antikoagulační léčby bez přemostění, při nízkém riziku krvácení se po vysazení perorálního antikoagulantia zahájí přemostující terapie s LMWH. K monitoraci hladin INR v perioperační péči je možné využívat i POCT-INR přístroje.

*Práce byla podpořena projektem RVO-VFN64165.*



### doc. MUDr. Tomáš Kvasnička, CSc.

Trombotické centrum, VFN, 1. LF UK,  
Karlovo nám. 32, Praha 2, www.vfn.cz  
Kontakt: Tomas.Kvasnicka@vfn.cz

Je vedoucím pracoviště Trombotického centra Všeobecné fakultní nemocnice, 1. lékařské fakulty, Univerzity Karlovy.

### LITERATURA

1. Olesen JB, Torp-Pedersen C, Hansen ML, Lip GY. The value of the CHA2DS2-VASc score for refining stroke risk stratification in patients with atrial fibrillation with a CHADS2 score 0–1: a nationwide cohort study. *Thromb Haemost.* 2012; 107: 1172–1179.
2. Kirchhof P, Benussi S, Kotecha D, Ahlsson A, Atar D, Casadei B, et al. 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. *Eur Heart J.* 2016; 37: 2893–2962.
3. Whitlock RP, Sun JC, Fremes SE, Rubens FD, Teoh KH. Antithrombotic and thrombolytic therapy for valvular disease: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest.* 2012; 141: e576S–600S.
4. Douketis JD, Spyropoulos AC, Spencer FA, Mayr M, Jaffer AK, Eckman MH, et al. Perioperative management of antithrombotic therapy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians. Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest.* 2012; 141: e326S–e350S.
5. Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, Gesele P, Barcellona D, Erba N, et al. Clinical course of high-risk patients diagnosed with antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost.* 2010; 8: 237–242.
6. Torn M, Rosendaal FR. Oral anticoagulation in surgical procedures: risks and recommendations. *Br J Haematol.* 2003; 123: 676–682.
7. Siegal DM, Crowther MA. Acute management of bleeding in patients on novel oral anticoagulants. *Eur Heart J.* 2013; 34: 489–500.
8. Keeling D, Baglin T, Tait C, Watson H, Perry D, Baglin C, et al. Guidelines on oral anticoagulation with warfarin – fourth edition. *Br J Haematol.* 2011; 154: 311–324.



Vyšetření infekčních markerů u dárců krve je klíčovým opatřením k omezení rizika přenosu infekce krevní transfuzí. Mezi další, neméně důležitá standardní opatření, patří bezpříspěvkové dárcovství krve a krevních složek a důsledný výběr jejich dárců. V České republice je povinné testování dárců na kreví přenosné infekce stanoveno vyhláškou č. 143/2008 Sb., dle které se povinně vyšetřuje sérologicky HBsAg, anti-HCV, anti-HIV1/2 + Ag p24 a syfilis. Negativita těchto markerů je nepřekročitelným kritériem pro propuštění transfuzních přípravků a léčivých látek. Správné a rychlé stanovení markerů infekčních onemocnění je proto nezbytné pro bezproblémový provoz zařízení transfuzní služby.

Analyzátor cobas e 601 jsme se rozhodli zařadit do našeho provozu po posouzení uživatelských kritérií. Našimi požadavky na nový analyzátor byla jeho dostatečná kapacita odpovídající počtu vyšetřovaných vzorků, rychlost analýzy a možnost předřazovat statické vzorky.

## Screening markerů infekčních onemocnění u dárců krve na analyzátoru cobas e 601

MUDr. RENATA PROCHÁZKOVÁ, Ph.D., RNDr. DAGMAR KUŤKOVÁ

Transfuzní oddělení, Krajská nemocnice Liberec, a.s.

### Popis systému

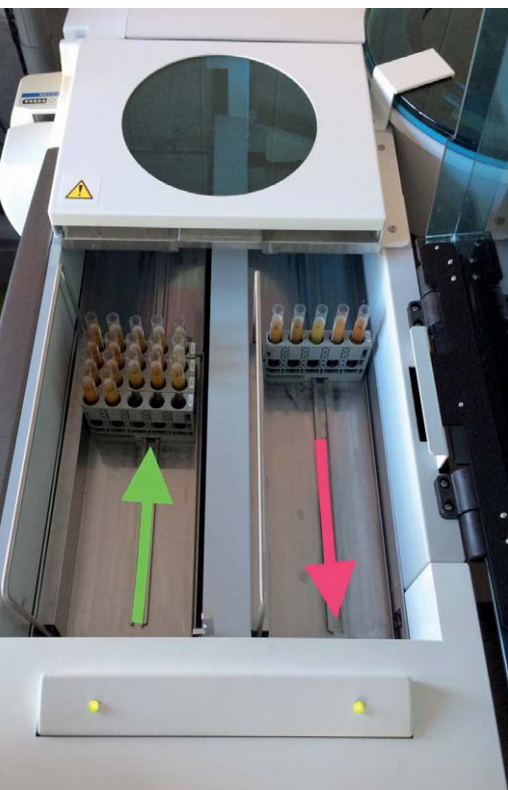
Analyzátor **cobas**<sup>®</sup> 6000 je modulární analytický systém, skládá se z tzv. ovládací konzole, Core jednotky – obslužného

modulu a modulu pro heterogenní analýzu (**cobas e 601**).

Příbalové letáky a návody lze přečíst a v případě potřeby vytisknout prostřednictvím tzv. e-library, která je instalována přímo do počítače **cobas link** u analyzátoru, takže při vlastní instalaci se pouze aktivují potřebné metody, kalibrátory, resp. kontroly. Jejich update, vkládání nových šarží kalibrátorů a kontrol se provádí elektronicky, stejně jako úprava hodnot při případné reassignaci (ta však neprobíhá automaticky, změnu hodnot kontrol je



▲ Obr. č. 1: **cobas**<sup>®</sup> 6000 v laboratoři TO Krajské nemocnice Liberec, a.s.



▲ Obr. č. 2: Vstup vzorků do analyzátoru (zelená šipka) a výstup (červená) přehledně z jednoho obslužného bodu. Kontinuální vkládání výrazně zrychluje vyšetření

nutné po reasignaci do analyzátoru zadat ručně). Tyto změny na aktuální databázi analyzátoru se provádějí po dvoustupňovém schválení – 1. na úrovni země, 2. na úrovni laboratoře. To znamená, že o každé změně se jak zastoupení firmy v dané zemi, tak odpovědný pracovník dané laboratoře nejen dozví, ale její aplikaci musí i schválit.

Core jednotka pracuje s 5pozičními stojánky. Na vstupu a výstupu se vkládá 1 nosič – každý maximálně pro 15 stojáneků (celkem tedy až 75 vzorků). Toto uspořádání umožňuje kontinuální vkládání vzorků a jejich odběr z paluby analyzátoru. Mimo to existuje statimový vstup pro vkládání urgentních vzorků.

Na vstupu je identifikační jednotka a za ní manipulační kruh pro 20 stojáneků. Určitý počet pozic lze vyčlenit pro statimy, resp. pro kontrolní vzorky. Díky tomu je zpracování statimových vzorků

skutečně urgentní a stálá dosažitelnost kontrolních vzorků umožňuje automatické zpracování QC. V naší laboratoři však možnost kontinuální přítomnosti kontrolních materiálů na palubě nevyužíváme, QC provádíme 1x denně před analýzami.

Modul má dvě měřicí cely s výkonem až 170 testů/hod. Pro jeden test je možno použít jen jednu nebo obě měřicí cely podle frekvence požadavků na příslušný test. Pro pipetování vzorků se používá špička na jedno použití, aby nedocházelo ke kontaminaci předchozím vzorkem. Špička je vybavena detekcí sraženiny, pěny a hladinovým senzorem. Analyzátor **cobas e 601** má dále tzv. předmycí stanici (PreWash), ve které se izolují paramagnetické částice, odstraní se reakční směs a částice se před měřením znovu resuspendují. Tím se odstraní případný matrix efekt.

Analyzátor **cobas e 601** využívá ke stanovení infekčních markerů kvalitativní analýzu založenou na principu elektrochemiluminiscence ECLIA s kvalitativním výstupem. Výsledky stanovuje automaticky software analyzátoru porovnáním elektrochemiluminiscenčního signálu získaného z produktu reakce vzorku a příslušných reagensů se signálem hodnoty cut-off získané kalibrací diagnostika. Kalibrátory jsou standardní součástí jednotlivých balení, kalibruje se každá nová šarže diagnostika. Stabilita kalibrace je průběžně ověřována v rámci QC – viz výše, v případě diskrepantních výsledků lze provést recalibraci. Výsledky jsou udávány slovně jako nereaktivní nebo reaktivní, případně hraniční (šedá zóna, u testů s vyznačenou šedou zónou v příbalovém letáku), a zároveň ve formě číselného výsledku, tzv. cut-off index (COI). Do LIS lze přenášet jak kvalitativní slovní hodnocení, tak číselný výsledek ve formě COI, přitom lze interpretaci výsledku regulovat nastavením v LIS (uživatel si může nastavit nebo zpřísnit šedou zónu).

### Vlastní zkušenosti

Analyzátor **cobas e 601** jsme instalovali na TO KNL, a.s., 2. 10. 2017. Před vlastní instalací bylo třeba provést drobné stavební úpravy, které umožnily instalaci úpravny vody a napojení přístroje na odvod odpadních vod. Byl zaškolen personál, provedeny vstupní verifikace metod HIV Ag/Ab, anti-HCV, HBs Ag a protilátek proti syfilis a validace obousměrného převodu dat mezi analyzátořem a LIS. Do plného provozu byl analyzátor uveden 13. 11. 2017 a nahradil původní ELISA technologii.

Pro vyšetření uvedených markerů jsou jako primární vzorek používány vzorky séra nebo plazmy dárců krve. Vyšetření anti-HIV protilátky a antigenu p24 trvá u jednoho vzorku 27 minut, vyšetření ostatních infekčních markerů trvá 18 minut. První vzorek je tedy zpracován v rozmezí 30 až 40 minut, výsledky následných vzorků jsou k dispozici ve dvouminutových intervalech. Možnost kontinuálního vkládání vzorků umožňuje výrazně zrychlit vyšetření denního odběru.

Díky vkládání diagnostik ve formě kazet připravených k použití odpadá nutnost jejich další úpravy. Analyzátor automaticky načítá šarže diagnostik vkládaných na palubu, tím bylo možno odstranit manuální zadávání šarží pracovníkem laboratoře. To společně se zavedením deionizované vody přímo do analyzátoru snížilo nutné kroky prováděné pracovníkem laboratoře při obsluze analyzátoru.

V praxi oceňujeme rychlost provedení analýz, denní průměrný objem 80 vzorků je vyšetřen cca za 3,5 hodiny. Kompletní výsledky vyšetření jsou tak známy již v den odběru, vzorky s iniciálně reaktivním výsledkem jsou vyšetřeny opakovaně v jeden den, což navíc umožňuje vyřadit odběr s reaktivním výsledkem z použití při výrobě směsného trombocytového transfuzního přípravku.





Porovnali jsme záchyt nespecifických reaktivit u souboru dárců krve vyšetřených na analyzátoru **cobas e 601** v období 1. 1. – 31. 12. 2018 a na předchozím analyzátoru v období 1. 1. – 31. 12. 2016 (tab. č. 1).

analyzátor	cobas e 601	předchozí analyzátor
období vyšetření	2. 1. – 31. 12. 2018	4. 1. – 31. 12. 2016
počet vzorků celkem	17 070	18 010
počet negativních výsledků	17 023 (99,72%)	17 981 (99,84%)
počet reaktivních výsledků	47 (0,28%)	29 (0,16%)

▲ Tab. č. 1: Porovnání počtu zachycených opakovaných reaktivit

Na předchozím analyzátoru bylo ve sledovaném období zachyceno 29 opakovaně reaktivních výsledků (7x HIV, 8x HBsAg, 9x HCV, 5x syfilis), všechny vzorky byly potvrzeny Národní referenční laboratoří jako negativní. Na analyzátoru **cobas** bylo ve sledovaném období zachyceno 47 opakovaně reaktivních výsledků (12x HIV, 5x HBsAg, 15x HCV, 15x syfilis), všechny vzorky byly potvrzeny Národní referenční laboratoří jako negativní. Vyšší počet falešně reaktivních vzorků zachycených na analyzátoru **cobas e 601** je dle našich zkušeností způsoben krátkým intervalem, po který je analyzátor v provozu, a také tím, že obecně při zavedení nové metody do provozu vzrůstají zachycené reaktivity v porovnání s metodou používanou v minulosti. Výsledky konfirmací vzorků uvedených výše z NRL byly vždy negativní, zatím jsme se nesetkali s tzv. „nejasným“ výsledkem.

analyzátor	cobas e 601		předchozí analyzátor	
období vyšetření	2. 1. – 31. 12. 2018		4. 1. – 31. 12. 2016	
počet prvodárců	614		658	
reaktivní výsledky	počet	%	počet	%
celkem	6	0,98	5	0,76
HIV	2	0,003	2	0,003
HCV	2	0,003	2	0,003
HBsAg	0	0	0	0
syfilis	2	0,003	1	0,002

▲ Tab. č. 2: Porovnání nespecifických reaktivit zachycených u prvodárců

Výhodou je možnost zařadit dárcе, kteří byli v minulosti vyřazeni pro nespecifické reaktivity, v programu re-entry zpět mezi aktivní dárcе krve.

### Závěr

Zavedení analyzátoru **cobas e 601** do provozu zařízení transfúzní služby hodnotíme jako přínosné pro rychlost a spolehlivost vyšetření a uživatelskou přívětivost. Oceňujeme významné urychlení vyšetření vzorků dárců krve, zvláště při větších objemech odběrů, dostupnost výsledků infekčních markerů v den odběru a s tím související možnost dříve uvolnit transfúzní přípravky pro použití.



Při porovnání reaktivit zachycených u prvodárců, kteří přišli na TO KNL, a.s., za jeden rok, jsme zachytili při vyšetření na analyzátoru **cobas e 601** celkem 6 nespecifických reaktivit, u předchozího analyzátoru 5, což pokládáme za srovnatelné výsledky (tab. č. 1).



#### MUDr. Renata Procházková, Ph.D.

Transfúzní oddělení KNL, a.s., Baarova 15, Liberec  
Kontakt: renata.prochazkova@nemlib.cz

Oboru Hematologie a transfúzní služba se věnuje od roku 1990, čistě transfúzní problematice se věnuje od roku 1997. Odborná orientace zahrnuje zejména laboratorní problematiku, aferézy a klinickou transfúziologii. V současné době pracuje jako primářka transfúzního oddělení a přednostka Centra laboratorní medicíny Krajské nemocnice v Liberci, je vědeckým sekretářem Společnosti pro transfúzní lékařství ČLS JEP.



In situ hybridizace (ISH) je metoda molekulárně cytogenetická, která je hojně využívána mimo jiné také v laboratořích molekulární patologie. Základním principem této metody, jak již z názvu vyplývá, je hybridizace, tedy párování denaturovaného vlákna vyšetřované DNA s „umělým“ krátkým značeným úsekem nukleové kyseliny, který se nazývá sonda. Celý tento proces pak probíhá přímo v jádře vyšetřovaných buněk v dané tkáni – in situ (na místě).

## Využití in situ hybridizace s detekcí stříbrem (SISH) v rutinní histopatologické diagnostice v laboratořích molekulární patologie

MUDr. TOMÁŠ ROZKOŠ, Ph.D.

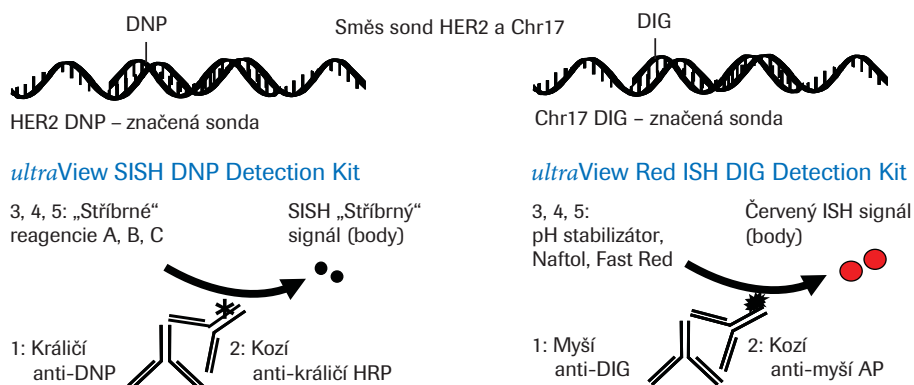
Fingerlandův ústav patologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové

### Úvod

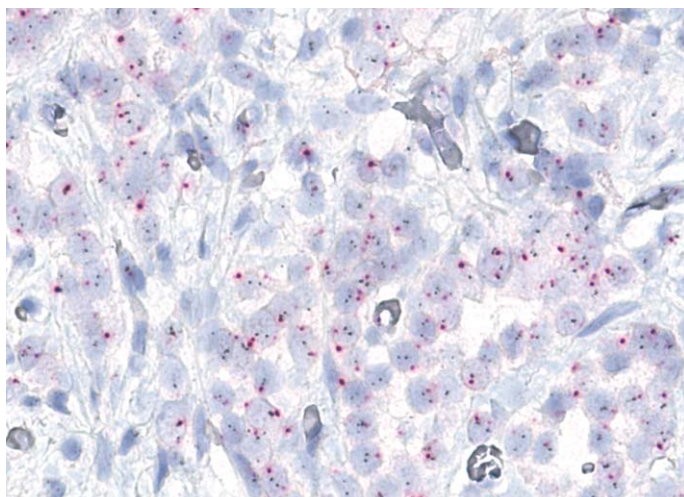
Metoda ISH se vyskytuje v řadě modifikací, které jsou dány jednak různými typem sond a jednak různými možnostmi značení, respektive detekce hybridizované sondy. Mezi nejčastější typy sond, se kterými se na poli molekulární patologie setkáváme, patří sondy kvantifikační, jež obvykle značí konkrétní část genu, popřípadě centromerickou oblast příslušného chromozomu, a které slouží ke stanovení numerických aberací (delece nebo amplifikace, případně aneusomie). Druhou hlavní skupinu sond pak představují sondy sloužící k zachycení přestavby/přesunu genu nebo jeho části z původního místa v určitém chromozomu. V tomto případě se používají současně

minimálně 2 sondy, přičemž každá je značená jiným chromogenem. Sem spadají dvě podskupiny, a to sondy fúzní (negativní nálezy = barevné signály jsou oddělené, pozitivní nálezy = barevné signály se překrývají/splývají) a sondy tzv. break-apartové, které mají přesně opačný princip (negativní nálezy = barevné signály se překrývají/splývají, pozitivní nálezy = barevné signály jsou oddělené).<sup>1)</sup> ISH lze také členit podle metody detekce příslušné sondy. Nejstarším a stále nejrozšířenějším způsobem detekce je fluorescenční in situ hybridizace (FISH), která využívá ke značení sond fluorochromy, a preparáty je nutné prohlížet ve speciálním fluorescenčním mikroskopu. Vedle toho však existují také metody používající ke značení sond chromogeny (CISH), které jsou viditelné ve světelném poli, a tudíž nepotřebují k hodnocení fluorescenční mikroskop. Podvariantou CISH je pak metoda, která k detekci jedné ze sond využívá vizualizaci pomocí stříbra (SISH). Těto metodě budou věnovány následující odstavce.

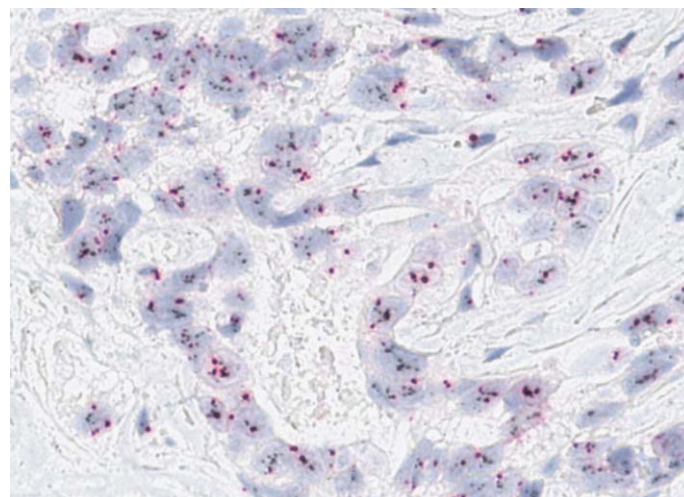
Na našem pracovišti dlouhodobě využíváme metodu Dual ISH k detekci případné amplifikace genu *ERBB2* (kodujícího protein HER2) u karcinomů



▲ Obr. č. 1 : Schéma hybridizace značenou sondou a následné detekce (vizualizace) chromogenem a stříbrem



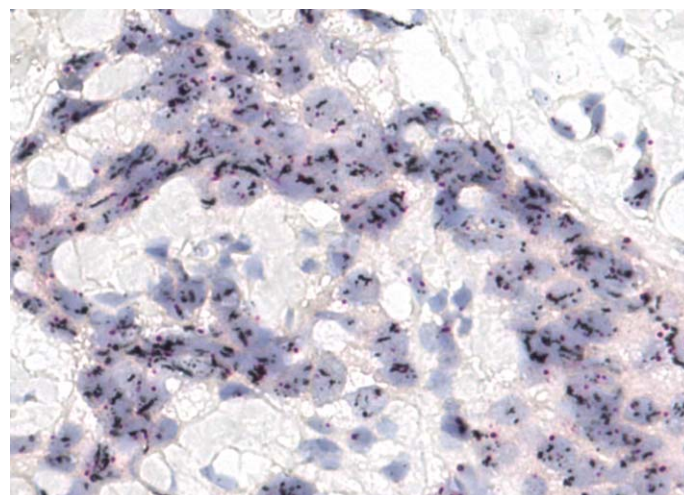
▲ Obr. č. 2: Normální (fyziologický) nále. V buňkách jsou povětšinou patrné 2 kopie genu *ERBB2* (černý signál) a zároveň 2 kopie centromerické oblasti chromozomu 17 (červený signál). Zvětšení 400x



▲ Obr. č. 3: Mírná amplifikace genu *ERBB2*. V jádrech nádorových buněk je patrný zvýšený počet černých signálů (většinou 4 až 6) genu *ERBB2*. Zvětšení 400x

prsu a žaludku, přičemž detekce probíhá v přístroji Ventana BenchMark ULTRA od firmy Roche. Při tomto vyšetření je detekována centromerická oblast chromozomu 17 pomocí sondy značené digoxigeninem (DIG), která je následně vizualizována pomocí červeného chromogenu a je tedy v jádrech patrná jako červená tečka. Dále je pak detekován gen *ERBB2* pomocí sondy značené dinitrofenolem (DNP), která je následně vizualizována pomocí stříbra a je v jádrech patrná jako černý signál (obr. č. 1).<sup>2)</sup> Za účelem lepší orientace ve tkáni je pak celý preparát dobarven jaderným značením (nejčastěji hematoxylinem). V normálních jádrech nenádorových buněk, které zároveň slouží jako vnitřní kontrola ve vzorku, bychom tedy měli najít 2 červené a 2 černé signály (obr. č. 2). V malé míře mohou být přítomna i jádra pouze s 1 kopií některého ze signálů, což je dáno rovinou řezu, kdy může dojít k „rozkrojení“ příslušného jádra, takže v preparátu je přítomna pouze jeho část. V případě amplifikace nacházíme v jádrech zvýšený počet černých signálů genu *ERBB2* (obr. č. 3), nebo dokonce shluky (clustery) černých signálů (obr. č. 4). V rutinní praxi je stanovován poměr průměrného počtu signálů genu *ERBB2* (černý signál) a centromerické oblasti chromozomu 17 (červený signál), který je vyhodnocen

► Obr. č. 4: Výrazná amplifikace genu *ERBB2*. V jádrech nádorových buněk jsou patrné shluky (clustery) černých signálů genu *ERBB2*, jejichž počet nelze přesně kvantifikovat, lze jej pouze odhadnout na základě porovnání velikosti clusteru s jednotlivým signálem. Zvětšení 400x

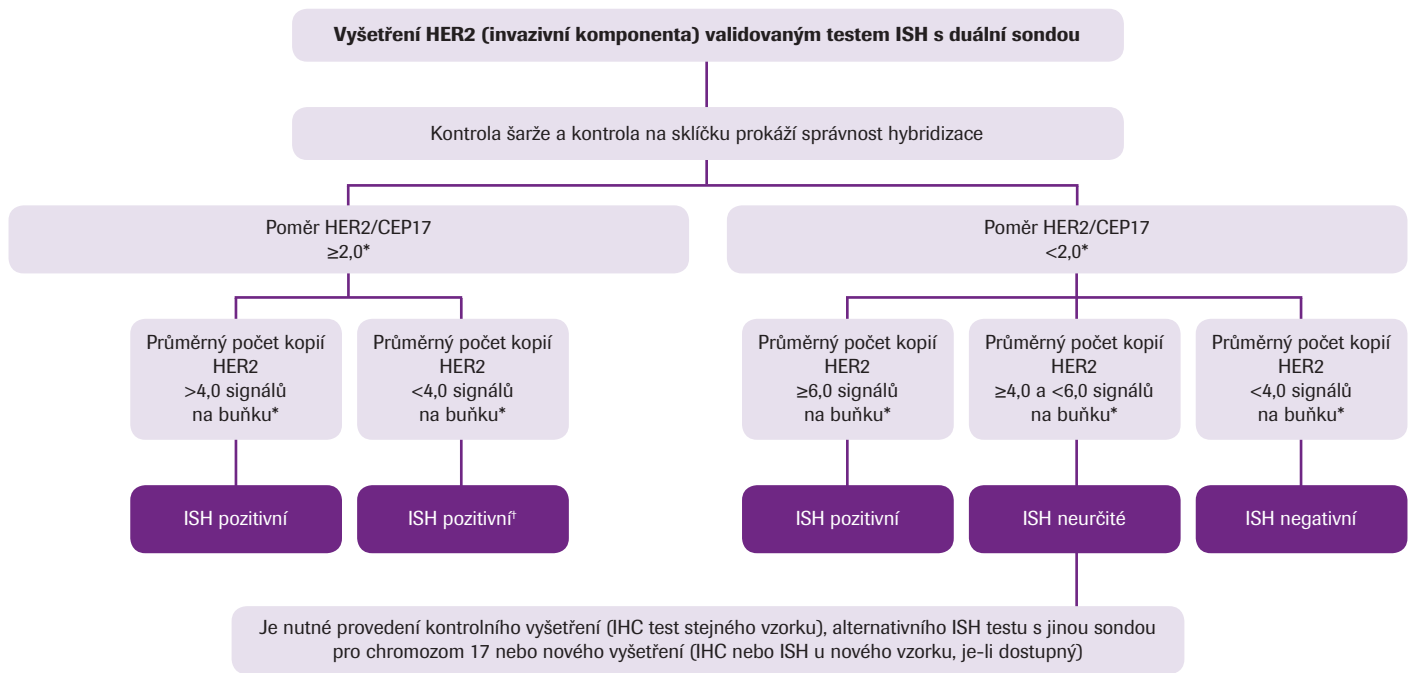


z minimálně 20 jader nádorových buněk (na našem pracovišti rutinně hodnotíme 50 jader). Rozhodnutí, zda je nádor amplifikovaný či neamplifikovaný, se pak řídí dle Doporučeného postupu pro zpracování a vyšetření bioptických vzorků prsu Společnosti českých patologů (obr. č. 5 – viz citace 3, schéma 3, str. 7).<sup>3)</sup>

### Výhody, nevýhody a limitace metody SISH

Hlavní výhodou metody SISH v porovnání s klasickou metodou FISH je jednoznačně možnost hodnotit výsledek detekce ve světelném poli, tudíž není zapotřebí nákladný a speciální fluorescenční

mikroskop, jehož provoz je taktéž finančně náročný (zejména výměna rtuťové výbojky). K hodnocení SISH skel stačí „běžný“ světelný mikroskop. Další výhodou oproti FISH je poměrně dobrá stálost výsledných barevných signálů, což umožňuje vyhodnocení skla archivovat a eventuálně se k nim v budoucnu vrátit, například v případě revize staršího případu v souvislosti s aktuálně řešeným vzorkem, pro edukační či publikační účely nebo pro účely posuzování kvality detekce a hodnocení na daném pracovišti. Mezi výhody také jednoznačně patří lepší orientace ve tkáni v porovnání s FISH, neboť u SISH je díky dobarvování patrná lokalizace buněk, které mají být hodnoceny, zatímco u FISH vyšetření je pozadí



\* Hodnocení uvnitř homogenní a souvislé populace

† Podrobnosti o hodnocení této málo časté situace viz [http://www.asco.org/sites/www.asco.org/files/final\\_her2\\_testing\\_ds\\_10-3-13.pdf](http://www.asco.org/sites/www.asco.org/files/final_her2_testing_ds_10-3-13.pdf)

▲ Obr. č. 5: Schéma vyšetření HER2 pomocí *in situ* hybridizace se dvěma sondami (upraveno dle Wolff AC et al, JCO 2013), převzato z: Nenutil R, Ryška A: Doporučený postup pro zpracování a vyšetření biotických vzorků prsu. Společnost českých patologů, 2013; 7

tmavé a jsou patrná pouze jádra buněk. Tento rozdíl má největší význam u malých tkáňových vzorků s limitovaným počtem hodnocených jader a také u vzorků, kde jsou hodnocené buňky přítomny difuzně ve směsi s jinou (nenádorovou) buněčnou populací (stromální a zánětlivé elementy), jako je tomu typicky v případě hodnocení amplifikace genu *ERBB2* u lobulárního karcinomu prsu nebo u difuzního karcinomu žaludku. Zásadní pro hodnocení ISH metod obecně je totiž posuzovat hybridizaci v jádrech příslušných nádorových buněk bez příměsi „nenádorových“ jader, která mohou vést k falešně negativnímu výsledku interpretace, aniž by byla na vině preanalytická či analytická fáze. Mezi výhody SISH lze také počítat možnost nepoměrně snazšího zhotovení virtuálních preparátů či jakékoli jiné obrazové dokumentace, a tím i snadnější možnost využití této metody pro publikační a vzdělávací účely.<sup>4)</sup>

Absolutní nevýhody v porovnání s jinými ISH metodami nejsou autorovi známy. Volba metody (SISH nebo FISH) je

do značné míry dána subjektivní preferencí a zkušeností (zvykem) hodnotícího lékaře či biologa, přičemž obě metody vykazují velmi dobrou míru shody a jsou zaměnitelné.<sup>5)</sup> Určitou limitací je fakt, že jednotlivé barevné signály mohou mít lehce nepravidelnou velikost a neostré okraje, což stěžuje hodnocení zejména při posuzování vzdálenosti a postavení signálů (tedy u sond fúzních a break-apartových). Někdy je metodě SISH vyčítáno také to, že v případě použití kvantifikačních sond, kdy je ve tkáni (nádoru) nalezena výrazná amplifikace detekovaného genu, která se manifestuje tvorbou objemných shluků (clusterů), nelze s přesností stanovit počet signálů v jednotlivém clusteru. Tato výtka se nám však zdá být neopodstatněná, neboť stejný problém je také u ostatních ISH metod, a navíc tento limit nemá praktický dopad, neboť je-li nalezena amplifikace, tak její míra nijak neovlivňuje případnou diagnózu nebo léčbu. Za hlavní limit tak dnes lze považovat skutečnost, že SISH a CISH sondy jsou dostupné pro vyšetření menšího počtu genů v porovnání

s počtem FISH sond, ale tato situace se může během krátké doby změnit.

## Úskalí preanalytické a analytické fáze SISH vyšetření

Výhodou řešení problémů s detekcí signálů u všech ISH je, že není potřeba žádná zvláštní pozitivní či negativní kontrola. Ve tkáni by měly být vždy přítomny alespoň „nějaké“ signály. Tento fakt slouží jako pozitivní kontrola a chrání tak před falešně negativními výsledky. V patologii navíc většinou hodnotíme histologické preparáty, ve kterých je kromě vyšetřovaných buněk (nejčastěji nádor) přítomna i jiná (nenádorová) tkáň, u níž by měl mít počet kopií daného barevného signálu (genu) v normální somatické diploidní buňce vždy hodnotu dva. Pokud je v „normální“ (zdravé/nenádorové) tkáni přítomen větší nebo menší počet signálů než dva, nesmí se ISH vyšetření hodnotit z důvodu možné falešné pozitivity či negativity výsledku.



a. Absence signálů

Největším problémem při kompletní absenci signálů ve tkáni (obr. č. 6) je určit, zda se jedná o problém ve vyšetřované tkáni (preanalytickou chybu) nebo o chybu vlastního detekčního postupu (analytickou chybu). Určitým vodítkem může být výsledek detekce v dalších vzorcích, které byly vyšetřovány současně s problémovým případem. Pokud se stejná chyba vyskytuje u více vzorků ve stejném kole, velmi pravděpodobně se jedná o analytickou chybu. V izolovaném případě je pravděpodobnější preanalytická chyba, kterou nejčastěji bývá nevhodná nebo nepřiměřená fixace vyšetřované tkáně formalinem. Podle našich zkušeností je nejčastější preanalytickou chybou negativně ovlivňující výsledek příliš dlouhá fixace tkáně, která přesahuje 3 až 4 dny v závislosti na velikosti vzorku. Takové vzorky jsou nevyšetřitelné, jelikož je DNA již degradována. Tento fakt podporuje také nemožnost provedení vyšetření DNA metodou PCR u „přefixovaných“ vzorků. Naopak nedostatečný čas fixace nebo snížená kvalita formalinu (nepřesná koncentrace nebo pH) kupodivu, alespoň z naší zkušenosti, takový vliv na vyšetření DNA metodami FISH či PCR nemá. V každém

případě je doporučeno při negativním výsledku detekci zopakovat.<sup>2)</sup> Na našem pracovišti se nám osvědčilo na dané sklo se vzorkem přidat ještě řez ze tkáně, u které máme jistotu, že netrpí preanalytickou chybou, a která v tomto případě slouží jako kontrolní vzorek (např. tkáň již dříve ISH vyšetřená, bez technického limitu). V takovémto případě je možné typ chyby odhalit ihned (pokud je kontrola pozitivní = preanalytická chyba, obě tkáně negativní = analytická chyba).

b. Slabá intenzita signálů

Dalším problémem, se kterým se v rutinní diagnostice můžeme setkat, je slabá intenzita jednoho nebo více (obou) barevných signálů nebo velmi malá velikost signálů (obr. č. 7). V těchto případech se většinou jedná o preanalytickou chybu (zejména nevhodná fixace). V některých případech je možné tento nedostatek ve vzorku kompenzovat úpravou detekčního postupu, např. prodloužením doby trávení proteázou nebo prodloužením inkubačního času příslušného chromogenu.<sup>2)</sup>

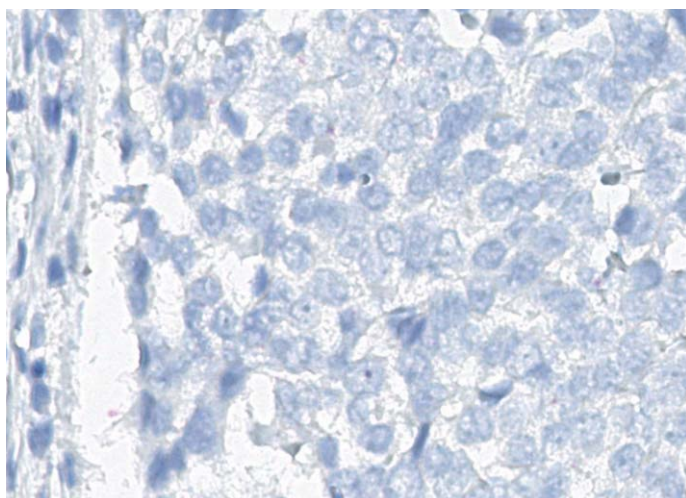
c. Chybění signálů jedné barvy

V těchto situacích se naopak vždy jedná o chybu analytickou. Pokud

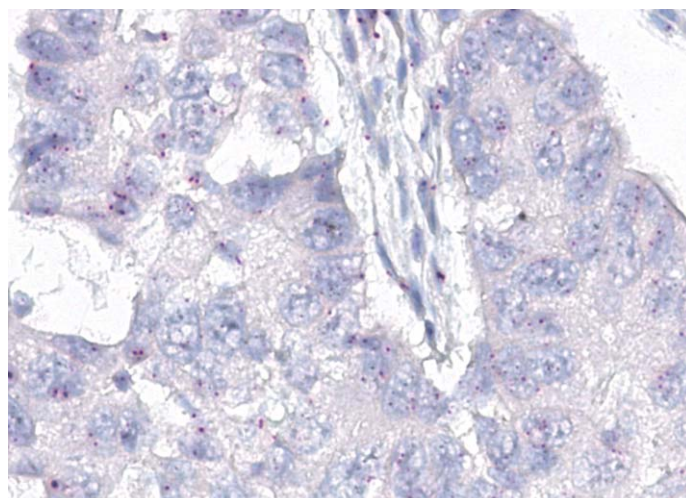
je přítomen pouze signál jedné barvy (obr. č. 8), je chyba buď v aplikaci sondy (chybí aplikace příslušné sondy), nebo v aplikaci příslušného detekčního systému. V naší laboratoři pro SISH vyšetření využíváme směs (koktejl) sond, takže chyba musí nastat až v průběhu aplikace detekčních reagensií. Je nutné zkontrolovat, zda nejsou prázdné zásobníky (tzv. dispensory) nebo zda není v zásobníku při jeho výstupu přítomna vzduchová bublina, a případnou závadu odstranit. V některých případech se příčina nepodaří objevit. I za těchto okolností je opět výrobcem doporučeno provést opakované vyšetření, které je prakticky vždy bez chyby, jedná se tedy o jednorázovou náhodnou chybu.<sup>2)</sup>

d. Chybění signálů v části tkáně

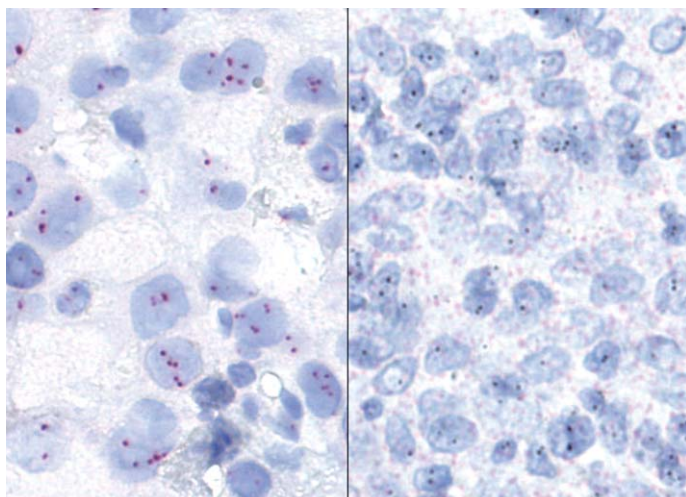
Pokud chybí signály pouze v části vzorku (obr. č. 9), jde prakticky vždy o chybu analytickou. Mechanismy vzniku tohoto problému zahrnují: 1) vznik vzduchové bubliny na povrchu vyšetřovaného skla při aplikaci některé z reagensií, což v daném místě vede k vynechání příslušného kroku protokolu a v případě přetrvání vzduchové bubliny se navíc na dané místo nemohou dostat následně aplikované reagensie; 2) stečení reagensií



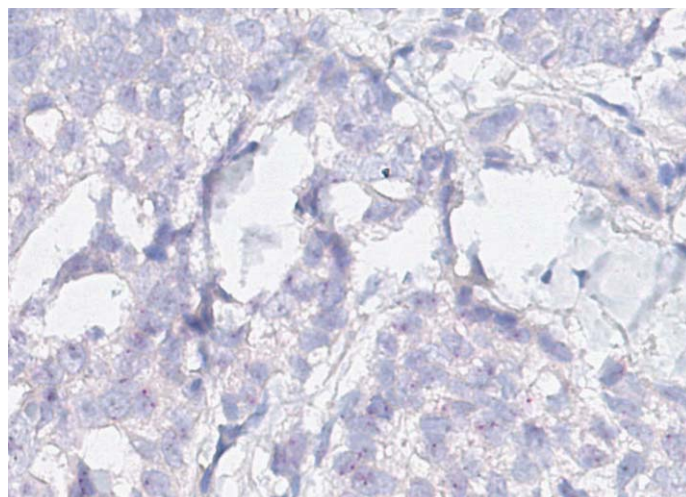
▲ Obr. č. 6: Úplné chybění červených i černých signálů ve vyšetřované tkáni. Viditelná jsou pouze jádra buněk barvená hematoxylinem. Zvětšení 400x



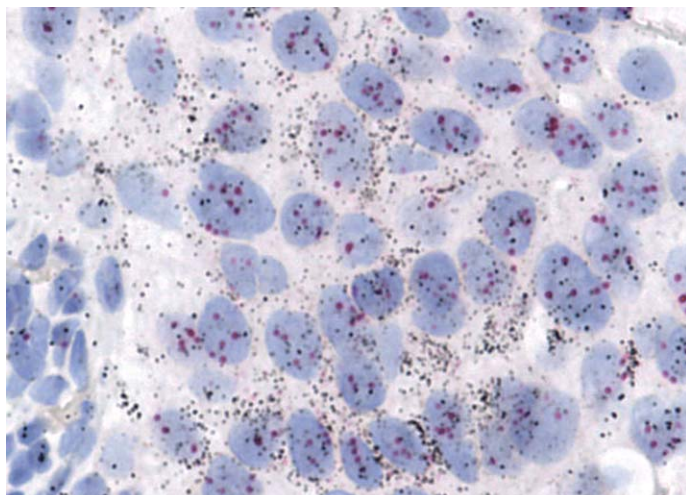
▲ Obr. č. 7: Slabé signály obou sond, jednotlivé signály mají malou velikost a jsou obtížně hodnotitelné. Zvětšení 400x



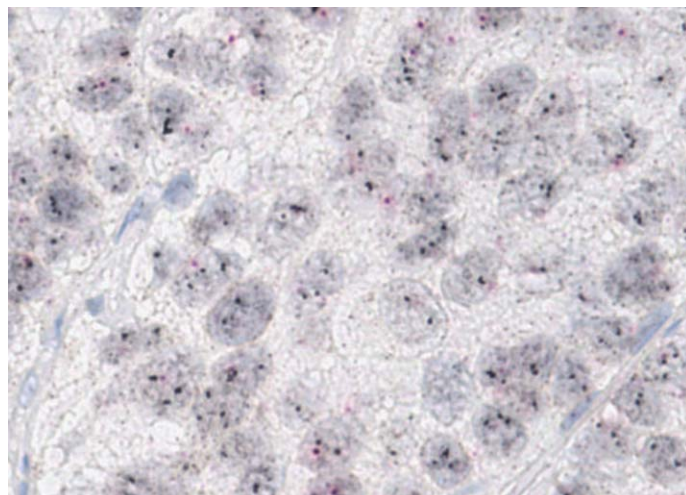
▲ Obr. č. 8: Přítomnost signálů pouze jedné barvy – pouze červené signály centromerické oblasti chromozomu 17 (levá část obrázku) nebo pouze černé signály genu ERBB2 (pravá část obrázku). Zvětšení 400x



▲ Obr. č. 9: Úplné chybění obou signálů v horní polovině obrázku při zachovalých signálech v dolní části snímku. Zvětšení 400x



▲ Obr. č. 10: Tzv. silver dust – jemný poprašek stříbra pokrývající vyšetřovanou tkáň. Zvětšení 400x



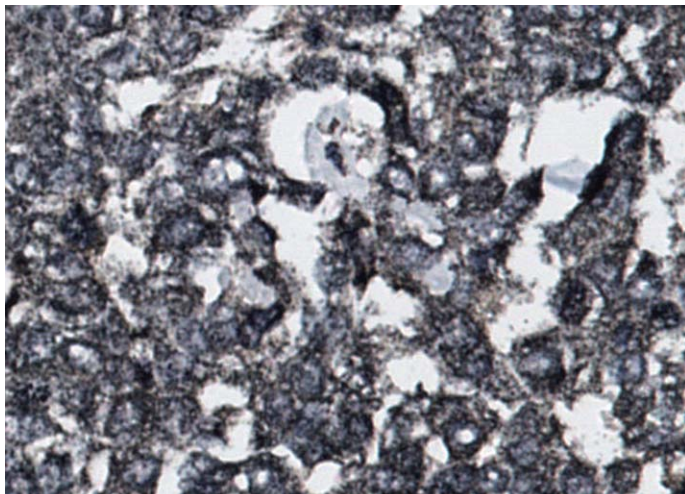
▲ Obr. č. 11: Silver dust o nízké intenzitě, i přes nespecifické pozadí jsou dobře patrné specifické signály sond a případ lze hodnotit. Zvětšení 400x

z povrchu skla v důsledku nezajištění vodorovné polohy skla (není zajištěna vodorovná pozice hybridizační ploténky); 3) „odsátí“ reagentii z povrchu skla kapilárním vztlínáním podél hrany skla v případě nevhodně nalepeného identifikačního štítku (křivě nalepený štítek s přesahem přes hranu skla). Pokud se vyskytne tato situace, není vždy nezbytně nutné vyšetření opakovat. Nejprve je nutné v mikroskopu zkontrolovat veškerou vyšetřovanou (nádorovou) tkáň a pouze v případě, že signály chybí v celé této tkáni, je nutné detekci zopakovat.

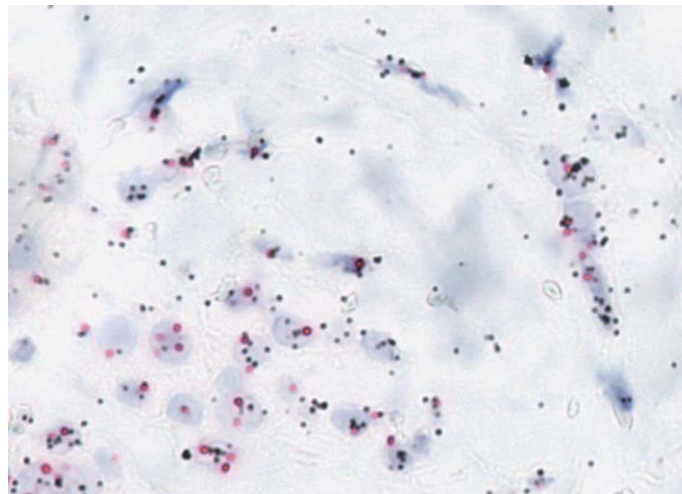
#### e. Nespecifické pozadí

Existuje několik variant rušivého pozadí při SISH vyšetření. V praxi se však setkáváme se dvěma nejčastějšími případy a těmi jsou tzv. „silver dust“ a „speckling“. Obě tyto chyby vznikají v analytické fázi. Silver dust (SD) je přítomnost jemného „poprašku“ vysráženého stříbra homogenně v celé tkáni (obr. č. 10). Tento typ chyby vzniká nejčastěji v důsledku vysušení povrchu skla v průběhu jednotlivých detekčních kroků. Jedná se o chybu jednorázovou, která se většinou při opakovaném vyšetření již nevyskytne. Navíc pokud je intenzita SD slabá a lze přes

pozadí spolehlivě rozeznat specifické signály (obr. č. 11), není nutné vyšetření opakovat. V některých případech však intenzita SD na pozadí hodnocení znemožňuje (obr. č. 12). Druhým zmíněným typem pozadí je tzv. speckling (SP), což je přítomnost černých signálů stříbra obdobné velikosti, jako mají specifické signály. Na rozdíl od nich se však SP vyskytuje disperzně i mimo jádra buněk a často také dokonce i mimo vyšetřovanou tkáň na okolním skle (obr. č. 13). Tento typ chyby je velmi zrádný, neboť při letném pohledu imituje často specifické signály a interpretace takového případu by vedla



▲ Obr. č. 12: Silver dust o vysoké intenzitě. Nelze hodnotit specifické signály, vyšetření je nediagnosticské. Zvětšení 400x



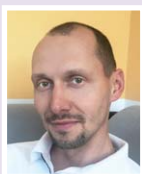
▲ Obr. č. 13: Tzv. Speckling – přítomnost „falešných“ signálů stříbra obdobné velikosti jako specifické signály, a to jak v jádrech nádorových buněk, tak i mimo ně (zejména pravá polovina obrázku). Při hodnocení takového případu hrozí riziko falešné positivity případné amplifikace genu ERBB2. Vyšetření je nutné opakovat. Zvětšení 400x

k falešně pozitivnímu výsledku stran případné amplifikace signálu. Naštěstí se jedná o chybu poměrně vzácnou (v porovnání s ostatními výše zmíněnými), jejíž příčina není doposud spolehlivě objasněna. Předpokládá se nějaký druh znečištění či degradace používané sondy, neboť se tento problém typicky vyskytuje na různých pracovištích a je vázán na konkrétní šarži sondy. Při použití jiné šarže sondy se tento problém již nevyskytuje.<sup>2)</sup>

### Závěr

Metoda SISH se již řadu let s úspěchem používá na našem pracovišti ke stanovení případné amplifikace genu *ERBB2* u karcinomu prsu a eventuálně žaludku. Tato metoda přináší řadu výhod oproti klasickému vyšetřování metodou FISH a nemá ve srovnání s ní žádnou absolutní

nevýhodu. Obě metody přinášejí srovnatelné výsledky, přičemž hodnocení SISH je díky jednodušší orientaci ve tkáni rychlejší a pohodlnější. Odpadá také potřeba drahého fluorescenčního mikroskopu a hodnocená skla lze dlouhodobě archivovat, což je výhodou pro kontrolní, srovnávací, výzkumné, edukační i publikační účely.



### MUDr. Tomáš Rozkoš, Ph.D.

Fingerlandův ústav patologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové, Sokolská 581, Hradec Králové 500 12

Kontakt: tomas.rozkos@fnhk.cz

Patolog, pracující v oboru od roku 2009, se specializací na onkologickou pneumopatologii a vyšetřování prediktivních markerů pomocí imunohistochemie a in situ hybridizace.

### LITERATURA

1. Humphrey, PA, et al.: *The Washington Manual of Surgical Pathology*, 2nd edition. Lippincott Williams & Wilkins 2012; 876–886.
2. Grogan, MT, et al.: *Interpretation Guide Ventana INFORM HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail Assay*.
3. Nenutil R, Ryška A: *Doporučený postup pro zpracování a vyšetření biotických vzorků prsu. Společnost českých patologů*, 2013; 7.
4. Unal B, et al.: *Determination of HER2 gene amplification in breast cancer using dual-color silver enhanced in situ hybridization (dc-SISH) and comparison with fluorescence ISH (FISH). Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14(10): 6131–4.
5. Pehlivanoglu B, et al.: *Comparison of HER2 status determination methods in HER2 (2+) patients: Manual fluorescent in situ hybridization (FISH) vs. dual silver enhanced in situ hybridization (SISH). Ann Diagn Pathol* 2017; 31: 36–40.



Byli jste na dovolené mimo Evropu? Vrátili jste se z kongresu či stáže v USA, nebo z přednášky v Singapuru či jinde a váš let trval více než 5 hodin? Máte kromě často diskutovaných příznaků „jet lagu“ pocit, že na vás „něco leze“, pozorujete na sobě příznaky respirační infekce, nebo prostě nejste ve své kůži? Pak prosím věnujte pozornost našemu článku. Během své dlouholeté profesní kariéry jsem absolvoval více než 600 úsekových letů. V popisované situaci jsem se ocitl mnohokrát. Zprvu jsem to přičítal střídání klimatických pásů, posléze jsem vypořádal určitou závislost na délce letu. Mám poněkud prostorově výraznější postavu, s čímž konstruktéři interiéru ekonomické třídy evidentně nepočítají, a tak mi nezbyvá, pokud nezískám jedno z 5 míst, kam se vejdu, než buď snášet nepohodlí, nebo připlácet nemalé částky za upgrade do obchodní třídy. Není divu, že za těchto podmínek v letadle neusnu, strnule sedět několik hodin se také nedá, při průchodu uličkami ruším spolucestující, a tak většinou stojím u palubní kuchyně a debatuji s palubním personálem. Od nich vím, že trpí respiračními infekcemi, suchostí kůže, z ní vyplývajícími obtížemi apod.

## Necítíte se po delší cestě letadlem ve své kůži? Možná víme proč...

MUDr. EMIL PAVLÍK, CSc.,<sup>1,2</sup> Bc. VIKTORIYA GVOZDEVA,<sup>2</sup>  
MUDr. DANIELA OBITKOVÁ,<sup>2</sup> Ing. MILAN MRÁZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze

<sup>2</sup> Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva, Fakulta biomedicínského inženýrství ČVUT, Kladno

### Úvod

Když jsem byl vyzván k vypsání témat pro postgraduální studium na naší katedře, napadlo mě, že by nebylo od věci podívat se na mikrobiální kontaminaci palubní vzduchotechniky v dopravním letadle. Pilotní studie této problematiky se stala tématem bakalářské práce studentky bakalářského oboru Zdravotní laborant Viktoriye Gvozdevy. Cílem bylo především ověřit použitelnost určitých laboratorních postupů při dalším studiu této problematiky v rámci témat postgraduálních studentů MUDr. Daniely Obitkové a Ing. Milana Mráze.

### Co je ECS a jak funguje

K udržení optimálního tlaku, teploty, vlhkosti vzduchu a koncentrace kyslíku v něm slouží v moderních dopravních letadlech systém ECS (Environmental Control System), který řídí ventilaci v kabině. Ta má zajišťovat minimálně

0,55 libry vzduchu za minutu pro každou osobu na palubě, což předpokládá, že se za hodinu provozu vzduch v kabině až 15x úplně vymění. ECS je z výroby nastaven na mísení 50 % čerstvého a 50 % recirkulovaného vzduchu, neboť tento poměr je považován za optimální.

Dopravní letadla Airbus řady A 319/320/321, která spolu s Boeingem 737 všech generací patří mezi komerčně nejprovozovanější stroje, mají celkem 3 větrací systémy, které se zapínají a vypínají současně se zapnutím elektrické energie. Pokud je dodáván elektrický proud, pracují nepřetržitě a nelze je vypnout. První systém slouží chlazení elektroniky letadla, jeho kulový přívodní ventil (INLET) je na levé straně letadla, výpustný ventil extraktoru (EXTRACT) na pravé. Oba ventily podléhají povinné prohlídce během předletové obchůzky kvůli poškození nebo zablokování. Za letu pracuje tento systém v uzavřeném režimu (indikátor VENT), což znamená, že se ochlazuje ve výměníku tepla. V případě hrozícího přehřátí se otevře malá vnitřní klapka, umožňující odvětrání chladícího vzduchu přes palubu v tzv. režimu Avionic Smoke. Toto se používá i před startem letadla, pokud je teplota venkovního vzduchu vyšší než 40 °F. Cestující to mohou zaznamenat na začátku samostatného pohybu letadla po letištní ploše těsně po zapnutí motorů po dobu





1 až 2 minut, kdy mají pocit, že dýchají výfuk ze starého autobusu či kamionu.

Druhý systém slouží větrání paluby s odtahem přes palubní kuchyni, třetí má odtaž přes toalety. Oba dva pracují obdobným způsobem. Vzduch je přiváděn zvenčí odvodušněním kompresorových částí motorů do výměníků klimatizační jednotky, odkud se zchlazený na teplotu přibližně 70 °C odvádí do směšovače, v němž se mísí s filtrovaným recyklovaným vzduchem z kabiny. Následně je ve výměníku tepla ochlazen na teplotu požadovanou v kabině a přichází do žaluzií a větracích otvorů stropní části kabiny a individuálních uzavíratelných ventilačních ok na spodní části zavazadelníku nad každým sedadlem. Odvod vzduchu z kabiny probíhá částečně odsávacími dýzami v podlaze při trupu letadla, hlavní odsávání se děje u jednoho okruhu přes prostor palubní kuchyně, odkud se odvádí přebytečné teplo vyzařované ohřívači jídla a kávovary a eventuální zápach, u druhého pak zápach z toalet. Část vzduchu odchází přes tlakový ventil ven z letadla, část jde přes filtr zpět do směšovače. Poměr by měl být 50 : 50, tak jak je nastaveno z výroby (viz obr. č. 1).

Výrobci letadel osazují palubní ventilace tzv. HEPA filtry (High Efficiency Particle Filters), podobnými těm na operačních sálech nemocnic, které mají schopnost

zachytit 99,97 % partikulí o velikosti minimálně 300 nanometrů. Přestože jsou jak výrobci, tak provozovatelé s čistotou vzduchu srovnatelnou s operačními sály spokojeni, je třeba si uvědomit, že většina virů infikujících člověka má velikost od 25 do 150 nanometrů, tudíž je téměř jisté, že viry v HEPA filtrech zachycovány nejsou. Recirkulace vzduchu probíhá velmi rychle. Navíc se tvrdí, že v letových hladinách kolem 10 000 metrů, kde je teplota vzduchu -55 °C a nižší, nasávaný vzduch údajně neobsahuje mikroby. Další antimikrobiální bariérou má být ohřívání vzduchu na 70 °C. To by mohlo sice zničit některé vegetativní formy bakterií, ovšem ve směšovači teplota rychle klesá mísením s o 50 °C nižší teplotou recyklovaného vzduchu z kabiny. A právě v kabině může být zdroj nákazy.

Nikdy není tak zle, aby nemohlo být ještě hůř. Výše uvedené údaje platí pro směšovací poměr 50 : 50. Minimální množství nově přiváděného vzduchu však činí 20 %. Takže směšovací poměr lze upravit až na 20 : 80. V roce 2009 uvedl časopis *The Economist*: *Obvykle letecká společnost nastaví rovnováhu směsi čerstvého a recirkulovaného vzduchu v poměru 50 : 50. Piloti však mohou snížit množství čerstvého vzduchu, aby šetřili palivo. Má se za to, že jej běžně nastavují na pouhých 20 %.* Proti tomuto tvrzení se ozval jak výrobce Boeing, tak někteří piloti B 737, kteří upozornili na skutečnost, že z pilotní kabiny není ovládání poměru ve směšovači možné. Možné to však je nastavit na přání provozovatele při pravidelných servisních prohlídkách letadla.

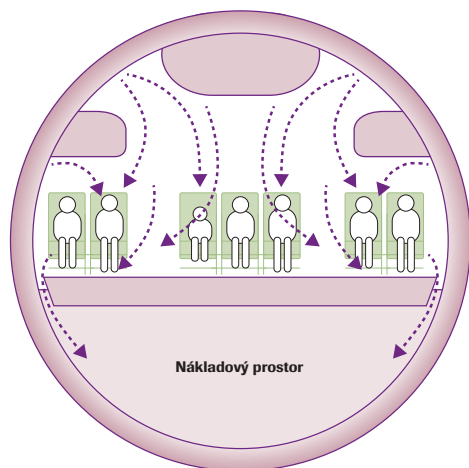
### Vzduch na palubě a mikrobiální kontaminace

V posledních letech bylo provedeno několik studií zabývajících se mikrobiálním obsahem vzduchu v kabině letadla. Studie Federal Aviation Administration hodnotící časovou změnu výskytu vzdušných bakterií a hub uvádí klesající množství



mikrobů díky filtraci HEPA v průběhu letu, které však opět stouplo během výstupu cestujících po přistání, kdy zřejmě ECS není již dostatečně funkční. Madsen ve studii z roku 2015 upozorňuje na riziko přenosu infekcí šířených velkými kapkami, které ventilační filtrací nejsou eliminovány. Hladina kyslíku je určena tlakem na palubě a na vnější části letadla a je udržována automaticky, tlak v kabině je udržován v hodnotách odpovídajících nadmořské výšce 2 500 až 3 000 metrů, tedy vysokohorskému prostředí, což má vliv mimo jiné na funkci imunitního systému. Tlak je stejný ve všech prostorách letadla včetně nákladních.

Snížení počtu mikrobů na palubě se dosahuje rovněž úklidem. Obecné čištění letadla probíhá po každém letu, důkladnější protokol je uplatňován během denního servisu. Zde záleží pochopitelně na vhodném výběru dezinfekčních prostředků a jejich střídání. Neefektivní čištění může naopak způsobit šíření mikrobů v kabině. Problémem je situace během odstávky letadla. Když je po výstupu cestujících, odchodu posádky a pracovníků úklidu vypnut proud, je vypnut i ECS a nastávají podmínky pro růst populací přeživších mikrobů kontaminujících prostředí. Stojánkové portály, na něž se letadlo připojí po vypnutí motorů a z nichž je zásobováno elektrickou energií, takže ventilátor zůstává po celou dobu připojení funkční a zajišťuje pohyb vzduchu v kabině, mají jen některá moderní letiště. V mnoha případech však tyto systémy nebývají leteckými společnostmi využívány. Studie Auburnské university v Alabamě publikovaná v roce 2014 prokázala, že patogenní bakterie dokážou v kabině letadla přežít až 168 hodin.



▲ Obr. č. 1: Schéma proudění vzduchu v kabině



## ZKUŠENOSTI Z LABORATOŘÍ

Dalším parametrem řízeným ECS je vlhkost vzduchu. Vzhledem k tomu, že je vzduch v letových hladinách suchý, je minimální udržovaná vlhkost 12 % (srovnatelná s prostředím pouště) zajišťována recirkulací vzduchu z kabiny. Zvlhčovat bohužel nelze vzhledem k riziku koroze konstrukčních prvků letadla. Existuje jediná výjimka, kterou je Boeing 787 Dreamliner, konstruovaný z kompozitních materiálů.

Přestože britská studie pracovní skupiny pro zdraví v letectví (zřízena vládou Spojeného království) publikovaná v roce 2004 uvádí, že kvalita ovzduší v kabině letadla není horší než v jiných dopravních prostředcích či veřejných prostorách, nelze tuto problematiku podceňovat. Vychází z výsledků měření 8 parametrů na celkem 14 letech stroji British Aerospace 146 (nyní AVRO 80 Jumbolino) a Boeing 737-300, porovnávaných s výsledky z jiných dopravních prostředků jako vlak nebo autobus. Není důvod, proč by v klimatizovaných interiérech jiných druhů hromadných dopravních prostředků nemohly být naměřeny podobné hodnoty. Navíc není pochyb, že v kontrolovaných strojích byly parametry filtrace i čištění a dezinfekce dle doporučení výrobce.

Co je zážející, ani ICAO (International Civil Airline Organisation), ani IATA (International Air Transport Association), sdružující obchodní letecké společnosti, nemají žádná doporučení týkající se vzduchotechniky v letadlech. A tak od výrobce instalované HEPA filtry mohou být vyměněny za jiné dle přání výrobce. Výrobci HEPA filtrů uvádějí jejich životnost 500 provozních hodin a během této doby doporučují dvojí profouknutí filtrů. Praxe však vypadá odlišně: filtry se mění až během periodických prohlídek letadel, kdy mohou mít nalétáno až několikánásobek této doby. Pak se nelze divit ani prasknutí filtru. Takže všechno může vypadat jinak.

### Koho se problém týká

28 000 obchodních dopravních letadel uskuteční denně 103 000 letů na 49 871 linkách. Jen 3 vedoucí aliance přepravců (Star Alliance, Sky Team, One World) denně nabízejí 47 777 letů.

Podle údajů společnosti Quora (www.quora.com) je ve světě registrováno 322 000 letuschopných letadel, z nichž je:

- 28 000 obchodních dopravních letadel (letecké společnosti);
- 92 000 vojenských letadel;
- 28 000 civilních vrtulníků;
- 33 000 vojenských vrtulníků.

International Air Transport Association (IATA) uvádí ve výroční zprávě za rok 2016, že v ní sdružené letecké společnosti přepravily 3,6 miliardy cestujících. To je přibližný nárůst o 800 milionů od roku 2010 (více než 2,8 miliardy).

Mezi lety 2010 a 2017: každoroční nárůst o 5 až 8 %.

Podle údajů společnosti Statista za rok 2008 bylo přepraveno:

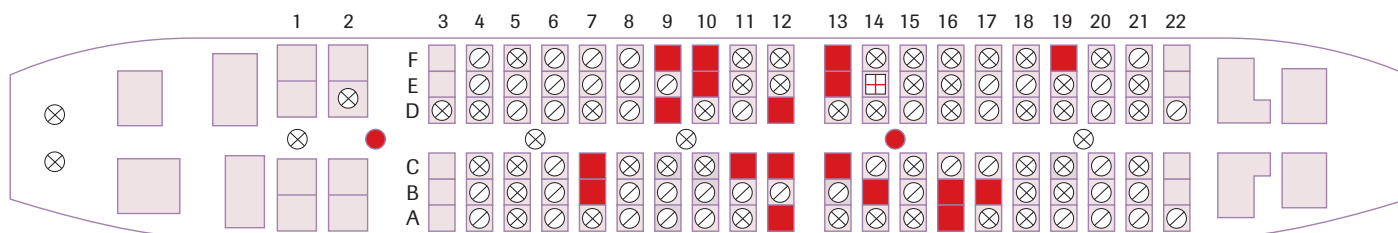
- Evropa: 670 000 000 cestujících;
- Blízký východ: 60 000 000 cestujících;
- Severní Amerika: 130 000 000 cestujících;
- Asie/Pacifik: 300 000 000 cestujících.

### Infekce na palubách letadel

Ve druhé polovině minulého století byly nákazy zaznamenány na palubě letadla v převážné většině alimentárního původu



▲ Letadla, která jsou na světě ve vzduchu v jednom okamžiku (pátek 20:32 GMT)



▲ Obr. č. 2: Nečekaně difuzní přenos viru SARS při letu čínských aerolinií na lince z Hongkongu do Pekingu 15. 3. 2003

(viz tab. č. 1). Díky dnes používanému průmyslovému cateringu, využívanému naprostou většinou leteckých přepravců (a také díky výraznému omezení stravování cestujících během letu u nízkonákladových společností), se dnes vyskytují minimálně. U dalších nákaz, které byly evidovány, se předpokládá přenos přímým kontaktem, případně kapénkami na krátkou vzdálenost. V rámci této představy byli v případě zjištěných pasažérů s otevřenou tuberkulózou považováni za možné kontakty pouze cestující sedící ve stejné řadě a dvě řady sedadel před a za zdrojem. Přelom v chápání znamenal až tříhodinový let čínských aerolinií na lince z Hongkongu do Pekingu 15. 3. 2003, při němž došlo k přenosu viru SARS nejméně na 20 osob sedících difuzně po celém prostoru kabiny (viz obr. č. 2). Let trval 178 minut, na palubě bylo 120 cestujících a 8 členů posádky. Zdroj nákazy seděl na sedadle 14E (označen červeným křížkem). Prokazatelně onemocnělo 18 cestujících (označeni červeně) sedících od 7. do 19. řady. Ze 2 onemocněvších stewardů jeden obsluhoval business třídu (řady 1 a 2) a do přímého kontaktu se zdrojem nepřišel. Dalších 45 vyšetřených kontaktů ne onemocnělo (přeškrtnuto jednou čarou), zbytek účastníků letu (označeni křížkem) se nepodařilo dohledat. Případ se stal podkladem pro nařízení minimálního přísunu 4 m<sup>3</sup> vzduchu na cestujícího za minutu.

## Materiál a metody

Filtr z přetlakového ventilačního systému dopravního letadla Airbus A 319 byl vyňat v rámci pravidelné periodické kontroly technického stavu letounu

INFEKCE	POČET PŘÍPADŮ	KOMENTÁŘ
Tuberkulóza	2	Positivní kožní test (Mantoux)
SARS	4	Žádný případ po přijetí směrnice WHO
Meningokoková meningitis	21	V některých hlášeních není zdokumentován přenos na palubě
Chřipka (Influenza)	2	Žádný případ po zavedení ventilačního limitu – min. 4 m <sup>3</sup> vzduchu/min/osoba
Spalničky	3	Importované infekce
Běžné respirační infekce	Časté	Obtížně prokazatelný přenos na palubě

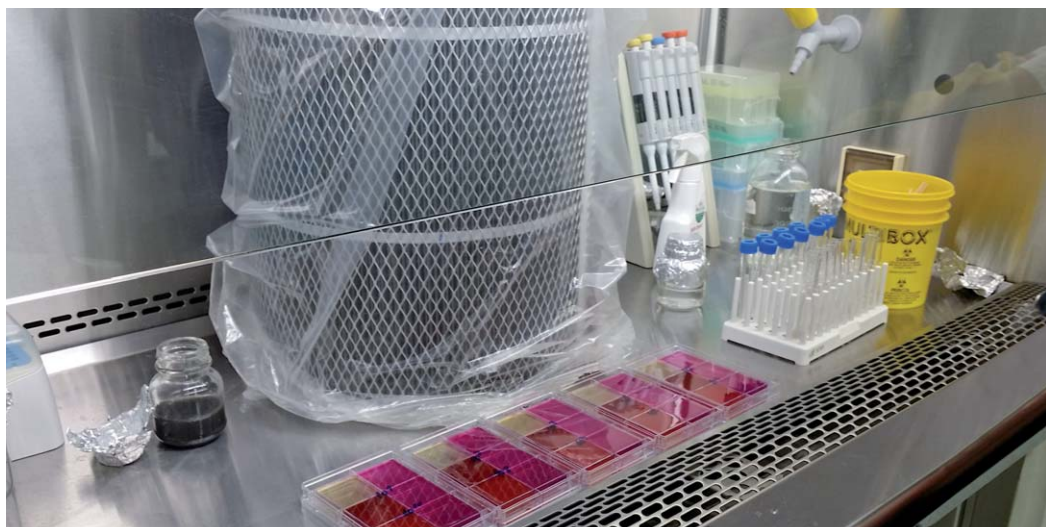
▲ Tab. č. 1: Fekálně-orální přenos nákaz zaznamenaný na palubách letadel v letech 1947–2000

AGENS	POČET PŘÍPADŮ	INFIKOVÁNO	ZEMŘELO
<i>Salmonella spp.</i>	15	4 000	7
<i>Staphylococcus aureus enterotoxin</i>	8		1
<i>Vibrio cholerae</i>	3	124	2
<i>Enteroviry</i>	1		1

▲ Tab. č. 2: Vzduchem přenosné nákazy hlášené leteckými přepravci

BAKTERIÁLNÍ SPECIES	VSTUPNÍ STRANA	VÝSTUPNÍ STRANA
<i>Staphylococcus aureus</i>	NE	ANO
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ANO	ANO
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	NE	ANO
<i>Enterococcus faecalis</i>	ANO	NE
<i>Clostridium tetani</i>	NE	ANO
<i>Clostridium perfringens</i>	NE	ANO
<i>Escherichia coli</i>	ANO	NE
<i>Citrobacter spp.</i>	ANO	ANO
<i>Yersinia spp.</i>	NE	ANO
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	ANO	ANO
<i>Morganella morganii</i>	ANO	NE
<i>Klebsiella ozeanae</i>	NE	ANO
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NE	ANO

▲ Tab. č. 3: Patogenní bakterie zachycené na vstupní a výstupní části filtru přetlakové vzduchotechniky letadla Airbus A 319



▲ Obr. č. 3: HEPA filtr kabinové vzduchotechniky letounu Airbus A 319/320/321

za aseptických podmínek a byl uložen do sterilního přepravního polyetylenového vaku, v němž byl dopraven do laboratoře. V uplynulém předservisním období operoval letoun výhradně evropské linky, na nichž nalétal 4 200 letových hodin.

Vybalení filtru bylo provedeno v Biohazard boxu s laminárním prouděním (obr. č. 3). Následně byly sterilními dakronovými tampony provedeny stěry z povrchu vstupní i výstupní části filtru.

Paralelně byly provedeny stěry suchými a vlhkými (sterilní PBS) tampony. Stírali jsme povrchové struktury na vstupní i výstupní straně filtru a vzorky jsme očkovali na standardní sestavu tuhých agarů i tekutých médií. Ze všech stěrů byly provedeny i otiskové preparáty s následnou mikroskopií.

Byly izolovány čisté kultury a použity k identifikaci rodů a druhů za využití standardizovaných detekčních technik pro patogenní bakterie a plísně v rutinní diagnostice infekčních nemocí, včetně antibiogramů.

## Výsledky

Výsledky naší studie jsou uvedeny v Tabulkách 1 až 5. Proti našemu očekávání

byly zachyceny bakterie ve stěrech z povrchu výstupní strany filtru, což znamená, že tyto bakterie HEPA filtrem prošly, i když partikule větší než 300 nm by měl filtr zachytit. Navíc u bakterií zachycených na obou stranách filtru bylo jejich množství na výstupní straně přibližně o řád vyšší.

Vysvětlením může být nejméně desetinašobně překročena životnost doporučená výrobcem filtru. Při jeho zahlcení může nastat porucha integrity, k čemuž zřejmě v tomto případě došlo. Rozdíl v kvantitě lze vysvětlit zkoncentrováním bakterií jejich zachycením ve filtru, což by opět argumentačně podpořilo porušení integrity filtru po jeho zahlcení.

Překvapením byl pozitivní výsledek anaerobní kultivace klostridií ze stěrů vlhkými tampony, což podporuje názor, že filtrem prošly pravděpodobně spory germinující ve vlhkém tamponu.

## Diskuse

Položme si zásadní otázku: Je filtrace vzduchu v palubní vzduchotechnice dostačující k zamezení šíření aerogenně přenosné infekce?

Argumenty pro:

1. VYSOKÁ TEPLOTA a STERILITA čerstvého vzduchu přiváděného do směšovače z motorů omezuje počet mikrobů.
2. ÚČINNOST HEPA filtrů je 99,97 % partikulí nad 0,3  $\mu\text{m}$ , čímž je srovnatelná s filtry na operačních sálech nemocnic.
3. Nová směrnice pro ventilaci kabiny určující 4  $\text{m}^3$  vzduchu/cestující Y class/min (MIX 50 : 50) zajišťuje kompletní výměnu vzduchu v kabině 15x za hodinu.
4. NÍZKÁ VLHKOST kabinového vzduchu (12 %) a SUCHOST filtrů znemožňují přežití mikroorganismů.

BAKTERIÁLNÍ SPECIES	VSTUPNÍ STRANA ICU/cm <sup>2</sup>	VSTUPNÍ STRANA CFU/ml	VÝSTUPNÍ STRANA ICU/cm <sup>2</sup>	VÝSTUPNÍ STRANA CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	38	3,8 x 10 <sup>6</sup>	156	1,56 x 10 <sup>7</sup>
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	41	4,1 x 10 <sup>6</sup>	174	1,74 x 10 <sup>7</sup>
<i>Citrobacter spp.</i>	32	3,2 x 10 <sup>6</sup>	163	1,63 x 10 <sup>7</sup>
<i>Clostridium tetani</i>	21	2,1 x 10 <sup>6</sup>	90	9 x 10 <sup>6</sup>

▲ Tab. č. 4: Kvantitativní porovnání záchytu bakteriálních druhů na vstupní i výstupní straně filtru



ANTIBIOTIKUM	mg/DISK	STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS Ø Inh. zóny		ENTEROCOCCUS FAECALIS+ Ø Inh. zóny		STAPHYLOCOCCUS AUREUS Ø Inh. zóny	
OXACILIN	1	0 mm	REZISTENTNÍ	0 mm	REZISTENTNÍ	14 mm	NEURČITÝ
AMPICILIN	2	0 mm	REZISTENTNÍ	0 mm	REZISTENTNÍ	0 mm	REZISTENTNÍ
ERYTROMYCIN	15	20 mm	SENZITIVNÍ	0 mm	REZISTENTNÍ	19 mm	NEURČITÝ
CO-TRIMOXAZOL	25	21 mm	SENZITIVNÍ	0 mm	REZISTENTNÍ	23 mm	SENZITIVNÍ
KLINDAMYCIN	2	0 mm	REZISTENTNÍ	0 mm	REZISTENTNÍ	13 mm	REZISTENTNÍ
CEFOXITIN	30	35 mm	SENZITIVNÍ	0 mm	REZISTENTNÍ	19 mm	NEURČITÝ

+ citlivý vůči VANKOMYCINU							
ANTIBIOTIKUM	mg/DISK	PROTEUS VULGARIS Ø Inh. zóny		PSEUDOMONAS AERUGINOSA Ø Inh. zóny			
AMOXYCILIN + KYSELINA KLAVULANOVÁ	30	20 mm	SENZITIVNÍ	0 mm	REZISTENTNÍ		
CEFTAZIDIM	30	23 mm	SENZITIVNÍ	19 mm	SENZITIVNÍ		
GENTAMICIN	10	15 mm	SENZITIVNÍ	17 mm	REZISTENTNÍ		
MEROPENEM	10	17 mm	SENZITIVNÍ	17 mm	REZISTENTNÍ		
CO-TRIMOXAZOL	25	0 mm	REZISTENTNÍ	0 mm	REZISTENTNÍ		
CIPROFLOXACIN	5	12 mm	REZISTENTNÍ	25 mm	SENZITIVNÍ		

▲ Tab. č. 5: Citlivost/rezistence vůči antibiotikům

5. KVALITA VZDUCHU v kabině letadla NENÍ HORŠÍ NEŽ V JINÝCH DOPRAVNÍCH PROSTŘEDCÍCH (britská studie NIPH 2015).

Argumenty proti:

1. VĚTŠINA VIRŮ JE MENŠÍCH NEŽ 300 nm, proto HEPA filtry PROCHÁZEJÍ, mnohé jsou odolné i vůči vysoké teplotě čerstvého vzduchu (70 °C).
2. Z důvodů úspory pohonných hmot někteří provozovatelé SNIŽUJÍ POMĚR čerstvého vzduchu ve směšovači na 20 % (The Economist 2009).
3. INTERVAL VÝMĚNY HEPA filtrů NĚKOLIKANÁSOBNĚ překračující životnost (5 000 vs. 500 hod.) vede k porušení INTEGRITY FILTRŮ a zvýšení propustnosti i pro bakterie.
4. Bakteriální spory PROCHÁZEJÍ FILTREM.
5. Před opuštěním letadla posádka VYPNE VENTILACI, čímž je umožněna adheze mikrobů a růst populací v různých částech vzduchotechniky.
6. Studie prokázaly, že bakterie v kabině přežívají několik dnů (stafylokoky až 170 hodin).

7. Suchý vzduch v kabině VYSUŠUJE SLIZNICE a odstraní tak jednu z imunitních bariér vůči infekci – hlen.

Další otázkou je, proč jsou rizikové dlouhé lety, a nikoli krátké do 3 hodin letu?

Zde je odpověď v tlaku v kabině, který odpovídá nadmořské výšce 2 500 až 3 000 metrů, tedy vysokohorskému prostředí. Studie z oborů imunologie a sportovního lékařství uvádějí, že na změnu

nadmořské výšky reaguje lidský organismus řadou adaptačních procesů, mezi něž, velmi zjednodušeně řečeno, patří i aktivace imunitního systému. Jde o poměrně rychlý proces trvající řádově hodiny. Při nedostatečné antigenní stimulaci dochází k útlumu, návrat z tohoto areaktogenního stavu pak trvá podstatně déle. Proto u krátkých letů do 3 hodin sice k aerogenním, zejména virovým nálezům na palubě dochází, jsou však





okamžitě eliminovány imunitním systémem. Pokud je let delší než 5 hodin, někteří cestující s imunitou v areaktogenním stavu – navíc kvůli suchému vzduchu s další chybějící ochrannou bariérou – mohou být infikováni a onemocnět. S každou další hodinou letu se riziko zvyšuje a rozšiřuje na další jedince.

### Závěry

1. V SOUČASNÉ DOBĚ POUŽÍVANÉ HEPA FILTRY ÚČINNĚ ZACHYCUJÍ ČÁSTICE VĚTŠÍ NEŽ 0,3 mm (= 300 nm). Patogenní VIRY o velikosti 20 až 150 nm těmito filtry PROCHÁZEJÍ A JSOU DISTRIBUOVÁNY PO CELÉ KABINĚ LETADLA (viz případ SARS).
2. Ani IATA (International Air Transport Association), ani ICAO (International Civil Aviation Organisation) NEMAJÍ ZÁVAZNÉ PŘEDPISY specifikující druh používaných filtrů a způsob jejich údržby, resp. INTERVAL jejich výměny. Obojí je na rozhodnutí provozovatele letadla. Přibližně u 10 % LETADEL NEJSOU při

výměně instalovány ani HEPA filtry. Výrobce doporučovaná životnost filtrů NENÍ VĚTŠINOU uživateli RESPEKTOVÁNA.

3. Za těchto podmínek může dojít k porušení integrity filtru a otevře se cesta k průchodu vegetativních forem bakterií a plísni skrze filtr a zamoření výfukových potrubí vedoucích vzduch do směšovače a směšovače samotného. Poté již nic NEBRÁNÍ PRONIKÁNÍ infekčních agens do kabiny a distribuci v ní, tak jak tomu bylo u námi vyšetřovaného filtru.
4. Podíváme-li se na cirkulaci vzduchu v kabině, PODMÍNKY pro aerogenní přenos infekce jsou POMĚRNĚ DOBRÉ.
5. NEBEZPEČÍ ŠÍŘENÍ INFEKCE hrozí i po vypnutí ventilátoru, kdy se pohyb vzduchu zastaví. Generační doba bakterií a způsob jejich dělení umožní exponenciální růst populace během velmi krátké doby.
6. KABINA JE PŘETLAKOVÁNA NA HODNOTY ODPOVÍDAJÍCÍ 2 500 až 3 000 m n. m., což lidský organismus vnímá jako vysokohorské prostředí. V prvních hodinách

pobytu je imunitní systém AKTIVOVÁN, aby po 4 až 5 hodinách přešel do ÚTLUMU. Tím se ZNAČNĚ ZVYŠUJE RIZIKO INFEKCE U DÁLKOVÝCH LETŮ.

7. Z hlediska bioteroristického útoku současná praxe značně zvyšuje jeho riziko.

### ŘEŠENÍ:

1. **NEPŘEKRAČOVAT VÝROBCEM UDÁVANOU ŽIVOTNOST HEPA FILTRŮ, ČÍMŽ BUDE ZARUČENA JEJICH DEKLAROVANÁ ÚČINNOST.**
2. **ÚPRAVA ČÁSTI VENTILAČNÍHO SYSTÉMU V OBLASTI FILTRU A SMĚŠOVAČE:**
  - A) **VLOŽENÍM NANOTEXTILNÍHO FILTRU ZA HEPA, což zajistí filtraci virů. Vzhledem ke krátké životnosti nanotextilních filtrů (zahlcení) bude nutná technická úprava vzduchotechniky s cílem zpřístupnit místo instalace pro častější snadnou výměnu těchto filtrů;**
  - B) **INSTALACÍ UZAVŘENÉHO UVB ZÁŘIČE ZA SMĚŠOVAČ.**



### MUDr. Emil Pavlík, CSc.

Akademický pracovník, Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Studničkova 7, Praha 2. Odborný asistent katedry zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva Fakulty biomedicínského inženýrství ČVUT v Praze se sídlem Sportovců 231, Kladno.

Kontakt: epavl@lf1.cuni.cz, pavliemi@fbmi.cvut.cz

Absolvent FVL UK v Praze 1980, obor Všeobecné lékařství, atestace z lékařské mikrobiologie II. stupně 1998, licence ČLK pro vedoucího lékaře-primáře 2000, CSc. v oboru Genetika 2001, školitel PGS v doktorském studijním programu FBMI.

### INFORMAČNÍ ZDROJE

1. Airbus A320 CBT 18. Ventilation System. Youtube.com (online) Atlanta: USA 2016 (cit. 2018-02-12).
  2. Cabin Air Quality – risk of communicable diseases transmission. IATA (online) International Air Transport Association IATA, 2018.
  3. Breathing more easily. The Economist (online) London: Kogan Page 2009.
  4. Hocking MB: Trends in Cabin Air Quality of Commercial Aircraft: Industry and Passenger Reviews on Environmental Health 2002, 17:1, s. 1–50.
  5. Thornley CN, Emsley NA: Recurring Norovirus Transmission on an Airplane Clinical Infectious Diseases 2011, 53:6, s. 515–520.
  6. Infectious Disease Mitigation in Airports and on Aircraft (online) Washington D.C. Transportation Research Board of the National Academies 2013 ISBN 978-030-9283-496.
  7. Air Quality During Commercial Flight In. Triposavvy (online) New York Copyright Agent (Legal) 2017.
  8. Madsen E. Environmental Microbiology: from Genomes to Biogeochemistry 2nd Ed. Hoboken New Jersey J. Wiley and sons 2015, ISBN 978-111-8439-630.
  9. Can Flying make you ill? In The Telegraph London (online), London 2015
- Více citací ve: Viktoriya Gvozdeva: Mikrobiální kontaminace filtru kabinového vzduchu dopravního letadla Airbus A319 po vyjmutí v rámci pravidelné servisní výměny. Bakalářská práce. Studijní program: Specializace ve zdravotnictví. Studijní obor: Zdravotní laborant. Vedoucí práce: MUDr. Emil Pavlík, CSc. FBMI ČVUT, Kladno 2018.



V roce 2018 jsme obhájili loňský výsledek v počtu aktivit fondu, za oněch 12 měsíců jsme zvládli uspořádat celkem 120 různorodých činností, a to také díky velké podpoře našich mediček a mediků, kteří s námi často vyjžděli. Mezi naše největší akce patřila kampaň „A žili šťastně“, díky níž jsme za podpory našeho partnera Sanofi mohli oslovit přes 20 tisíc účastníků 4 velkých festivalů. Necelá desítka tisíc z nich také zhlédla naše vtipné edukační video v nadačním stanu a dalších deset tisíc lidí bylo našimi medičkami vyzváno k návštěvě praktického lékaře a absolvování preventivní prohlídky. Druhou významnou událostí bylo vytvoření edukačního komiksu pro kluky, který bude v příštím roce distribuován mezi 11 000 žáků z pátých a šestých tříd základních škol po celé České republice. Velké díky zde patří Nadaci ČEZ, která nám darovala prostředky na vytvoření komiksů a jejich distribuci do škol, lektorkám z MP Education, které komiksy budou předávat v rámci svých přednášek „Na startu mužnosti“, a společnosti Candy Hoover, jež zafinancovala tyto přednášky školám, které si je ze svého rozpočtu nemohou dovolit. Velkou radost nám také už podruhé udělali kolegové z P&G, kteří spustili na podporu fondu kampaň „Holky děkujem“ a po jejím úspěšném ukončení nám do fondu darovali 228 tisíc Kč.

## Nadační fond Petra Koukala

PETR KOUKAL

Abychom nezůstali pozadu ani po odborné stránce, stali jsme se členy Asociace patientských organizací a pod záštitou Asociace veřejně prospěšných organizací ČR jsme absolvovali procesní analýzu a strategické plánování.



Nadační fond  
Petra Koukala

Pyšní jsme i na pokračující spolupráci s kolegy ze Zdravotnického zařízení Ministerstva vnitra, kteří naše edukační videa distribuovali v čekárnách praktických lékařů a také nás pozvali na dvě významné akce roku – Dny NATO a vojenskou přehlídku Bahna, kde jsme dohromady měli možnost poučit o prevenci přes 2 tisíce účastníků a na Dnech NATO ještě na místě udělat 350 zájemcům rozbor krve. Nejen na těchto dvou akcích nám výrazně pomohla společnost Roche zapůjčením diagnostických přístrojů a know-how.

Naše Manuály pro údržbu chlapy jsme i v roce 2018 rozdávali dětem ve školách, sportovcům na různých sportovních akcích i široké veřejnosti na hudebních



▲ Autor fotografie: Lenka Hatašová

festivalech či jiných kulturních a zdravotních akcích. O fondu se také mluvilo v desítkách velkých firem na besedách pro zaměstnance, stejně jako v médiích, kde jsem hovořil v různých rozhlasových či televizních pořadech o prevenci a o STK pro chlapy.

To vše nám umožnili především naši partneři Sanofi, Volkswagen, Nadace ČEZ, Procter & Gamble, Candy Hoover, Stance, Sun Marketing, Sassy Group, Roche, Alza, Dialog Jessenius, MSD a další, kterým jsme za jejich finanční i odbornou podporu velmi vděční.



O odbornou záštitu se nám postaralo Sdružení všeobecných lékařů, Diabetická asociace ČR, Všeobecná fakultní nemocnice, Lékařská fakulta Univerzity Karlovy, ČSAT a Výbor pro zdravotnictví Parlamentu ČR.

Za loňský projekt „Chyť se za nos koule“ si kolegové z agentury Stance odnesli třetí místo v kategorii Společenská odpovědnost a filantropie v soutěži Česká cena za Public Relations, kterou každoročně pořádá společnost APRA.

Velmi si vážíme každé možnosti o našem projektu pohovořit ve veřejném prostoru, ve škole, na firemním eventu, prostě kdekoliv. Každá malá zmínka může v důsledku třeba i zachránit život – viz můj vlastní příběh z roku 2010.

Také proto bychom v nadcházejícím roce rádi inspirovali a motivovali i další bývalé pacienty, aby se nestyděli své příběhy sdílet a pomáhat tak dalším. Například těm, kteří s nějakým těžkým osudem bojují a podobný příběh jim dodá kuráž, odvahy, vidinu dobrého konce a tím pádem také optimističtější přístup k onemocnění i léčbě. Věříme síle sdílení a i Vám, čtenářům, budeme vděčni za tichou poštu prevence a STK PRO CHLAPY.

Stejně tak vítáme pokračující spolupráci se společností Roche a jednání o dalších společných projektech.

Rádi bychom v budoucnu chtěli provozovat například STK KAMION PREVENCE,

kteř by celoročně brázdil města ČR a při každé zastávce by mohl vyšetřit studenty škol, zaměstnance firem, návštěvníky festivalů, náhodné kolemjdoucí apod.

Také bychom rádi našli partnery v různých společnostech, které vyrábějí nebo prodávají „cool chlapské produkty“ – textil, auta, sportovní potřeby, doplňky stravy apod. Chtěli bychom vybudovat spolehlivou a prověřenou síť služeb a produktů pro chlapy, které jim budou přinášet i nějakou přidanou hodnotu. A v ideálním případě i z každého prodaného produktu budou přispívat do našeho fondu a společně budeme tyto finance využívat při společných projektech promujících důležitost pravidelných preventivních prohlídek.



Věříme, že téma mužského zdraví si zasluhuje výrazně větší prostor ve společnosti, potřebuje odtabuizovat a musí se stát součástí běžného života už pro děti na základní škole. Mladým chlapcům a klukům by mělo být přirozené starat se o své zdraví, pečovat o sebe a při náznaku nějaké nejistoty bez ostychu oslovit odborníka. Dnes jsou takoví chlapi (mnohdy i dospělí muži) při takovém jednání spíše terčem posměchu a urážek, což je šokující.

Zamysleme se všichni, kde se stala chyba. Proč je v naší kotlině normálnější a společensky přijatelnější pít denně alkohol než

být abstinent? Slyšeli jste tento vtip? Angličan, Němec a Čech jsou u lékaře, který jim říká větu: „Tyto léky polykejte každých osm hodin.“ Angličan odpoví: „Yes, thank you.“ Němec odpoví: „Ja, danke.“ A Čech odpoví: „O.k., a můžu na ty léky pít alkohol?“ On to bohužel vlastně není úplně vtip, ale spíše realita.

Proč je normální pracovat přesčas a nemít čas sám na sebe? Proč se chlapi stydí mluvit o svém zdraví a často kvůli tomu přijdou k lékaři až v nejzazším možném termínu a zbytečně bojují o život nebo se potýkají se zásadními vedlejšími účinky léčby při pozdní diagnóze? Proč považujeme za prevenci chodit k doktorovi, až když nás něco bolí?

Často se setkávám s příběhy, které naštětí dopadly dobře, ale mohly dopadnout podstatně lépe... stačilo vyrazit k lékaři jen o pár týdnů dříve.

Můj názor a osobní zkušenost jdou ještě dále. Chodit pravidelně k lékaři neberu jako primární prevenci každého z nás. Za primární prevenci považuji spíše správné životní návyky, zdravou životosprávu, dobré mezilidské vztahy apod.

Jsem přesvědčen, že lidé by měli přemýšlet více o sobě a svém zdraví a méně se srovnávat se svými virtuálními přáteli na sociálních sítích nebo v zaměstnání či v médiích. Jistě by byl svět potom nejen zdravější, ale také šťastnější a klidnější. Pojďme se o to pokusit.

Petr Koukal



### Petr Koukal

Nadační fond Petra Koukala, V Kolkovně 921/3, Praha 1, [www.stkprochlapy.cz](http://www.stkprochlapy.cz)

Kontakt: [petr@koukal.cz](mailto:petr@koukal.cz)

Petr Koukal je bývalý český reprezentant v badmintonu, trojnásobný olympijský reprezentant a desetinásobný mistr ČR. Uprostřed skvěle rozjeté kariéry mu byla v roce 2010 diagnostikována rakovina varlat, hned druhý den musel podstoupit operaci a následně ještě 3 cykly chemoterapie. Dokázal se uzdravit a vrátit zpět do vrcholového sportu. Při zahajovacím ceremoniálu XXX. letních olympijských her roku 2012 v Londýně byl vlajkonošem české výpravy. Od skončení kariéry v roce 2016 se věnuje realizaci badmintonových eventů, motivačních přednášek, dnů zdraví a dalších aktivit pro velké nadnárodní společnosti, střední či malé firmy, vysoké, střední i základní školy i pro širokou veřejnost. V roce 2014 založil Nadační fond Petra Koukala a v rámci projektu „STK pro chlapy“ se snaží změnit myšlení a chování mužů. Mottem projektu je „Až se chlapi začnou starat o své zdraví jako o auta, budeme mít vyhráno!“. Současně také pomáhá svému badmintonovému nástupci Adamu Mendrekovi v cestě za jeho olympijským snem. Petrovou manželkou je biatlonistka Gabriela Koukalová.





### Všechny zde zdravím!

Dne 16. 2. 2018 jsem se setkal s Petrem Koukalem. A povídali jsme si o rakovině varlat. Přemýšlel jsem, zda sem mám dát svůj příběh, a pravda je ta, že se o tom má mluvit a nestydět se za to. Já jsem na rakovinu přišel ve vaně, když jsem se koupal a měl jsem najednou jedno varle velké cca 6 cm. A ještě mě bolela třísla. Šel jsem tedy k lékaři, který mě vyšetřil a ještě mě poslal do jiné nemocnice, kde mi potvrdili, že mám nádor ve varleti. A pak to začalo, ráno vyšetření a odpoledne jsem už ležel v nemocnici a čekal na operaci. Od rána jsem byl v jednom šoku. Když jsem se večer vzbudil, tak jsem děkoval za to, že žiji. Samozřejmě mi hlavou proletěla myšlenka, že jsem poloviční chlap. Když jsem se vrátil po pěti dnech z nemocnice, doma mě čekaly moje dvě milované děti.

Poté začalo ježdění do nemocnice na další vyšetření a odběry krve, vyšetření v tunelu, zda v sobě nemám ještě někde nádor, a čekalo se na histologii. To vše jsem absolvoval v Mladé Boleslavi. Když byl výsledek, tak jsem jel do Prahy do nemocnice na onkologii, kde jsme domlouvali druh léčby. S doktorem jsme se dohodli na dvou chemoterapiích. Když jsem přijel z Prahy domů, volal mi lékař, ať se ihned vrátím do Prahy, že mu to nedalo a zavolal do MB na patologii, aby nádor přezkoumali. Zjistili, že to byl zhoubný nádor ve třetí fázi. Že nemůžu na chemoterapii, ale že už musím na ozařování. Tady si mě zaměřili tak, aby ozařovali pouze místa, kde je to potřeba, aby se případně zničily náznaky dalších nádorů. No a začalo každodenní ježdění do Prahy, měl jsem 10 ozáření. Mohu potvrdit, že to pro mě bylo hrozné, byl jsem jak po třídení opici. Lékař mi řekl,

že až skončím s ozařováním, budu nějakou dobu neplodný. Noooo a ono prdlajs, mám další dvě krásné děti po rakovině, Sofinku a Rostíka. Dnes je to 6 let, co jsem po zákroku. A kdo nejvíce pomohl v těch nejhorsích chvílích, byly mé milované děti Adrianka a Pepino a můj tatka, mamka a mé dvě sestry. Za to jim chci hrozně poděkovat, nebýt jich, asi bych to nedal. Proč jsem to napsal? „Pánové, běžte hned zítra k lékaři a nechte se vyšetřit, ať nemusíte absolvovat to, co já!!!“ Všichni známi okolo mě, jak se doslechli, že mám rakovinu varlete, hned běželi k lékaři, některé jen bolelo v tříslech a měli to jen namožené ze sportu, ale udělali to a měli klid. PETŘE, vám děkuji za to, že jste se rozhodl o tom mluvit a nebát se reakce hloupých lidí. Sám budu rád, pokud i můj příběh třeba někomu pomůže. Moc děkuji,

Josef

### Dobrý den,

dovolte, abych se Vám představila. Jmenuji se Veronika Janšová a jsme úplně normální rodina z vesnice Fryčovice u Frýdku-Místku. Naše rodina se skládá z mých dvou synů Marka a Vojtěcha a manžela Martina. Chtěla bych Vám napsat příběh mého staršího syna Marka. Pokud bych jako matka měla charakterizovat svého syna, tak bych začala tím, že je to skromný, hodný, pozorný kluk – a hlavně bojovník. Ať už v životě, tak ve sportu. Narodil se 28. 2. 1999 ve Frýdku-Místku. Momentálně studuje 4. ročník gymnázia v Uherském Hradišti. Ve 4 letech začal hrát u nás na vesnici fotbal – snad jako každý kluk. Postupně bylo znát, že má v sobě nějaký talent. Pílí a snahou se mu dařilo postupovat výš a výš. Většinou hrával vždy s o rok i dva staršími kluky, než byl on sám. Hrál za klub MFK Frýdek-Místek, Sigma Olomouc – zde byl pouze na hostování. Nyní již druhým rokem hraje za 1. FC Slovácko v ročníku U19. Marek si za dobu 14 let, co se týče úrazů, snad už prošel i peklem. V červnu 2012 při fotbalovém utkání mu po srážce s brankářem, kdy dostal kolenem do rozkroku, a po delším léčení bohužel bylo nutné odstranit jedno varle. Toto varle měl vinou nárazu prasklé a už se to nedalo zachránit. Následně téhož roku, opět při fotbalovém utkání, mu sval urval sedací hrbol. Léčba probíhala bohužel tak, že skoro dva měsíce

musel ležet nehybně na lůžku. Po týdenní hospitalizaci jsem si Marka vzala na reverz domů. Snad nejkrásnější dárek na Vánoce byl ten, že se Marek 24. 12. 2012 postavil po skoro dvou měsících na nohy. Čas plynul... úrazy jako nadržovaný sval, pohmožděné koleno, něco na šití už ani nepočítám. V březnu a dubnu letošního roku si Marek stěžoval na bolesti v tříslech. Po konzultaci a vyšetření sportovním lékařem jsme se domluvili, že se Marek bude trochu šetřit a spíš rekreačně sportovat. Vyšetření ne naznačovalo nějaký závažný problém. Marek je celý život kluk, který jde do všeho naplno... ne nadarmo mu jednu chvíli říkali Kraken. Jak „vletěl“ vždy na to hřiště, nebyl k zastavení. Marek vždy hraje na postu útočníka. Letos vyhrál cenu za nejlepšího střelce Celostátní dorostenecké soutěže. Avšak po této krásné zprávě přišla zpráva zdrcující. Co se týče urologie, byl Marek od prvního úrazu pořád sledován – vše bylo v naprostém pořádku. V neděli 12. 6., než Marek odjel z domova nazpět do Uherského Hradiště, si postěžoval na bolest na varleti. Druhý den v pondělí nás lékař na urologii ihned vzal. Podstoupil vyšetření – a diagnóza zněla rakovina. Markovi, a ne jen jemu, se zhroutil celý svět. Začala různá vyšetření, odběry, CT, čekání na výsledky a hlavně rozhodnutí, co teď. Marka čekalo vyšetření na odběr do spermobanky, protože pokud by se to nedalo zachránit, tak aby někdy mohl mít rodinu. Tři dny hrůzy a strachu, kdy

čekáte na výsledky, zda nemá metastáze ještě někde jinde, snad nepřeji ani tomu největšímu nepříteli. Lékaři byli připraveni i na to, že když Marek bude ležet na sále, tak mu udělají odběr vzorku – doufali, že by to mohl být nějaký hematom – a pošlou to hned na histologii. Bohužel výsledky předoperačního vyšetření nelhaly – zhoubný nádor. Varle mu proto odstranili. Následovalo léčení. Marek podstoupil dva cykly chemoterapie s následnými dopíchy. První chemoterapii jsme ani nevěděli, že má. Ta druhá už byla bohužel horší. Marek pořad jen spal a spal a byl hrozně unavený. Nyní dochází na hormonální injekce. Jak nám na začátku diagnózy říkali, že Marek bude určitě zdravý, ale že si nezahraje dřív než koncem tohoto roku, tak... Marek již skoro dva měsíce hraje na plný výkon, hormonální léčba je velmi úspěšná, výsledky v boji s rakovinou taky – porazil ji. Momentálně dochází ještě na kontroly do Poruby k panu doktoru Hájkovi. Píšu Vám tento příběh, protože jsme Vás vždy dávali Markovi jako příklad. Dlouho jsem se Vám rozhodovala napsat, a proto se Vám omlouvám, že obtěžuji, a zároveň děkuji, že jste si našel čas a tento e-mail přečetl až do konce. Jsme velcí fanoušci Vaší ženy a už se těšíme, až ji uvidíme v televizi. Přejeme Vám oběma HODNĚ ZDRAVÍ, štěstí a lásky. S přáním všeho nej nej nej Vás zdraví Janšovi.

Janšovi



I přes nesporné úspěchy provázelo zavádění technologie PCR do rutinní diagnostické praxe množství někdy i vášnivých diskusí jak mezi laickou, tak odbornou veřejností, navíc s na první pohled přesvědčivou argumentací na obou stranách. Firemní marketing čelil i třetímu proudu kritiků z řad laboratorních vývojářů výzkumných pracovišť, kteří poukazovali na vysokou cenu komerčních produktů, většinou nemajíce ponětí o tom, že využíváním svých vlastních testů pro rutinní diagnostiku vážně porušují právo na ochranu duševního vlastnictví autora technologie, potažmo současného držitele práv na patentovou ochranu. A protože peníze světu vládnou, dovoluji mi dnes podělit se s vámi o názory nejen na ekonomickou problematiku rutinního využívání této nové diagnostické technologie.

## Polymerázová řetězová reakce v průběhu třiceti let od první publikace – 7. část

MUDr. EMIL PAVLÍK, CSc.

Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK a VFN, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky VFN v Praze, Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva FBMI ČVUT Kladno

### *Obecné dogma: Technologie PCR je finančně nákladná.*

V první polovině devadesátých let minulého století hospodaření diagnostických laboratoří sestávalo z investičních, provozních a mzdových prostředků, zisk býval minimální, korporátní daň z příjmu nízká nebo nulová. Investiční prostředky se plánovaly a přístroje se pořizovaly do vlastnictví laboratoře. Z doby reálného socialismu přetrvávala deformovaná hodnota lidské práce, která byla značně podhodnocena (k úplnému narovnání fakticky nedošlo dodnes). Tento fakt do značné míry zpožďoval zavádění nových technologií do práce rutinních laboratoří, neboť nutné investice do vybavení byly vnímány jako příliš nákladné. Tím u řady laboratoří docházelo postupně ke značnému podfinancování. Záchranou v této situaci byl buď pronájem potřebného zařízení, nebo jeho postupné splácení při pravidelném odběru reagenčních souprav, známé též jako reagenční leasing.

Každý výrobce, který vyvíjí určitý produkt, má zájem na co nejkratší návratnosti

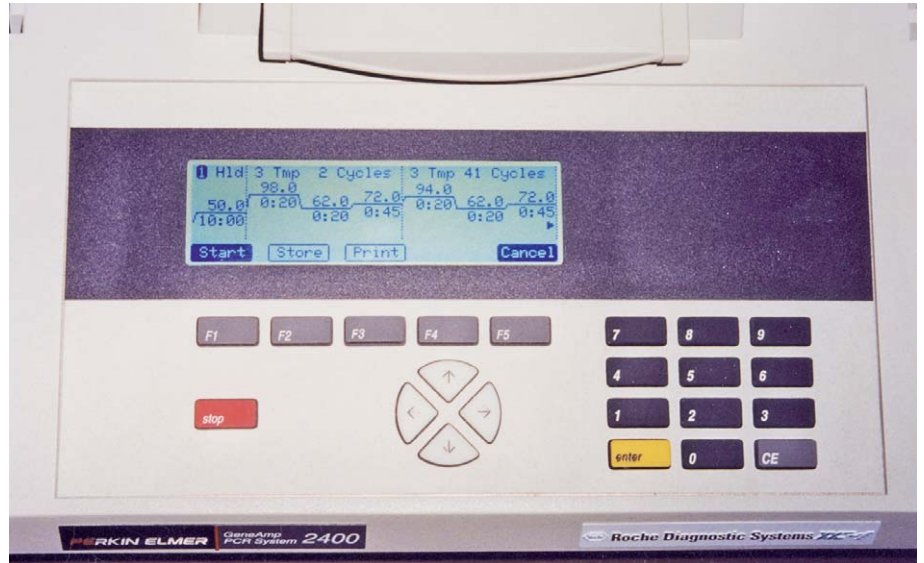
prostředků vložených do výzkumu a vývoje. Cena produktu však může být vysoká jen tolik, kolik je zákazník ochoten akceptovat. Pokud jde o obdobný výrobek, jaký již je na trhu, přizpůsobí se i cena. Má-li výrobce na trhu monopolní postavení, například díky patentové ochraně, a přichází se zcela novým produktem, zpravidla ani v tomto případě netvoří cenu zcela volně, ale vztahuje ji většinou k tzv. zlatému standardu (tedy nejlepšímu výrobku nebo postupu na stávajícím trhu, který má v úmyslu nahradit). Dalším z vlivů působících na katalogové ceny jsou regulační opatření na trzích jednotlivých zemí. V oblasti zdravotnictví jde většinou o stanovení maximálních cen na léky a in vitro diagnostika, jako je tomu např. v Nizozemsku. Pokud chce dodavatel v daném teritoriu prodávat, nezbyvá mu než regulované ceny akceptovat. Pak vznikají bizarní situace. Kolega zastupující farmaceutickou firmu v Beneluxu mi potvrdil, že ceny, za které prodává v Nizozemsku, jsou výrazně nižší než v sousední Belgii, která maximální ceny stanoveny nemá.

Výhodou je i vlastní obchodní zastoupení producenta v zemi prodeje, čímž odpadájí náklady na marži prostředníka, pokud ovšem zákazník nakupuje přímo od výrobce. Případy, kdy za účelem údajného soustředění nákupu byly v ČR zakládány zdravotnickými zařízeními různé společnosti (zpravidla s ručením omezeným), byly dostatečně medializovány a některé z nich i trestně stíhány, takže jsou čtenářům poměrně dobře známy.



Přibližně do roku 1998 se ředitelům velkých nemocnic v Česku, zápasícím s rozpočtem i stále narůstajícím zadlužením, vyplatilo zadávat laboratorní vyšetření mimo vlastní laboratoře, neboť zdravotní pojišťovny je proplácely (byť často s několikaměsíčním zpožděním) přímo subjektům, které vyšetření provedly. Odvážní majitelé privátních laboratoří získali zdroje pro modernizaci, podfinancování komplementu ve velkých nemocnicích se naopak prohloubilo. Se zavedením platby za diagnózu u hospitalizovaných pacientů, kdy náklady za laboratorní vyšetření jsou agregovány do platby pojišťovny a částky proplacené cizím subjektům za laboratorní vyšetření jsou odečítány, docenil management velkých nemocnic opět svůj komplement a snaží se většinu vyšetření realizovat „doma“.

Testy Amplicor Roche měly od začátku výhodu v poměrně malé náročnosti na doplnění přístrojového vybavení. Finální detekce biotinylovaného produktu amplifikace probíhala na zařízení pro enzymovou imunoanalýzu (ELISA), které bylo v laboratořích běžné, nově pořídit bylo třeba prakticky jen termocyklér. Na deficit investičních prostředků pro nákup cykléru Perkin-Elmer 9600 v některých laboratořích reagoval dodavatel velmi pružně, když na trh uvedl menší model Perkin-Elmer 2400, cenově kolem 175 000 Kč, který měl navíc oproti předchozímu typu na displeji grafické zobrazení celého amplifikačního programu včetně indikace právě probíhajícího procesu (obr. č. 1). Tím se samozřejmě zpřístupnil i reagenční leasing. S tím, jak rostlo spektrum testů Amplicor, stoupala laboratořím klientela a leasing se splácel snáze. Klienti Roche Diagnostics uzavírali smlouvy po zralé úvaze na základě analýzy objemu vyšetření a v naprosté většině neměli problémy. Vzpomínám si však na postup jedné konkurenční firmy, která v rekordně krátké době rozmístila velké množství své amplifikační techniky v laboratořích zákazníků a následně se snažila zpříšňovat podmínky odběru



▲ Obr. č. 1: Ovládací panel cykléru Perkin-Elmer 2400

reagenčních souprav. Skončilo to tak, jak muselo: insolvenčí celé řady klientů, stahováním techniky různého stupně opotřebení do skladů a následně výměnou ředitele zastoupení firmy v ČR.

Management některých nemocnic s ústavní lékárnou vymyslel zvláštní regulační opatření: diagnostické soupravy se dodávaly do lékárny, která pak nákladovému středisku (laboratoři) přiřazila k ceně svou maximální procentní marži. Takto upravená vyšroubovaná cena byla účinným argumentem pro omezení počtu vyšetření, přestože jsme při přípravě kódů do sazebníku zdravotních pojišťoven vycházeli z nákladů na 1 vyšetření a nikoli na 1 test (od celkového počtu 96 testů v soupravě se odečetl příslušný počet nutných kontrol v každém běhu). Takže ekonomická rentabilita byla zaručena již od 6 současně vyšetřovaných vzorků, což respektovala i dojednaná cena v případě reagenčního leasingu. Počet na cenu navěšených doplňkových „pijavic“ popsanych výše však pochopitelně posouval rentabilitu vyšetření jinam.

Nešlo však jen o samotnou cenu soupravy testů. Kliničtí zákazníci indikují ta vyšetření, jejichž přínos pro léčbu pacienta je evidentní. U PCR je to především rychlost a citlivost, která se promítá do doby

odezvy. Ta se výrazně prodlužuje, pokud laboratoř vyčkává, až se nashromáždí minimální, v jejích podmínkách rentabilní počet vzorků. Tím se ale ztrácí jedna z hlavních výhod této vyšetřovací techniky, neboť již (pokud zrovna nejde o srovnání s klasickou kultivací MTBC) není rychlejší než klasická vyšetřovací metoda, takže vyvstává otázka, co se indikací získalo. Odpověď vede často k rozhodnutí příště neindikovat, čímž se dále snižuje počet požadovaných vyšetření a rentabilita pro laboratoř se dále zhoršuje.

### Krankenkassen laufen Amok!

Při návratu ze školení v Kaiseraugstu jsem po přísné bezpečnostní kontrole uplatňované na letišti Kloten v Curychu u letů do rizikových destinací (všechny linky do Izraele, USA a do Prahy – sídla Radio Free Europe a Radio Freedom) usedl do pohodlné sedačky Airbusu společnosti Swissair a letuška mi nabídla noviny. Vybral jsem si Blick, kde mne na titulní straně zaujal výrazný nápis „Krankenkassen laufen Amok!“, odkazující na celostránkový článek uvnitř listu. Stručně shrnu, o co šlo. Stejně jako v ostatních zemích se systémem veřejného zdravotního pojištění i ve Švýcarsku každoročně vzrůstají náklady na zdravotní péči.



To se pojišťovněm pochopitelně nelíbí, takže mají snahu čelit zvyšujícím se nákladům, a protože náklady za určitou část roku ukázaly strmější nárůst ve srovnání se stejným obdobím roku minulého, rozhodly se proplatit všem poskytovatelům zdravotní péče pouze 80 % vykazovaných výkonů. To narazilo na velký odpor a poskytovatelé za pomoci medií burcovali veřejnost proti bezprecedentnímu nehoráznému postupu nejen porušujícímu platné smlouvy, ale i ohrožujícímu zdraví pacientů. Noviny jsem odkládal s úsměvem. Vzpomněl jsem si totiž, jak se v naší soukromé laboratoři radujeme, když nám pojišťovny zaplatí alespoň 80 % zdravotní péče. Vratky tehdy tvořily běžně 25 až 30 %, třetinu z toho jsme opravili poměrně snadno, u druhé získání podkladů pro opravu vyžadovalo značné úsilí a vymáhání zbytku by bylo pro laboratoř tak nákladné, že se to nevyplatilo. Již nasmlouvání výkonů nového vyšetření nebylo bez problémů. A to jsme vlastně měli štěstí, neboť revizní lékaři zdravotních pojišťoven pro Prahu byli až na výjimky z oboru, takže argumentům rozuměli. Vzpomínám si na jednoho kolegu z nejmenovaného regionu, který si, když jsem se mu snažil radit, čím argumentovat při jednání s pojišťovnou, posteskl: „Pane doktore, představte si ale, že můj revizní lékař je gynekolog...“

Již jsem se zmínil o minimálním nebo nulovém zisku laboratoří. To mělo pochopitelně své důvody vycházející z trpkých zkušeností. I nám se stalo, že jsme v účetní závěrce vykázali zisk, který byl řádně v příslušném termínu zdaněn. Zřejmě jsme v té době byli raritní natolik, že jsme upoutali pozornost. Přestože u nás následně proběhla kontrola revizním lékařem a naše výkaznictví bylo shledáno bez závad, zapomněli jsme, že žijeme v Česku, kde se úspěch nepromítá. Po půl roce přišel náš účetní dopis z VZP, v němž se nám sdělovalo, že dodatečná kontrola zjistila zdvojené vykazování výkonů PCR vyšetření očí na chlamydie ve stejný den na stejné

rodné číslo. VZP nárokuje vrácení platby za dublované výkony u všech konkrétních rodných čísel za uplynulý rok a uděluje nám zároveň pokutu ve výši neoprávněně vykázané péče. Proti rozhodnutí je možno se odvolat do 15 dnů od doručení, což nemá odkladný účinek, a částka bude stržena z příští platby. Tolik volná citace dopisu. Brutalita spočívala v tom, že dopis odeslaný 30. 6. byl doručen 2. 7. převzetím na recepci, a tím, že byl adresován na jméno, nebyl otevřen. Následoval víkend a dva státní svátky, na něž navazovala dovolená paní účetní, takže jej otevřela poslední možný den pro odvolání. Ani rychlá reakce s argumentací, že jak oční klinika, tak ambulantní oftalmologové indikovali vyšetření každého oka zvlášť a že ani jeden pacient není jednooký, navíc výkaz výkonů byl odsouhlasen revizním lékařem pojišťovny, nepomohla. Několikasettisícová částka nám byla odečtena z dávky za červenec, kdy je objem vyšetření jeden z nejnižších v roce, a v srpnu, kdy peníze dorazí na konto, se laboratoř potřebuje zásobit materiálem na září, které je naopak výkonově vysoké. Takže jsme se ocitli v insolventi. Nezaplatili nám vlastně ani jediné vyšetření očí za celý rok a nechali nás státu zaplatit daň z příjmu, který nebyl. I my jsme se poučili: Protože mezi pojištěnci nelze předpokládat převahu Kyklopů a oftalmologové tvrději požadují výtěry z každého oka zvlášť, nezbyvá než u pacienta vyšetřit levé oko v pondělí a pravé oko ve středu. Co je proti tomu švýcarských 80 %?

### *Co přesvědčí zákazníky aneb co jsou ochotni vydržet*

Testy AmpliCor/COBAS® AmpliCor měly ještě jednu obrovskou výhodu oproti konkurenci. Tou byl uživatelský komfort. Kdo je jednou zavedl, velmi nerad se jich vzdával. Pokud vzal na milost konkurenční výrobek, pak většinou jen proto, že určitý test v portfoliu Roche chyběl a poptávka po daném vyšetření byla vysoká, takže

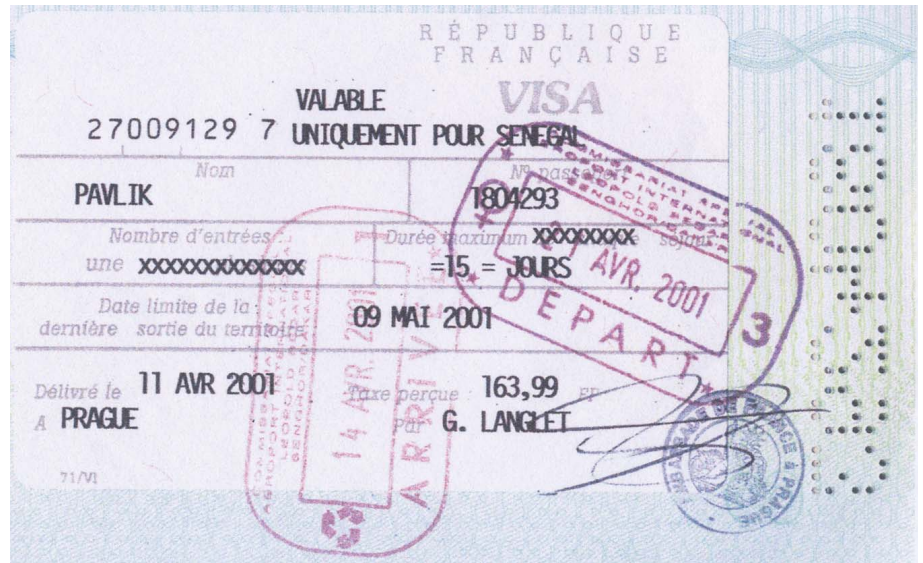
jej bylo nutno zavést stůj co stůj. Poté, co antimonopolní úřad posvětil akvizici Boehringer Mannheim, nastala v roce 1999 fúze obou firem. V jejím rámci bylo rozhodnuto přesunout centrální sklad z francouzského Strassbourgu do německého Mannheimu. Akci se nakonec podařilo zvládnout, ale – popravdě – děly se věci. Pomineme-li nepřilíš srdečnou vzájemnou komunikaci Francouzů s Němci, obzvláště z těchto dvou regionů, danou historickými zkušenostmi, po celou dobu stěhování jsme nevycházeli z překvapení. V Mannheimu bylo potřeba angažovat nové zaměstnance na pozice skladníků, promiňte, logistiků. Uchazeči o místo, kteří byli většinou posíláni úřadem práce, o tuto práci zájem neměli. Nabídku museli přijmout, aby si zachovali nárok na sociální dávky. Jejich snahou bylo být co nejdříve propuštěni pro neschopnost plnit požadavky zaměstnavatele, což se ovšem nesmělo dít příliš okatě, aby nebylo možno prokázat úmysl. Výsledkem byla zdržená vyřizování objednávek, neúplné dodávky, sestavení nekompatibilních složek do kompletu, nedodání klíčových komponent testů, výpadky celých dodávek atd. Zákazníci si zčásti zoufali, zčásti láteřili, pracovníci pražské kanceláře Roche Diagnostics trávili pracovní a částečně i mimopracovní dobu spojením různými komunikačními prostředky s Mannheimem, vyřizováním reklamací dodávek a omluvami zákazníkům. Žasli jsme, kam se poděla pověstná německá „Gründlichkeit“, přesnost, pečlivost, smysl pro pořádek. Stav trval bezmála půl roku. Když se v mezidobí konala v Mannheimu porada, RNDr. Tomáš Petr upozornil na skutečnost, že tento stav již ovlivňuje obchodní výsledky. Vzápětí byl dotázán, o kolik přichází. Uvedl částku přes 2 miliony korun. Byl vyzván, kolik že to je v eurech. Na přepočtených 60 000 dle tehdy platného kurzu se ozvalo pouze: „Bitte?!“ Opět se ukázalo, že český trh svou velikostí není rozhodující. Přes všechny problémy, které zákazníkům Roche přinášela tato situace a které museli, mnohdy se značným úsilím, řešit, neztratila firma ani jediného.



## Moje práce v Africe

Když jsem v rámci kurzů PCR říkal, že testy AmpliCor jsou tak robustní, že je možné je úspěšně provádět i v méně příznivých podmínkách, pokud je k dispozici zdroj elektrické energie a čisté vody – třeba v subsaharské Africe, netušil jsem, že v budoucnu dostanu příležitost ověřit své tvrzení v praxi. V polovině února roku 2001 mi zazvonil mobil. Volal MUDr. Pavel Henčl, po zrušení vídeňské filiálky Roche Diagnostics pro střední a východní Evropu pracující v Mannheimu. „Jel bys do Afriky?“ zněla otázka. „Zatím jsem jel všudam, kam jste mě poslali, tak proč ne do Afriky, ostatně jsme tam už spolu byli – v Egyptě,“ odpověděl jsem. „Kam je to tentokrát?“ „Do Senegalu.“ „Tak to bude problém – není Senegal náhodou frankofonní? Francouzštinu na rozdíl od tebe neovládám, a když se nedomluvíme, nebudu tam moc platný...“ Pavel pokračoval: „Ten doktor, co volal, se mnou mluvil anglicky. Já mu zavolám, zjistím, co a jak, a dám ti vědět.“ Považoval jsem tuto záležitost za více méně skončenou a věnoval jsem se rutinní práci v laboratoři. Za pár dní se opět ozval Pavel Henčl: „Tak už jsem s tím doktorem mluvil a on říká, že angličtina je O.K. Takže pojedíš?“ „Tak jo.“ „Dobře. My ti zajistíme hotel v Dakaru a pošleme letenku. Vízum si ale musíš zařídit sám.“

Začal jsem zjišťovat, kde je velvyslanectví République du Sénégal pro Česko. Výsledek moc optimisticky nevypadal. Velvyslanec pro ČR sídlil v Moskvě, další možností bylo vízové oddělení v Berlíně. Na ministerstvu zahraničních věcí mi poradili, že v konzulárních záležitostech zastupuje Senegal velvyslanectví Francouzské republiky v Praze, abych to zkusil tam. Tak jsem vyrazil na Malou Stranu. Moje žádost o senegalské vízum byla za týden vyřízena (obr. č. 2). Termín odjezdu byl stanoven na 14. duben. Letenku Praha–Brusel–Dakar–Brusel–Praha jsem si vyzvedl v pražské kanceláři belgické letecké společnosti SABENA. Překvapila mne vpravdě nekřesťanská cena tohoto



▲ Obr. č. 2: Francouzské vízum výlučně pro Senegal

jízdního dokladu. Úsekové lety Praha–Brusel a Brusel–Praha byly sice business třídou, oba šestihodinové lety do Dakaru a zpět však byly v ekonomické třídě. Tuto linku pro SABENU provozoval smluvní přepravce, charterová letecká společnost, která sice vlastnila letoun Airbus A310-300, avšak v jednotřídním uspořádání pro charterové lety. Dodnes nevím, za co těch v přepočtu 127 500 Kč inkasovali. Nemám v úmyslu čtenáře šokovat, cenu zde uvádím ze dvou důvodů: jednak jako ilustraci nákladů na obchodní kontakty chudého Jihu s bohatým Severem (a vice versa), jednak proto, že bych se s vámi rád podělil o historku, která s tím souvisí. Kolegové z interní kliniky si po mém návratu, než jsem stačil zpracovat vyúčtování pracovní cesty, ode mne vypůjčili kupon pro cestujícího s uvedenou cenou, aby jej ukázali svému africkému kolegovi, který byl v té době postgraduálním studentem, s tím, že mu doporučují, aby si svou kariéru i budoucí život zajistil v Česku, protože nákup letenky domů mu jeho příjmy určitě neumožní. Kolega nejprve oponoval, nad cenou letenky kroutil hlavou, záhy však rady zřejmě poslechl. Dnes je pan docent primářem významné české kliniky vnitřního lékařství.

V týdnu před odletem jsem se několikrát spojil s Roche Diagnostics Mannheim,

abych se ujistil, že hotel v Dakaru je zajištěn i s bezhotovostní úhradou faktury přímo firmou z Mannheimu. Byl jsem ujištěn, že je vše zařízeno. Kopii rezervace v dakarském hotelu Le Méridien Président jsem obdržel faxem. Zároveň jsem byl pověřen instalací systému COBAS® AmpliCor, zácvikem obsluhy a zavedením testu CT/NG. Naštěstí jsem před odjezdem spěchal, takže jsem podklady pro školení netřídil a rozhodl jsem se vzít s sebou celý pořadač. Jak se později ukázalo, dobře jsem udělal.

Po zhruba hodinovém poledním letu z Prahy do Bruselu, při němž chvíli hrozila komplikace v podobě odklonění letu z letiště Zaventem na záložní bruselské letiště v Charleroi, k čemuž nakonec nedošlo, a necelých dvou hodinách čekání konečně nastupuji do letadla mířícího do Dakaru. Se mnou ještě asi 15 Evropanů, 20 Asiátů a odhadem 150 Afričanů v dlouhých, převážně bílých košilích. Mám sedadlo 5A, což je u okna. Na vedlejší sedadlo směrem do uličky usedl „košiláč“. Muž asi padesátiletý, na levé ruce dva pánské zlaté prsteny s velkými kameny, kolem krku masivní zlatý řetěz, v ruce růženec. Let probíhal klidně, pro hustou oblačnost nad větší částí Evropy toho mnoho vidět nebylo. Po přeletu Gibraltarské úžiny míříme nad oceánem podél afrického pobřeží



▲ Obr. č. 3: Mosquée de la Divinité



▲ Obr. č. 4: Kongresové centrum krále Fahda

na jihozápad. Nad Kanárskými ostrovy se začalo smrákat, v letadle se rozsvěcí a letušky roznášejí registrační karty k vyplnění (jsou velmi podobné britským Landing Cards). Vyndávám z kapsy propisku, cestovní pas kvůli číslu, které si ani po čtyřech letech nepamatuji, a začínám vyplňovat. Když končím, tahá mě můj soused za rukáv saka. Pohlédnu na něj a vidím prosebné oči. Myslím si, že chápu, a podávám mu propisku. S prosbou v očích mi podává svůj senegalský pas a kartu. Stále nechápu, co prosebné oči žádají. Muž otvírá svůj pas na stránce s osobními údaji. Ukazuje střídavě na ně a na kolonky v kartě. Konečně jsem pochopil! Ve svých 46 letech se poprvé v životě setkávám s negramotným, který na mnou vyplněnou kartu připojuje do kolonky podpis jakýsi klikyhák. Tento má navíc v pase v kolonce povolání napsáno „obchodník“! Evidentně existují státy, kde jedinou kvalifikací obchodníka je naučit se svůj podpis.

V Dakaru přistáváme za úplné tmy. Jsme na 15.° severní šířky a v období mezi jarní a podzimní rovnodenností se zde stmívá dříve než u nás. Letiště je velmi slušně vybaveno, má dvě vzletové a přistávací dráhy, z nichž ta tříkilometrová umožňuje start i přistání dopravních letadel prakticky všech druhů a velikostí. Ještě v osmdesátých letech minulého století sloužilo toto letiště k mezipřistání většiny linek z Evropy a Blízkého východu do Jižní Ameriky

a na jih Afriky a bylo velmi frekventované. Od poloviny padesátých do konce šedesátých let sem vedly i linky Československých aerolinií (Praha–Dakar–Freetown, Praha–Dakar–Accra a Praha–Dakar–Conakry), takže proudový Tupolev TU 104A nebo turbovrtulový Iljušin IL-18 zde byly k vidění téměř každý den. Soumrak letiště nastal se zavedením moderních velkokapacitních letadel s dlouhým doletem, schopných vydržet ve vzduchu až 14 hodin, což umožnilo létat do Jižní Ameriky i Afriky bez mezipřistání. Aéroport international Léopold-Sédar-Senghor se postupně stal letištem regionálního významu, čímž nebyl důvod do něj investovat. Navíc nová výstavba převážně rodinných domů pro střední vrstvy ve čtvrtích v okolí přinášela protesty a stížnosti obyvatel proti rozšiřování letiště. Když se po vybudování turistických letovisek na severovýchodním pobřeží Brazílie zvýšila poptávka po letech charterových společností, zpravidla nedisponujících velkokapacitními dálkovými stroji, význam Dakaru opět vzrostl. Proto bylo vybudováno a v roce 2017 otevřeno 40 km východně od města nové letiště Aéroport international Blaise Diagne a letiště v Yoffu převzalo senegalské vojenské letectvo.

Po bezproblémovém průchodu celní a pasovou kontrolou mne v letištní hale přivítal dr. Tidiane Siby, majitel laboratoře BIO 24. Vzhledem k pokročilé době mě odvezl

do hotelu Le Méridien Président, vybudovaného na nejzápadnějším cípu kontinentální Afriky – mysu Cap Vert. Kdo očekává mohutný skalní útes, jakým je evropský Cabo da Roca, je Zeleným mysem zklaman. Celý Dakar, třímilionová metropole ležící na trojúhelníkovém poloostrově o rozloze asi 500 km<sup>2</sup>, má průměrnou nadmořskou výšku 11 metrů. Navíc ten skutečně nejzápadnější výběžek Afriky vůbec zelený není. Dnes je určitě zelené golfové hřiště na severní straně mysu vedle hotelu Le Méridien Président, v oblasti nazývané Les Almadies, které se v době mého pobytu budovalo. Hotel byl postaven jako ubytovací zařízení ke Kongresovému centru krále Fahda, ležícímu v sousedství a vystavěnému za finanční podpory Saúdské Arábie pro zasedání Organizace africké jednoty v roce 2000 (obr. č. 4).

Ráno po snídani jsem vyšel před hotel, kde již čekal dr. Siby. Usedl jsem k němu do vozu a během půlhodinové jízdy do laboratoře v centru Dakaru jsem vstřebával první dojmy z nového prostředí. Krátce po výjezdu ze čtvrti Yoff zahlédnu dvojici zajímavých věží. Čtyřproudá pobřežní asfaltka nám za chvíli umožnila velmi dobrý výhled na architektonicky pozoruhodnou stavbu na pláži u oceánu – měšitu Mosquée de la Divinité (obr. č. 3). Cesta byla překvapivě kvalitní a čistá. Jak jsme se blížili k centru města, provoz houští, avšak dopravní zácpy se netvořily.



Dr. Siby mě vezl po pobřežní Route de la Corniche Ouest, odkud jsme odbočili na Av. Cheik Anta Diop a pokračovali do centra směrem k přístavu. Po Rue Gallandou Diouf jsme se dostali až k Rue Dr. Theze, kde v čísle 13 sídlí BIO 24 Laboratoire D'Analyses de Biologie Médicale. Na této adrese ji najdete dodnes. V době mé návštěvy pracovali v laboratoři včetně majitele dr. Sibyho 3 lékaři, 2 bioanalytici, 9 laborantek a 2 recepční. Laboratoř má svoji ordinaci, v níž se provádějí odběry. Poskytuje kompletní služby v oborech biochemie, hematologie, imunologie, mikrobiologie. Díky nepřetržitému provozu mají vyšetření krátkou dobu odezvy. Přístrojové vybavení bylo špičkové, odpovídající velikosti laboratoře. Na dvoře stály 3 dieselagregáty s příslušnou zásobou. Na můj dotaz mi dr. Siby vysvětlil, že rozvodná síť v Dakaru je často přetížená a dochází k výpadkům dodávky proudu. Proto mají všechno zapnuto přes UPS, které udrží provoz do náběhu záložních agregátů. Celou laboratoř utáhnou dva, třetí je zde pro případ poruchy některého z nich. Pochopil jsem, že přede mnou stojí špičkový manažer schopný zajistit téměř všechno (obr. č. 5).

Zajímá mě, které prostory v laboratoři vyhradí pro PCR. Byl jsem odkázán na poledne. Po obědě jsme šli do vedlejšího činžovního domu pocházejícího z francouzské koloniální éry. Ten dům s mezaninem

by mohl stát v lepší čtvrti kteréhokoli města ve Francii. A mezanin, kde dr. Siby pronajal celé podlaží, se stal sídlem PCR laboratoře. Když jsem vstoupil, byl v ní čilý ruch. Servisní technik Roche Diagnostics pro region Ing. Rašíd Atmani z Maroka měl již systém připravený a školil laboranty v ovládní a základní údržbě. Já přicestoval v neděli. Protože Senegal je muslimská země, volným dnem není neděle, ale pátek. Takže nic nebránilo tomu, aby servisní technik z Maroka přicestoval v sobotu. První překvapení tedy bylo příjemné. Následně přišel šok. Doktor Siby došel ke dvoudvřevé americké chladničce, otevřel ji a řekl: „Byl bych rád, aby až budeš v neděli odjíždět, tohle všechno fungovalo.“ V lednici byly všechny diagnostické soupravy, které společnost Roche v té době prodávala. Jak se mi vyplatilo vzít s sebou kompletní školící sady!

Nastal týden plný práce. Z hotelu jsem vyjžděl ještě za tmy, vrátil se po deváté večer. Každý test se dělal 3x: jednou moje demonstrace, pak personál pod mým dohledem a nakonec personál samostatně. V průběhu demonstrace po založení vzorků do stroje probíhaly přednášky. Ve zbytku dne jsem cestoval po městě – dr. Siby mi představoval své zákazníky. Tak jsem navštívil dakarskou pobočku Pasteurova institutu v Paříži, univerzitní nemocnici, úrazovou nemocnici a další zařízení. Když se vyčerpá seznam odborných institucí,

přišly na řadu místní památky. Nemohl-li doktor Siby, doprovázel mě některý ze zaměstnanců laboratoře. Péče o mě byla zorganizována skvěle. Tak jsem si prohlédl město a navštívil i ostrovní pevnost Gorée, kde se soustřeďovali otroci pochyťaný v Africe před transportem loděmi do Ameriky. Strašné místo. Téměř posvátné pro Afroameričany. V jednom z domků jsou umístěny fotografie z návštěvy amerického prezidentského páru. William Jefferson Clinton se na tomto místě oficiálně Afričanům omluvil za otroctví a s ním související bezpráví. Byl jsem pozván i do rodiny dr. Siby, poznal jsem jeho manželku a čtyři potomky. Žili v krásném rodinném domku v Yoffu, v té nové rezidenční čtvrti u letiště. Senegalské střední a vyšší střední vrstvy, kterým se dostalo vzdělání a mají dobrou práci, sledují pravidelně francouzskou televizi a další média a snaží se žít jako v Evropě. Musím říci, že se jim to daří. Ale i nižší vrstvy se pomalu zvedají. Na ulicích je relativní pořádek a minimum konfliktů. K tomu přispívá i absence alkoholu. 90 % Senegalců jsou šitější muslimové, společenský systém je označován jako mírumilovná islámská demokracie. Hidžáb nebo burku zde nevidíte. A co víc – slaví se zde křesťanské Vánoce.

Podíváte-li se na mapu, zjistíte, že Dakar je trojúhelník visící do oceánu. Přestože leží v tropické oblasti, oceánské větry ochlazují ovzduší a větry ze



▲ Obr. č. 5: Doktor Tidiane Siby

▲ Obr. č. 6: Část laboratoře BIO 24



severovýchodu od Sahary jsou suché. Díky tomu je podnebí snesitelné. Proto je Dakar sídlem diplomatických zastoupení i pro další státy západní Afriky. Početný diplomatický sbor včetně rodinných příslušníků patří samozřejmě ke klientele laboratoře BIO 24, a to ke klientele slušně platící, stejně jako pracovníci mezinárodních organizací zastoupených v Dakaru.

Zácvik úspěšně pokračoval. Ve čtvrtek jsme se rozloučili se servisním inženýrem Atmanim, který odcestoval zpět do Maroka. V pátek se drží jen pohotovostní služba. V poledne pro mne přijela manželka dr. Siby s dětmi a jelo se na výlet. Asi 40 km severovýchodně od centra Dakaru leží jezero Lac Rosé. Celý Senegal leží v nížině a protéká jím několik stálých a sezonních řek. Nicméně hlavní řeka Gambie, kromě horního toku, zemi nepatří. Na jejích březích se usadili Britové a dnes je zde samostatný stát britského společenství národů



▲ Obr. č. 7: Ulice Dr. Theze v centru Dakaru

Gambie. Pokus o vytvoření společného federálního státu Senegambie ztroskotal. Kromě řek jsou na území Senegalu jezera. Pokud jsou zásobována pouze sezonním pramenem, voda v nich sice vydrží, nicméně značný povrchový odpar způsobí vyšší



▲ Obr. č. 8: Mezinárodní spolupráce u analyzátoru Cobas® Amplicor (Atmani – Maroko, Siby – Senegal, Pavlík – ČR a Cesse – Zair)

koncentraci solí. Jezera jsou tedy slaná. To je i případ Lac Rosé. Desetinásobná koncentrace soli mu dává typickou růžovou barvu. Všudypřítomný business se projevuje ruční těžbou soli ze dna jezera, což je činnost dost riziková.

Na silnici je vidět téměř vše, co má kola: od kár tažených oslem po nejmodernější osobní vozy a kamiony, ovšem s nákladem vysoce naloženým, obvykle do 4 metrů. A nahoře ještě většinou stojí rozkročen až dvoumetrový chlap. Osobní hromadnou dopravu obstarávaly v době mé návštěvy lehké nákladní automobily Renault Super Galion (u nás známé jako Avia A30) se skříní upravenou na autobus, do nichž se nastupuje dveřmi v zadním čele. A samozřejmě, na střeše zavazadla, v případě zvýšené poptávky po přepravě, i muži.

Nadešla neděle. Přes den jsme ještě něco doladovali v laboratoři, vydával jsem

certifikáty o absolvovaném školení na jednotlivé metody. Do hotelu jsem se dostal v šest večer. Sbalil jsem zavazadla a kolem osmé jsem se dostavil do recepcce. Odregistrování z hotelu jsem považoval za formalitu. Ale ouha! Byl mi předložen hotelový účet na 875 000 západoafrických franků (CFA) s tím, že účet zaplacen není. Skvělá situace: Je neděle večer, za 3 hodiny vám letí letadlo, chtějí po vás v přepočtu 65 000 korun, volat sice můžete, ale nikdo to nezvedá. Jediné řešení je pokusit se zaplatit vlastní platební kartou a doufat, že nejste přes denní limit pro platbu a máte peníze na účtu v potřebné výši. Povedlo se. Teď hlavně neztratit účet. Další překvapení mě čeká před hotelem. Místo jednoho auta hned tři. Přišla se se mnou rozloučit polovina laboratoře. Zajíždíme do restaurace nedaleko letiště. Opouštím Dakar s pocitem dobře vykonané práce, plný dojmů a sympatií k této krásné, rozvíjející se zemi. Rád se sem někdy vrátím.



### MUDr. Emil Pavlík, CSc.

Akademický pracovník, Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Studničkova 7, Praha 2. Odborný asistent katedry zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva Fakulty biomedicínského inženýrství ČVUT v Praze se sídlem Sportovců 231, Kladno.

Kontakt: epavl@lf1.cuni.cz, pavliemi@fbmi.cvut.cz

Absolvent FVL UK v Praze 1980, obor Všeobecné lékařství, atestace z lékařské mikrobiologie II. stupně 1998, licence ČLK pro vedoucího lékaře-primáře 2000, CSc. v oboru Genetika 2001, školitel PGS v doktorském studijním programu FBMI.





Oblast markerů preeklampsie zaznamenala v posledních letech výrazný rozvoj. Není gynekologické akce, kde by se o této problematice nemluvalo a mnohdy vášnivě ne-diskutovalo. Novinkou je využití markeru Elecsys® PIGF pro screening preeklampsie v 1. trimestru těhotenství.

## Komplexní klinický management preeklampsie s vyšetřením Elecsys® PIGF v 1. trimestru těhotenství

Ing. IGOR KLIMÍČEK, MBA  
Roche s.r.o., Diagnostics Division

Poměr parametrů Elecsys® sFlt-1/Elecsys® PIGF přinesl po zveřejnění výsledků prospektivní, validační a multicentrické studie PROGNOSIS jednoznačné zvýšení úrovně klinického managementu v oblasti preeklampsie a hypertenzních stavů spojených s těhotenstvím. Studie odvodila a validovala rozhodovací hodnoty a algoritmy pro rule-out a rule-in, čímž doplnila již dříve validovaná diagnostická cut-offs pro časnou (hodnota poměru 85) a pozdní formu preeklampsie (hodnota poměru 110). Oba dva testy jsou navíc hrazeny z prostředků veřejného zdravotního pojištění, a tak nic nebránilo jejich rozšíření do rutinní klinické praxe. V současné době se poměr sFlt-1/PIGF vyšetřuje téměř ve všech perinatologických a intermedieálních centrech v ČR, nicméně začínají přibývat i pracoviště bývalých okresních nemocnic a privátních subjektů.

Do minulého roku byly markery preeklampsie používány zejména dle deklarované indikace z příbalového letáku, tzn. pro predikci, diagnostiku a diferenciální diagnostiku preeklampsie/HELLP syndromu. Novinkou je, že **aktuálně byla doplněna možnost predikce nežádoucích stavů a především využití markeru Elecsys®**

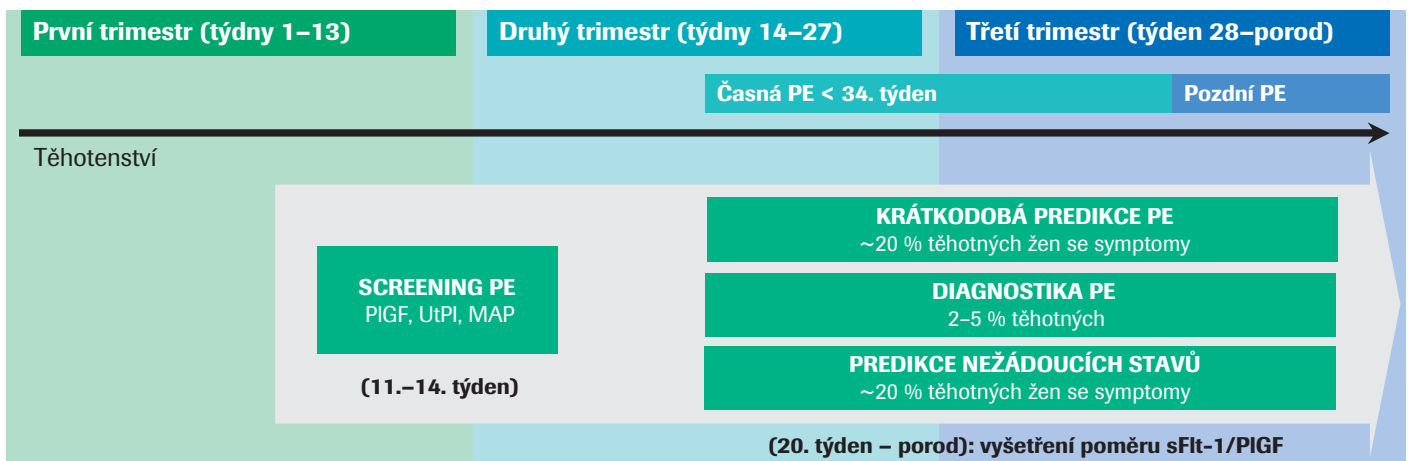
PIGF také pro screening preeklampsie v 1. trimestru těhotenství – viz obr. č. 1.

Oficiální uvedení této indikace bylo podmíněno výsledky multicentrické studie ASPRE<sup>1</sup>, která potvrdila přínos léčby aspirinem (v dávce 150 mg/den) ve 12. až 36. týdnu těhotenství u žen se zvýšeným rizikem na základě screeningu preeklampsie v 1. trimestru, kdy došlo u těchto žen k signifikantnímu (62%) snížení incidence preeklampsie mezi 20.–36. týdnem těhotenství (tzv. „preterm“ preeklampsie) – viz obr. č. 2.

Tabulka 1 ukazuje detekční účinnosti různých strategií screeningu preeklampsie

Metoda screeningu		Detekční účinnost v % s FP 10%	
		PE < 37. týden	PE ≥ 37. týden
Maternální faktory (věk, hmotnost, historie, ...)		49	38
Maternální faktory plus parametry:	PIGF	65	42
	Biofyzikální měření: MAP + UTPI	70	44
	<b>MAP, PLGF</b>	<b>73</b>	<b>47</b>
	<b>Triple test: MAP, UTPI, PIGF</b>	<b>75</b>	<b>47</b>
	Quadruple test: MAP, UTPI, PIGF, PAPP-A	75	48

▲ Tab. č. 1: Srovnání detekčních účinností pro různé strategie screeningu PE v 1. trimestru gravidity; PE = preeklampsie



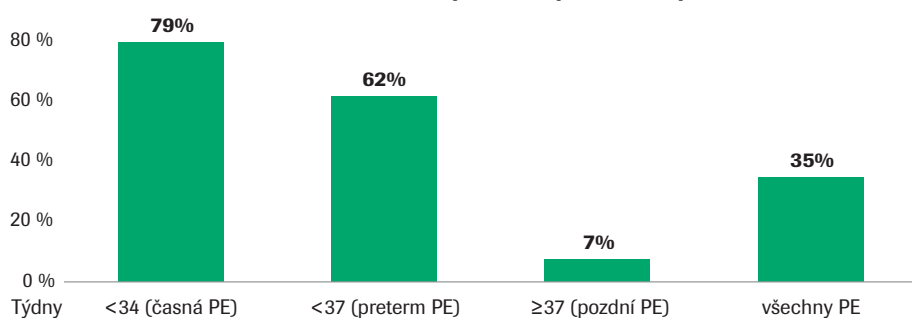
▲ Obr. č. 1: Komplexní management preeklampsie (PE) ve všech třech trimestrech těhotenství s využitím markerů sFlt-1 a PIGF



v 1. trimestru těhotenství, kde jsou biochemické markery u některých postupů kombinovány s biofyzikálními parametry, a sice středním arteriálním tlakem (MAP) a stanovením placentárního průtoku (UTPI). Algoritmus respektované mezinárodní organizace Fetal Medicine Foundation (FMF) využívající Triple test s PIGF dosahuje pro „preterm“ preeklampsii nejlepší hodnoty detekční účinnosti při falešné pozitivitě (FP) = 10%. FMF validovala a akreditovala parametr Elecsys® PIGF pro screening preeklampsie v 1. trimestru těhotenství, přičemž odpovídající mediány pro různá období gestace doplnila do příslušných softwarů pro kalkulaci rizika (např. software Astraia).<sup>2</sup> Obr. 3 uvádí příklad kalkulátoru, který používá FMF a je volně dostupný na webových stránkách společnosti FMF: <https://fetalmedicine.org/research/assess/preeclampsia>. Jak je zde patrné, tak kromě základních parametrů, jako jsou typ těhotenství, gestační stáří vyjádřené pomocí fetálního CRL, maternální charakteristiky a klinická historie, se zde doplňují zmíněné biofyzikální parametry a naměřené hodnoty akreditovaných biomarkerů systémů Elecsys®, Brahms Kryptor a PerkinElmer Delfia, pro které byly příslušné mediány pro různá gestační stáří do softwaru již implementovány. V případě hodnocení rizika jinými typy SW nástrojů (např. software Alpha) jsme schopni potřebné mediány pro parametr Elecsys® PIGF dodat.

Závěrem je nutné konstatovat, že screening preeklampsie v 1. trimestru těhotenství je důležitou součástí komplexního přístupu v managementu preeklampsie. Ten zahrnuje také predikci a diagnostiku preeklampsie ve 2. a 3. trimestru gravidity pomocí validovaných rozhodovacích limitů a algoritmů s využitím poměru markerů sFIT-1 a PIGF.

**Snížení incidence PE mezi skupinou „Aspirin“ a skupinou „Placebo“**



▲ Obr. č. 2: Pokles incidence preeklampsie (PE) pro různá období těhotenství

Please record the following information and then press Calculate.

<b>Pregnancy type</b> Singleton or twins <input type="text" value=""/>	
<b>Pregnancy dating</b> Fetal crown-rump length <input type="text" value=""/> mm (45-84 mm) Examination date <input type="text" value="dd-mm-yyyy"/>	
<b>Maternal characteristics</b> Date of birth <input type="text" value="dd-mm-yyyy"/> Height <input type="text" value=""/> cm <input type="text" value=""/> ft <input type="text" value=""/> in Weight <input type="text" value=""/> kg <input type="text" value=""/> lbs Racial origin <input type="text" value=""/> Smoking during pregnancy <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No Mother of the patient had PE <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No Conception method <input type="text" value=""/>	<b>Medical history</b> Chronic hypertension <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No Diabetes type I <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No Diabetes type II <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No Systemic lupus erythematosus <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No Anti-phospholipid syndrome <input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No <b>Obstetric history</b> <input type="radio"/> Nulliparous (no previous pregnancies at ≥24 weeks) <input type="radio"/> Parous (at least one pregnancy at ≥24 weeks)
<b>Biophysical measurements</b> Mean arterial pressure <sup>‡</sup> <input type="text" value=""/> mmHg <input type="button" value="⌨"/> Mean uterine artery PI <sup>‡</sup> <input type="text" value=""/> <input type="button" value="⌨"/> Date of measurement <input type="text" value="dd-mm-yyyy"/>	
<b>Biochemical measurements</b> Includes serum PLGF <input checked="" type="radio"/> No <input type="radio"/> MoM <input type="radio"/> Raw data Includes serum PAPP-A <input checked="" type="radio"/> No <input type="radio"/> MoM <input type="radio"/> Raw data	
<input type="button" value="Calculate risk"/>	

▲ Obr. č. 3: Náhled na webovou stránku FMF pro výpočet rizika PE v 1. trimestru gravidity (<https://fetalmedicine.org>)

## LITERATURA

1. Rolnik DL et al. ASPRE trial: performance of screening for preterm pre-eclampsia, *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017 Oct; 50(4):492-495.
2. *The prediction of risk preeclampsia, 2019 [online], The Fetal Medicine Foundation. [cit. 25.4.2019]. Dostupné z: <https://fetalmedicine.org/> [3].*



### Ing. Igor Klimíček, MBA

Roche s.r.o., Diagnostics Division  
 Kontakt: igor.klimicek@roche.com

V Oddělení marketingu vede tým zabývající se marketingovými a produktovými aktivitami zaměřenými na centralizovanou a integrovanou řešení. Ve volném čase „si dobíjí baterky“ sportem, má rád historickou literaturu a dobré víno.

**19.–20. LISTOPAD 2018, MNICHOV A PENZBERG, NĚMECKO**

Ve dnech 19. a 20. listopadu 2018 proběhla první Roche konference regionu Evropa, Střední východ a Afrika (EMEA) věnovaná tématům bezpečnosti transfuzních přípravků. Vědecký program obsahoval přednášky týkající se testování hepatitidy E (HEV), hodnocení sérologických testů na systému cobas e 801 a potenciálního využití cobas® omni Utility Channel na systému cobas® 6800/8800 pro testy založené na principu amplifikace nukleových kyselin (NAT).

Součástí programu byla také návštěva vývojových laboratoří Roche Diagnostics v německém Penzbergu. V následujícím textu vám přinášíme aktuální postřehy a komentáře účastníků akce.

## 1st EMEA Roche Blood Safety Solutions Customer Conference 2018

### Share the experience and prepare for the future

**Mgr. NIKOLA HUDEČKOVÁ**

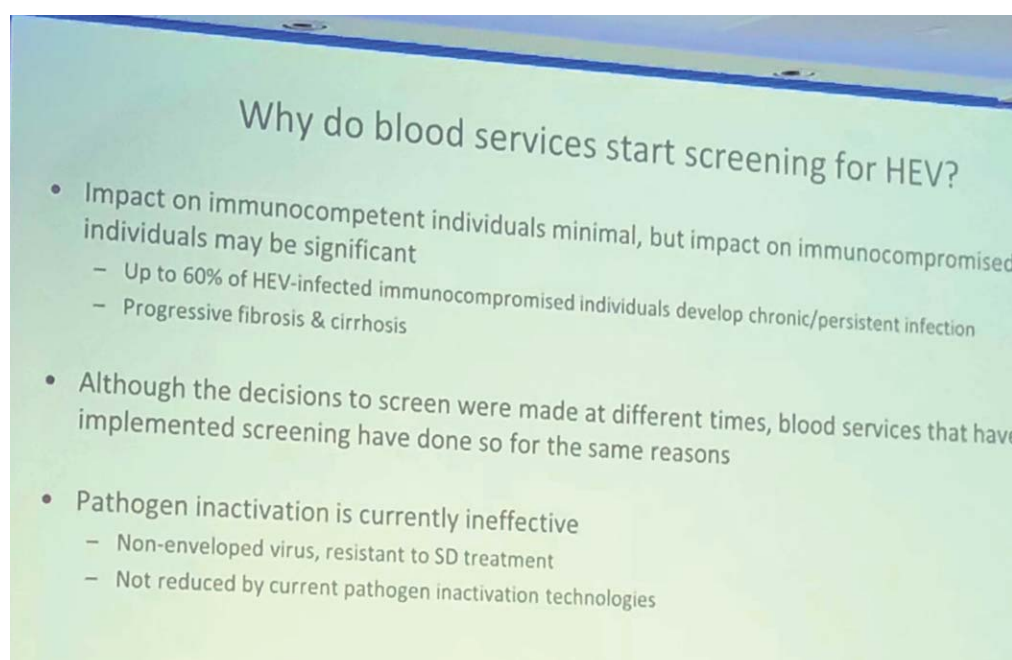
Roche s.r.o., Diagnostics Division

*Konferenci považuji za organizačně dobře připravenou a po odborné stránce přínosnou, zejména co se týká prvního přednáškového dne. Panelová diskuse umožnila prostřednictvím dotazů účastníků i výměnu profesních zkušeností z jednotlivých zemí, což je podle mého názoru největším přínosem podobně zaměřených odborných setkání. Nejvíce mě zaujala problematika HEV, která se stává celoevropským problémem, v různých*

*zemích různě pojatým. Jednotná doporučení nejsou stanovena, nicméně s ohledem na spektrum pacientů ve FN Brno situaci kolem testování HEV u dárců krve sledujeme. Velmi mne také zaujala pro nás sice zatím poněkud futuristická, nicméně inspirativní vize konsolidované laboratoře, prezentovaná prof. Dr. Michaelem Schmidtem.*

prim. MUDr. Hana Lejdarová, Transfuzní a tkáňové oddělení, Fakultní nemocnice Brno

*V listopadu 2018 jsem měla možnost zúčastnit se akce 1st EMEA RBSS Conference 2018. Akci posuzuji jako velmi zajímavou, a to z několika důvodů. Konference se konala ve stimulační multikulturní společnosti odborníků z celého světa, byla tedy jedinečnou příležitostí posoudit a porovnat,*





s jakými problémy v souvislosti s testováním infekčních markerů se zejména u dárců krve potýká Evropa a na druhou stranu mimoevropské země. Ze samotných prezentací, které byly velmi zajímavé, mě nejvíce zaujala přednáška Tonyho Hardimana „Zero-risk blood transfusions: Fact or fiction?“ a dále prezentace Alana Kitcheny „HEV: the journey from decision to test implementation and the importance of universal screening“. Obě prezentace byly rozhodně přínosné nejen díky aktuálními informacím, ale podle mého názoru i svým nadčasovým pojetím. V neposlední řadě bylo příjemné setkat se na konferenci s kolegy z České republiky a diskutovat o společných problémech.

prim. MUDr. Daniela Dušková, Ph.D., Fakultní transfuzní oddělení, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

V listopadu 2018 jsem byl účastníkem kongresu Roche Blood Safety Solutions, první konference EMEA v Penzbergu v Německu.

Soustředěn zprvu na naši českou problematiku bezpečnosti transfuzních přípravků na úrovni Nucleid Acid Testing, na zavádění, senzitivitu a další genetické

podrobnosti jsem se po této akci rozhlédl mnohem širším, globálním směrem.

Konference tematicky zahrnovala vše, co k bezpečnosti transfuzní problematiky patří. Vědeckou odbornost, otázky etnické, geografické, ekonomické, technologické a mnohdy i filozofické. Účastníci tohoto odborného setkání patřili k různým kontinentům, různým náboženstvím, různým úrovním ekonomik a sociálními strukturám. Společnost Roche tak byla postavena před velkou výzvou – vyhovět různorodým požadavkům. Hodně prostoru bylo věnováno přímým otázkám a diskusím. Bylo úžasné sledovat, jakým různorodým problémům jednotlivé oblasti globálního světa čelí a na jakých odlišných úrovních a stupni vědeckých poznatků je musí řešit. Z konference vyplynulo, jak diverzní jsou epidemiologické podmínky v různých zemích a jak se mění pojem a význam bezpečnosti krve a potřeb testování k zabránění přenosům. Jak odlišně se vektory chovají v závislosti na podnebí a jak se mohou měnit v těchto souvislostech.

Na tomto základě byla prezentována flexibilita a přizpůsobivost koncepce laboratorního vybavení společnosti Roche pro celý

tento naprosto nejednotný komplex potřeb, ať už po stránce technologické, logistické či filozofické.

Zejména technologie **cobas**<sup>®</sup> ukázala svou schopnost přizpůsobit se všem potřebám uživatelů na různých úrovních národních doporučení pro bezpečnost krve.

Konference byla ukončena návštěvou výrobních prostor diagnostických materiálů a setů. A tak nakonec téma NAT vyšetřování dostalo patřičný prostor v uvedené mozaice celosvětových problémů, možností a potřeb.

MUDr. Lasota Zenon, odborný klinický imunolog, hematolog a transfuziolog, Krevní centrum Frýdek-Místek

Během listopadové konference věnované projektu Roche Blood Safety Solutions byla velmi přitažlivým a atraktivním způsobem představena mnoholetá snaha firmy Roche přispívat vlastními produkty ke zlepšení péče o pacienty i v segmentu transfuzní služby. Jednotlivé příspěvky pak dokládaly přímými důkazy zapojení jejího technologického i diagnostického řešení v této oblasti. Pro mě jako člověka, který má zkušenosti s českým prostředím transfuzních zařízení, jež je rozdrobeno do zhruba sedmdesáti pracovišť, bylo ohromující představení projektu, který se týkal transfuzní služby Německého červeného kříže. Německý červený kříž svými transfuzními přípravky pokrývá zhruba 75 % potřeby celého Německa (více než 1,2 milionu odběrů ročně) a v současné době je činnost jeho transfuzní služby soustředěna v pouhých 18 institucích. Plánovaný projekt, který hodlá implementovat ještě více prvků automatizace a dalších technologických zlepšení, si klade za cíl postupnou integraci a konsolidaci jednotlivých pracovišť, tak aby bylo možné dále zlepšovat a zefektivňovat jejich činnost. K těmto cílům mohou zcela jistě přispět i technologická řešení projektu Roche Blood Safety Solutions.

Mgr. Petra Trachtulcová, Ph.D., Application Specialist Lab Coagulation and Blood Safety Solutions, Roche s.r.o., Diagnostics Division



## Sledujte příběhy pacientek s rakovinou děložního čípku a pacienta s maligním melanomem a MEDx Talks

Mgr. VERONIKA BAČOVÁ

Roche s.r.o., Pharma Division

„A v tu chvíli to ze mě úplně spadlo. Protože to asi dobře dopadlo. To byl pro mě ten nejlepší okamžik.“ (Jana)

Hana, Lucie, Denisa, Jana a Martina mají každá jiný životní příběh. Všechny ale spojuje stejná diagnóza. Rakovina děložního čípku. Leden je tradičně měsícem boje proti rakovině děložního čípku a my jsme se už podruhé tomuto tématu na MojeMedicina.cz věnovali.

### Rakovina děložního čípku. Jedna diagnóza. Pět příběhů.

„Nejtěžší moment byl, když mi pan primář řekl, že to je zhoubný.“ (Denisa)

„Když jsem se dozvěděla tu diagnózu, tak mi to úplně rozervalo srdce, že už nebudu nikdy moct mít miminko.“ (Lucie)

„Mně to připadalo, že je to nesmysl, že mám rakovinu.“ (Hana)

„Ať si vezmou, co potřebují. Dělohu, vaječníky, všechno. Hlavně ať to pomůže. Ať jsem zdravá.“ (Martina)

Jaké měly pocity, když jim lékař poprvé sdělil diagnózu? Jak zvládaly náročnou léčbu? O co je nemoc připravila a co jim naopak dala? Tyto ženy se rozhodly svůj příběh sdílet s ostatními v krátkém filmu Rakovina děložního čípku. Jedna diagnóza. Pět příběhů. Zhlédnout ho můžete na [www.mojemedicina.cz/1diagnoza5pribehu](http://www.mojemedicina.cz/1diagnoza5pribehu).

Video je součástí kampaně Nenech to náhodě, která upozorňuje na význam prevence této nemoci a možnost testování HPV DNS testem. Ten je revoluční v tom, že dokáže odhalit riziko onemocnění ještě dříve, než se objeví varovné symptomy.

▶ Denisa  
▶▶ Lucie

▶ Hana  
▶▶ Martina  
▶▶▶ Jana





## Zdravobrazy: příběh pacienta s maligním melanomem

„Já měl štěstí, že jsem maloval. Moje myšlenky na tu nemoc se tím otupily.“ (Martin Hub, maligní melanom)



▲ Martin Hub

Nevyhýbají se dospělým ani dětem. Stačí jedno spálení slunečními paprsky a pravděpodobnost jejich vzniku se zdvojnásobí. Přitom 90 procentům lze předejít vhodnou prevencí. Zhoubné nádory kůže patří k nejčastějším onemocněním rakovinou.

Martin Hub je pacient s pokročilým melanomem a současně přední český kaskadér. Jeho jméno je spojeno s filmy Titanic, Gladiátor, Zachraňte vojína Ryana a Trója. Vyrovnat se s nemocí a léčbou mu pomáhalo malování. Tak vznikl cyklus obrazů Zdravobrazy. Podívejte se na Martinův příběh na: [mojemedicina.cz/melanom](http://mojemedicina.cz/melanom).

Na stejné stránce také najdete nejdůležitější informace o prevenci a včasném záchytu zhoubných nádorů kůže. Vyzkoušejte si kvíz o této diagnóze nebo si stáhněte infografiku s fakty a čísly o maligním melanomu.

## MEDx Talks

Poslední novinkou na MojeMedicina.cz jsou MEDx Talks, záznamy z večerů inspirativních příběhů.

Miroslav Etzler jako ambasador prevence kolorektálního karcinomu, herec Karel Zima jako dárcce ledviny, onkoložka

se specializací na rakovinu prsu Petra Tesařová nebo Jana Altmanová, přenašečka hemofilie a matka hemofilika. Na MEDx Talks vystupují nejen tito, ale i další inspirativní lidé, kteří překonali na první pohled nezdolatelé životní překážky a odnesli si z nich nakonec i něco pozitivního. Všechny příběhy najdete na [www.medxtalks.cz](http://www.medxtalks.cz).



▲ Hudebník Karel Vaněk, příjemce ledviny (vlevo), a herec Karel Zima, dárcce ledviny (vpravo)



▲ Miroslav Etzler



### Mgr. Veronika Bačová

Roche s.r.o., Pharma Division  
Kontakt: [veronika.bacova@roche.com](mailto:veronika.bacova@roche.com)

V Roche má na starosti vše, co se týká digitální komunikace směrem k veřejnosti. Především vytváření obsahu a správu webových stránek [mojemedicina.cz](http://mojemedicina.cz) a [roche.cz](http://roche.cz). Spravuje také Facebook a Twitter MojeMedicina a YouTube kanál společnosti. MojeMedicina.cz a sociální sítě podávají interaktivní a srozumitelnou formou informace o diagnózách, vyšetřeních a typech léčby. Roche tak pomáhá lidem lépe se připravit na vyšetření, porozumět své nemoci anebo se dozvědět o nových způsobech léčby.



Předkové slavili jaro ještě před příchodem věrozvěstů a Velikonoc, jelikož bez ohledu na to, čemu věříte, taková jarní rovnodennost po dlouhé zimě důvodem k oslavě rozhodně je. Tradice se přitom budeme držet jenom způli, jelikož vývoj jde nezadržitelně kupředu. Mazanec je jako kulatý symbol sluníčka a cyklu života sice moc fajn věc (zvláště ke snídani s máslem a hrnkem mléka), ale takový mrkvový dortík je přece také kulatý a také pekelně dobrý. Navíc je po mrkvi zlatý jako to slunce.

## Jaro by se mělo oslavit... Co třeba mrkvovým dortem?

JANA STRNADOVÁ, HELENA HRŮZOVÁ

Roche s.r.o., Diagnostics Division

**Mrkvový dort (míra na hrnky – 1 hrnek = 250 ml)**

**Těsto:** 4 vejce, 1/4 hrnku oleje (může být i olivový), 2 hrnky cukru (může být třtinový), 1 vanilkový cukr, 2 hrnky polohrubé mouky (já dávám 1 polohrubé a 1 žitné), 1 prášek do pečiva, 1/2 lžičky soli, 2 lžice skořice, 3 1/2 hrnku nastrouhané mrkve, 1 hrnek nastrouhaných vlašských ořechů, 1 hrst slunečnicových semínek

Vejce vyšleháme s cukrem do světlé husté pěny, přidáme olej, mrkev a následně všechny zbylé suroviny. Promícháme a vlijeme na plech vyložený pečicím papírem nebo do dortové formy (průměr 28 cm). Pečeme cca při 180 °C, dokud špejli po zkusmém zapíchnutí do korpusu nevytáhneme suchou.

**Krém:** (je velmi jednoduchý :) 2x šlehačka (33 % tuku), 1x mascarpone, cukr dle chuti (já nesladím)

Šlehačku ušleháme, zašleháme mascarpone a natřeme na vychladlý upečený korpus.

Na posyp použijeme skořici a strouhané oříšky, nebo...

... pro gurmány máme i variantu polití vršku dortu citronovou polevou. Je úžasná:

**Poleva:** 100 g prosátého moučkového cukru, 2 lžice vody, 1 lžice citronové šťávy

A kdo si chce trošku hrát, může z marcipánové hmoty vymodelovat malé mrkvičky. :)

**Jelikož nejsme žádná béčka ani přátelé prefabrikátů z podezřelých ingrediencí a respektujeme, že někteří z nás nemusí ani výrazné mandlové aroma marcipánu jako takového, máme mnohokrát ozkoušený recept na fondán, z něhož se nejen výborně modeluje či potahují dorty, ale také výborně chutná!**

**Na falešný marcipán potřebujete:** 560 g cukru moučka, 60 g medu, 270 g polotučného sušeného mléka, 30 g oleje (to je asi tak 10 ČL anebo 3 až 3,5 PL), 70 g vody (což je asi 67 ml)

(Chybí-li vám mandlová chuť, tak si tam to mandlové aroma kápněte, no...)

Naším tipem na zpracování této hmoty je použít domácí pekárnu na chleba, kam všechno nasypete, zapnete program



na míchání těsta a pak už si jen po několika minutách bedlivého sledování vyndáte božsky hladký bochánek. Vy ostatní si vyhrňte rukávy a namasírujte svaly – přesně v tomto pořadí.

Jedlé barvičky – u nás jediné přírodní. Jednak to lépe chutná a jednak nebudete potřebovat ani prášky na alergii, ani na bolení hlavy:

**žlutá** – kurkuma, žlutá řepa nebo šafrán (pozor, kurkuma je pikantní, ale někomu to opravdu chutná)

**růžová** – červená řepa, ostružiny

**oranžová** – smíchat kurkumu nebo šafrán nejlépe s řepou; můžete zkusit i mrkvovou šťávu, ale barva je málo výrazná

**zelená** – čaj matcha v prášku

Kurkumu a šafrán je potřeba nejdříve rozpustit v kapce vody, čerstvou kurkumu můžete nastrouhat a vymačkat přes sítko, stejně tak ostružiny a jemně nastrouhanou řepu. Matchu tam můžete „matchkat“ rovnou. U mokrych barviček počítejte s naředěním celkové hmoty, ale u fondánu to není taková komplikace jako třeba u polevy. Nejlepší je obarvit nejdříve cukr.

Přejeme radost při kuchtění, kreativitu při zdobení, dobrou chuť při konzumaci a především krásné jaro!



### Jana Strnadová, Helena Hružová

Roche s.r.o., Diagnostics Division

Kontakt: helena.hruzova@roche.com, jana.strnadova@roche.com

Ve společnosti Roche pracují již od roku 2007, kdy nastoupily do oddělení logistiky jako Customer Service Coordinators.

Později začaly pracovat na pozici asistentek v oddělení technického servisu. Helena si ve volném čase jde ráda zaběhat, jezdit na kole, chodí do divadla a čte. Jana je zdatnou ilustrátorkou sci-fi a fantasy literatury. Radost jí přináší nejenom četba, ale i běh, badminton a čas strávený s rodinou a pejsky.

Vychází čtvrtletně, uzávěrka tohoto čísla: 30. ledna 2019. Časopis je možné bezplatně objednat na adrese vydavatele. Stanoviska a názory podepsaných příspěvků se nemusejí shodovat se stanovisky a názory redakce a vydavatele.

Copyright © Roche 2019. Registrace MK ČR 7374, ISSN 1214-7672.

Foto na obálce: Ilustrace znázorňuje chromozomy ve fázi meiózy, autor Christoph Burgstedt, doplněná ilustrací autora jagoda. Obojí Shutterstock.

