

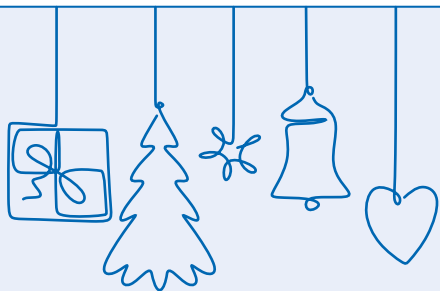


# LABOR AKTUELL

ročník 25 | číslo 3 | rok 2021

Časopis pro klienty Roche Diagnostics v České a Slovenské republice





Vážení čtenáři,

budete se mnou asi souhlasit, že obecné vnímání farmaceutických firem není kdovíjak pozitivní. Jsem přesto hrdým zaměstnancem takové společnosti. Proč? Roche se hodně liší od jiných firem tohoto odvětví, například je od svého vzniku před 125 lety neustále ve vlastnictví rodiny zakladatele Fritze Hoffmanna. Tento lékárník nechtěl jen zvyšovat svůj profit industrializací, ale – jak říká jeho potomek, současný viceprezident společnosti André Hoffmann – především standardizací zkvalitnit výroby a tím lépe uspokojit očekávání nemocných. A tak dal firmě do vínku vedle cílů obchodních také záměr soustavného zlepšování života a zdraví pacientů. Potvrzením správnosti tohoto „nastavení“ je nejen po staletí prosperující firma, ale zejména její stálý a udržitelný rozvoj s přesahem do celé medicíny.

Rodina zakladatele v dnešní době sice nemá výkonnou moc ve vedení firmy, ale po generace dává důraz na morální hodnoty, vysokou firemní kulturu a osobní i společenskou odpovědnost, jež činí dnes obrovskou a úspěšnou nadnárodní společnost o téměř sto tisících zaměstnancích svěbytnou a lidskou.

A tak se i já, ač pouhý řadový zaměstnanec, cítím být součástí této obrovské rodiny, se kterou sdílím vášeň a zaujetí, ale také odvahu a odpovědnost. Je mi ctí, že Roche posouvá nesmírně nákladným výzkumem medicínu kupředu, a to i v oblastech, kde investice nevedou k ekonomickému profitu. Příkladem je například vývoj nových antibiotik, která

pomohou bojovat s rezistentními infekcemi a která nejsou z principu nikdy masivně produkována. Těší mě, když vidím sofistikované supermoderní diagnostické systémy v českých nemocnicích, jak spolehlivě vydávají výsledky a přispívají tak k léčbě pacientů, případně v preventivních programech chrání zdravé. Nemusím deklarovat, že **úcta k životu** a jeho kvalitě je středobodem všeho, co ve společnosti Roche děláme, a že každým dnem vědecký výzkum, průlomové léky a inovativní diagnostická řešení **zlepšují životy lidí** na celém světě. **Protože my v Roche tak opravdu žijeme.** Věřím, že důvěra v čest, odpovědnost a opravdovost skutečných lidí – zaměstnanců, jako jsem já – stojí za partnerstvím s Roche a tím se i vy, drazí čtenáři, stáváte součástí této rodiny.

125. výročí založení společnosti je důvodem k oslavě života. Pojdme oslavovat život při příležitosti Vánoc a nového roku, v kruhu svých rodin, přátel i spolupracovníků ať už vytáčením nových vzpomínek a hodnot, které budou rezonovat po celá léta, nebo pozastavením se nad vzácnými okamžiky minulosti.

Krásný advent, hodně zdaru a zdraví v novém roce přeje

Kateřina Málková










## PF 2022



Příjemné prožití vánočních svátků, mnoho úspěchů v novém roce 2022 přeje a za Vaši důvěru a dosavadní spolupráci děkuje

ROCHE s.r.o., Diagnostics Division


## KLINICKÁ HODNOTA DIAGNOSTIKY

-  Rezistence a nadužívání ATB 4  
*MUDr. Václava Adámková, Ph.D.*
-  Prokalcitonin při rozhodování o léčbě antibiotiky 9  
*redakční příspěvek*
-  Otázky péče v nemocnicích v době covidové.  
Zamyšlení nad laboratorními metodami při třídění pacientů. 11  
*MVDr. Václav Fejt*
-  Protein S100B a perinatální asfyxie 14  
*MUDr. Vojtěch Bodnár, MUDr. Anna Bašťan*
-  GDF-15 v kardiologii 23  
*doc. MUDr. Štěpán Havránek, Ph.D.*
-  Co přinášejí nová ESC guidelines 2021 pro diagnostiku  
a léčbu srdečního selhání? 29  
*MUDr. Tereza Rádl*
-  Skórovací systém CLIP: Odhad mortality u kardiogenního šoku po AIM 34  
*MUDr. Tereza Rádl*

## ZKUŠENOSTI Z LABORATOŘÍ

-  Výměna hlavních analyzátorů na Oddělení klinické biochemie  
Fakultní Thomayerovy nemocnice 36  
*MUDr. Klára Bořecká, Ph.D.*
-  Validace použití samoodběrové soupravy GARGTEST  
pro provedení testu cobas® SARS-CoV-2 Roche 42  
*plk. gšt. MUDr. Miloš Bohoněk, Ph.D., Ing. Ludmila Landová, Ph.D.*


## UDÁLOSTI VE ZKRATCE

-  V barvách nové doby aneb Roche symposium 2021 48  
*Mgr. Anežka Hucíková*

## PŘEDSTAVUJEME...

-  Roche Dialog přináší Rozcestník 49  
*Ing. Mgr. Barbora Motlová*

## Z KUCHYNĚ ROCHE

-  Čočkový dhal s batáty 50  
*Jakub Elliot Míl*





Infekční onemocnění provázela lidstvo po celou dobu jeho existence, protože mikroorganismy zde byly dříve než vyšší živočichové a s největší pravděpodobností tu budou i po nás.

## Rezistence a nadužívání ATB

MUDr. VÁCLAVA ADÁMKOVÁ, Ph.D.

Klinická mikrobiologie a ATB centrum Všeobecné fakultní nemocnice a 1. LF UK v Praze

Objev penicilinu a jeho uvedení do praxe během druhé světové války znamenaly obrovský průlom v medicíně. Avšak již sir Alexander Fleming v roce 1945 během své přednášky u příležitosti udělení Nobelovy ceny upozornil na fakt, že není obtížné „udělat“ bakterii rezistentní k penicilinu. „*Ta doba prý nastane, až si lidstvo bude moci koupit penicilin v obchodě a člověk díky své neznalosti a ignorantství si antibiotikum poddávkuje, přičemž tato expozice subinhibičním dávkám povede k selekci rezistentních bakterií.*“<sup>1</sup> Jeho slova se záhy potvrdila. Objevení se a rychlé šíření rezistentních bakterií během posledních dvou dekád nám odhalilo hloubku našich neznalostí o evoluci bakteriální rezistence a ekologických procesech uvnitř mikrobiální populace. Masivní nárůst rezistence v posledních letech je spolu s omezeným spektrem nových účinných antibiotik důvodem zamyslet se nad racionálním přístupem k antiinfekční terapii.<sup>2</sup>

Determinanty rezistence cirkulují v mikrobiomu miliony let a existovaly i před érou komerčně připravovaných antibiotik, jak dokládají metagenomické analýzy pravěké DNA z permafrostu, které identifikovaly geny kódující rezistenci k betalaktamům, tetracyklinům a glykopeptidům; a tyto geny jsou velmi podobné genům dnes izolovaným od rezistentních bakterií vyvolávajících infekce spojené s poskytovanou zdravotní péčí.<sup>3</sup>

### Role antibiotik

Slovo antibiotikum jako podstatné jméno použil poprvé v roce 1941 Selman Waksman pro popis malých molekul produkováných mikroorganismy, které antagonizují růst ostatních mikrobů.<sup>4</sup>

Dnes je antibiotikum definováno jako substance biologického, semisyntetického nebo syntetického původu, která vykazuje selektivní toxicitu proti bakteriím a je tudíž potenciálně použitelná k léčbě infekcí. Dezinfekcia a antiseptika nejsou do této definice zahrnuta.





Avšak molekuly s antibakteriální aktivitou zde existovaly od nepaměti. Produkce antibiotik mikroorganismy je nesmírně složitý metabolický proces, kdy jsou do syntézy jednotlivých molekul zahrnuty enzymaticky katalyzované procesy syntézy bílkovin či mastných kyselin. Například penicilin je odvozený od tripeptidu tvořeného cysteinem, valinem a alfa-aminoacidipátem. Tyto peptidové prekurzory jsou posttranslačně modifikovány do finální podoby. Biosyntéza tetracyklinu je úzce spojená se syntézou mastných kyselin a základní stavební molekulou streptomycinu je sacharidový monomer. Lze říct, že biosyntéza antibiotik je modulárním procesem a pozměnění jakéhokoliv modulu má za následek diametrálně odlišný produkt. Zároveň je třeba si uvědomit, že geny, které kódují tyto biosyntetické procesy a ostatní sekundární metabolity, paralelně kódují i mechanismy rezistence. Tyto geny se šíří horizontálně, a proto snadno dochází k přenosu rezistence i na ostatní mikroorganismy v okolí.

Je tedy zřejmé, že aby mohly mikroorganismy, resp. bakterie přežít do současnosti, tak si musely vytvořit obranné mechanismy, mezi které patří mimo jiné i odolnost vůči látkám s antibakteriálním působením, které se v prostředí přirozeně vyskytují.

Evoluce bakteriální rezistence je složitá a to, že ji plně nechápeme, je dáno především naší primární neznalostí role antibiotik v přírodě.<sup>5</sup>

My víme, co mohou antibiotika udělat pro nás (boj s infekčními chorobami), ale proč jsou důležitá pro produkující mikroorganismy? Dle nejnovějších studií je patrné, že v koncentracích výrazně nižších, než jsou nutné k inhibici růstu ostatních bakterií, mohou antibiotika modulovat transkripční profil cílových bakterií. Tudiž lze označit za signální molekuly, které dokážou „zabíjet“ bakterie, jsou-li aplikovány v nepřirozeně vysokých koncentracích.

Z tohoto úhlu pohledu produkty genů rezistence spíše tlumí vyslanou informaci, než že by poskytovaly nějakou ochranu dané bakterii. Krátce řečeno, nevíme nic o ekologické roli molekul, které nazýváme antibiotiky.<sup>6</sup>

**Zjednodušeně lze říct, že lidstvo svým nezodpovědným přístupem k používání antibiotik rezistenci nevytvořilo, ale výrazně umožnilo její rozšíření mezi bakteriemi.**

### Multirezistentní bakterie

Dlouhou dobu byla antibiotika vnímána jako zcela bezpečná léčiva, která vymýtí bakteriální infekce, ale tak tomu není a ani z podstaty věci být nemůže. Dnes se stále více hovoří o narůstajícím počtu pacientů, kteří zemřou v důsledku infekce vyvolané rezistentní bakterií. To je sice fakt, ale zavádějící, neboť samotná rezistence vůči antibiotiku není příčinou vzniku infekce. Problém je, že pacient nemusí dostat účinná antibiotika, protože lékař neví, že původce infekce není citlivý na běžně používaná antibiotika, a pak léčba selhává a pacient může zemřít.

Poslední dekáda přinesla signifikantní nárůst rezistence napříč celým bakteriálním spektrem a bakterie sdružené pod akronymem ESCAPE (vankomycin rezistentní enterokoky, metilicilin rezistentní *S. aureus*, *Clostridium difficile*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, enterobakterie produkující širokospektré beta-laktamázy či karbapenamázy) se staly skutečnou hrozbou pro zdraví celé populace.<sup>7</sup>

Nejenom že se zvyšuje incidence těchto bakterií jako původců infekcí, ale zároveň se signifikantně zvyšuje jejich rezistence a tím i morbidita a mortalita v porovnání s infekcemi vyvolanými citlivými kmeny těchto bakterií. V případech infekcí vyvolaných těmito multirezistentními

bakteriemi je dokumentováno opoždění zahájení adekvátní antibiotické léčby až o 5 dnů, což je spojeno s vyšší mortalitou především u pacientů v intenzivní péči, kde každá hodina zpoždění rapidně snižuje šance na přežití.<sup>8</sup> Proto je důležité optimalizovat používání antibiotik, zrychlit laboratorní diagnostiku, aby se adekvátní léčba zahájila co nejdříve. A zejména je třeba včas identifikovat pacienty, u kterých by se mohly tyto multirezistentní kmeny vyskytnout, a to na základě znalosti rizikových faktorů sdružených s jejich výskytem.

Narůstající problém s antibakteriální rezistencí vede k potřebě a nutnosti správné klasifikace a definice jednotlivých rezistentních infekčních agens, proto Evropská společnost klinické mikrobiologie a infekčních chorob vydala návrh standardních definičních kritérií pro bakterie se získanou rezistencí. Jako MDR (multi-drug-resistant) jsou definovány bakterie, které získaly necitlivost alespoň ke třem různým skupinám antibiotik, do kategorie XDR (extensively drug-resistant) patří bakterie se zachovalou citlivostí k jedné, maximálně dvěma skupinám antibiotik a PDR (pandrug-resistant) zahrnují bakterie necitlivé vůči všem stávajícím kategoriím antibiotik.<sup>9</sup>

Počet infekcí vyvolaných bakteriemi rezistentními na běžně užívaná antibiotika se celosvětově zvyšuje.<sup>10</sup>

### Rezistence bakterií k antibiotikům

Při příležitosti Světového dne zdraví v roce 2011 ředitelka Světové zdravotnické organizace varovala před narůstající rezistencí s tím, že svět míří k postantibiotické éře, kterou později nazvala „the end of modern medicine as we know it“.<sup>11,12</sup>

Aby byla zachována účinnost stávajících antibiotik a s tím související možnost efektivní léčby, je nezbytná aktivní



spolupráce kliniků a mikrobiologů v monitorování a predikci výskytu rezistence. Systematicky prováděná surveillance umožňuje sledovat dlouhodobé trendy vývoje rezistence i vyhodnotit dopady intervenčních opatření zaměřených na snížení výskytu a šíření rezistentních bakterií.<sup>13</sup> V roce 2015 Světová zdravotnická organizace připravila globální akční plán, kde je surveillance antimikrobiální rezistence zmiňována jako základní kámen kontroly AMR (Antimicrobial Resistance).<sup>14</sup>

Problém narůstající rezistence je alarmující o to více, že v preklinickém výzkumu je jen velmi málo nových účinných molekul, a nelze proto v blízké budoucnosti očekávat zásadní rozšíření současného spektra dostupných antibiotik.<sup>15</sup>

Nadměrná spotřeba antibiotik zvyšuje pravděpodobnost selekce rezistentních kmenů nejen u léčeného jedince, ale následně vede i k nárůstu rezistence na lokální úrovni. V klinické praxi se u kriticky nemocných s nadměrným a neindikovaným podáváním antibiotické léčby setkáváme často. Za hlavní příčinu antibiotické polypragmatie je považována obava z prodlení zahájení empirické terapie nebo podání neúčinných antibiotik, neboť neadekvátní a pozdě zahájená antibiotická terapie je faktorem zvyšujícím morbiditu i mortalitu kriticky nemocných. Proto je u pacientů s předpokládanou nebo prokázanou infekcí doporučováno časně zahájení léčby antibiotikem s co nejširším spektrem účinku (empirická terapie),

nicméně je třeba se vyvarovat neadekvátně dlouhého podávání širokospektrých antibiotik bez provedení cílené úpravy dle mikrobiologických nálezů.<sup>16</sup>

Z klinického pohledu je alarmující skutečnost, že dochází jak k vzestupu počtu infekcí vyvolaných rezistentními bakteriálními kmeny, tak k signifikantnímu zvyšování počtu antibiotik, ke kterým jsou uvedené bakterie rezistentní. Infekce vyvolané multirezistentními kmeny jsou v porovnání s infekcemi vyvolanými citlivými kmeny spojeny s výrazně vyšší morbiditou i mortalitou, ne však proto, že by rezistence k antibiotikům byla faktorem virulence, ale proto, že není účinná léčba zahájena včas.<sup>17,18,19</sup> Opoždění adekvátní antibiotické terapie je přitom u kriticky nemocných spojeno s vyšší mortalitou, riziko nepříznivého klinického vývoje a úmrtí stoupá de facto úměrně s každou hodinou opoždění.<sup>20</sup> Adekvátní a racionální antibiotická terapie proto vyžaduje:

- senzitivní a specifickou laboratorní diagnostiku k potvrzení infekční etiologie stavu (biomarkery infekce);
- včasné a správně provedené mikrobiologické vyšetření k časně identifikaci vyvolávajícího agens (případně molekulární diagnostika patogenu);
- odpovídající empirickou antibiotickou léčbu (širokospektré antibiotikum a/nebo jejich kombinace, časná aplikace, adekvátní dávkování, úměrná doba podávání);
- a v neposlední řadě identifikaci patientských rizikových faktorů spojených

s vyšším výskytem infekcí vyvolaných multirezistentními kmeny.<sup>21</sup>

Z těchto důvodů jsou do empirické antimikrobiální terapie stále častěji zahrnovány další faktory, včetně lokální úrovně rezistence nejčastěji izolovaných původců, které by měly vést k tomu, že zahájená léčba bude co nejúčinnější. Mnohé mikrobiologické laboratoře proto poskytují klinickým pracovištím pravidelně tzv. kumulativní antibiogramy, které jsou nedílnou součástí antibiotického stewardshipu (ABS).

### **Kumulativní antibiogramy**

Kumulativní antibiogram může být definován jako přehled výskytu rezistence k jednotlivým antibiotikům u bakterií izolovaných z biologického materiálu pacienta.<sup>22</sup>

Užitečnost kumulativních antibiogramů závisí především na robustních vstupních datech (tj. standardizované testování citlivosti k bakteriím k antibiotikům) stejně jako na transparentnosti a shodném vytváření antibiogramů napříč různými mikrobiologickými laboratořemi.<sup>23,24</sup>

Spolehlivé kumulativní antibiogramy mohou výrazně pomoci jak při zamezení nesprávné volby antibiotika, tak při snížení excesivního používání širokospektrých antibiotik v okamžiku, kdy u konkrétního pacienta výsledky mikrobiologického vyšetření a stanovení citlivosti na antibiotika ještě nejsou k dispozici.<sup>25</sup>

Kumulativní antibiogramy by měly být pravidelně poskytovány nejenom klinickým lékařům, kterým slouží jako podklad při volbě vhodného antibiotika, ale zároveň i členům nemocničních ABS týmů, kteří by měli na jejich podkladě závčas odhalit problém narůstající bakteriální rezistence či objevení se nového fenotypu rezistence. Surveillance bakteriální rezistence musí být prováděna ve spolupráci



klinického mikrobiologa a ABS týmu.<sup>23</sup> Objevení neobvyklého fenotypu rezistence je z mikrobiologického hlediska velmi zajímavé, ne vždy se však jedná o potvrzený případ, ale pouze o interpretační či laboratorní chybu, kterou správně vytvářené antibiogramy mohou relativně snadno odhalit. Zde je zcela nezastupitelná role klinického mikrobiologa, který nový či atypický fenotyp objeví v rámci denní praxe a ověří, zdali je tento opravdu správný, většinou konfirmací v Národní referenční laboratoři pro antibiotika, a nález je poté referován.<sup>26</sup> Jestliže se ale přijde na takovýto výsledek až v rámci hodnocení zpracovaného kumulativního antibiogramu, tak se pravděpodobně jedná o chybu, která byla přehlédnuta v rutinním provozu.<sup>27</sup> Eliminace chyb je možná pouze pravidelnou analýzou dat a kontrolou dodržování doporučení pro přípravu kumulativních antibiogramů, což není vždy úplně jednoduché. Zapantis a kol.<sup>28</sup> analýzou 209 kumulativních antibiogramů odhalili 14 % „neobvyklých“ výsledků, jako např. enterokoky citlivé k cefalosporinům nebo kmeny *Stenotrophomonas maltophilia* citlivé k imipenemu. Obdobná zjištění byla konfirmována i dalšími autory.<sup>23,27</sup> Častou chybou, nejenom při tvorbě kumulativních antibiogramů, je též reportování nedoporučených kombinací původce–antibiotikum, jako například *Pseudomonas aeruginosa* – cotrimoxazol nebo *Enterobacter cloacae* complex – potencovaný aminopenicilin,<sup>23</sup> což vede k zavádějícímu dojmu výskytu multirezistentních kmenů, ačkoliv se jedná o tzv. přirozené (primární) rezistence.

Na druhou stranu dlouhodobá analýza lokálních kumulativních antibiogramů umožňuje laboratoři aktivní přístup k selektivnímu sdělování výsledků, což je jednou ze součástí ABS a je doporučováno odbornými společnostmi jako důležitý faktor ovlivňující preskripci antibiotik. Přesto mnoho laboratoří stále poskytuje plné výsledky všech testovaných antibiotik, včetně nedoporučených kombinací patogen–antibiotikum, což může vést

ke zbytečnému nadužívání širokospektrých antibiotik, zvláště v případech klinicky méně závažných infekcí vyvolaných dobře citlivými kmeny bakterií, např. infekce dolních močových cest a terapie fluorovanými chinolony či cefalosporiny vyšších generací.<sup>29,30,31</sup>

### Spotřeba antibiotik a rezistence

Faktorů podílejících se na vzniku a rozvoji rezistence bakterií k antibiotikům je celá řada, ale zcela nepopiratelný vliv hraje spotřeba antibiotik.<sup>32,33</sup>

Pravděpodobný vliv na enormní nárůst rezistence *E. coli* k potencovaným aminopenicilinům v našich národních datech lze spatřovat i v nárůstu spotřeby chráněných penicilinů v ČR, kdy v roce 2008 byla jejich spotřeba 3,7 DDD na 1 000 obyvatel/den a v roce 2018 již 5 DDD na 1 000 obyvatel/den, v porovnání s některými jinými evropskými státy je tento nárůst až padesátinásobně vyšší, například v Norsku v roce 2018 byla spotřeba chráněných penicilinů pouze 0,1 DDD na 1 000 obyvatel/den a v Německu 0,58 DDD na 1 000 obyvatel/den.<sup>34</sup>

### Závěr

Co s tím? Každý z nás, ať již pacient, nebo lékař, by si měl uvědomit, že antibiotika jsou obrovským přírodním dědictvím, a měl by se k nim chovat tak, aby jejich účinnost byla zachována i pro příští generace. Je třeba se vyvarovat nepřiměřeně dlouhého podávání antibiotik bez následné úpravy dle dostupných klinických a laboratorních nálezů. Znalost lokální epidemiologické situace je esenciální pro

optimalizaci vhodné antibiotické léčby, na druhou stranu i při vysokém podílu výskytu rezistentních kmenů nelze antibiotickou terapii paušalizovat. Antibiotický stewardship se tak stává etickým imperativem v éře multirezistentních mikroorganismů.

### Pro praxi

- **Antibiotika nejsou antipyretika** – pouze zvýšená teplota není indikací k předepsání antibiotik.
- Před zahájením antibiotické léčby se pokusit zajistit klinicky validní materiál pro detekci původce.
- Jestliže antibiotická terapie nevykazuje žádný účinek za 3–4 dny, tj. 72–96 hodin (s výjimkou infekční endokarditidy), je třeba zvážit následující možnosti: nevhodná volba antibiotika; antibiotikum nedosahuje dostatečnou koncentraci v místě probíhající infekce; špatná identifikace původce (viry, kvasinky); léková historie.
- Jestliže není antibiotická terapie nezbytná, okamžitě ukončit její podávání – čím déle jsou antibiotika podávána, tím vyšší je riziko nežádoucích účinků, toxicity a selekce rezistence.
- Mnohá lokálně podávaná antibiotika mohou být nahrazena antiseptiky.
- Termín „citlivý“ v antibiogramu nemusí nutně znamenat, že antibiotikum bude klinicky účinné – až 20 % výsledků vykazuje falešnou pozitivitu či negativitu; ne všechny laboratoře používají standardizované postupy/metody.
- Správný odběr a transport materiálu do laboratoře jsou esenciální pro správnou diagnostiku a následnou volbu antibiotické léčby.

**Antibiotický stewardship (ABS)** – systematický a optimalizovaný přístup, který definuje správné používání antimikrobiálních látek v zdravotním systému s cílem zabránit nadužívání antibiotik, oddálit nástup rezistentních kmenů bakterií a zvýšit bezpečnost a účinnost antimikrobiální léčby.



**MUDr. Václava Adámková, Ph.D.**

Primářka Klinické mikrobiologie a ATB centra Všeobecné fakultní nemocnice a 1. LF UK v Praze, Ke Karlovu 2, Praha 2  
Kontakt: vaclava.adamkova@vfn.cz

**LITERATURA**

1. <https://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/fleming-lecture.pdf>.
2. Ventola CL. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P T*. 2015; 40(4): 277-283.
3. D'Costa VM, King CE, Kalan L, Morar M, Sung WW, Schwarz C, Froese D, Zazula G, Calmels F, Debruyne R, Golding GB, Poinar HN, Wright GD. Antibiotic resistance is ancient. *Nature*. 2011; 477: 457-461.
4. Waksman, SA, and Tishler, M. The Chemical Nature of Actinomycin, an Anti-microbial Substance Produced by *Actinomyces Antibioticus*. *J. Biol. Chem.* 1942; 142, 519-528.
5. Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2010; 74(3): 417-433.
6. Wencewicz TA. Crossroads of Antibiotic Resistance and Biosynthesis. *J Mol Biol*. 2019; 431(18): 3370-3399. doi:10.1016/j.jmb.2019.06.033.
7. Peterson LR. Bad Bugs, No Drugs: No ESCAPE Revisited. *CID* 2009; 49: 992-3.
8. Kumar A, Ellis P, Arabi Y. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. *Chest*. 2009; 136(5): 1237-1248. doi: 10.1378/chest.09-0087. Epub 2009.
9. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. Multi-drug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012; 18: 268-281.
10. World Health Organisation (WHO). Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. Geneva: WHO; 2014; dostupné z: <http://www.who.int/drugresistance/ocuments/surveillance-report/en/>.
11. World Health Organisation (WHO). World health day 2011. Geneva: WHO; 2011. dostupné z: [http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2011/whd\\_20110407/en/](http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2011/whd_20110407/en/).
12. World Health Organisation (WHO). Antimicrobial resistance in the European Union and the world. Geneva: WHO; 2012; dostupné z: [http://www.who.int/dg/speeches/2012/amr\\_20120314/en/](http://www.who.int/dg/speeches/2012/amr_20120314/en/).
13. Critchley IA, Karlowsky JA. Optimal use of antibiotic resistance surveillance systems. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10: 502-11.
14. World Health Organisation (WHO). Global action plan on antimicrobial resistance. Geneva: WHO; 2015; dostupné z: <http://www.who.int/antimicrobial-resistance/publications/global-action-plan/en/>.
15. Theuretzbacher U, Outterson K, Engel A, Karlén A. The global preclinical antibacterial pipeline. *Nat Rev Microbiol*. 2020; 18(5): 275-285. doi:10.1038/s41579-019-0288-0.
16. Bassetti M, De Waele JJ, Eggimann P, Garnacho-Montero J, Kahlmeter G, Menichetti F, Nicolau DP, Paiva JA, Tumbarello M, Welte T, Wilcox M, Zahar JR, Poulakou G. Preventive and therapeutic strategies in critically ill patients with highly resistant bacteria. *Intensive Care Med*. 2015; 41: 776-795.
17. Vardakas KZ, Dimitrios K, Matthaiou DK, Matthew E, Falagas ME, Elli Antypa E, Asimoula Koteli A, Antoniadou E. Characteristics, risk factors and outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections in the intensive care unit. *J Infect* 2015; 70: 592-9.
18. Friedman ND, Temkin E, Carmeli Y. The negative impact of antibiotic resistance. *Clin Microbiol Infect* 2016; 22: 416-422.
19. Lepape A, Jean A, De Waele J, et al. European intensive care physicians' experience of infections due to antibiotic-resistant bacteria. *Antimicrob Resist Infect Control* 2020; 9: 1. Published 2020 Jan 2.
20. Kollef MH, Bassetti M, Francois B, Burnham J, Dimopoulos G, Garnacho-Montero J, et al. The intensive care medicine research agenda on multidrug-resistant bacteria, antibiotics, and stewardship. *Intensive Care Med*. 2017; 43(9): 1187-1197.
21. Hindler JF, Stelling J. Analysis and presentation of cumulative antibiograms: a new consensus guideline from the Clinical and Laboratory Standards Institute. *Clin Infect Dis*. 2007; 44(6): 867-873.
22. NCCLS. 2002. Analysis and presentation of cumulative susceptibility test-data; approved guideline. NCCLS document M39-A. NCCLS, Wayne, Pa.
23. Moehring RW, Hazen KC, Hawkins MR, Drew RH, Sexton DJ, Anderson DJ. Challenges in Preparation of Cumulative Antibiogram Reports for Community Hospitals. *J Clin Microbiol* 2015; 53(9): 2977-2982. doi:10.1128/JCM.01077-15.
24. Hindler JF, Stelling J. Analysis and presentation of cumulative antibiograms: a new consensus guideline from the Clinical and Laboratory Standards Institute. *Clin Infect Dis*. 2007; 44(6): 867-873.
25. Laupland KB, Ross T, Pitout JD, Church DL, Gregson DB. Investigation of sources of potential bias in laboratory surveillance for anti-microbial resistance. *Clin Invest Med*. 2007; 30(4): E159-66.
26. *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin – United States, 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002; 51(26): 565-7. Also available from: URL: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5126a1.htm>.
27. Boehme MS, Somsel PA, Downes FP. Systematic review of antibiograms: A National Laboratory System approach for improving antimicrobial susceptibility testing practices in Michigan. *Public Health Rep*. 2010; 125 Suppl 2(Suppl 2): 63-72.
28. Zapantis A, Lacy MK, Horvat RT, et al. Nationwide antibiogram analysis using NCCLS M39-A guidelines. *J Clin Microbiol*. 2005; 43(6): 2629-2634.
29. Barlam TF, Cosgrove SE, Abbo LM, et al. Executive Summary: Implementing an Antibiotic Stewardship Program: Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America. *Clin Infect Dis*. 2016; 62(10): 1197-1202.
30. Tan TY, McNulty C, Charlett A, Nessa N, Kelly C, Beswick T. Laboratory antibiotic susceptibility reporting and antibiotic prescribing in general practice. *J Antimicrob Chemother*. 2003; 51(2): 379-384.
31. McNulty CA, Lasseter GM, Charlett A, et al. Does laboratory antibiotic susceptibility reporting influence primary care prescribing in urinary tract infection and other infections?. *J Antimicrob Chemother*. 2011; 66(6): 1396-1404.
32. Stapleton PJ, Landon DJ, McWade R, Scanlon N, Hannan MM, O'Kelly F, Lynch M. Antibiotic resistance patterns of *Escherichia coli* urinary isolates and comparison with antibiotic consumption data over 10 years, 2005–2014. *Ir. J. Med. Sci*. 2017; 186, 733-741.
33. Klein EY, Van Boeckel TP, Martinez EM, et al. Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018; 115(15): E3463-E3470.
34. Centrální koordinační skupina NAP ČR: Spotřeba antibiotik v České republice v letech 2008–2018 – 1. část. Farmakoterapeutické informace 1/2020; dostupné z <http://www.sukl.cz/sukl/2020>.

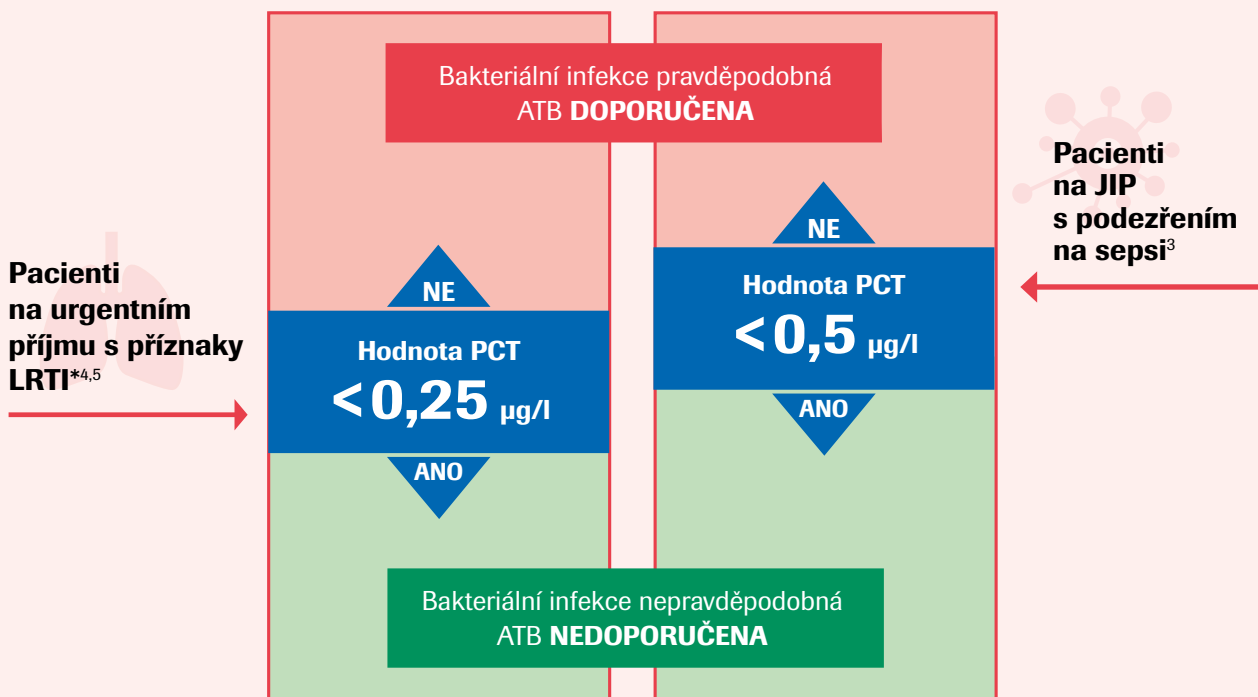




# Prokalcitonin při rozhodování o léčbě antibiotiky (ATB) (redakční příspěvek)

## Kdy zahájit léčbu antibiotiky?

Stanovení hladin prokalcitoninu (PCT) umožňuje rychlou a spolehlivou diagnostiku systémových bakteriálních infekcí (metoda Elecsys® BRAHMS PCT).<sup>1,2,7</sup>



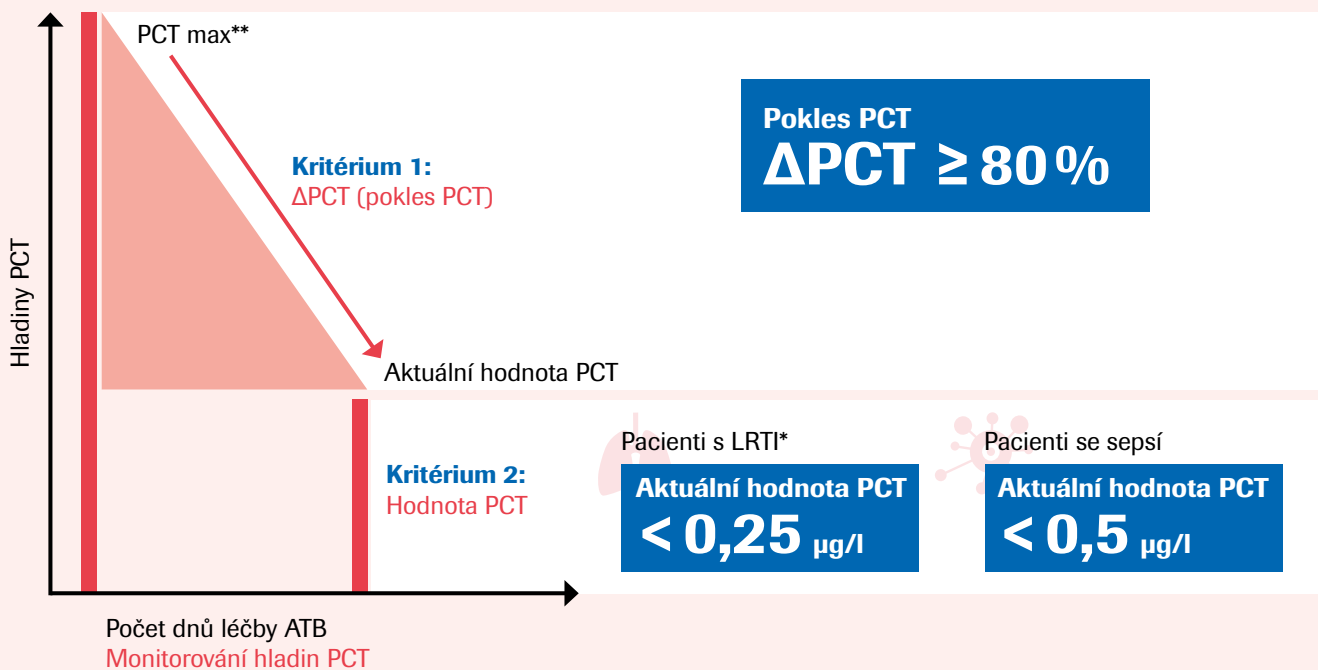
Hodnoty PCT je třeba vždy interpretovat v kontextu klinického stavu pacienta. Při podezření na infekci je třeba zahájit antibiotickou léčbu nebo v ní pokračovat.  
\* LRTI – Infekce dolních cest dýchacích (Low Respiratory Tract Infection).



## Kdy ukončit léčbu antibiotiky?

Denní sledování hodnot PCT umožňuje přizpůsobení délky léčby antibiotiky, a tedy nižší expozici vůči antibiotikům.<sup>6</sup>

- ✓ Pokud splňuje **JEDNO** nebo **OBĚ** kritéria, **UKONČIT** ATB
- ✗ Pokud nespĺňuje **ŽÁDNÉ** z kritérií, **POKRAČOVAT/ZMĚNIT** ATB



Hodnoty PCT je třeba vždy interpretovat v kontextu klinického stavu pacienta.  
Při podezření na infekci je třeba zahájit antibiotickou léčbu nebo v ní pokračovat.

\* LRTI - Infekce dolních cest dýchacích (Low Respiratory Tract Infection), \*\* PCT max - maximální naměřená hodnota PCT.

$$\Delta PCT = \frac{\text{Maximální hodnota PCT} - \text{aktuální hodnota PCT}}{\text{Maximální hodnota PCT}} \times 100 \%$$



Základní informace o IVD zdravotnickém prostředku firmy Roche Elecsys® BRAHMS PCT naleznete na [go.roche.com/CZ\\_eLabDoc](http://go.roche.com/CZ_eLabDoc).

### Literatura:

1. Harbarth, et al. Am J Respir Crit Care Med 2001; 164: 396-402.
2. Schuetz, et al. Clin Chem Lab Med 2015; 53(4): 583-592.
3. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med 1992;20:864-874.
4. Stolz D, et al. Swiss Med Wkly 2006;136:434-440.
5. Christ-Crain M, et al. Eur Respir J 2007; 30:556-573.
6. de Jong, et al. Lancet Infect Dis 2016; 3099: 1-9.
7. Metodický list Elecsys BRAHMS PCT 05056888 2/2020-08.



I v době nejvyšší vlny v první čtvrtině roku 2021 bylo onemocnění COVID-19 jenom menší částí péče, kterou nemocnice a jiná zdravotnická zařízení poskytovaly. Covid obsadil lůžka v naší okresní nemocnici nejvýše z jedné čtvrtiny. Netvořil ani úplné obsazení lůžek na ARO s ventilací. Další část lůžek byla v rezervě, ale většinu hospitalizovaných tvořili pacienti potřebující hospitalizaci z jiných důvodů. A ty důvody byly naléhavé, protože všechna elektivní péče se pochopitelně odkládala. Všechny následky odložené péče nejsou vyřešeny dodnes. V neodkladné péči byly náhlé příhody, porody, neodkladná onkologická chirurgie, úrazy a jiné těžší zdravotní problémy.

## Otázky péče v nemocnicích v době covidové. Zamyšlení nad laboratorními metodami při třídění pacientů.

MVDr. VÁCLAV FEJT

*Nemocnice Havlíčkův Brod, příspěvková organizace*

V našem přemítání se nebudeme dotýkat společenského boje s pandemií, ale fungování běžné české nemocnice, která musí pečovat jak o nemocné v „covidáriích“, tak o ostatní pacienty a ty druhé zároveň nevystavit nozokomiální nákaze. Proto jsou úvahy typu „všichni se mají vakcinovat“ úplně jiná složka problémů a vůbec se jimi nebudeme zabývat.

Základním vztahem je vztah pacient – ošetřující lékař. Pro problém nemocniční péče můžeme uvažovat i o používaných postupech, zavedených a kontrolovaných pro celé zdravotnické zařízení.

Jak si v naší úvaze ukážeme, důležitým principem je to, s čím lékaři zacházejí celý profesní život:

- žádná rizika ani jistoty nejsou stoprocentní;
- i za této nejistoty nesou lékaři za své rozhodnutí odpovědnost.

Rozpor mezi těmito body se řeší běžně. Lékaři nestačí naučit se jedno řešení a pak si s ním vystačit celý život, musí stále studovat, získávat zkušenosti vlastní praxí a učením od zkušenějších. V menším časovém měřítku se i problém pandemie

COVID-19 musí stále zkoumat, sledovat, počítat a shrnovat poznatky, publikovat a publikované číst, rozporovat a podle toho upravovat svá další rozhodnutí.

U příjmů nezbytné necovidové péče bylo a dosud je problémem třídění. Pacient přijímaný do nemocnice by mohl ohrozit ostatní pacienty, pokud by byl sám infekční. Nebo by se citlivý pacient mohl nakazit, pokud by se nákaza vyskytla mezi jeho spolupacienty.

Proto bylo od začátku nutné rozlišovat pacienty infekční a neinfekční, což bylo možné s nevídaným rozvojem laboratorní kapacity polymerázové řetězové reakce. Ve velkých číslech se ale začala projevovat vlastnost všech laboratorních testů: falešné pozitivita a negativita. I když nebudeme zdvihat pomyslnou pokličku technických detailů, může být malý čertík v preanalytické fázi – špatný odběr, nedokonalá identifikace vzorku. Vysoce profesionální a kontrolovaný přístup odběrových míst by mohl toto riziko snížit, ale zůstává problém načasování testu. Odběr vzorku v inkubační době může být negativní a pacient se stane infekčním až během prvních dnů hospitalizace. Naopak

vylučování viru se nekryje s pozitivitou v PCR, neinfekční přítomnost RNA ve vzorku může trvat i několik týdnů,<sup>1</sup> ale lze ji poznat jednak kvantitou ( $C_t$ ), jednak přítomností protilátek nebo jiného markeru proběhlé infekce a jí odpovídající imunitní odpovědi.<sup>2</sup> Dokud byl v nemocnicích „válečný stav“, leccos bylo možná omluvitelné, ale za nízkých absolutních čísel incidence jsou nozokomiální infekce velmi nepříjemný jev.

Za takového stavu je potřeba jiné třídění pacientů na:

- infekční
- vnímaví
- nevnímaví



### *První fáze opatření – nastupující epidemie (do září 2020)*

Vnímoví byli v první půli roku 2020 prakticky všichni, když pomineme přirozenou rezistenci, nevnímavost, která se zatím nijak prokázat nedá. Proto bylo vhodné vyšetřovat všechny přijímané pacienty pomocí přímého průkazu a do jasného výsledku držet pacienty na zvláštních pokojích. Bezpříznakoví negativní pacienti mohli pak být přesunuti na běžná oddělení pro péči, kterou potřebovali (interní,





chirurgickou...). Pacienti pozitivní byli hospitalizováni na vyčleněných pokojích či odděleních a jejich necovidový problém byl řešen tam.

Samozřejmě, pokud příjmem pronikl pacient bez příznaků v inkubační době před vylučováním viru a objevilo se během dalšího dne či dvou respirační onemocnění, byl i při velmi lehkých příznacích opakovan test PCR. Problémy kontaktů s takovými pacienty se řešily ad hoc, hrozil nozokomiální přenos.

### **Druhá fáze opatření – přibývání imunních pacientů**

Tato situace se změnila jednak zavedením vakcinace, jednak s uzdravením lidí po covidu, u kterých vzniká dobrá a dlouhotrvající protektivita.<sup>3</sup> Sluší se uvést, že protilátky stanovené po uzdravení jednak samy chrání (což se dá dosti dobře ověřit virus neutralizačním testem), jednak, a to zejména, jsou známkou toho, že proběhla celá sada imunitních dějů, od slizniční reakce buněčné, i produkci IgA, přes specifickou obranu buněčné imunity až po produkci protilátek všech specifit, nejen protilátky proti S1 proteinu.

Tím se z velké části obyvatelstva stala skupina nevnímavých. Zatím popíšme nástín postupu z jara roku 2021.

Jak roztřídit pacienty do našich skupin? Podle Stanoviska k obnovování operační péče<sup>4</sup> se nemají provádět žádná vyšetření, jejichž výsledek nezmění jednání lékaře.

Podle naší rozvahy potřebujeme:

- 1) kvalitní PCR (včetně  $C_t$  a dodatečně typu) s návratem výsledku do 1 hodiny;
- 2) stanovení IgG nebo celkových protilátek proti S1 proteinu s návratem výsledku do 1 hodiny;
- 3) údaj o vakcinaci a/nebo překonání COVID-19;
- 4) klinický stav svědčící i pro recentní respirační onemocnění (které není důvodem hospitalizace).

**Infekční** jsou PCR pozitivní s hodnotou  $C_t$  pod 35, bez protilátek a jiného průkazu předchozího překonání nemoci. Takoví jsou uloženi na odděleních vyčleněných pro COVID-19, a to nejméně po dobu 10 dnů. Péče se přizpůsobuje závažnosti základního onemocnění, například provedený chirurgický výkon musí přinést větší benefit, než je riziko horšího hojení.<sup>4</sup> Jako kritéria, kdy je pacient po nemoci neinfekční, uvádí dokument 10 dní od pozitivního PCR a nejméně 3 dny bez příznaků. Dokument ze září 2021<sup>5</sup> uvádí pacienta jako bezpečně neinfekčního 3 týdny od začátku onemocnění a lze jej za takového považovat i při překladu k následné péči. Lze se domnívat, že podle patofyziologické dynamiky pacient s doloženou produkcí specifických

protilátek s vysokou hodnotou  $C_t$  (tj. nízkou kvantitou RNA) bude neinfekční bez ohledu na uplynutí této doby.

**Imunní pacient** je s příslušnou pravděpodobností:

- Jedinec vakcinovaný kompletním schématem, které bylo dokončeno nejméně před dvěma týdny (v první půli roku 2021 nevyvstala otázka trvání takové ochrany).
- Jedinec, který překonal klinické onemocnění potvrzené přímým průkazem. Pokud uplynula doba delší než 3 měsíce, nebo bylo onemocnění velmi lehké, je nutno ověřit, zda došlo k celkové imunitní odpovědi, tj. prokázat protilátky. Jedinec, který se ubránil lokálně slizniční reakcí, nemusí být chráněn, i když byl před několika týdny pozitivní v PCR.
- Jedinec, který nebyl vakcinován a byly mu prokázány protilátky proti SARS-COV-2, čímž se rozumí průkaz IgG nebo celkových protilátek proti S1 proteinu nebo jeho podjednotce RDB certifikovanou metodou, v akreditované laboratoři, v kvantitě uváděné výrobcem jako neutralizační. Podobně lze použít i testy buněčné imunity, pokud jsou k dispozici a laboratoř zvládá interpretaci nálezů.

Význam poslední uvedené skupiny pacientů spočívá v prvé řadě v tom, že se nemusí před příjmem vyšetřovat přímou metodou (PCR). Pokud dojde ke kontaktu s infekčním člověkem, je malé nebezpečí nozokomiální nákazy. A hlavně se vyhneme možnému úřednímu nařízení karantény v době, kdy naléhavě potřebuje jinou péči.

**Neimunní jedinec**, který nemá příznaky, pozitivní PCR ani epidemickou expozici, je neinfekční a může podstoupit potřebnou péči bez omezení, ale je nutno jej chránit před infekčními.

Zvláštní skupinou jsou pak vzácné atypické stavy, u kterých nefungují vakcíny,



případně naopak přetrvává produkce plně virulentního viru (hematoonkologická onemocnění, B-depleční léčba atd).

Samozřejmě mohou být jednodušší pravidla.

Například se přijímají pouze vakcinovaní pacienti, ale takové řešení je možné jen na omezenou dobu a ještě ne všude, je to nebezpečná hra s odpíráním zdravotnické péče. (Úskalí účinnosti vakcín viz další odstavec.)

Nebo se na nějakou dobu zastaví příjmy vůbec, ale to lze jen ve speciálních zařízeních s plánovanou péčí.

Nebo je možné prostě všem pacientům den před hospitalizací provádět PCR. To bude dobře fungovat při nízké incidenci, protože pravděpodobnost toho, že někdo pronikne do zařízení zrovna v inkubační době, je malá. Ale při větší incidenci v populaci se to stát může, a to s postupujícím časem pravděpodobněji.

Další jednodušší způsob je všechny před příjmem nebo během něj podrobit jak PCR, tak stanovení protilátek. Nevýhody jsou dvě: vyšší náklady a riziko zbytkové positivity PCR po onemocnění, které pacienta zavře do karantény místo potřebného výkonu. Hygienická služba totiž kvantitu PCR<sup>2</sup> nebere do úvahy. Pokud by

tak činila, bylo by kombinované vyšetření široce použitelným postupem.

### **Třetí fáze – nové varianty a pokles ochrany po vakcíně**

Situace se stala složitější s postupem času. Jelikož se účinnost vakcíny časem od podání snižuje,<sup>6</sup> což je vidět na datech z ÚZIS, nelze počítat s dostatečně spolehlivou ochranou proti přenosu ani – vzácněji – proti těžšímu onemocnění jen podle údaje o vakcinaci. Ani třetí dávka nám nemusí tuto jistotu dát. Bohužel podle některých zkušeností nelze interpretovat postvakcinační protilátky stejně jako protilátky postinfekční, které můžeme doplnit o dobře dostupné jiné specifity (nejčastěji protilátky proti nukleokapsidovému proteinu, které u vakcíny chybí). Ani speciální vyšetření metodami buněčné imunity nemusí být přínosné, i kdyby bylo na daném pracovišti operativně dostupné. Zde musí lékař, pokud chce mít přijatelnou míru nejistoty, použít přímý průkaz (PCR), bedlivě vyšetřit anamnézu a navíc ještě první dny sledovat, zda pacient nevykáže příznaky počínajícího onemocnění. V tom případě musí PCR opakovat. Nicméně hodnocení musí být stále obezřetné, rozlišující, zda jde jen o přítomnost RNA, bezpříznakové nosičství, nebo klinický covid, který patří na „covidárium“. Možným vylehčením tohoto dilematu může být například stanovení N-proteinu v séru.

Míru ochrany případů po úzdavě, s prokázanou protilátkovou, případně i buněčnou imunitou včetně její paměti, a míru ochrany po hybridní imunizaci (tj. případy vakcinované po překonaném onemocnění) bude teprve nutno spočítat – nejlépe metaanalýzou kvalitních prospektivních studií. Vždy musí být rozlišováno, zda jde o ochranu před těžším onemocněním, nebo před přenosem nemoci dál. Dosaďované zprávy o postinfekční imunitě jsou ovšem velmi příznivé.

Pravidla, která stanoví zdravotnická zařízení pro svoje příjmy, jsou jiná než celospolečenská opatření. Například tlak na plošnou vakcinaci není nijak užitečný, i kdyby vakcína chránila dokonale, protože nelze odmítat péči nevakcinovaným lidem – představte si podobné třídění například v případě hromadné dopravní nehody.

Vytvoření řízeného dokumentu může poskytnout lékařům jednak návod, jednak právní oporu. Pro potřeby tvorby takového dokumentu by bylo možno využít naznačených principů, vždy podle čerstvých poznatků a zkušeností. Výsledkem by bylo nastolení podmínek co nejlepšího poskytování veškeré zdravotní péče s co nejmenšími riziky.

Podobně formulovaná pravidla by se mohla ujmout obecně a šla by používat například při překladech pro následnou nebo speciální péči.



#### **MVDr. Václav Fejt**

Oddělení společných laboratoří, vedoucí laboratoře imunologie a sérologie, Nemocnice Havlíčkův Brod, Husova 2624, Havlíčkův Brod

Kontakt: vaclav.fejt@onhb.cz

Absolvent oboru všeobecného veterinárního lékařství. Od roku 1993 pracuje v laboratořích Nemocnice Havlíčkův Brod, kde se zabývá metodami laboratorní imunologie a infekční sérologie. Sérologii viru SARS-CoV-2 se soustředěně věnuje od března 2020.

#### **LITERATURA**

1. <http://www.szu.cz/tema/prevence/doba-infekcnosti-jedincu-infikovanych-virem-sars-cov-2>).
2. <https://www.splm.cz/announcement/komentar-k-interpretaci-slabe-pozitivnich-nalezu-metodou-pcr-s-vysokymi-hodnotami-ct-00000178-63b9-d0b-2-a7ff-efffa24b0000>.
3. <https://zuova.cz/Home/Clanek/protilatky-po-prodelane-infekci-poskytuji-dostatecnou-a-dlouhodobou-ochranu-proti-onemocneni-covid-19>.
4. <https://www.csarim.cz/novinky/stanovisko-k-obnovovani-elektivni-operacni-pece>.
5. <https://www.cls.cz/stanoviska-cls-jep-z-s: Stanovisko ke strategii poskytování zdravotní péče při nárůstu počtu pacientů s onemocněním Covid-19 v ČR>.
6. [https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract\\_id=3949410](https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3949410) Effectiveness of Covid-19 Vaccination Against Risk of Symptomatic Infection, Hospitalization, and Death Up to 9 Months: A Swedish Total-Population Cohort Study.



Asfyxií rozumíme přerušeni dodávky kyslíku do organismu. Perinatální asfyxie je způsobená hypoxií plodu, ke které došlo v děloze před porodem nebo během porodu. Následkem toho vzniká hypoxémie, hyperkapnie a metabolická acidóza. Tyto změny vedou k hypoxicko-ischemické encefalopatii a dle rozsahu může dojít k rozvoji dětské mozkové obrny a dalších trvalých poruch funkce mozku. Časné stanovení prognózy u novorozenců s hypoxicko-ischemickou encefalopatií je obtížné. K základním úkolům mimo jiné patří zhodnocení neurologického stavu novorozence, aEEG a laboratorních parametrů včetně proteinu S100B. A právě protein S100B se jeví jako rychlý, senzitivní a specifický neurobiomarker v hodnocení tíže perinatální asfyxie a v predikci psychomotorického vývoje.

## Protein S100B a perinatální asfyxie

MUDr. VOJTĚCH BODNÁR<sup>1</sup>, MUDr. ANNA BAŠTAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Novorozenecké oddělení Fakultní nemocnice v Olomouci, <sup>2</sup> Dětská klinika Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty v Olomouci

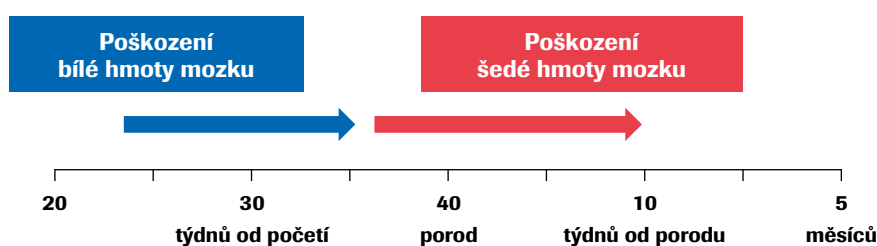
### Perinatální asfyxie

Perinatální asfyxie je způsobená hypoxií plodu, ke které došlo v děloze před porodem nebo během porodu. Tento jev je provázen oběhovým a respiračním selháním s poškozením činnosti mozku a ostatních orgánů. Tyto změny vedou k hypoxicko-ischemickému poškození orgánů (mozek, ledviny, srdce, játra...) s následným rozvojem encefalopatie.

Hypoxicko-ischemická encefalopatie (HIE) je projevem poškození CNS po hypoxické příhodě. Nejčastějšími příznaky jsou křeče, porucha vědomí, poruchy svalového napětí a reflexů. U většiny novorozenců se středně těžkou a těžkou HIE je přítomna dysfunkce alespoň jednoho orgánového systému. Dlouhodobým následkem HIE může být rozvoj dětské mozkové obrny a dalších trvalých poruch funkce mozku.<sup>1,2,3</sup>

Pokud nastane hypoxie během porodu, dochází nejprve ke kompenzačním mechanismům s cílem udržet normální saturaci kyslíkem. Jestliže nedojde k odstranění příčiny hypoxie, dochází u novorozence k primární zástavě dechu, která je následována tzv. lapavými dechy (gasp). Pokud ani nadále nedojde k úpravě stavu, dochází k rozvoji sekundární zástavy dechu, kdy se již spontánní dechová aktivita bez adekvátní pomoci neobnoví. Když se lapavé dechy objeví ještě před porodem, dochází k vdechnutí plodové vody. Při protražované hypoxii nastává ochabnutí řitního svěrače s uvolněním smolky do plodové vody, čímž se prohlubuje bludný kruh, jelikož může dojít během gaspů také k vdechnutí mekonie (syndrom aspirace mekonie). Cílem minimalizovat následky hypoxie je co nejdříve vybavit dítě (operační porod – vakuumextrakce, forceps, akutní císařský řez). Asfyktický novorozenec po vybavení obvykle nedýchá, je blebocyanotický a potřebuje akutní resuscitaci k obnovení základních životních funkcí. Rychlost srdeční akce je dobrým bezprostředním ukazatelem tíže asfyxie a její úprava je odezvou správně vedené resuscitace.<sup>2</sup>

K hodnocení stavu po narození se celosvětově využívá skóre dle Apgarové. Hodnoty v první minutě se 4–7 body odpovídají lehké až střední asfyxii, 0–3 body odpovídají těžké asfyxii. Ke zhodnocení závažnosti asfyxie slouží také vyšetření acidobazické rovnováhy z pupečnickové krve. Čím závažnější asfyxie je, tím výraznější je acidóza v pupečnickové krvi. Nicméně nejdůležitějším ukazatelem je poporodní adaptace novorozence



▲ Schéma 1: Rozdíl v poškození mozkové tkáně posthypoxicko-ischemickými změnami v závislosti na gestačním věku dítěte. Před 35.–36. týdnem gestace dochází zejména k poškození bílé hmoty, jehož následkem je periventrikulární leukomalacie. Po 35.–36. týdnu gestace dochází dominantně k poškození šedé hmoty a mozkové kůry a tím k rozvoji hypoxicko-ischemické encefalopatie (volně převzato od Sidhartha Tan, MD).

**Acidóza** – přebytek kyselin v krvi; **Apgar skóre** – mezinárodní bodovací systém pro posouzení stavu novorozence bezprostředně po narození; hodnotí se puls, dech, svalové napětí, reakce na podráždění a zabarvení kůže; vyjadřuje se třemi čísly od nuly do desítky (například 9–10–10), které jsou součtem hodnot zjištěných v první, páté a desáté minutě života dítěte; **Encefalopatie** – poškození mozku; **Forceps** – porod hlavičky dítěte pomocí kleští; **Hypoxicko-ischemické poškození** – poškození v důsledku přerušeni dodávky krve a kyslíku do mozku; **Hypoxie** – nedostatek kyslíku v krvi; **Mekonium** – obsah střev novorozence (první novorozenecká stolice); **Perinatální asfyxie** – dušení z nedostatku vzduchu během porodu; **Periventrikulární leukomalacie** – odumření bílé mozkové hmoty přilehlé k postranním mozkovým komorám; **Syndrom aspirace mekonie** – dechová tíseň novorozence způsobená vdechnutím mekonie během porodu; **Vakuumextrakce** – metoda usnadňující porod hlavičky dítěte, a to tahem pomocí zvonu, který je přisátý k hlavičce plodu.





a případný neurologický deficit po porodu. V současnosti jedinou terapeutickou metodou využívanou k minimalizaci postasfyktických změn je celotělová řízená terapeutická hypotermie. Úspěšně resuscitovaný novorozenec se střední až těžkou asfyxií často vyžaduje intenzivní péči pro stabilizaci a podporu základních životních funkcí.<sup>1,2,4</sup>

Příčiny asfyxie mohou být na straně matky či dítěte. K mateřským příčinám patří abrupce placenty, pravý uzel na pupečnicku, krátký pupečník způsobující nepostupující porod, kefalopelvicový nepoměr, eklampsie, placenta praevia, ruptura

dělohy a jiné. K příčinám ze strany dítěte patří vrozené vývojové vady, intrauterinní růstová restrikce, syndrom aspirace mekonie, krvní ztráty a další.<sup>2,5</sup>

Incidence perinatální asfyxie je závislá na její definici, kvalitě porodnické péče a včasné diagnostice. Ve světě se incidence perinatální asfyxie pohybuje okolo 5–8 na 1 000 živě narozených dětí a četnost hypoxicko-ischemické encefalopatie (HIE) se udává kolem 1 z 1 000 živě narozených dětí. V rozvojových zemích je vyšší riziko perinatální asfyxie a je jednou z hlavních příčin mortality a morbidit u dětí do 1 roku věku.<sup>2,3</sup>

## Klinický obraz dítěte s perinatální asfyxií

### Neurologické příznaky v časném období:

- Porucha sání
- Hypotonie
- Křeče, porucha vědomí
- Nereagující zornice

### Orgánové dysfunkce v časném období:

- Plíce: TTN – tranzitorní tachypnoe novorozence, RDS (syndrom dechové tísně), pneumonie, MAS (syndrom aspirace mekonie), PPHN (perzistující plicní hypertenze)
- Srdce a cévy: insuficience myokardu, nekróza papilárních svalů, hypotenze
- Ledviny: renální selhání, oligo/anurie, polyurie, hematurie
- Játra: poškození hepatocytů, hyperbilirubinémie
- Hematologie: DIC – diseminovaná intravaskulární koagulace, trombocytopenie
- Střevo: NEC – nekrotizující enterokolitida

## Prevence

Jedinou možnou prevencí je zamezení vzniku rozvoje akutní hypoxie v průběhu porodu, což je vzhledem k obtížné diagnostice a široké diferenciální diagnostice velmi obtížné. Jednou z mála možných

### Známky probíhající perinatální asfyxie během porodu:

- ruptura dělohy
- abrupce placenty
- výhřez pupečnicku
- embolizace plodovou vodou s těžkou a dlouhotrvající hypotenzí a hypoxémií těhotné
- srdeční selhání u těhotné
- masivní fetomaternální transfuze
- zrychlená srdeční frekvence s opakovanými deceleracemi při kardiokografii
- minimální variabilita srdeční frekvence plodu s opakovanými deceleracemi

### Známky proběhlé perinatální asfyxie u novorozence:

- Apgar skóre: pod 5 bodů v 5. a 10. minutě
- pupečnicková arteriální krev: pH pod 7,0 nebo BE  $\leq$  -12 mmol/l
- MRI: akutní posthypoxicko-ischemické změny (poškození šedé hmoty – bazální ganglia a thalamus; poškození bílé hmoty)
- multiorganové selhání
- dle recentních studií hladina proteinu S100B nad 1,6 ng/ml

### Známky proběhlé perinatální asfyxie během psychomotorického vývoje dítěte:

- spastická kvadruplegie (ochrnutí všech čtyř končetin)
- dyskinetická dětská mozková obrna

▲ Tab. 1: Známky akutní perinatální asfyxie, u kterých je riziko rozvoje HIE nebo u kterých HIE pravděpodobně proběhla (vychází z textu *The American College of Obstetricians and Gynecologists*)

**Abrupce placenty** – předčasné odloučení placenty; **Anurie** – zástava tvorby moči; **BE** – Base Excess; koncentrace bází určených titrací vyšetřované tekutiny, aby se pH rovnalo hodnotě 7,40 při pCO<sub>2</sub> 5,33 kPa a teplotě 37 °C v oxygenované krvi; **Celotělová řízená terapeutická hypotermie** – cílené léčebné chlazení novorozence; **Decelerace** – rychlé zpomalení srdečního tepu; **Diseminovaná intravaskulární koagulace** – život ohrožující porucha krevní srážlivosti, kdy v cévách vznikají mnohočetné krevní sraženiny; **Dyskinetická dětská mozková obrna** – porucha hybnosti charakterizovaná mimovolními pomalými kroutivými pohyby končetin nebo tváře; abnormální pohyby mizí ve spánku; **Eklampsie** – záchvat tonicko-klonických křečí těhotné ženy, po kterých následuje bezvědomí; **Fetomaternální transfuze** – přesun krve plodu do mateřského řečiště, kdy plod začne trpět nedostatkem krve; **Hematurie** – přítomnost krve v moči; **Hepatocyt** – jaterní buňka; **Hyperbilirubinémie** – zvýšené hladiny bilirubinu; **Hypotenze** – nízký krevní tlak; **Hypotonie** – snížené svalové napětí; **Insuficience myokardu** – srdeční selhání; **Intrauterinní růstová restrikce** – porucha růstu plodu uvnitř dělohy; **Kardiokografie** – metoda souběžného měření děložních stahů a srdeční frekvence plodu; **Kefalopelvicový nepoměr** – nesoulad mezi velkou hlavičkou plodu a příliš úzkou pávní rodičky; **Nekrotizující enterokolitida** – těžký akutní zánět střevní sliznice, který může způsobit protržení střeva; **Nekróza papilárních svalů** – odumření svalů uvnitř srdeční komory, ke kterým jsou připojeny srdeční chlopně; **Oligourie** – snížená tvorba moči; **Perzistující plicní hypertenze** – přetrvávající vysoký krevní tlak v plicním řečišti; **Placenta praevia** – vcestná placenta, která překrývá děložní branku; **Polyurie** – zvýšená tvorba moči; **Ruptura dělohy** – prasknutí stěny dělohy; **Tranzitorní tachypnoe** – přechodné zrychlené dýchání; **Trombocytopenie** – snížený počet krevních destiček.



prevencí jsou zejména pravidelné gynekologické kontroly v těhotenství a kardiokografický záznam během porodu.<sup>2</sup>

## Terapie

U indikovaných novorozenců je zahájena jediná ověřená neuroprotektivní terapie, a to celotělová řízená terapeutická hypotermie, která musí být zahájena nejpozději do 6 hodin od hypoxické příhody (indikační kritéria viz tab. 2). Jestliže novorozenec splní A i B kritéria, pak je zahájena neprodleně hypotermie a transport do perinatologického centra,

kde je natočen amplitudově integrovaný elektroencefalografický (aEEG) záznam. Při abnormním aEEG záznamu je pokračováno v hypotermii, při normálním aEEG záznamu lze hypotermii ukončit vzhledem k vysoké pravděpodobnosti normálního psychomotorického vývoje. Doporučená délka hypotermie je po dobu 72 hodin, cílem je udržet teplotu v rektu mezi 33–34 °C. Zchlazení tělesného jádra významně zpomaluje metabolické pochody v mozku, čímž je dosaženo neuroprotektivity. Dle studií zlepšuje tato terapie prognózu u 1–2 z 5 novorozenců s těžkou HIE.<sup>2,3,6</sup>

Samozřejmostí je podpůrná terapie ke stabilizaci oběhu a respiračních funkcí. Novorozenci jsou během hypotermie v drtivé většině případů napojeni na umělou plicní ventilaci (i vzhledem k jejich komfortu) a důsledně analgosedování

(na našem pracovišti máme dobré zkušenosti s kombinací sufentanil + dexmedetomidin). Nežádá se můžeme setkat s refrakterní hypotenzí s nutností kombinace katecholaminů a kortikoterapie. Důležitou součástí terapie je také úprava metabolického rozvratu (acidóza, hypoglykémie nebo hyperglykémie). Pokud se vyskytnou křeče, pak zahájíme antikonvulzivní terapii (fenobarbital jako lék 1. volby, dále lidokain, levetiracetam či klonazepam).<sup>1,2</sup>

## Prognóza

U dětí s mírnou a středně těžkou hypoxicko-ischemickou encefalopatií je většinou zcela normální psychomotorický vývoj.<sup>7</sup>

U těžké hypoxicko-ischemické encefalopatie je 75% riziko úmrtí v časném



▲ Obr. 1: Napojení dítěte na aEEG záznam. Zdroj: Novorozenecké oddělení Fakultní nemocnice v Olomouci

	I. stupeň (mírná HIE)	II. stupeň (středně těžká HIE)	III. stupeň (těžká HIE)
<b>Stav vědomí</b>	dráždivý	letargický nebo otupělý	stuporózní
<b>Napětí svalů</b>	normální	mírná hypotonie	výrazná hypotonie
<b>Postura (držení těla)</b>	mírná distální flexe	výrazná distální flexe	intermitentní decerebrace
<b>Šlacho-svalové (napínací) reflexy</b>	zvýšené	zvýšené	snížené nebo vymizelé
<b>Sací reflex</b>	slabý	slabý nebo chybějící	chybějící
<b>Moroův reflex</b>	silný; nízký práh	slabý, inkompletní; vysoký práh	chybějící
<b>Okulovestibulární reflex</b>	normální	zvýšený	slabý nebo chybějící
<b>Autonomní funkce</b>	generalizovaná sympatická	generalizovaná parasympatická	oba systémy sníženy
<b>Zornice</b>	rozšířené	zúžené	proměnlivé, špatná reakce na světlo
<b>Akce srdeční</b>	zrychlená	zpomalená	proměnlivá

▲ Tab. 2: Klasifikace tíže hypoxicko-ischemické encefalopatie dle Sarnatových (mírná, středně těžká a těžká HIE)<sup>1</sup>

**Autonomní funkce** – vegetativní nervová činnost, která probíhá nezávisle na naší vůli (trávení, pocení, dýchání, krevní oběh); **Distální flexe** – ohnuté horní a dolní končetiny; **Intermitentní decerebrace** – střídavé zvýšené svalové napětí (dolní a horní končetiny nataženy a stočeny dovnitř); **Moroův reflex** – fyziologický „objímací“ reflex, kdy novorozenec při leknutí náhle symetricky rozhodí ručičky nahoru a do stran, poté ruce vrátí zpět, jako když chce něco obejmout; úlekový reflex je obvykle provázen intenzivním pláčem; **Okulovestibulární reflex** – fyziologický reflex, kdy se po aplikaci studené vody do zevního zvukovodu oči stočí směrem ke zvukovodu.



novorozeneckém období, případně vysoké riziko dlouhodobého těžkého neurologického deficitu. Mezi mírné následky patří např. poruchy učení nebo pozornosti. Mezi těžké následky patří zejména dětská mozková obrna (DMO), epilepsie, poruchy zraku a sluchu, mentální insuficience. Tyto děti jsou pravidelně sledovány dětským neurologem.<sup>1,8</sup>

Časné stanovení prognózy u novorozenců s HIE je i pro zkušeného lékaře obtížné až nemožné. Berličkami ve stanovení prognózy je zhodnocení mnoha parametrů zároveň – především tíže HIE, vstupní laboratorní parametry (tíže acidózy, protein S100B), rozvoj MODS, rychlost úpravy aEEG záznamu během hypotermie, RI index na arteria cerebri anterior, nález na MRI, neurologický stav novorozence.<sup>5,7,9</sup>

### Laboratorní a pomocná vyšetření

Nedílnou součástí je vyšetření acidobazické rovnováhy z pupečnickové krve (pH<7,0, base excess < -16 mmol/l), k monitoraci mozkové aktivity využíváme záznam aEEG (amplitudově integrovaný elektroencefalografický záznam). K ověření hypoxicko-ischemických změn na mozku nám slouží ultrazvukové vyšetření, případně magnetická rezonance mozku.<sup>2,6</sup>

Vyšetření kardiomarkerů (troponin, NT-proBNP, CK-MB) nám pomáhá zhodnotit postižení myokardu, nicméně tyto kardiomarkery nejsou specifické pro perinatální asfyxii. Dále je vhodné opakované sledování renálních parametrů a iontogramu vzhledem k velmi častému renálnímu postižení. Pravidelně také vyšetřujeme jaterní enzymy, díky čemuž monitorujeme posthypoxické postižení jater.<sup>2</sup>

Dle recentních literárních zdrojů se jeví jako nadějný marker mozkového postižení protein S100B.<sup>10</sup>

### S100 proteiny

Jedná se o bílkoviny malé molekulové hmotnosti, jejichž významnou vlastností

je vazba dvou  $Ca^{2+}$  a  $Zn^{2+}$ . Díky těmto vazbám mohou vykonávat důležité intra- i extracelulární funkce.<sup>11</sup> Název S100 si členové této rodiny vysloužili díky své rozpustnosti ve 100% nasyceném síranu amonném.<sup>12</sup> Tyto malé proteiny jsou tkáňově, resp. buněčně specifické.<sup>13</sup> Jednou z nejdůležitějších vlastností (funkcí) S100 proteinů je jejich schopnost chovat

#### A. Zhodnocení perinatální asfyxie – novorozenec $\geq 36+0$ týden gravidity a nejméně jedno z následujících:

1. Apgar skóre  $\leq 5$  v 10. minutě života
2. Trvalá potřeba resuscitace, zahrnující ventilaci maskou nebo přes endotracheální kanylu v 10. minutě života
3. Acidóza, definována jako pH <7,0 z pupečnickové krve nebo z arteriální, venózní nebo kapilární krve během 60 minut od porodu
4. BE  $\leq -16$  mmol/l ze vzorku pupečnickové krve nebo v jakémkoliv vzorku krve během 60 minut od porodu

#### B. Prokázání středně těžké nebo těžké encefalopatie = manifestuje se křečemi, NEBO minimálně jedním příznakem ve třech a více kategoriích:

1. Alterace vědomí: letargie, stupor, kóma
2. Abnormální svalové napětí: hypotonie, atonie
3. Alterace spontánní aktivity: snížená nebo žádná
4. Abnormní reflexy: snížení/absence sacího reflexu, snížení/absence Moroova reflexu
5. Patologické postavení: extenze, distální flexe, decerebrace
6. Autonomní systém: pomalá srdeční frekvence, variabilní akce srdeční, nepravidelné dýchání, apnoe, nereagující zornice, rozšířené nebo zúžené zornice
7. Klinické křeče zaznamenané školeným personálem

#### C. Nejméně 30 minut trvající záznam aEEG – níže možnosti abnormního záznamu:

1. Normální pozadí + záchyt elektroencefalografických křečí
2. Mírně abnormní záznam (horní okraj křivky nad 10  $\mu V$  a dolní okraj křivky pod 5  $\mu V$ )
3. Těžce abnormní záznam (horní okraj křivky pod 10  $\mu V$  a dolní okraj křivky pod 5  $\mu V$ )
4. Kontinuální elektroencefalografické křeče

▲ Tab. 3: Indikační kritéria k zahájení celotělové řízené hypotermie. Novorozenec musí být  $\geq 36+0$  týden gravidity (v některé literatuře doporučováno  $\geq 35+0$  týden gravidity), viz doporučený postup České neonatologické společnosti vycházející ze studie TOBY (TOtal Body HYpotermia). Zdroj: Řízená hypotermie v léčbě hypoxicko-ischemické encefalopatie [online]. [cit. 2021-6-28]. Dostupné z: <https://www.neonatalogie.cz/doporučení-a-postupy>

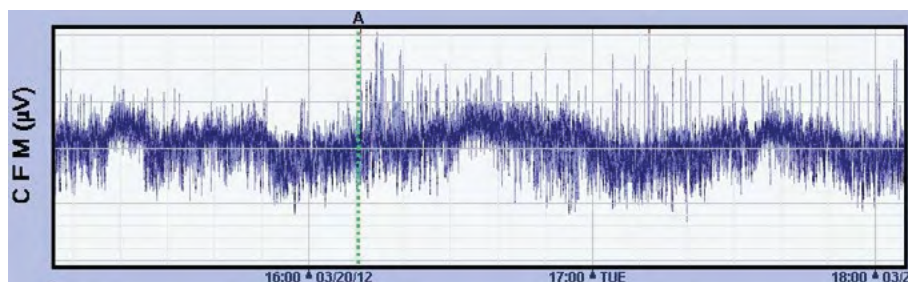
#### Kontraindikace celotělové řízené hypotermie:

- Gestační stáří <35+0 týden těhotenství
- Moribundní novorozenci nebo novorozenci se závažnými vrozenými vývojovými vadami a genetickými abnormalitami, u kterých není plánována další aktivní terapie
- Novorozenci s těžkou intrauterinní růstovou restrikcí (porodní hmotnost <3. percentil)
- Novorozenci se závažnou koagulopatií a/nebo krvácením
- Novorozenci s těžkým poraněním hlavy nebo intrakraniálním krvácením (izolované intraventrikulární krvácení není kontraindikací hypotermie)

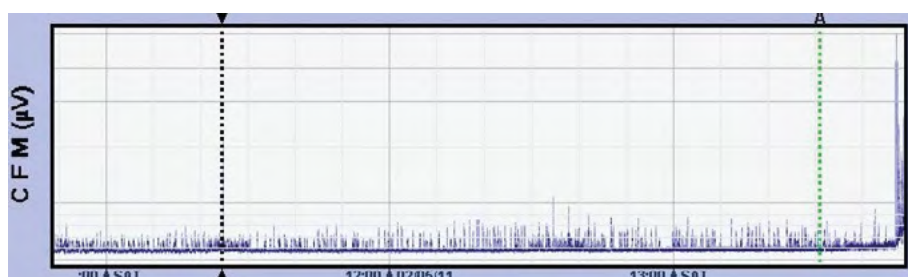
▲ Tab. 4: Kontraindikace celotělové řízené hypotermie, viz doporučený postup České neonatologické společnosti vycházející ze studie TOBY (TOtal Body HYpotermia). Zdroj: Řízená hypotermie v léčbě hypoxicko-ischemické encefalopatie [online]. [cit. 2021-6-28]. Dostupné z: <https://www.neonatalogie.cz/doporučení-a-postupy>

**Extenze** – natažení končetiny; **Stupor** – ztuhlost, neschopnost pohybu.

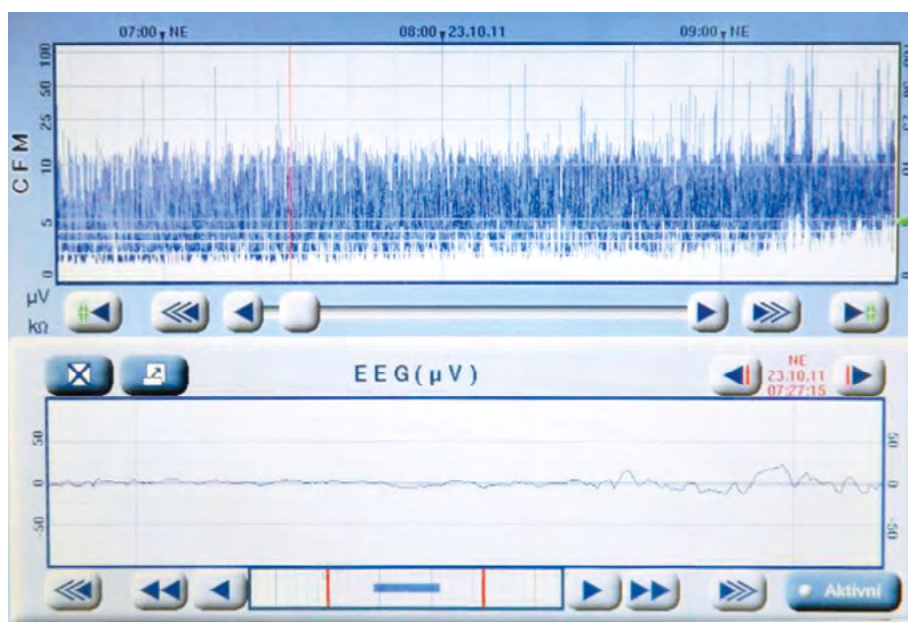




▲ Obr. 2: aEEG záznam – normální záznam – horní okraj křivky nad 10  $\mu\text{V}$  a dolní okraj křivky nad 5  $\mu\text{V}$ . Zdroj: Novorozenecké oddělení Fakultní nemocnice v Olomouci



▲ Obr. 3: aEEG záznam – těžce abnormní záznam – horní okraj křivky pod 10  $\mu\text{V}$  a dolní okraj křivky pod 5  $\mu\text{V}$ . Zdroj: Novorozenecké oddělení Fakultní nemocnice v Olomouci



▲ Obr. 4: aEEG záznam – středně abnormní záznam – postupně se upravující záznam během probíhající hypotermie – horní okraj křivky nad 10  $\mu\text{V}$  a dolní okraj křivky pod 5  $\mu\text{V}$ . Zdroj: Novorozenecké oddělení Fakultní nemocnice v Olomouci

se po přestupu z intra- do extracelulárního prostoru jako alarminy neboli damage-associated molecular pattern molecules (DAMPs).<sup>14</sup> Alarminy prostřednictvím specifických receptorů aktivují imunitní systém a zásadním způsobem zasahují a ovlivňují imunitní odpověď na poškození tkání. Hrají také významnou roli v reparaci tkání, například při poškození mozku působí S100A4 stejně jako S100B neuroprotektivně.<sup>15</sup> Extracelulárně působící S100 proteiny pracují především díky interakci s povrchovými buněčnými receptory RAGE (receptors for advanced glycosylation end products) a TLR4 (toll-like receptor 4).<sup>14,16</sup> TLR4 převážně rozpoznávají lipopolysacharidovou komponentu buněčné stěny G negativních bakterií.<sup>17</sup> Aktivují polymorfonukleáry, monocyty a makrofágy a tím zahajují imunitní odpověď.<sup>18,19,20</sup> RAGE jsou exprimovány pouze buňkami, které jsou součástí zánětlivé imunitní odpovědi<sup>21</sup> a jsou pravděpodobně hlavními aktéry tkáňového hojení a odpovědi na akutní poškození tkání.<sup>22</sup>

**Protein S100B**, resp. vápník vázající protein S100B, je významným členem rodiny S100 proteinů. Je exprimován převážně astrocyty, Schwannovými buňkami, určitými skupinami neuronů a buňkami odvozenými od buněk myeloidních.<sup>23</sup> K jeho uvolnění z poškozených gliálních buněk do krevního oběhu dojde ihned při poškození CNS (trauma, hypoxie aj.). Následně je eliminován ledvinami. Poločas v krevním řečišti je 30 až 100 minut.<sup>24,25,26</sup> S100B byl detekován v různých tělních tekutinách (plodová voda, likvor, krev, moč, sliny, mateřské mléko).<sup>10</sup>

**Alarminy** – látky proteinové povahy, které se uvolňují z buněk jako reakce na buněčný stres nebo poškození; indikují narušené vnitřní prostředí (homeostázu) organismu. **Astrocyty** – speciální podpůrné buňky v mozku, hvězdicovitého tvaru; mají izolační funkci (zabraňují šíření vzruchu mimo synapse) a současně vyživují neurony (zprostředkovávají látkovou výměnu s krví / mozkomíšním mokem); **Myeloidní buňky** – buňky kostní dřeně odpovědné za krvetvorbu; **Schwannovy buňky** – speciální podpůrné buňky v periferní nervové soustavě, které obtáčejí nervová vlákna; fungují jako izolanty a současně zrychlují přenos nervového vzruchu.



**Význam proteinu S100B  
v hodnocení tíže perinatální  
asfyxie a v predikci  
psychomotorického vývoje**

Vyšetření proteinu S100B může identifikovat novorozence s rizikem hypoxicko-ischemické encefalopatie (HIE) po proběhlé perinatální asfyxii, odhadnout rozsah poškození mozku a pomoci s prognózou

u kojenců s HIE v anamnéze.<sup>15</sup> První autoři zabývající se S100B proteinem jakožto markerem postižení CNS u novorozenců měřili tuto bílkovinu v **mozkomíšním moku**. Už v roce 2001 Whitelaw et al. prokázali, že předčasně narození novorozenci s posthemoragickou dilatací mozkových komor mají v likvoru vyšší hladiny S100B proteinu než zdravé kontroly. Tyto hodnoty byly vyšší i u dětí, které zemřely,

u dětí se zavedeným shuntem, i při měření v 1. roce života u dětí, které byly následkem krvácení nějakým způsobem handicapované.<sup>27</sup> Stejně nadějně výsledky publikoval také Blennow, který ve své studii potvrdil zvýšené hladiny S100B v likvoru u donošených novorozenců po poporodní asfyxii. A co je důležité, hladina S100B korelovala s neurologickým postižením v 1. roce života dítěte.<sup>28</sup>



▲ Obr. 5: Přístroj umožňující provedení hypotermie s monitorací rektální teploty u novorozence a s možností nastavení cílové tělesné teploty v rektu a teploty chladicí podložky, která je umístěna pod novorozencem. Zdroj: Novorozenecké oddělení Fakultní nemocnice v Olomouci



▲ Obr. 6: Novorozenec během celotělové řízené hypotermie; vlevo aEEG monitor, vpravo přístroj pro hypotermii. Zdroj: Novorozenecké oddělení Fakultní nemocnice v Olomouci



▲ Obr. 7: Novorozenec během celotělové řízené hypotermie. Zdroj: Novorozenecké oddělení Fakultní nemocnice v Olomouci



▲ Obr. 8: Novorozenec během celotělové řízené hypotermie. Zdroj: Novorozenecké oddělení Fakultní nemocnice v Olomouci





Vzhledem k tomu, že odběr mozkomíšního moku je vyšetření ne zcela neinvazivní, bylo třeba zjistit, zda se S100B po CNS poškození objevuje u asfyktických novorozenců také v krvi. Dle výsledků metaanalýzy z roku 2020 byly hladiny S100B v krvi novorozenců s postasfyktickou hypoxicko-ischemickou encefalopatií rovněž zvýšené. Dle závěrů metaanalýzy byla stanovena ideální cut-off hodnota proteinu S100B z periferní krve 1,6 ng/ml (specifita 91 %, senzitivita 40 %).<sup>10</sup>

### S100B a jeho další využití

Jednou z obávaných komplikací a nejčastější formou mozkového krvácení u extrémně nezralých novorozenců je intraventrikulární hemoragie (IVH). Tento stav není jednoduché diagnostikovat, jelikož během prvních 72 hodin mohou klinické příznaky chybět a radiologické zobrazení mozku může být falešně negativní.

Bersani ve svém review z roku 2020 popisuje řadu studií, kde měřili S100B v periferní krvi či v pupečnicku. Nejzásadnější zjištění, která uvádí, jsou:

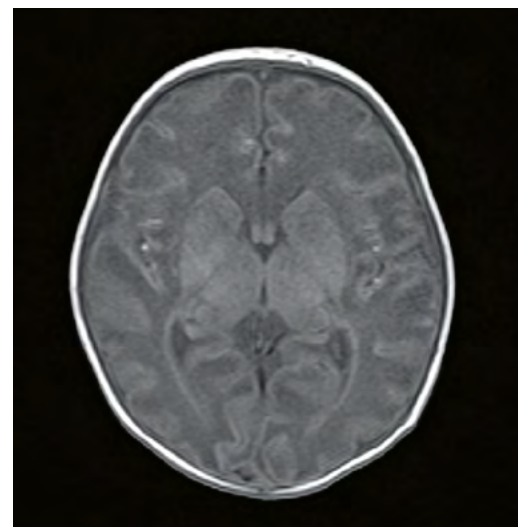
- (i) S100B byl zvýšený u předčasně narozených novorozenců s intraventrikulární hemoragií (IVH), a to již 48 hodin před pozitivním ultrazvukovým nálezem a rozvojem klinických příznaků. Korelovala také výše S100B a rozsah postižení.
- (ii) u předčasně narozených novorozenců s intrauterinní růstovou retardací (IUGR) byl S100B také elevován.

Kromě diagnostiky postižení CNS u asfyktických novorozenců se tohoto proteinu využívá také v řadě dalších oborů.

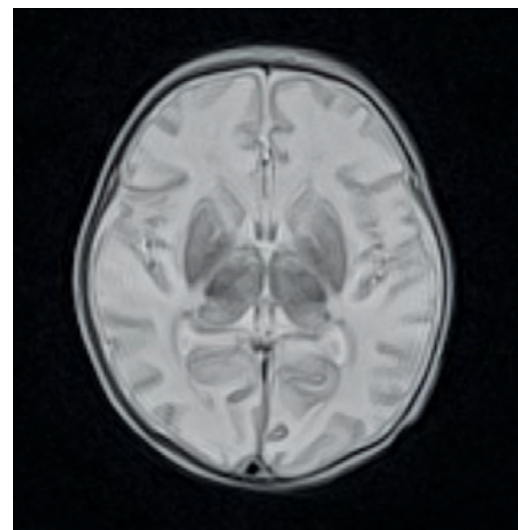
K nejčastějším situacím patří měření hladin S100B při traumatickém poškození hlavy. Dle některých studií by mohlo měření S100B v prvních hodinách po lehkém poškození mozku nahradit vyšetření CT (computed tomography) a tím např. u dětí snížit, resp. zamezit radiační zátěži. Rozsah postižení a anatomické rozložení traumatu samozřejmě tímto vyšetřením zjistit nelze. Inhibici tohoto proteinu je možné využít například v léčbě maligního melanomu. Ukázalo se, že S100B je také důležitý nástroj monitorace léčby ER (estrogen receptor) pozitivního karcinomu prsu. Zvýšené hladiny S100B v tkáních a séru jsou ukazatelem špatné prognózy u pacientek na hormonální terapii. Navíc zvýšené hladiny sérového S100B detekované během rutinních kontrol jsou významně spojené s recidivou onemocnění.<sup>15</sup>

### Závěr

Hypoxické postižení mozku novorozence může vést k takzvané hypoxicko-ischemické encefalopatii. Dle tíže poškození mozku je dítě ohroženo rozvojem dětské mozkové obrny a dalších trvalých poruch funkce mozku. Časně stanovení prognózy u novorozenců s hypoxicko-ischemickou encefalopatií je důležité, avšak obtížné. Vedle klinického zhodnocení neurologického stavu novorozence hodnotíme také úpravu záznamu aEEG během hypotermie. Z biochemických metod se jeví výhodné využití proteinu S100B vázajícího vápník. Tento neurobiomarker je zvýšený u postižení mozku. Praxe na našem pracovišti potvrzuje výsledky z recentních literární zdrojů, tj. že u hypoxicko-ischemické encefalopatie jsou hladiny proteinu S100B zpravidla zvýšené.



▲ Obr. 9: MRI mozku 4 dny po ukončení terapeutické hypotermie – T1 vážená sekvence. Snížená intenzita signálů bílé hmoty, nízká intenzita capsula interna a zvýšená intenzita v oblasti bazálních ganglií a thalamů svědčící pro výrazné hypoxicko-ischemické změny mozku. Zdroj: Novorozenecké oddělení Fakultní nemocnice v Olomouci



▲ Obr. 10: MRI mozku 4 dny po ukončení terapeutické hypotermie – T2 vážená sekvence. Zvýšená intenzita signálů bílé hmoty svědčící pro výrazné hypoxicko-ischemické změny mozku. Zdroj: Novorozenecké oddělení Fakultní nemocnice v Olomouci



### MUDr. Vojtěch Bodnár

Novorozenecké oddělení Fakultní nemocnice v Olomouci, I. P. Pavlova 6, Olomouc  
Kontakt: vojtech.bodnar@fnol.cz

Pracuje jako lékař na Novorozeneckém oddělení Fakultní nemocnice Olomouc od roku 2015, kdy ukončil studium na Lékařské fakultě Univerzity Palackého v Olomouci. V roce 2020 složil atestační zkoušku z Dětského lékařství. Nyní je v předatestační přípravě v oboru Neonatologie. V současné době se také věnuje Ph.D. studiu s tématem Perinatální asfyxie.

### MUDr. Anna Baštan, roz. Medková

Fakultní nemocnice Olomouc, Dětská klinika, JIRP, I. P. Pavlova 6, Olomouc  
Kontakt: medkova.andula@gmail.com

Studium všeobecného lékařství úspěšně zakončila na 1. lékařské fakultě Univerzity Karlovy v Praze. Lékařské povolání zahájila na Novorozeneckém oddělení Nemocnice na Bulovce. Od roku 2015 pracuje na Dětské klinice Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, t. č. na Jednotce intenzivní a resuscitační péče. Ve svém Ph.D. studiu se věnuje diagnostice novorozenecké sepsy. V roce 2019 složila atestační zkoušku z Dětského lékařství.



## LITERATURA

1. STRAŇÁK, Zbyněk a Jan JANOTA. *Neonatology. 2., přepracované a rozšířené vydání. Praha: Mladá fronta, 2015. Aeskulap. ISBN 978-80-204-3861-4.*
2. PROCHÁZKA, Martin. *Porodní asistence. 1. vydání. Praha: Maxdorf, 2020. Jessenius. ISBN 978-80-7345-618-4.*
3. MARTIN, Richard J., Avroy A. FANAROFF a Michele C. WALSH. *Fanaroff and Martin's neonatal-perinatal medicine : diseases of the fetus and infant. 11 th. Philadelphia: Elsevier, 2019. ISBN 9780323567114.*
4. GOMELLA, Tricia Lacy, ed. *Neonatology: management, procedures, on-call problems, diseases, and drugs. 7th ed. New York: McGraw-Hill Medical, 2013. ISBN 978-0-07-176801-6.*
5. *Executive summary: Neonatal encephalopathy and neurologic outcome, second edition. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Neonatal Encephalopathy. Obstetrics & Gynecology [online]. vol. 123. 2014, 123(4), 896-901 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1097/01.AOG.0000445580.65983.d2. ISSN 0029-7844. Dostupné z: <http://journals.lww.com/00006250-201404000-00038>.*
6. *Řízená hypotermie v léčbě hypoxicko-ischemické encefalopatie [online]. b.r. [cit. 2021-06-28]. Dostupné z: <https://www.neonatalogie.cz/doporučení-a-postupy>.*
7. HAKOBYAN, Mariam, Koen P. DIJKMAN, Sabrina LAROCHE et al. *Outcome of Infants with Therapeutic Hypothermia after Perinatal Asphyxia and Early-Onset Sepsis. Neonatology [online]. vol. 115. 2019, 115(2), 127-133 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1159/000493358. ISSN 1661-7800. Dostupné z: <https://www.karger.com/Article/FullText/493358>.*
8. MERENSTEIN, Gerald B., ed. a Sandra L. GARDNER, ed. *Merenstein and Gardner's Handbook of Neonatal Intensive Care. 9th ed. St. Louis: Elsevier, 2021. ISBN 978-0-323-56903-3.*
9. KLAUS, Marshall H. a Avroy A. FANAROFF. *Care of the high-risk neonate. 7. ed. Missouri: Elsevier, 2020. ISBN 9780323608541.*
10. BERSANI, Iliana, Francesca PLUCHINOTTA, Andrea DOTTA et al. *Early predictors of perinatal brain damage: the role of neurobiomarkers. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM) [online]. vol. 58. 2020, 58(4), 471-486 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1515/cclm-2019-0725. ISSN 1437-4331. Dostupné z: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/cclm-2019-0725/html>.*
11. BAUDIER, J., N. GLASSER a D. GERARD. *Ions binding to S100 proteins. I. Calcium- and zinc-binding properties of bovine brain S100 alpha alpha, S100a (alpha beta), and S100b (beta beta) protein: Zn2+ regulates Ca2+ binding on S100b protein. Journal of Biological Chemistry [online]. vol. 261. 1986, 261(18), 8192-8203 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1016/S0021-9258(19)83895-4. ISSN 00219258. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925819838954>.*
12. MOORE, Blake W. *A soluble protein characteristic of the nervous system. Biochemical and Biophysical Research Communications [online]. vol. 19. 1965, 19(6), 739-744 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1016/0006-291X(65)90320-7. ISSN 0006291X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0006291X65903207>.*
13. DONATO, Rosario. *S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology [online]. vol. 33. 2001, 33(7), 637-668 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1016/S1357-2725(01)00046-2. ISSN 13572725. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1357272501000462>.*
14. BERTHELOOT, Damien a Eicke LATZ. *HMGB1, IL-1α, IL-33 and S100 proteins: dual-function alarmins. Cellular & Molecular Immunology [online]. vol. 14. 2017, 14(1), 43-64 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1038/cmi.2016.34. ISSN 1672-7681. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/cmi201634>.*
15. MEDKOVA, Anna, Josef SROVNAL, Jarmila POTOMKOVA, Jana VOLEJNÍKOVÁ a Vladimír MIHAL. *Multifarious diagnostic possibilities of the S100 protein family: predominantly in pediatrics and neonatology. World Journal of Pediatrics [online]. vol. 14. 2018, 14(4), 315-321 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1007/s12519-018-0163-5. ISSN 1708-8569. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s12519-018-0163-5>.*
16. DONATO, R., B. R. CANNON, G. SORCI, F. RIUZZI, K. HSU, D. J. WEBER a C. L. GECZY. *Functions of S100 Proteins. Current Molecular Medicine [online]. vol. 13. 2012, 13(1), 24-57 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.2174/15665240130104. ISSN 15665240. Dostupné z: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1566-5240&volume=13&issue=1&spage=24>.*
17. ANDERBERG, S. B., T. LUTHER a R. FRITHIOF. *Physiological aspects of Toll-like receptor 4 activation in sepsis-induced acute kidney injury. Acta Physiologica [online]. vol. 219. 2017, 219(3), 575-590 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1111/apha.12798. ISSN 17481708. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/apha.12798>.*
18. FARINA, C. *Distinct responses of monocytes to Toll-like receptor ligands and inflammatory cytokines. International Immunology [online]. vol. 16. 2004, 16(6), 799-809 [cit.*





- 2021-06-29]. DOI: 10.1093/intimm/dxh083. ISSN 1460-2377. Dostupné z: <https://academic.oup.com/intimm/article-lookup/doi/10.1093/intimm/dxh083>.
19. HAYASHI, Fumitaka, Terry K. MEANS a Andrew D. LUSTER. Toll-like receptors stimulate human neutrophil function. *Blood* [online]. vol. 102. 2003, 102(7), 2660-2669 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1182/blood-2003-04-1078. ISSN 0006-4971. Dostupné z: <https://ashpublications.org/blood/article/102/7/2660/17964/Tolllike-receptors-stimulate-human-neutrophil>.
20. MEDZHITOV, Ruslan. Toll-like receptors and innate immunity. *Nature Reviews Immunology* [online]. vol. 1. 2001, 1(2), 135-145 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1038/35100529. ISSN 1474-1733. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/nri35100529>.
21. RAMASAMY, Ravichandran, Shi Fang YAN, Kevan HEROLD, Raphael CLYNES a Ann Marie SCHMIDT. Receptor for Advanced Glycation End Products. *Annals of the New York Academy of Sciences* [online]. vol. 1126. 2008, 1126(1), 7-13 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1196/annals.1433.056. ISSN 00778923. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1196/annals.1433.056>.
22. SORCI, Guglielmo, Francesca RIUZZI, Ileana GIAMBANCO a Rosario DONATO. RAGE in tissue homeostasis, repair and regeneration. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* [online]. vol. 1833. 2013, 1833(1), 101-109 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2012.10.021. ISSN 01674889. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167488912003035>.
23. DONATO, Rosario, Guglielmo SORCI, Francesca RIUZZI, Cataldo ARCURI, Roberta BIANCHI, Flora BROZZI, Claudia TUBARO a Ileana GIAMBANCO. S100B's double life: Intracellular regulator and extracellular signal. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* [online]. vol. 1793. 2009, 1793(6), 1008-1022 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2008.11.009. ISSN 01674889. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167488908004096>.
24. PETZOLD, A., G. KEIR, D. LIM, M. SMITH a E.J. THOMPSON. Cerebrospinal fluid (CSF) and serum S100B: release and wash-out pattern. *Brain Research Bulletin* [online]. vol. 61. 2003, 61(3), 281-285 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1016/S0361-9230(03)00091-1. ISSN 03619230. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0361923003000911>.
25. JÖNSSON, Henrik, Per JOHNSSON, Peter HÖGLUND, Christer ALLING a Sten BLOMQUIST. Elimination of S100B and renal function after cardiac surgery. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* [online]. vol. 14. 2000, 14(6), 698-701 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1053/jcan.2000.18444. ISSN 10530770. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1053077000661542>.
26. TOWNEND, Will, Colin DIBBLE, Kamran ABID, Andy VAIL, Roy SHERWOOD a Fiona LECKY. Rapid Elimination of Protein S-100B from Serum after Minor Head Trauma. *Journal of Neurotrauma* [online]. vol. 23. 2006, 23(2), 149-155 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1089/neu.2006.23.149. ISSN 0897-7151. Dostupné z: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/neu.2006.23.149>.
27. WHITELAW, A. Brain specific proteins in posthaemorrhagic ventricular dilatation. *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition* [online]. vol. 84. b.r., 84(2), 90-91 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1136/fn.84.2.F90. ISSN 13592998. Dostupné z: <https://fn.bmj.com/lookup/doi/10.1136/fn.84.2.F90>.
28. BLENNOW, M., K. SÄVMAN, P. ILVES, M. THORESEN a L. ROSENGREN. Brain-specific proteins in the cerebrospinal fluid of severely asphyxiated newborn infants. *Acta Paediatrica* [online]. vol. 90. 2001, 90(10), 1171-1175 [cit. 2021-06-29]. DOI: 10.1080/080352501317061594. ISSN 0803-5253. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1080/080352501317061594>.



GDF-15 (Growth Differentiation Factor 15) je protein, který se fyziologicky vyskytuje v nízkých koncentracích v řadě tkání a orgánů včetně jater, ledvin, srdce nebo plic. Hladiny GDF-15 stoupají v odpovědi na přítomnost zánětu, hypoxie, poškození tkáně, nádorové bujení nebo při postižení myokardu. Zvýšené koncentrace cirkulujícího GDF-15 jsou spojeny s nárůstem mortality u nemocných s akutními koronárními syndromy, fibrilací síní nebo srdečním selháním. Vyšší hladiny GDF-15 mohou být prediktorem i dalších komplikací akutních koronárních syndromů, včetně krvácení, rizika recidivy infarktu nebo rozvoje srdečního selhání. Hodnoty GDF-15 jsou také spojeny s odhadem rizika krvácivých komplikací antikoagulační léčby u nemocných s fibrilací síní. Role GDF-15 jako biomarkeru v kardiologii není však pevně stanovena. V současné době je publikováno značné množství studií, které hledají význam GDF-15 u celého spektra kardiovaskulárních onemocnění.

## GDF-15 v kardiologii

doc. MUDr. ŠTĚPÁN HAVRÁNEK, Ph.D.

II. interní klinika – klinika kardiologie a angiologie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

### Úvod

GDF-15 (Growth Differentiation Factor 15) je protein, který patří do cytokinové skupiny transformujících růstových faktorů  $\beta$  (TGF- $\beta$ ). Fyziologicky se vyskytuje v nízkých koncentracích v řadě orgánů včetně jater, ledvin, srdce nebo plic.<sup>1</sup> Medián hodnot koncentrací GDF-15 v plazmě u zdravé dospělé populace je 762 ng/l (25.–75. percentil, 600–959 ng/l).<sup>2</sup> Fyziologicky se vyšší koncentrace GDF-15 vyskytují ve vyšším věku a v těhotenství, kdy jsou produkovány placentou. Proto je nutné při interpretaci naměřených hodnot GDF-15 zohlednit věk nemocného. V tab. 1 jsou uvedeny hodnoty plazmatické koncentrace GDF-15 v závislosti na věku.

Funkce GDF-15 v organismu není zcela objasněna. Nejpravděpodobnější úloha GDF-15 spočívá v regulaci metabolismu,<sup>3</sup> popřípadě v regulaci cest zánětu, reparace a růstu buněk a v řízení apoptózy.<sup>1</sup>

Hladiny GDF-15 stoupají při celé řadě stavů: při zánětu, hypoxii nebo poškození tkáně. Mimo známý vzestup hladin GDF-15 u nemocných s nádorovým onemocněním, renální insuficiencí, diabetem či v sepsi nárůst hodnot GDF-15 provází i řadu kardiovaskulárních patologií.<sup>2,4</sup>

Zvýšené sérové koncentrace GDF-15 byly zjištěny u nemocných s chronickými i akutními koronárními syndromy, se srdečním selháním<sup>4</sup> nebo fibrilací síní (FS)<sup>5</sup>. Míra zvýšení hodnot GDF-15 u těchto stavů často koresponduje se závažností či prognózou onemocnění.<sup>4</sup> Díky této skutečnosti se nabízí využití GDF-15 jako prognostického biomarkeru a řada publikovaných prací, jak budeme rozebírat

Věk (roky)	N	Průměr (pg/ml)	SD (pg/ml)	Medián (pg/ml)	95. percentil (pg/ml)
20 až <30	127	514	273	429	831
30 až <40	120	564	223	500	852
40 až <50	125	660	266	614	1 229
50 až <60	119	807	285	757	1 466
60 až <70	122	937	306	866	1 476
≥70	126	1 187	547	1 060	2 199

▲ Tab. 1: Hodnoty GDF-15 u zdravých dobrovolníků podle věku (převzato ze souhrnných informací k laboratornímu stanovení Elecsys GDF-15<sup>34</sup>)

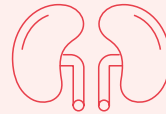


dále, toto využití podporuje. Hladiny GDF-15 vypadají jako slibný ukazatel negativního vývoje kardiovaskulárních onemocnění, a to ukazatel často nezávislý na tradičních rizikových faktorech, včetně biomarkerů jako vysoce senzitivní srdeční troponin T (hs TnT), N-terminální natriuretický propeptid typu B (NT-proBNP) a vysoce senzitivní C-reaktivní protein (hs CRP).<sup>6-8</sup> Na GDF-15 a ostatní biomarkery se vyplatí nahlížet jako na skupinu vzájemně se doplňujících ukazatelů. Dobrým příkladem je subanalýza dat ze studie Val-HeFT, kdy riziko mortality bylo největší v případě zvýšených hladin GDF-15 v kombinaci se zvýšením NT-proBNP nebo hs TnT.<sup>6</sup>

Důležité je si uvědomit, že GDF-15 je nespecifický marker, který je syntetizován řadou tkání a orgánů, a to i v případě kardiovaskulárních onemocnění. Dle animálních modelů srdečního selhání a infarktu myokardu může být GDF-15 produkován jak kardiomyocyty, tak i buňkami v aterosklerotických plátech,<sup>9</sup> nicméně zvýšené koncentrace GDF-15 nebudou jistě dány jen zvýšenou produkcí v kardiovaskulárním systému. V tomto směru bylo zajímavým zjištěním, že u nemocných s neischemickou kardiomyopatií, jejichž stav si vyžádal zavedení oběhové podpory a kteří měli vysoké hladiny cirkulujícího GDF-15, nebyla syntéza proteinu GDF-15 v komorových kardiomyocytech prokázána.<sup>10,11</sup> Proto je více než zřejmé, že GDF-15 je biomarker, jehož hladina odráží vliv několika patologických procesů, včetně celkového stavu organismu.

Ačkoliv testování parametru GDF-15 je dostupné, není zcela pevně zakotvena role GDF-15 u onemocnění srdce a cév. V současné době je publikováno značné množství klinických dat o GDF-15 u celého spektra pacientů s kardiovaskulárními nemocemi. V dalším textu se budeme zabývat významem GDF-15 u tří základních skupin onemocnění srdce, a to u srdečního selhání, FS a akutních koronárních syndromů.

### Hladiny GDF-15 (orgánově nespecificky)



stoupají v důsledku buněčného stresu na podkladě

- hypoxie
- zánětu
- remodelace
- oxidačního stresu
- nádorového procesu
- mechanického poškození

### GDF-15 jako biomarker u srdečního selhání

Význam GDF-15 byl testován jako prognostický marker u nemocných se srdečním selháním. Víme, že pacienti, kteří mají srdeční selhání, mají hodnoty cirkulujícího GDF-15 zvýšené oproti zdravé populaci.<sup>12</sup> Tento vzestup je srovnatelný u nemocných se srdečním selháním se sníženou (HFrEF) i zachovalou ejekční frakcí levé komory (HFpEF).<sup>12</sup> V tomto bodě se nabízí paralela k NT-proBNP, které hraje klíčovou roli ve stanovení diagnózy srdečního selhání. Dle posledních doporučení Evropské kardiologické společnosti je stanovení výše NT-proBNP základní diagnostický krok.<sup>13</sup> Zdá se, že není ani přítomen významný rozdíl v hodnotě cirkulujícího GDF-15 mezi pacienty s dilatační nebo ischemickou kardiomyopatií.<sup>12</sup> Toto zjištění není překvapivé v kontextu absence změny hodnot GDF-15 v závislosti na hrubším parametru, kterým je systolická funkce levé komory. Protein GDF-15 se také jeví jako stabilně zvýšený biomarker u HFrEF bez ohledu na přítomnost FS. V této vlastnosti je GDF-15 odlišným markerem od NT-proBNP, který na změnu srdečního rytmu reaguje a je také v závislosti na přítomném srdečním rytmu interpretován.<sup>14</sup> Stabilita hladiny GDF-15 bez ohledu na přítomný rytmus může být za určitých okolností přínosná. Hladiny GDF-15 můžeme více interpretovat jako obraz dlouhodobého stavu

srdečního selhání bez kolísání při akutní změně klinické situace.

Koncentrace cirkulujícího GDF-15 odpovídají stupni srdečního selhání a jsou schopny predikovat klinický průběh onemocnění, jak ukazují některá data. Dle analýzy vzorků studie HF-ACTION, která hodnotila význam pohybové aktivity u pacientů s HFrEF, byla nalezena korelace mezi funkční třídou NYHA a vyšší hladin GDF-15. Dále byly vyšší hladiny GDF-15 asociovány s vyšší celkovou mortalitou.<sup>15</sup> Tyto výsledky potvrdila i subanalýza studie PARADIGM-HF, která testovala léčbu sacubitril-valsartanem oproti enalaprilu u HFrEF. V této analýze byla zjištěna vazba hladin GDF-15 na věk, přítomnost diabetu, hladiny sérového kreatininu, hs TnT, NT-proBNP a pokročilou třídu NYHA. Navíc nejen vstupní hladiny GDF-15, ale i jejich změny, resp. vzestup, predikovaly celkovou mortalitu, kardiovaskulární mortalitu, nutnost hospitalizace či hospitalizace pro srdeční selhání, a to i po adjustaci na demografické, klinické a laboratorní parametry (NT-proBNP, hs TnT). Zajímavým poznatkem bylo to, že po adjustaci byly hladiny GDF-15 nezávislé na hodnotách ostatních biomarkerů.<sup>7</sup>

Doposud však není zcela jasné, zda a jak reagují hladiny GDF-15 na léčbu srdečního selhání. K dispozici máme nejednoznačné výsledky. Na jedné straně byl



dokumentován přechodný pokles hladin GDF-15 při podání terapie serelaxinem u nemocných s akutním srdečním selháním. Nutné je však poznamenat, že tento pokles byl přítomen i v kontrolní větvi, byť méně významný, a dále se jednalo pouze o přechodný rozdíl.<sup>16</sup> U chronického HFrEF nebyl prokázán vliv léčebných intervencí na hladiny GDF-15.<sup>6,7</sup> Ačkoliv terapie sacubitril-valsartanem v již citované studii PARADIGM-HF měla příznivý vliv na stav nemocných, nebyl zaznamenán významný rozdíl ve změnách hodnot GDF-15 mezi větvemi.<sup>7</sup> Obdobný neutrální vliv léčby na hladiny GDF-15 byl zachycen i ve studii Val-HeFT, která ukázala jinak příznivý vliv podávání valsartanu na kardiovaskulární kompozitní endpoint u nemocných s HFrEF.<sup>6</sup>

Změny hladin GDF-15 byly také sledovány u nemocných s nefarmakologickou léčbou srdečního selhání: u pacientů, u kterých byla zavedena resynchronizační léčba srdečního selhání, a u nemocných v terminálních fázích srdečního selhání napojených na mimotělní oběhovou podporu. Vliv resynchronizační léčby srdečního selhání na hladiny GDF-15 je nedořešeným tématem. Dle limitovaných dat na malém souboru nemocných byly dokumentovány příznivé změny hladin GDF-15 v případě, kdy došlo ke zkrácení QRS komplexu o více než 20 ms po zavedení resynchronizační léčby.<sup>17</sup> Výsledky této malé práce však nebyly potvrzeny jinou studií, kdy mezi klinicky definovanými respondery a non-respondery na resynchronizační léčbu nebyl přítomen významný rozdíl v samotné změně hladin GDF-15 ani v hodnotě NT-proBNP. Za zmínku však stojí, že non-respondéři měli vyšší preimplantační hladiny GDF-15 i NT-proBNP než respondéři, což se může podílet na negativním výsledku studie. V této studii byl GDF-15 jednoznačným prediktorem mortality a morbidity.<sup>18</sup> Hladiny GDF-15 byly hodnoceny i u nemocných s terminálním

srdečním selháním, jejichž stav si vyžádal zavedení oběhové podpory. Zlepšení celkového stavu pacientů a hemodynamických parametrů po zavedení oběhové podpory bylo spojeno s poklesem hladin cirkulujícího GDF-15, kdy možným mechanismem je redukce oxidativního stresu organismu.<sup>10,11</sup>

### Význam GDF-15 u fibrilace síní

GDF-15 u nemocných s FS je považován za nadějný ukazatel rizika vzniku krvácivých komplikací při antikoagulační léčbě a rizika celkové mortality.

FS je významným, dle některých údajů nejvýznamnějším, rizikovým faktorem vzniku ischemické cévní mozkové

cévní mozkové příhody při FS, je zatížena rizikem krvácení včetně závažných krvácivých příhod jako krvácení do centrálního nervového systému. Riziko krvácivých komplikací není u všech pacientů s FS stejné, ale je závislé na řadě demografických, klinických a laboratorních faktorů. Dále také závisí na druhu zavedené antikoagulační léčby. Individuální riziko krvácení je do určité míry možné posoudit pomocí skórovacích systémů. Nejvíce rozšířený je systém HAS-BLED a ORBIT skóre.<sup>19</sup> Tyto skórovací systémy jsou však zatíženy určitou nepřesností, a proto jsou vytvářeny nové modely pro stanovení rizika krvácivých komplikací s odlišnými vstupními parametry, včetně využití nových biomarkerů. Jedním z možných skórovacích systémů založených na biomarkerech je ABC-bleeding skóre

## GDF-15 – možná využití v kardiologii

### Akutní koronární syndrom

- predikce krvácivých komplikací
- riziko recidivy AIM
- riziko rozvoje srdečního selhání

### Fibrilace síní

- odhad rizika krvácivých komplikací při antikoagulační léčbě
- predikce celkové mortality

### Ischemické choroby srdeční

- negativní prediktor mortality u nemocných s AIM STEMI i nonSTEMI
- indikace k intervenční léčbě
- identifikace nemocných s nonSTEMI pro intervenční léčbu
- rozvoj SS
- kardiovaskulární mortalita, kombinace kardiovaskulární mortality a reinfarktů

### Srdeční selhání (HFrEF + HFpEF)

- dlouhodobý stav bez kolísání při akutní změně klinické situace
- stupeň selhání a predikce klinického průběhu onemocnění

Vysvětlivky: **AIM** – akutní infarkt myokardu, **HFpEF** – srdeční selhání se zachovalou ejekční frakcí levé komory, **HFrEF** – srdeční selhání se sníženou ejekční frakcí levé komory, **nonSTEMI** – akutní infarkt myokardu bez ST elevací, **SS** – srdeční selhání, **STEMI** – akutní infarkt myokardu s ST elevacemi.

příhody a ischemická cévní mozková příhoda je nevýznamnější komplikací FS.<sup>19</sup> Ačkoliv antikoagulační léčba snižuje významně riziko kardioembolizační

(z angl. Age, Biomarker, Clinical history). Toto skóre, které zahrnuje i biomarkery (GDF-15, hs TnT a hemoglobin), je dle některých dat silnější v predikci





krvácivých komplikací u nemocných s FS než klasické skórovací systémy.<sup>20</sup>

ABC-bleeding skóre bylo vytvořeno a následně validováno na kohortách studií s novými antikoagulancii apixabanem a dabigatranem: ARISTOTLE<sup>21</sup> a RE-LY<sup>22</sup>. Pacienti ve studii ARISTOTLE představovali derivační kohortu. V této kohortě byly nejsilnějšími prediktory krvácivých komplikací hladiny GDF-15, hemoglobinu a hs TnT, věk a anamnéza proběhlého předchozího krvácení. Tyto nejvýznamnější parametry pak byly následně zahrnuty do finálního prediktivního modelu. Vzorky kohorty studie RE-LY byly použity jako validační. V obou studiích byla zjištěna vyšší výpovědní hodnota ABC-bleeding skóre oproti HAS-BLED a ORBIT skóre: ARISTOTLE (c-index 0,68 vs. 0,61, resp. 0,65), RE-LY (c-index 0,71 vs. 0,62, resp. 0,68).<sup>20</sup> Obdobná data máme k dispozici z biomarkerové podstudie ENGAGE AF-TIMI 48 s edoxabanem (c-index 0,69 pro ABC-bleeding skóre vs. 0,62 pro HAS-BLED skóre).<sup>23</sup> Nicméně je nutné zmínit, že existují i kontroverzní data, která význam ABC-bleeding skóre snižují,<sup>24</sup> navíc výše uvedené hodnoty c-indexu ukazují, že ani tento skórovací systém nemůže být zcela spolehlivý. Hlavní kontroverze spočívá v tom, že data z dlouhodobého sledování neukázala významný přínos ABC-bleeding skóre před HAS-BLED. HAS-BLED systém navíc lépe identifikoval nízkorizikové pacienty (HAS-BLED 0-2).<sup>24</sup> Interpretace dlouhodobých dat je však také problematická, zahrnuje pacienty léčené warfarinem, a tedy neodpovídá plně současné praxi, kdy značná část pacientů je antikoagulována novými antikoagulancii s jiným rizikem krvácení než při warfarinizaci. Nová doporučení ESC pro léčbu FS z roku 2020 jsou proto k ABC-bleeding skóre zatím rezervovanější.<sup>19</sup>

GDF-15 byl rovněž testován v predikci celkové mortality u nemocných s FS. Na základě dat ze studií ARISTOTLE

a RE-LY byl vytvořen model pro ABC-death skóre. Do skóre byly obdobným způsobem jako v případě ABC-bleeding skóre vybrány klinické a laboratorní parametry: věk, srdeční selhání, NT-proBNP, hs TnT a GDF-15 pro finální model (c-index 0,74).<sup>25</sup> Klinická využitelnost tohoto skóre se jeví na jedné straně malá. Na druhou stranu tato data také ukazují na fakt, že nemocní s nejvyššími hodnotami ABC-death skóre by nejvíce mohli profitovat z léčby novými antikoagulancii.

### **GDF-15 u ischemické choroby srdeční**

Zvýšení sérových koncentrací GDF-15 je negativním prediktorem mortality u nemocných s akutním infarktem s ST elevacemi (STEMI)<sup>8</sup> i u infarktů bez ST elevací (nonSTEMI).<sup>9,26-28</sup> Údaje o mortalitním významu GDF-15 u STEMI vycházejí z trombolytických studií (ASSENT)-2 a ASSENT-plus.<sup>8</sup> Je potřeba upozornit na fakt, že drtivá většina pacientů se STEMI je v současné době léčena intervenčně na katetizačním sále a nikoliv trombolyticky. Získaná data z trombolytických studií nemusí mít univerzální platnost pro pacienty se STEMI. Z pohledu biomarkerů je STEMI klinickou situací, kde jejich role v diagnostice je malá, jelikož o léčbě rozhodují klinický obraz a EKG záznam s typickými změnami. Biomarkery jsou pak za určitých okolností vhodné k určení rizika následných komplikací a vývoje onemocnění. Více dat je k dispozici u nonSTEMI. U nonSTEMI je také přítomen významně vyšší klinický význam kardiomarkerů. Vlastní diagnóza nonSTEMI je často založena na laboratorním průkazu nekrózy kardiomyocytů. EKG u nonSTEMI nemusí mít nutně správnou výpovědní hodnotu, může být zcela normální či nespecifické. U nonSTEMI tedy vzrůstá i potenciální význam GDF-15. Jako příklad můžeme uvést subanalýzu dat studie PLATO (srovnání

clopidogrelu a ticagreloru u nemocných s nonSTEMI), ze které vyplývá, že vyšší hladiny GDF-15 mohou predikovat rozvoj kardiovaskulárních komplikací bez ohledu na indikaci k intervenční léčbě, a zároveň, že význam léčby ticagrelorem se zvyšuje s hladinou GDF-15.<sup>26</sup> V jiné studii se zase vstupní hladiny GDF-15 jeví dále nápomocné v identifikaci nemocných s nonSTEMI, kteří nejvíce profitovali z časné intervenční léčby.<sup>27</sup> Opět je nutné si uvědomit, že současné klinické postupy jsou více zaměřeny na intervenční léčbu nonSTEMI a uvedená data nemusí platit absolutně. Nicméně jako velice zajímavý údaj se jeví data, že vysoké hladiny cirkulujícího GDF-15 byly spojeny s rizikem rozvoje srdečního selhání<sup>9</sup> a spolu s dalšími faktory ukazují na zvýšené riziko 6měsíční mortality (GRACE skóre).<sup>29</sup> Tato data potvrzuje i analýza vzorků pacientů ve studii MERLIN-TIMI 36, kdy hladiny GDF-15 přispívají k predikci celkové mortality, kardiovaskulární mortality, kombinace kardiovaskulární mortality a reinfarktů v jednoročním sledování. Testovány byly jak samotné hladiny GDF-15, tak i adjustované na klinické, demografické a laboratorní parametry (NT-proBNP a hladiny hs TnT).<sup>30</sup> Nicméně dle posledních doporučení pro léčbu pacientů s nonSTEMI z roku 2020 jsou nové biomarkery, včetně GDF-15, považovány pouze za pomocné ukazatele.<sup>31</sup>

Plazmatické hladiny GDF-15 mohou reagovat na intervenční či chirurgické zákroky. Víme, že v průběhu a po provedení chirurgické revaskularizace hladiny GDF-15 postupně vzrůstají až na trojnásobnou hodnotu oproti vstupním hladinám. Tato velikost vzestupu koresponduje s dalšími markery srdečního poškození, systémového zánětu a oxidativního stresu organismu.<sup>32</sup> Po perkutánní koronární intervenci významné stenózy věnčité tepny se hodnoty GDF-15 rovněž mírně mění. Nejprve je patrný vzestup hladin GDF-15, a to za 30 minut od intervence.



Za 3 hodiny je pak dosaženo maxima hodnot. Za 72 hodin od intervence se hladiny ustálí na hodnotě odpovídající vstupním hladinám.<sup>33</sup> Dlouhodobý efekt intervence věnčitých tepen na hladiny GDF-15 u chronických koronárních syndromů není znám.

Dynamika změny by mohla ale také předpovídat komplikace zákroků. Z minulosti víme, že dynamika změn GDF-15 např. po kardiochirurgickém výkonu předpovídá srdeční selhání a významné renální selhání.<sup>32</sup>

### Závěr

GDF-15 je v řadě případů velice nadějným biomarkerem, který je schopen přispět k odhadu klinického stadia řady onemocnění, průběhu dalšího vývoje nebo rizika komplikací. Protein GDF-15 je však nutné považovat za parametr, který je obrazem integrace několika patofyziologických dějů, než aby byl zcela

specificky svázán s konkrétními kardiovaskulárními onemocněními. Hladiny GDF-15 odrážejí tedy nejspíše celkovou kondici organismu. Význam tohoto

biomarkeru u různých onemocnění kardiovaskulárního systému je v současné době předmětem řady klinických studií a publikací.



#### doc. MUDr. Štěpán Havránek, Ph.D.

II. interní klinika – klinika kardiologie a angiologie I. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze  
Kontakt: stepan.havranek@vfn.cz

Zastává funkci zástupce přednosty kliniky pro vědu a výzkum a dále se věnuje především srdeční elektrofyziologii a katetračním ablacím pro poruchy srdečního rytmu. Je řešitelem jednoho výzkumného projektu se srdečními biomarkery, včetně GDF-15.

### LITERATURA

- Zimmers TA, Jin X, Hsiao EC, McGrath SA, Esquela AF, Koniaris LG. Growth differentiation factor-15/macrophage inhibitory cytokine-1 induction after kidney and lung injury. *Shock*. 2005; 23(6): 543-8.
- Kempf T, Horn-Wichmann R, Brabant G, Peter T, Allhoff T, Klein G, et al. Circulating concentrations of growth-differentiation factor 15 in apparently healthy elderly individuals and patients with chronic heart failure as assessed by a new immunoradiometric sandwich assay. *Clin Chem*. 2007; 53(2): 284-91.
- Mullican SE, Lin-Schmidt X, Chin CN, Chavez JA, Furman JL, Armstrong AA, et al. GFRAL is the receptor for GDF15 and the ligand promotes weight loss in mice and nonhuman primates. *Nat Med*. 2017; 23(10): 1150-7.
- Wollert KC, Kempf T. Growth differentiation factor 15 in heart failure: an update. *Curr Heart Fail Rep*. 2012; 9(4): 337-45.
- Galenko O, Jacobs V, Knight S, Bride D, Cutler MJ, Muhlestein JB, et al. Circulating Levels of Biomarkers of Cerebral Injury in Patients with Atrial Fibrillation. *Am J Cardiol*. 2019; 124(11): 1697-700.
- Anand IS, Kempf T, Rector TS, Tapken H, Allhoff T, Jantzen E, et al. Serial measurement of growth-differentiation factor-15 in heart failure: relation to disease severity and prognosis in the Valsartan Heart Failure Trial. *Circulation*. 2010; 122(14): 1387-95.
- Bouabdallaoui N, Claggett B, Zile MR, McMurray JJV, O'Meara E, Packer M, et al. Growth differentiation factor-15 is not modified by sacubitril/valsartan and is an independent marker of risk in patients with heart failure and reduced ejection fraction: the PARADIGM-HF trial. *Eur J Heart Fail*. 2018; 20(12): 1701-9.
- Kempf T, Bjorklund E, Olofsson S, Lindahl B, Allhoff T, Peter T, et al. Growth-differentiation factor-15 improves risk stratification in ST-segment elevation myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2007; 28(23): 2858-65.
- Bonaca MP, Morrow DA, Braunwald E, Cannon CP, Jiang S, Breher S, et al. Growth differentiation factor-15 and risk of recurrent events in patients stabilized after acute coronary syndrome: observations from PROVE IT-TIMI 22. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011; 31(1): 203-10.



10. Ahmad T, Wang T, O'Brien EC, Samsky MD, Pura JA, Lokhnygina Y, et al. Effects of left ventricular assist device support on biomarkers of cardiovascular stress, fibrosis, fluid homeostasis, inflammation, and renal injury. *JACC Heart Fail.* 2015; 3(1): 30-9.
11. Lok SI, Winkens B, Goldschmeding R, van Geffen AJ, Nous FM, van Kuik J, et al. Circulating growth differentiation factor-15 correlates with myocardial fibrosis in patients with non-ischaemic dilated cardiomyopathy and decreases rapidly after left ventricular assist device support. *Eur J Heart Fail.* 2012; 14(11): 1249-56.
12. Jirak P, Pistulli R, Lichtenauer M, Wernly B, Paar V, Motloch LJ, et al. Expression of the Novel Cardiac Biomarkers sST2, GDF-15, suPAR, and H-FABP in HFpEF Patients Compared to ICM, DCM, and Controls. *J Clin Med.* 2020; 9(4).
13. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Bohm M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J.* 2021; 42(36): 3599-726.
14. Santema BT, Chan MMY, Tromp J, Dokter M, van der Wal HH, Emmens JE, et al. The influence of atrial fibrillation on the levels of NT-proBNP versus GDF-15 in patients with heart failure. *Clin Res Cardiol.* 2020; 109(3): 331-8.
15. Sharma A, Stevens SR, Lucas J, Fiuzat M, Adams KF, Whellan DJ, et al. Utility of Growth Differentiation Factor-15, A Marker of Oxidative Stress and Inflammation, in Chronic Heart Failure: Insights From the HF-ACTION Study. *JACC Heart Fail.* 2017; 5(10): 724-34.
16. Cotter G, Voors AA, Prescott MF, Felker GM, Filippatos G, Greenberg BH, et al. Growth differentiation factor 15 (GDF-15) in patients admitted for acute heart failure: results from the RELAX-AHF study. *Eur J Heart Fail.* 2015; 17(11): 1133-43.
17. Sunman H, Canpolat U, Yorgun H, Ozkan A, Yalcin MU, Bayrak T, et al. Association between reverse electrical remodeling and cardiac fibrosis markers in patients with cardiac resynchronization therapy. *Turk Kardiyol Dern Ars.* 2018; 46(2): 84-91.
18. Foley PW, Stegemann B, Ng K, Ramachandran S, Proudler A, Frenneaux MP, et al. Growth differentiation factor-15 predicts mortality and morbidity after cardiac resynchronization therapy. *Eur Heart J.* 2009; 30(22): 2749-57.
19. Hindricks G, Potpara T, Dagres N, Arbelo E, Bax JJ, Blomstrom-Lundqvist C, et al. 2020 ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association of Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J.* 2020.
20. Hijazi Z, Oldgren J, Lindback J, Alexander JH, Connolly SJ, Eikelboom JW, et al. The novel biomarker-based ABC (age, biomarkers, clinical history)-bleeding risk score for patients with atrial fibrillation: a derivation and validation study. *Lancet.* 2016; 387(10035): 2302-11.
21. Granger CB, Alexander JH, McMurray JJ, Lopes RD, Hylek EM, Hanna M, et al. Apixaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 2011; 365(11): 981-92.
22. Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S, Eikelboom J, Oldgren J, Parekh A, et al. Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 2009; 361(12): 1139-51.
23. Berg DD, Ruff CT, Jarolim P, Giugliano RP, Nordio F, Lanz HJ, et al. Performance of the ABC Scores for Assessing the Risk of Stroke or Systemic Embolism and Bleeding in Patients With Atrial Fibrillation in ENGAGE AF-TIMI 48. *Circulation.* 2019; 139(6): 760-71.
24. Esteve-Pastor MA, Rivera-Caravaca JM, Roland V, Vicente V, Valdes M, Marin F, et al. Long-term bleeding risk prediction in 'real world' patients with atrial fibrillation: Comparison of the HAS-BLED and ABC-Bleeding risk scores. *The Murcia Atrial Fibrillation Project. Thromb Haemost.* 2017; 117(10): 1848-58.
25. Hijazi Z, Oldgren J, Lindback J, Alexander JH, Connolly SJ, Eikelboom JW, et al. A biomarker-based risk score to predict death in patients with atrial fibrillation: the ABC (age, biomarkers, clinical history) death risk score. *Eur Heart J.* 2018; 39(6): 477-85.
26. Wallentin L, Lindholm D, Siegbahn A, Wernroth L, Becker RC, Cannon CP, et al. Biomarkers in relation to the effects of ticagrelor in comparison with clopidogrel in non-ST-elevation acute coronary syndrome patients managed with or without in-hospital revascularization: a substudy from the Prospective Randomized Platelet Inhibition and Patient Outcomes (PLATO) trial. *Circulation.* 2014; 129(3): 293-303.
27. Wallentin L, Lindhagen L, Arnstrom E, Husted S, Janzon M, Johnsen SP, et al. Early invasive versus non-invasive treatment in patients with non-ST-elevation acute coronary syndrome (FRISC-II): 15 year follow-up of a prospective, randomised, multicentre study. *Lancet.* 2016; 388(10054): 1903-11.
28. Wollert KC, Kempf T, Peter T, Olofsson S, James S, Johnston N, et al. Prognostic value of growth-differentiation factor-15 in patients with non-ST-elevation acute coronary syndrome. *Circulation.* 2007; 115(8): 962-71.
29. Widera C, Pencina MJ, Bobadilla M, Reimann I, Guba-Quint A, Marquardt I, et al. Incremental prognostic value of biomarkers beyond the GRACE (Global Registry of Acute Coronary Events) score and high-sensitivity cardiac troponin T in non-ST-elevation acute coronary syndrome. *Clin Chem.* 2013; 59(10): 1497-505.
30. Morrow DA, Scirica BM, Karwowska-Prokopczuk E, Murphy SA, Budaj A, Varshavsky S, et al. Effects of ranolazine on recurrent cardiovascular events in patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes: the MERLIN-TIMI 36 randomized trial. *JAMA.* 2007; 297(16): 1775-83.
31. Collet JP, Thiele H, Barbato E, Barthelémy O, Bauersachs J, Bhatt DL, et al. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J.* 2020.
32. Kahli A, Guenancia C, Zeller M, Grosjean S, Stamboul K, Rochette L, et al. Growth differentiation factor-15 (GDF-15) levels are associated with cardiac and renal injury in patients undergoing coronary artery bypass grafting with cardiopulmonary bypass. *PLoS One.* 2014; 9(8): e105759.
33. Munk PS, Valborgland T, Butt N, Larsen AI. Response of growth differentiation factor-15 to percutaneous coronary intervention and regular exercise training. *Scand Cardiovasc J.* 2011; 45(1): 27-32.
34. Metodický list Elecsys® GDF-15 07125933190, V4.0, 2021-03.





Evropská kardiologická společnost (ESC) představila na svém letošním sjezdu aktualizovaná mezinárodní doporučení pro diagnostiku a léčbu akutního a chronického srdečního selhání.<sup>1</sup> Předchozí guidelines byla zveřejněna v roce 2016. Od té doby došlo na poli srdečního selhání k publikaci celé řady významných klinických studií a pokračuje trend jeho členění na více nozologických jednotek, především podle míry zachování ejekční frakce levé komory (LVEF). Samotná doporučení jsou zaměřena spíše na diagnostiku a léčbu, nikoliv na prevenci, která je akcentovaná v jiných ESC dokumentech. Níže přinášíme shrnutí závěrů nových doporučení pro diagnostiku srdečního selhání a přidružených komorbidit s důrazem na aktualizované poznatky.

## Co přinášejí nová ESC guidelines 2021 pro diagnostiku a léčbu srdečního selhání?

MUDr. TEREZA RÁDL

Doporučení ESC z roku 2021 připomínají, že srdeční selhání nepředstavuje jedno homogenní onemocnění, ale jedná se o pojem, který zastřešuje celou řadu klinických stavů různé etiologie. Právě identifikace konkrétní příčiny způsobující srdeční selhání je přitom klíčová pro úspěšnost léčby. Základní dělení počítá se srdečním selháním se zachovalou ejekční frakcí (HFpEF, LVEF  $\geq 50$  %), s mírně sníženou ejekční frakcí (HFmrEF, LVEF 41–49 %) a s redukovanou ejekční frakcí (HFrEF, LVEF  $\leq 40$  %). Nová doporučení ale připomínají, že se ve skutečnosti nejedná o tři izolované skupiny, ale o klinické kontinuum a že echokardiografické měření LVEF\* je do jisté míry subjektivní a závisí na konkrétním vyšetřujícím.

Mezinárodní klinická doporučení klasifikují dostupnou klinickou evidenci a postupy u daného onemocnění do různých tříd doporučení a úrovně důkazů. **Třídy** označují prospěšnost, užitečnost a účinnost dané léčby nebo postupu (viz Tabulka 1). **Úroveň důkazů** potom označuje, jak rozsáhlá a konzistentní jsou data z klinických studií pro konkrétní doporučení (viz Tabulka 2). Z hlediska diagnostiky je nutno podotknout, že diagnostické postupy jsou v rámci velkých randomizovaných klinických

studií testovány jen zřídka a ve většině doporučení jsou proto označeny stupněm evidence C. Autoři upozorňují, že to neznamená, že by tyto postupy nebyly před zařazením do doporučení pečlivě zkoumány a dostupná data nebyla dostatečně analyzována. Zároveň připomínají, že pro potřeby guidelines rozdělili

diagnostické postupy na ty, které by měly být provedeny u každého pacienta se srdečním selháním, a na postupy určené pro specifické klinické situace.

Oproti verzi z roku 2016 nabízí doporučení z roku 2021 několik zcela nových konceptů. Pojem srdeční selhání se střední ejekční frakcí se mění na srdeční selhání s mírně redukovanou ejekční frakcí (HFmrEF). Dále potom modifikuje klasifikaci pro redukovanou ejekční frakci (HFrEF) a zavádí zjednodušený algoritmus její léčby. Nová doporučení se více věnují kardiomyopatiím včetně jejich genetického testování a nových metod léčby. Součástí je také aktualizace doporučené léčby nekardiovaskulárních komorbidit, jako je diabetes, hyperkalcémie, nedostatek železa nebo nádorová onemocnění, a přidání čtyř nových indikátorů kvality.

U pacientů se zachovalou ejekční frakcí (HFpEF) je doporučeno aktivně pátrat po kardiiovaskulárních i nekardiiovaskulárních komorbiditách a tyto by měly

Třídy doporučení	Definice	Návrh, jak používat
<b>Třída I</b>	Důkazy a/nebo obecný souhlas, že daná léčba nebo procedura je prospěšná, užitečná, účinná.	Doporučuje se/ je indikováno.
<b>Třída II</b>	Rozporuplné důkazy a/nebo rozcházející se názory na užitečnost/účinnost dané léčby nebo procedury.	
<b>Třída IIa</b>	Váha důkazů/názorů je ve prospěch užitečnosti/účinnosti.	Mělo by být zváženo.
<b>Třída IIb</b>	Užitečnost/účinnost je méně doložena důkazy/názory.	Může být zváženo.
<b>Třída III</b>	Důkazy nebo obecná shoda, že daná léčba nebo procedura není užitečná/účinná a v některých případech může být i škodlivá.	Nedoporučuje se.

▲ Tabulka 1: Třídy doporučení

<b>Úroveň důkazů A</b>	Data pocházejí z více randomizovaných klinických studií nebo metaanalýz.
<b>Úroveň důkazů B</b>	Data pocházejí z jedné randomizované klinické studie nebo velkých nerandomizovaných studií.
<b>Úroveň důkazů C</b>	Shoda názorů odborníků a/nebo malé studie, retrospektivní studie, registry.

▲ Tabulka 2: Úrovně důkazů

\* LVEF - ejekční frakce levé srdeční komory



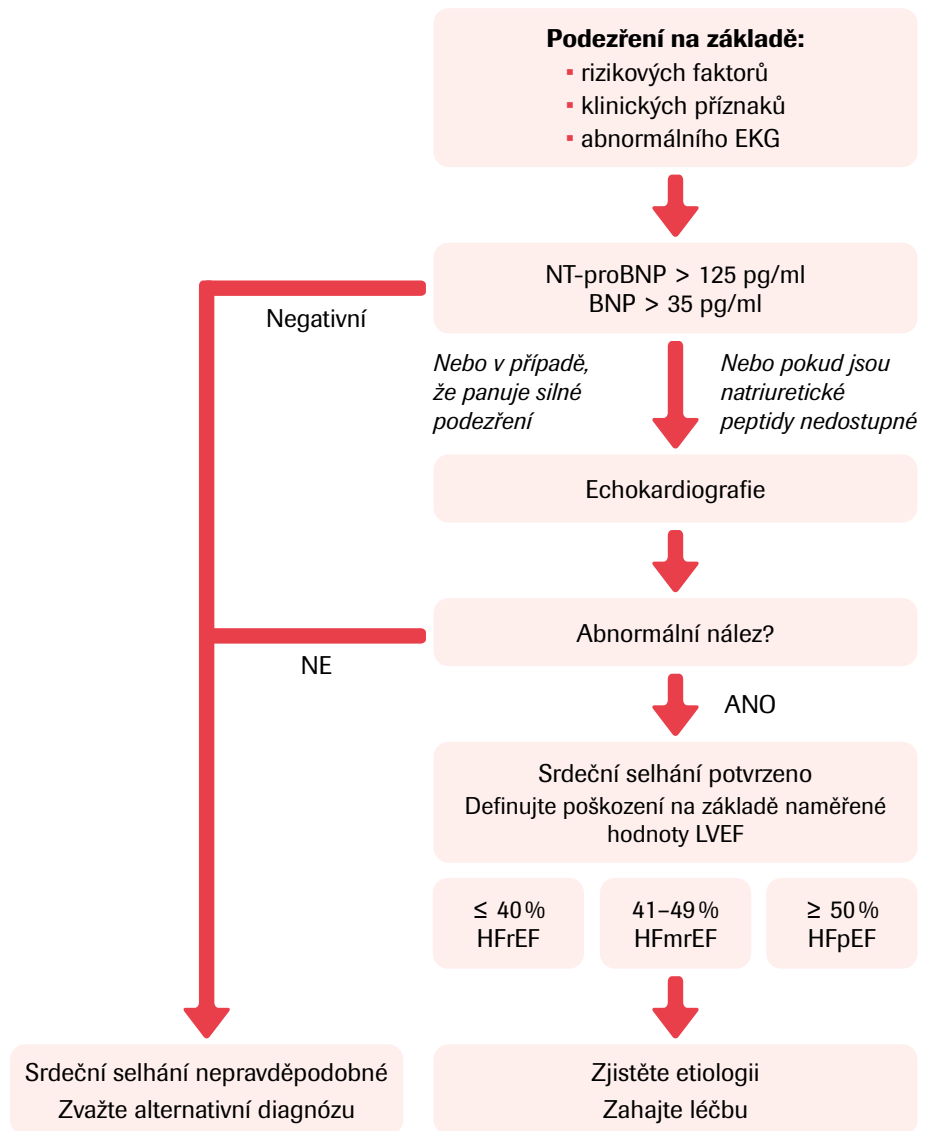


být léčeny (třída doporučení I). Všichni pacienti hospitalizovaní se srdečním selháním by měli být před propuštěním aktivně vyšetřeni pro přetrvávání městnání. Nově je doporučeno provádět invazivní koronarografi u pacientů se srdečním selháním se středním až vysokým podezřením na ischemickou chorobu srdeční a přítomností ischemie při zátěžových testech s vyšší třídou doporučení IIa. Naopak u pacientů s nízkým až středním podezřením nebo neprůkaznými výsledky zátěžových testů by nově s třídou IIb (dříve IIa) mohlo být zváženo srdeční CT k vyloučení koronární stenózy.

Významná změna oproti roku 2016 nastává v postavení natriuretických peptidů v diagnostickém algoritmu u chronického srdečního selhání. **Natriuretické peptidy se stávají diagnostickým krokem první volby**, který by měl předcházet echokardiografii (třída doporučení Ib). U pacienta s klinickým podezřením na chronické srdeční selhání je doporučen odběr NT-proBNP (pozitivní při koncentraci  $\geq 125$  pg/ml) nebo BNP (pozitivní  $\geq 35$  pg/ml). Při pozitivitě biomarkerů nebo samotném silném klinickém podezření na přítomnost srdečního selhání je doporučeno provést echokardiografii. Konkrétní určení typu srdečního selhání je provedeno na základě naměřené hodnoty LVEF. **Negativní výsledek koncentrace natriuretických peptidů chronické srdeční selhání vylučuje**, pozitivní hovoří pro tuto diagnózu a je užitečný pro prognostikaci nemocných. Zároveň může být použit k naplánování dalších diagnostických postupů. Klinik by ale měl mít na zřeteli, že zvýšená koncentrace natriuretických peptidů může mít i další kardiální a nekardiální příčiny, jako je fibrilace síní, vyšší věk nebo onemocnění ledvin. Na druhou stranu koncentrace natriuretických peptidů mohou být disproporcionálně sniženy u obézních osob.

Diagnostický přínos natriuretických peptidů pro potvrzení nebo vyloučení

## Diagnostický algoritmus srdečního selhání



▲ Diagnostický algoritmus u chronického srdečního selhání dle ESC 2021

srdečního selhání v kombinaci s dalšími klinickými údaji a základními testy byl ověřován v několika studiích v primární neakutní péči. Autoři doporučení shledali tyto studie jako dostatečné pro zavedení výše zmíněných cut-off hodnot do diagnostického algoritmu, a to zejména pro vyloučení chronické formy onemocnění (rule-out). Negativní prediktivní hodnota při použití 35 pg/ml proBNP, respektive 125 pg/ml pro NT-proBNP se pohybovala mezi 0,94 a 0,98.

Klasifikace chronického srdečního selhání se opírá především o echokardiograficky naměřenou hodnotu LVEF. V případě

selhání s mírně sníženou ejekční frakcí (HFmrEF) (LVEF 41–49 %) zmiňují nová doporučení poněkud konfliktně, že přítomnost dalších znaků včetně zvýšené koncentrace natriuretických peptidů a dalších známek strukturálního poškození srdce diagnózu podporuje, není pro ni ale zcela nutná. Ohledně problematiky diagnostiky srdečního selhání se zachovalou ejekční frakcí (HFpEF) guidelines konstatují, že zůstává svízelná. Současná diagnostická kritéria stanovená různými odbornými společnostmi vykazují různé úrovně senzitivity a specifity. Nová ESC doporučení tak zdůrazňují spíše simplifikovaný pragmatický přístup, který počítá



s přítomností klinických známek srdečního selhání, hodnotami LVEF nad 50 % a objektivními známkami strukturálních a/nebo funkčních změn nebo zvýšenými plicními tlaky levé komory, včetně zvýšené koncentrace natriuretických peptidů. Kromě toho říkají, že pokud jsou klidové echokardiografické a laboratorní parametry neprůkazné, je indikován zátěžový test.

Nová ESC doporučení se věnují také dlouhodobému sledování pacientů s chronickým srdečním selháním. Pravidelné kontroly by se podle nich měly odehrát alespoň jednou za půl roku, po recentní hospitalizaci nebo změně medikace častěji. Jednou ročně by mělo být provedeno EKG. Sériový echokardiogram není nutný, indikován je v případě zhoršení klinického stavu, respektive 3–6 měsíců po optimalizaci standardní terapie. Samostatnou kapitolou je monitorace a optimalizace farmakoterapie pomocí biomarkerů. Klinické studie v tomto smyslu přinesly nejednoznačné závěry. Natriuretické peptidy jsou podle nich sice nesporně kvalitní prognostické markery, není ale zatím jasné, jestli poskytují přidanou hodnotu v rámci výběru a titrace konkrétní léčby.

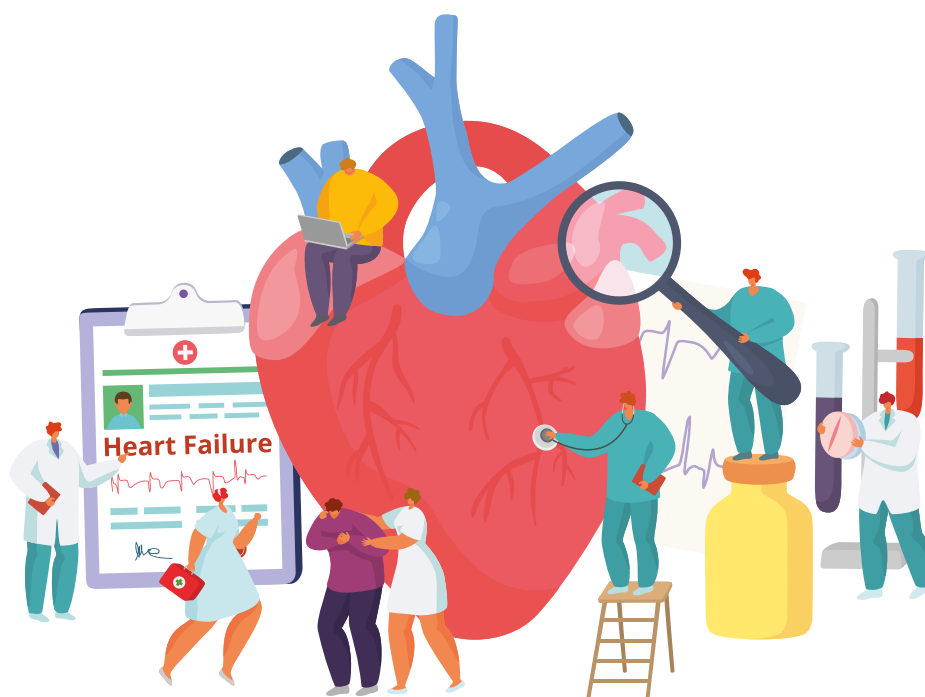
Srdeční selhání představuje u většiny pacientů závažné onemocnění s vysokou mortalitou obecně srovnatelnou s maligními chorobami. Doporučení ESC se proto věnují i nemocným s jeho pokročilou formou, definovanou jako přetrvávající obtíže a projevy (klasifikace NYHA III nebo IV) navzdory maximální dostupné terapii, provázené silně omezenou fyzickou výkonností, doplněnou epizodami srdečního měštnání vyžadujícími vysoké dávky diuretik, inotropik nebo vasopresorů, a/nebo maligními arytmiemi. Kromě toho by měl být přítomen alespoň jeden další diagnostický znak zahrnující hodnoty LVEF pod 30 %, izolované selhání pravé komory, pokročilé změny na chlopních nebo přetrvávající vysoké nebo rostoucí koncentrace natriuretických

peptidů za současné diastolické dysfunkce levé komory nebo strukturální srdeční abnormality. Roční mortalita takového stavu dosahuje 25–75 %.

**Akutní srdeční selhání** může být buď první manifestací nově vzniklého onemocnění, nebo se častěji jedná o akutní dekompenzaci chronického srdečního selhání. V případě akutního srdečního selhání je namístě rychlá a pečlivá diagnostika, zahrnující kromě EKG echokardiografii a skiagram hrudníku, respektive sono plic. I zde se uplatňují stanovení koncentrace natriuretických peptidů, dle doporučení by měla být využita zejména v případě nejasné diagnózy a pokud jsou dostupná rychle. I zde platí, že normální koncentrace natriuretických peptidů znamená, že diagnóza akutního srdečního selhání je vysoce nepravděpodobná. Používají se ale jiné cut-off hodnoty: 100 pg/ml pro BNP a 300 pg/ml pro NT-proBNP. Vysoké koncentrace samy o sobě diagnózu akutního selhání nepotvrzují, následovat by měla vždy echokardiografie. Autoři zároveň upozorňují, že nízké koncentrace natriuretických peptidů se objevují u některých pacientů s pokročilým dekompenzovaným srdečním selháním

v terminálním stavu, obezitou, plicním edémem nebo pravostranným akutním srdečním selháním. Naopak vyšší koncentrace natriuretických peptidů provází pacienty s fibrilací síní a sníženou renální funkcí. Měření koncentrace natriuretických peptidů je doporučeno sériově při příjmu a před propuštěním. Kromě toho je z laboratorních parametrů vedle rutinních vyšetření (elektrolyty, kreatinin, jaterní enzymy) doporučeno stanovit vysoce senzitivní srdeční troponin (pro vyloučení AKS), D-dimery, prokalcitonin (pro odhalení případné pneumonie nebo jiné infekce), hodnoty TSH, laktátu, arteriálních krevních plynů a parametry metabolismu železa. Po propuštění by měl mít nemocný kontrolu za 1–2 týdny. Ta by kromě klinických parametrů měla zahrnovat i laboratorní kontrolu se stanovením funkce ledvin, elektrolytů a pokud možno také natriuretického peptidu. Na základě retrospektivních klinických studií bylo pozorováno, že při adhezenci k tomuto postupu a případné včasné titraci medikace dochází ke snížení třicetidenní mortality.

Nová ESC doporučení 2021 rovněž akcentují **problematiku srdečního selhání při nádorovém onemocnění**. To je v této





## KLINICKÁ HODNOTA DIAGNOSTIKY

skupině častější než v běžné populaci, ať už jako preexistující onemocnění, jako důsledek malignity, nebo důsledek onkologické terapie. Na druhou stranu přítomnost srdečního selhání může omezovat výběr vhodné protinádorové terapie. Mezi látky s kardiotoxickým účinkem patří antracykliny (doxorubicin, epirubicin), monoklonální protilátky proti HER-2 (trastuzumab), VEGF inhibitory (sunitinib, pazopanib), některé multi-kinázové inhibitory (ponatinib, nilotinib), proteázové inhibitory (karfilzomib, bortezomib) a imunomodulační látky (lenalidomid, pomalidomid), inhibitory RAF a MRK (dabrafenib + trametinib,

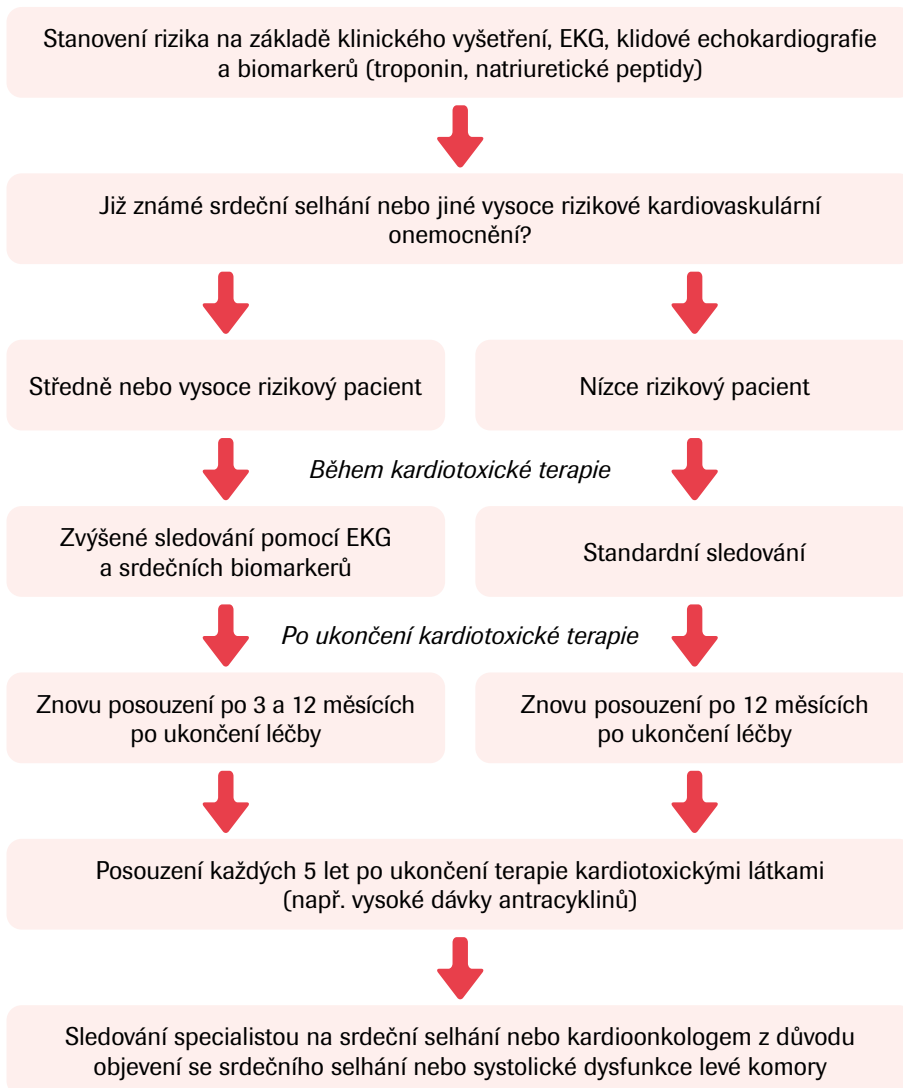
vemurafenib + cobimetinib), antiandrogeny (goserelin, abirateron), check-point inhibitory (nivolumab, pembrolizumab, ipilimumab) a další látky. Pacienti vhodní pro léčbu těmito přípravky by měli být pečlivě vyšetřeni před jejich podáním, během léčby a po jejím ukončení ideálně kardiologem, který se specializuje na kardi-onkologii. To platí zejména pro rizikové nemocné, nebo pacienty, kteří byli kardiotoxickým látkám vystaveni v minulosti. Vstupní kardiovaskulární riziko by mělo být stanoveno pomocí skóre HFA-ICOS. Přítomnost srdečního selhání nebo kardiomyopatie klasifikuje onkologické pacienty jako vysoce rizikové pro

podání všech onkologických přípravků, kromě antiandrogenní léčby u karcinomu prostaty. Skórovací systémy individuálního rizika existují již také pro jednotlivé látky, většina z nich využívá kromě klinických a echokardiografických parametrů i koncentraci natriuretických peptidů a srdečních troponinů. Tyto parametry je doporučeno využít rovněž k monitoringu vzniku případné kardiotoxicity během léčby. Jako faktor pro zařazení do vysokého rizika používají většinou hodnoty LVEF <50 %, do středního rizika potom u většiny terapeutik zvýšené koncentrace natriuretických peptidů a troponinu. Pacienti na check-point inhibitech jsou ve zvýšeném riziku rozvoje myokarditidy a měli by být sledováni pomocí srdečních troponinů odebíraných 1x týdně po dobu alespoň prvních 6 týdnů. Monitoring by měl pokračovat i po ukončení léčby, srdeční selhání se totiž může vyvinout i s odstupem několika let.

S problematikou srdečního selhání úzce souvisí onemocnění síní, především **fibrilace síní (FiS)**. FiS často provází chronické srdeční selhání se zachovalou ejekční frakcí (HFpEF), vyskytuje se ale mnohdy i v souvislosti s jinými srdečními dysfunkcemi. Velikost a funkce srdečních síní může být zhodnocena nejrůznějšími zobrazovacími metodami počínaje echokardiografií, podstatná je ale i zde role biomarkerů (natriuretické peptidy, vysoce senzitivní srdeční troponiny). Zvýšené koncentrace natriuretických peptidů při FiS mohou být také indikátorem hlubšího onemocnění síní. Přehledné postupy zhodnocení onemocnění síní zahrnující klinické, zobrazovací, biochemické a molekulární parametry zatím ale nejsou k dispozici. Další klinickou situací, kterou 2021 ESC doporučení rozebírají podrobněji, je **myokarditida**. Ta se etiologicky podílí na rozvoji srdečního selhání v závislosti na věku a regionu v 0,5–4 % případů. Chronická infekce EB virem je přítomná u 9–30 % dospělých pacientů s dilatační kardiomyopatií. Klinicky se myokarditida může projevat

### Management pacientů léčených potenciálně kardiotoxickými látkami

*Před nasazením kardiotoxické terapie*



▲ Management onkologických pacientů léčených potenciálně kardiotoxickými látkami

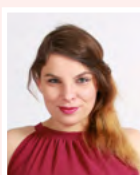


různě, od nenápadných symptomů až po kardiogenní šok. Také v diagnostice myokarditid se uplatňují biomarkery, užitečné jsou především srdeční troponiny. Jejich koncentrace totiž vykazuje dynamické změny konzistentní s úrovní nekrózy myokardu. Stanovení troponinů pomáhá v tomto klinickém kontextu i v rámci indikace srdeční magnetické rezonance. Ta by měla být provedena u všech pacientů s anamnézou ukazující na možnost myokarditidy a relevantními změnami na EKG a s abnormálními nálezy na echokardiografii nebo elevovanou koncentrací troponinů, pakliže byla vyloučena ischemická choroba srdeční, nebo je nepravděpodobná. Nemocní s akutní myokarditidou by měli být hospitalizováni po dobu alespoň 48 hodin, a to zejména pokud došlo k elevaci koncentrací troponinů, nebo pokud je přítomná porucha srdeční funkce, a/nebo byly při příjmu detekovány arytmie. Odběr natriuretických peptidů a srdečních troponinů má dle nových ESC doporučení význam také při zvýšeném podezření na srdeční amyloidózu, respektive s ní spojenou kardiomyopatií. Tu totiž provází neúměrně zvýšená

koncentrace NT-proBNP v porovnání s projevy srdečního selhání, a přetrvávající elevace troponinu. Samotná diagnostika vyžaduje pokročilé zobrazovací metody a/nebo srdeční biopsii.

V rámci hlavních sdělení autoři shrnují, že pacienti se srdečním selháním jsou stále klasifikováni především podle hodnot LVEF. V diagnostice srdečního selhání hrají zásadní roli měření koncentrace natriuretických peptidů a poté echokardiografie. Diagnostika chronického srdečního selhání se zachovalou srdeční frakcí (HFpEF) vyžaduje objektivní známky strukturálního kardiálního poškození nebo funkčních abnormalit a zároveň elevované koncentrace natriuretických peptidů a současnou přítomnost diastolické dysfunkce nebo zvýšených plicních tlaků levé komory. Pacienti se srdečním selháním by měli být pravidelně monitorováni pro anémii a nedostatek železa a případně náležitě suplementováni. V sekci identifikující mezery v současné evidenci autoři zmiňují, že v tuto chvíli nejsou k dispozici definitivní výsledky studií o roli biomarkerů v diagnostice

srdečního selhání. Zároveň by uvítali provedení více randomizovaných klinických studií věnujících se screeningu srdečního selhání u asymptomatických osob a jakou roli by tento screening měl pro jejich prognózu. Žádané jsou rovněž práce, které demonstrují vliv stanovování biomarkerů na prognózu v kontextu identifikace osob v riziku rozvoje srdečního selhání, respektive v kontextu řízení terapie u pacientů s již rozvinutým selháním. V problematice akutního srdečního selhání chybí práce, které popisují vliv provedení zobrazovacích metod a stanovení biomarkerů na prognózu nemocných, v problematice kardiomyopatií potom práce, které umožní jejich kvalitnější fenotypizaci (třídění) na základě biomarkerů, genetického testování a zobrazovacích metod a které umožní nasazení terapie na míru konkrétnímu pacientovi. A v neposlední řadě dosud nejsou k dispozici ani dostatečně validované protokoly pro diagnostiku chronického srdečního selhání s mírně sníženou a zachovalou ejekční frakcí. Biomarkery se objevují také mezi indikátory kvality péče o nemocné se srdečním selháním.



### MUDr. Tereza Rádl

Kontakt: terouk@gmail.com

LF MU v Brně dokončila v roce 2016. Profesionálně 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.

## LITERATURA

1. McDonagh A.T., et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J.* 2021 Sep 21; 42(36): 3599-3726. doi: 10.1093/eurheartj/ehab368.



### Aplikace ESC Pocket Guidelines

Aktuální doporučení Evropské kardiologické společnosti přímo na vašem mobilním zařízení. Na kongresu ESC 2021 přidány čtyři tituly ESC Pocket Guidelines, které obsahují interaktivní nástroje včetně algoritmů, kalkulaček, grafů a skóre. Aplikace ESC Pocket Guidelines je zdarma k dispozici na Google Play, App Store a Amazon nebo verze pro počítač na adrese: <https://guidelines.escardio.org/>.





Skórovací systémy pomáhají odhadnout prognózu konkrétního nemocného a lépe řídit jeho léčbu. Řada z nich využívá multimarkerového přístupu, kdy použití kombinace několika markerů poskytuje silnější prediktivní hodnotu než pouze hodnota jednoho parametru. Příkladem může být nově vyvinutý skórovací systém CLIP, který byl recentně letos v červnu popsán v časopise *European Heart Journal*<sup>1</sup> a který zahrnoval cystatin C, laktát, interleukin-6 a NT-proBNP. Cílem studie byl prognostický odhad třicetidenní mortality nemocných s kardiogenním šokem po akutním infarktu myokardu (AIM).

## Skórovací systém CLIP: Odhad mortality u kardiogenního šoku po AIM

MUDr. TEREZA RÁDL

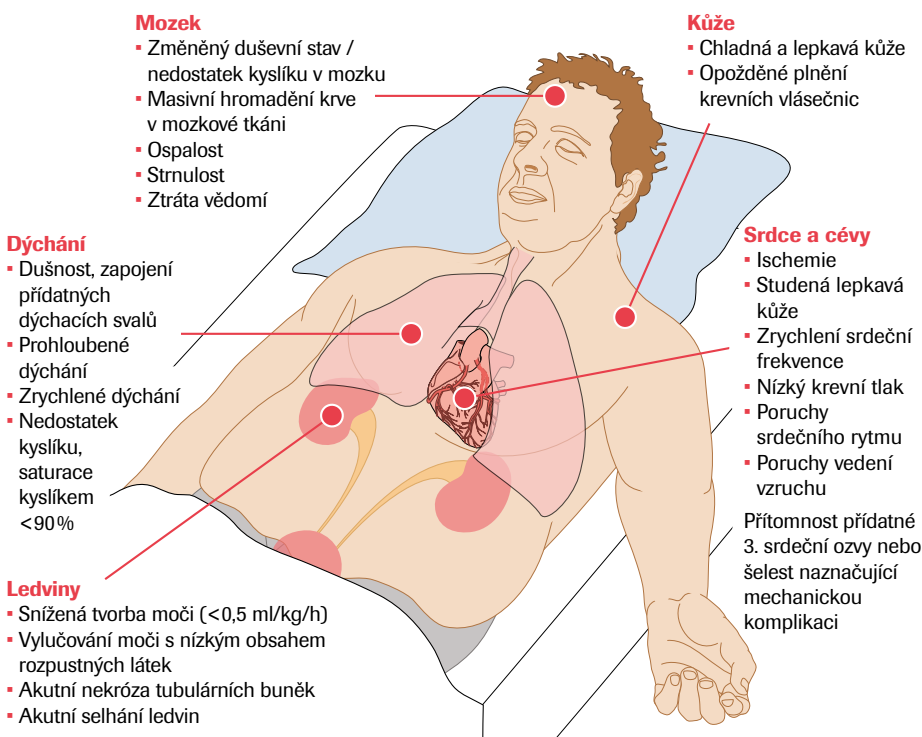
Mortalita nemocných s AIM komplikovaným kardiogenním šokem zůstává i přes rozvíjející se terapeutické možnosti vysoká a pohybuje se v různých populacích až kolem 50%. Standardem léčby je u většiny nemocných perkutánní koronární intervence (PCI), stále více se uplatňuje přinejmenším na přechodné období mechanická podpora oběhu (MCS). MCS zahrnuje řadu technik, včetně jednostranné mechanické srdeční podpory (LVAD), intraaortální balonkové kontrapulzace

(IABP) nebo extrakorporální membránové oxygenace (ECMO). Výběr vhodných kandidátů pro tyto intervence je svízelný a skóre prognostikace rizika je v tomto smyslu velmi užitečným nástrojem. Většina dosud dostupných skórovacích systémů vyžaduje komplexní klinické, angiografické a biochemické vstupy, což jejich použití v každodenní praxi značně ztěžuje. Navíc data z osobní anamnézy nemusí být u kriticky nemocných pacientů v akutní péči vždy dostupná a některé

další parametry užívané v ostatních skórovacích systémech (zmatenost, ejekční frakce levé komory, TIMI flow po PCI) jsou do jisté míry subjektivní. Autoři skóre CLIP na tuto situaci reagovali vývojem jednoduše použitelného a objektivního skórovacího systému, který využívá jen snadno dostupné koncentrace biochemických parametrů.

Data pro vývoj skóre CLIP pocházela od 458 nemocných s AIM komplikovaným kardiogenním šokem z kohorty prospektivní randomizované studie CULPRIT-SHOCK<sup>3</sup>. Ta zahrnuje pacienty s mnohočetným koronárním postižením, AIM a kardiogenním šokem, randomizováni byli buď k PCI pouze na nejhůře postižené tepně, nebo k ošetření všech klinicky relevantních stenóz v první době. Jako superiorní se ukázalo ošetření pouze v místě postižení tepny. Biomarkerová subanalýza vedoucí k vytvoření skóre CLIP byla plánovaná již v designu studie a zahrnuje všechny pacienty, u kterých byl odebrán vzorek krve pro klíčovou laboratorní analýzu.

Z celkem 28 měřených analytů a 30 klinických parametrů se jako čtyři nejsilnější prediktory třicetidenní mortality ukázaly koncentrace cystatinu C, laktátu, interleukinu-6 a NT-proBNP. Tyto hodnoty byly zařazeny do skóre CLIP, klinické parametry zařazeny nebyly. Krevní vzorky byly získány v čase randomizace. Selektce relevantních prediktorů a jejich koeficientů významnosti pro prognostický model proběhla na základě statistické regresní analýzy, jako externí validační kohorta posloužila data od 163 pacientů s kardiogenním šokem z randomizované studie IABP-SHOCK II<sup>4</sup>. Autoři zdůraznili, že ačkoliv analýza zahrnuje i do jisté míry experimentální analyty, do konečného výpočtu nástroje CLIP se dostaly jen čtyři



**Kardiogenní šok** – závažný akutní stav, kdy v těle dochází ke snížení objemu cirkulující krve z důvodu selhání činnosti srdce jako pumpy.

▲ Klinický obraz kardiogenního šoku



biochemické parametry, které jsou již relativně snadno dostupné v komerčních analyzátoch. Jejich stanovení v komplexních kardiiovaskulárních centrech by tak mělo být do budoucna možné, a to včetně méně používaného cystatinu C.

Celková mortalita dosáhla v subpopulaci studie CULPRIT-SHOCK<sup>3</sup>, která posloužila jako kohorta pro vývoj skóre CLIP, 43,4%. Pacienti ve vývojové kohortě měli oproti validační kohortě ze studie IABP-SHOCK II<sup>4</sup> mírně vyšší systolický i diastolický krevní tlak a méně často měli chladnou opocnou kůži, předchozí AIM a známou renální insuficienci. Resuscitace v posledních 24 hodinách před zařazením proběhla častěji ve vývojové kohortě, pacienti v ní měli rovněž mírně nižší koncentrace NT-proBNP a kreatininu a častěji se u nich zdařila PCI. V rámci validační statistické analýzy se skóre CLIP ukázalo jako dobře zkalibrované (interní, interně-externí, externí validace). Jeho diskriminační schopnost v odhadu třicetidenní mortality (c-statistics) dosáhla hodnoty 0,83 a skóre dokonce přinášelo kvalitnější prognostikaci nemocných než dosud používaná skóre rizika Simplified Acute Physiology Score II (SAPS II; 0,83 vs. 0,62,  $p < 0,001$ ) a IABP-SHOCK II risk skóre (0,83 vs. 0,76,  $p = 0,03$ ). Použití skóre CLIP v kombinaci s IABP-SHOCK II risk skóre nepřineslo signifikantní zvýšení c-statistics.

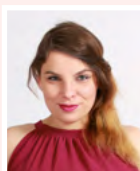
Všechny čtyři zařazené analyty hrají roli v patofyziologii kardiogenního šoku.



Zdaleka nejsilnějším prediktorem třicetidenní mortality byl laktát, který odráží celkovou tkáňovou hypoxii. Následoval NT-proBNP, tedy marker přetížení srdeční stěny, dosud hojně používaný v problematice akutního i chronického srdečního selhání. Silnou determinantou prognózy byl rovněž prozánětlivý cytokin IL-6, což je v souladu se zjištěním, že zánětlivá odpověď s rozvojem kardiogenního šoku úzce souvisí. Čtvrtou součástí CLIP skóre je parametr funkce ledvin a potenciálně i zánětlivý mediátor cystatin C.

Na zjištění autorů skórovacího systému CLIP navázala práce francouzských autorů Deniau et al., publikovaná ve formě tzv. research letter v časopise *European Journal of Heart failure*<sup>2</sup> v červenci letošního roku. Ti aplikovali skórovací systém CLIP na kohortu 2 087 nemocných ze studie FROG-ICU<sup>5</sup>, která zahrnuje pacienty přijaté na jednotku intenzivní péče (JIP) z variabilních důvodů, nejčastěji pro koronární syndrom ( $n = 146$ ), septický ( $n = 488$ ) či hemoragický šok ( $n = 110$ )

nebo akutní respirační selhání ( $n = 394$ ). Mezi další příčiny přijetí patřilo traumatické poranění mozku, pooperační management, trauma, selhání ledvin nebo jater a další. Celková třicetidenní mortalita souboru dosáhla 21%. Skóre CLIP s ní dobře korelovalo bez ohledu na příčinu přijetí. Autoři této analýzy si to vysvětlují tím, že biomarkery použité ve skóre CLIP nejsou nijak specifické pro kardiogenní šok nebo AIM, spíše odrážejí celkovou úroveň poškození organismu a zánětlivé odpovědi, hypoxie ve tkáních a orgánového deficitu. Kromě toho je laktát ze zahrnutých analytů zároveň nejméně orgánově specifický a současně je nejsilnějším prediktorem. Deniau et al. tak navrhuje, že skóre CLIP by se mohlo stát dobrým prognostickým nástrojem nejenom u nemocných s kardiogenním šokem, ale u všech pacientů hospitalizovaných v intenzivní péči. Upozorňují ale, že se jedná o velmi předběžný závěr a k jeho potvrzení či vyvrácení budou potřeba další, ideálně prospektivní klinické studie.



### MUDr. Tereza Rádí

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.

## LITERATURA

1. Ceglarek U., et al. *European Heart Journal* (2021) 42, 2344–2352. doi:10.1093/eurheartj/ehab110.
2. Deniau B., et al. *European Journal of Heart failure*, Online publish-ahead-of-print 18 May 2021, doi.org/10.1002/ejhf.2208.
3. Thiele H., et al. *N Engl J Med* 2017;377:2419–32. DOI: 10.1056/NEJMoa1710261
4. Thiele H., et al. *Circulation* 2019;139:395–403. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.038201>.
5. Gayat, E., et al. *Crit Care* 22, 8 (2018). <https://doi.org/10.1186/s13054-017-1922-8>.



Na jaře roku 2020 se celý svět výrazně změnil vlivem pandemie způsobené koronavirem SARS-CoV-2. Kromě této katastrofy se v tomtéž období začal měnit mikrosvět Oddělení klinické biochemie Fakultní Thomayerovy nemocnice (OKB FTN), a to zahájením přípravy výměny hlavních analyzátorů. Dosavadní technika postupně dosluhovala, smlouvy nemilosrdně končily. Vědomi si kruciólní důležitosti analyzátorů, na kterých se bude měřit naprostá většina požadavků klientů OKB FTN, věnovali jsme již časově i personálně náročné přípravě zadání výběrového řízení maximální úsilí. Z mnoha dostupných zdrojů jsme sbírali informace o parametrech, základních odlišnostech, výhodách a nevýhodách jednotlivých systémů na trhu, poctivě jsme navštívili řadu laboratoří disponujících různými analyzátorů. Zvažovali jsme důkladně, zda poprvé v historii OKB FTN nezačneme pracovat také s preanalytickou linkou a nám dosud neznámým middlewarem. Řešili jsme statické a stísněné prostorové dispozice centrální laboratoře a možnosti stavebních úprav. Začali jsme formulovat požadavky a zadávací dokumentaci, jež následně v konzultacích s právním oddělením a oddělením přístrojové techniky ještě mnohokrát změnila podobu. Finální zadání bylo zveřejněno 27. 2. 2020, cca po roce intenzivní přípravy.

## Výměna hlavních analyzátorů na Oddělení klinické biochemie Fakultní Thomayerovy nemocnice

MUDr. KLÁRA BOŘECKÁ, Ph.D.

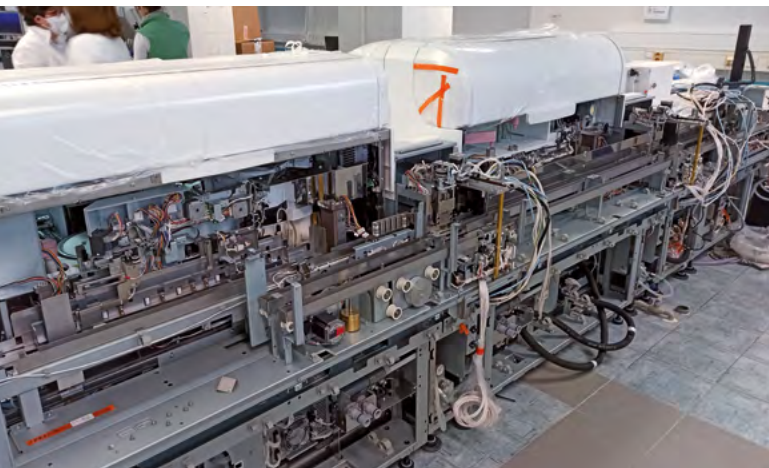
*Oddělení klinické biochemie, Fakultní Thomayerova nemocnice Praha*

Následovalo nelehké období odpovědí na mnohé dotazy, a především náročné a nekončící obhajování požadavků OKB FTN (celkem 40 dotazů a 2 námítky). Vzhledem k potřebám a záměrům laboratoře byla zadávací dokumentace logicky značně rozsáhlá, v některých oblastech ne zcela standardní. Základním společným jmenovatelem požadavků bylo zachování kvality měření minimálně shodné nebo

vyšší v porovnání s výchozím stavem. Námítky byly řešeny až v Úřadu pro ochranu hospodářské soutěže, který však potvrdil plnou oprávněnost všech diskutovaných požadavků ze strany FTN. V listopadu 2020, po uplynutí ochranných lhůt, bylo tedy možné podepsat smlouvu. Vítězným uchazečem se stala firma Roche s.r.o., Diagnostics Division, s nabídkou dvou duplicitních analytických systémů

**cobas® pro** a preanalytickou linkou CCM **cobas® connection modules** (v osazení: 1 centrifuga, modul p 512 obsahující vstupní a výstupní část, odvíčkovač a zavíčkovač a třídící část s napojeným dopravníkem na analytické systémy), vše ovládáno middlewarem **cobas® infinity**. Přes opatření omezující výrobu a mezinárodní dopravu kvůli vrcholící covidové pandemii se firmě podařilo dodržet všechny závazné termíny dodávky.

Vlastní výměnu bylo nutné provést za plného provozu laboratoře, resp. při aktuálním nárůstu počtu vzorků na cca 700–800 denně, a to při omezení covidovými opatřeními. Bylo nutné provést statické zpevnění podlahy části laboratoře a menší stavební úpravy (odstranění zídky, nová dispozice rozvodů). Před vlastní výměnou probíhala ve spolupráci s firmou Roche pracná příprava konfigurace nového systému, tj. teoretické definování toku vzorků a distribuce metod pro jednotlivé analyzátorů a dny. Harmonogram plánované výměny byl detailně rozplánován tak, aby bylo do poslední chvíle možné měřit alespoň na původním menším analyzátoru, přičemž část původních přístrojů byla provizorně přestěhována do dalších laboratoří nebo chodby. Stěhování chladicích a mrazicích zařízení samozřejmě muselo být synchronizováno s přemístěním a kalibrací čidel centrálního monitoringu teplot. V určité fázi byla část centrální laboratoře uzavřena protiprašnou stěnou a zřízen vstup oknem.







Jakkoliv však byla vlastní výměna detailně naplánována a připravena, jednotlivé fáze na dny a hodiny všemi zúčastněnými potvrzeny (domluvena byla i záložní spolupráce s laboratoří IKEM pro případ havarijního stavu), na realitu jsme se beze zbytku samozřejmě připravit nemohli.

Bez problému byla instalována a zprovozněna první analytická linka **cobas® pro** „rutinní“, ale instalaci druhé linky **cobas® pro** „statimové“ bohužel již od počátku provázely neočekávané problémy. V časovém tlaku jsme provedli verifikace a porovnání výsledků všech metod s předchozím systémem **cobas® 8000 / cobas® 6000** (Roche) a mezi novými linkami navzájem. Byl zahájen plný provoz celého nového analytického systému (zatím bez preanalytické části), byl deinstalován a odvezen původní hlavní analyzátor **cobas® 8000**. Avšak po několika dnech řešení opakovaných poruch nového „statimového“ **cobas® pro** se instalační tým nakonec rozhodl po poradě s laboratoří uspořádat plný funkční provoz kompletní výměnou této linky, kterou pracovníci fy Roche v této vypjaté situaci zvládli obětavě prakticky přes noc.

Bylo nutné znovu instalovat aplikace, provést kalibrace, porovnání výsledků, včetně statistického vyhodnocení, a verifikace metod, tentokrát již většinou z čerstvých vzorků. Zatížení zbylé „rutinní“ analytické linky a instalace ovladačů SW **cobas® infinity** a LIS *OpenLIMS* (Stapro s.r.o.) vedly v pátek odpoledne k výpadku komunikace analyzátoru s LIS. Odstranění tohoto problému a nastolení normální provozní funkce na straně **cobas® infinity** provedli zaměstnanci fy Roche kolem druhé hodiny ranní v sobotu. Avšak vážné poruchy přenosu dat nás ještě provázely, tentokrát na rozhraní LIS. Pondělí a úterý byly naprosto kritické, **cobas® pro** „rutinní“ byl sice funkční (s poloviční kapacitou celého systému), ale nepřijímaly se požadavky z LIS ani výsledky do LIS. Bylo tedy nutné manuálně zadávat všechny požadavky a přepisovat

všechny výsledky, přičemž v tyto dny laboratoř standardně dostává nejvíc vzorků. Záložní původní **cobas® 6000** v jednu chvíli též havaroval a zhruba 30 statimových vzorků bylo nutné odeslat do laboratoře IKEM.

Současně s těmito nepředvídatelnými komplikacemi nás zhruba za týden čekal náročný audit R3 NASKL (nový typ auditu s nejvyšším možným rozsahem), který kvůli smlouvám s pojišťovnou nebylo možné odsunout. V tuto kritickou dobu si skutečně celý laboratorní personál sáhl na dno – pracovali jsme denně do noci a osobní oběti šly mnohdy vysoce nad rámec pracovních povinností časově i fyzickou a psychickou výdrží.

Nakonec se však podařilo společnými silami, včetně mezinárodní spolupráce s vývojáři SW, tuto nelehkou situaci a nečekané technické problémy zvládnout a atmosféra se uklidnila. Proběhlo zaškolení, zcela nová organizace provozu (především pro nás nové automatické

preanalytické zpracování) se ustálila, vyladili jsme detaily. Komunikaci LIS *OpenLIMS*, **cobas® pro** a middleware **cobas® infinity** se ve spolupráci s firmami Stapro s.r.o. a Roche s.r.o., Diagnostics Division, podařilo po počátečních problémech nastavit jako plně funkční, včetně reflexního testování, všech výpočtů a rozporů, sledování duplicit, automatických komentářů, náhrady výsledku textem apod. Auditem NASKL jsme úspěšně prošli. Vyskytují se již jen zcela běžné provozní problémy. Od března 2021 máme k dispozici moderní plně automatický komplexní analytický a preanalytický systém, který je schopen naplnit potřeby velké fakultní nemocnice, a to jak v rozsahu spektra prováděných metod, tak i kvality a rychlosti měření. Na začátku května 2021 byla nová technika slavnostně představena vedení Fakultní Thomayerovy nemocnice, v čele s ředitelem doc. MUDr. Zdeňkem Benešem, CSc.

Srovnání parametrů původního a nového systému ukazuje tabulka č. 1.

	Původní systém	Nový systém
<b>Název</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li><b>cobas® 8000:</b> c 702, c 502, ISE, 2x e 602</li> <li><b>cobas® 6000:</b> c 501, ISE, e 601</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>2x <b>cobas® pro: c</b> 503, ISE, <b>e</b> 801</li> <li>nově preanalytická linka CCM: centrifuga <b>cobas p</b> 471 + <b>cobas p</b> 512 (vstupní modul, odvíčkovač + zavíčkovač, třídící modul)</li> <li>nově <b>cobas® infinity</b></li> </ul>
<b>Organizace provozu</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li><b>cobas® 8000</b> pro rutinní i statimové analýzy v pracovní době, vyjma několika málo požadovaných metod, které je nutno provádět statimově (etanol, bílkovina a glukóza v likvoru apod.) – ty na <b>cobas® 6000, cobas® 6000</b> pro pohotovost</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>oba <b>cobas® pro</b> v provozu do cca 16:00 hod., poté pouze <b>cobas® pro</b> „statimový“</li> <li>základní metody na obou <b>cobas® pro</b>, rutinní metody rozděleny rovnoměrně mezi obě linky</li> </ul>
<b>Výkon</b>	Celkem: <ul style="list-style-type: none"> <li>biochemie 3 200 testů/h</li> <li>ISE 1 800 testů/h</li> <li>imunochemie 510 testů/h</li> </ul>	Celkem: <ul style="list-style-type: none"> <li>biochemie 2 000 testů/h</li> <li>ISE 1 800 testů/h</li> <li>imunochemie 600 testů/h</li> </ul>
<b>Počet pozic pro reagentie na palubě</b>	Celkem: <ul style="list-style-type: none"> <li>biochemie 190</li> <li>imunochemie 75</li> </ul>	Celkem: <ul style="list-style-type: none"> <li>biochemie 120</li> <li>imunochemie 96</li> </ul>
<b>Objem vzorku</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1,5–50 µl/test</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1–30 µl/test (≤3 µl u 95% biochemických metod)</li> </ul>
<b>Mrtvý objem</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>biochemie 50 µl</li> <li>imunochemie 100 µl</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>50 µl</li> </ul>

▲ Tab. č. 1: Srovnání parametrů původního a nového systému





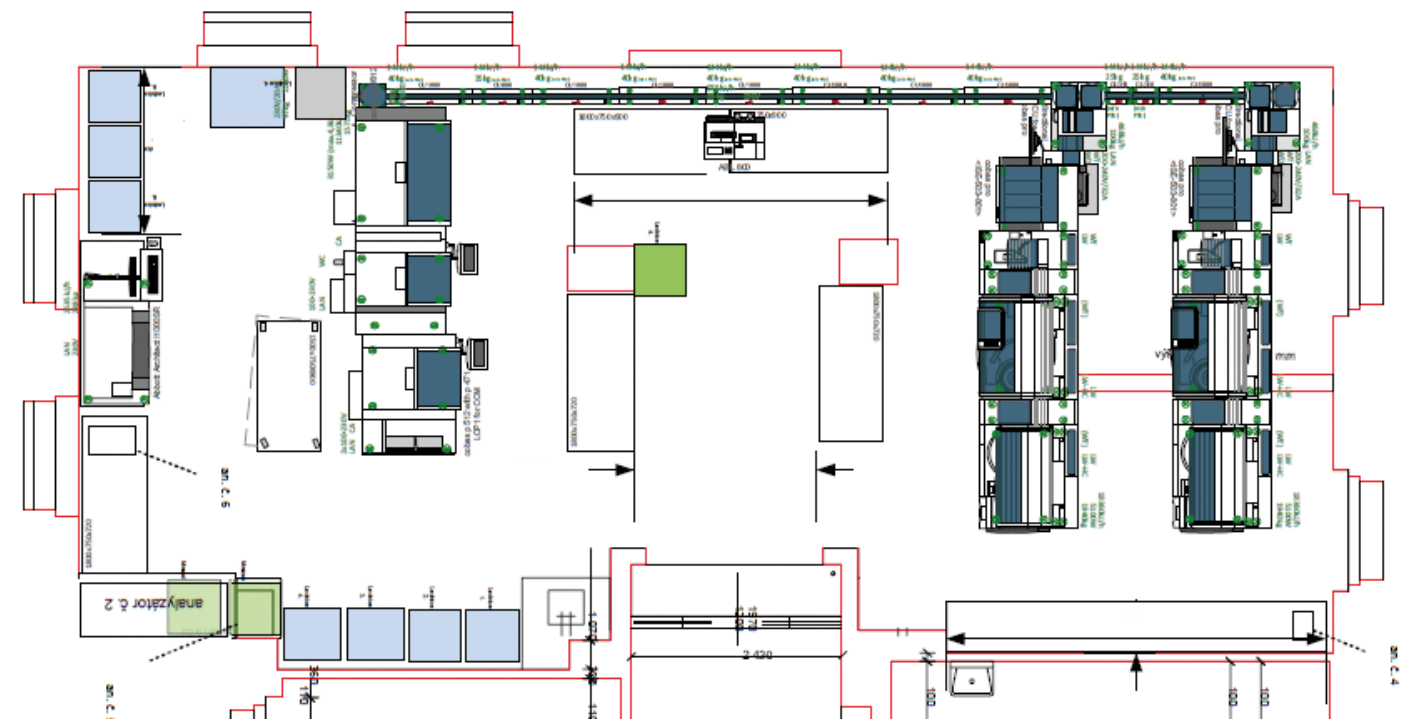
Uspořádání přístrojové techniky a rovněž pracovních míst v centrální laboratoři bylo nutné zcela změnit. Velkým omezením se ukázaly být dva nosné sloupy ve středu laboratoře, přesto se podařilo najít uspokojivý model, viz obr. č. 1.

Čas dodání výsledku od přijetí vzorku do laboratoře (TAT, Turn Around Time) je na Oddělení klinické biochemie FTN

historicky pečlivě sledován a detailně vyhodnocován vždy po uplynutí aktuálního měsíce. Zatímco u statimových vzorků činí maximální čas odeslání výsledků běžných 60 minut, uvolňování výsledků rutinních vzorků laboratoř garantuje již do (značně nestandardních) 150 minut. Nižší výkon nového systému (viz tab. č. 1) je nyní vyvážen automatizací preanalytického zpracování a automatickou distribucí vzorků mezi dvě linky podle jejich aktuálního vytížení a podle požadavků v daném vzorku pomocí middlewaru a dopravníku. Původní průměrný TAT dosahoval u rutinních krevních vzorků 83–93 minut, u statimových 43–46 minut; na novém systému po ustálení provozu t. č. dosahuje cca 82 minut u rutinních vzorků a cca 44 minut u vzorků statimových. TAT rutinních vzorků se tak ještě zkrátí, TAT u vzorků statimových je zhruba stejný nebo mírně vyšší (stále však s dostatečnou rezervou pod stanoveným limitem). Middleware **cobas® infinity** přinesl užitečný a využívaný nástroj pro sledování času zpracování vzorku z dalšího pohledu oproti LIS – umožňuje sledovat čas od příjmu vzorku do laboratoře do prvního načtení v preanalytické nebo analytické lince

s možností různého barevného rozlišení dle přiblížení k nastavenému limitu.

Oproti předchozímu analytickému systému je vytížení obou linek jednoznačně rovnoměrnější. Základní metody jsou duplicitně na obou analyzátoch, speciální metody jsou stejným dílem rozděleny mezi analyzátoř, vlastní distribuci vzorků řídí middleware. Před zahájením provozu preanalytické linky, která byla instalována poslední, byla distribuce vzorků mezi dvě linky řešena pomocí middlewaru a barevného rozlišení stojánek, což lze s výhodou využít i pro případ výpadku preanalytické linky. Před spuštěním systému jsme pečlivě zvážili rozložení metod mezi analyzátoř, včetně statistického vyhodnocení předchozího období tak, aby v minimu případů docházelo k nutnosti zpracování jednoho vzorku na obou analyzátoch (metody byly rozděleny tak, aby funkční celky a obvykle společně ordinované skupiny analytů zůstaly zachovány). Zpětná analýza po zahájení provozu ukázala, že nutnost zpracovat jeden vzorek na obou analyzátoch skutečně nastává pouze v jednotkách případů za měsíc.



▲ Obr. č. 1: Uspořádání nové techniky v centrální laboratoři OKB FTN



Interní kontrolu kvality a denní údržbu provádíme u rutinní linky před spuštěním provozu (cca v 6:00 h, noční služba), u statimové linky cca ve 12:00 h. Pro většinu metod používáme nezávislé interní kontroly třetích stran. Denní údržba má oproti původnímu systému méně kroků, některé kroky údržby dokonce probíhají „na pozadí“ bez zásahu obsluhy.

Preanalytická linka nahradila manuální práci na příjmu vzorků. Ihned po načtení přes čárový kód do LIS (a tím do middleware) se naprostá většina uzavřených vzorků vkládá do preanalytické linky. Původní manuální zpracování zůstalo pouze pro vzorky s velmi malým množstvím materiálu a vzorky se speciálními preanalytickými požadavky (např. amoniak, homocystein, glykovaný hemoglobin apod.). Zvolili jsme rekurzivní mód zpracování vzorků, tj. nejprve je v daném vzorku z primární zkumavky zpracováno vše dostupné na **cobas® pro** (kde lze stanovit většinu všech metod laboratoře), poté následují další cíle – stanovení z primární zkumavky na dalších analyzátořech v centrální laboratoři a odlití alikvotů pro speciální analýzy. Pomocí middleware jsou nastaveny cílené profily zpracování vzorků dle dnů v týdnu a denní doby, tj. např. vzorky obsahující metody měřené v úterý jsou tento den v pracovní době distribuovány do příslušného **cobas® pro**, mimo tuto dobu naopak do cílového stojánu pro odlití alikvotů. Přepnutí profilu na konci směny v SW **cobas® infinity** je velmi jednoduché. Preanalytická linka a middleware přinesly rovněž významné zlepšení archivace vzorků. Finálním cílem kompletně zpracovaného vzorku v **cobas p 512** je archivační stojánek, určený po naplnění přímo k umístění v lednici. Každý vzorek je pevně uzavřen aluminiovou fólií, což zabraňuje odpařování a zmenšuje potenciální biologické riziko pro personál. Pozice každého vzorku v archivačním stojánu je zřetelně označena v LIS. Původní sestavu jsme změnili na dva 75poziční archivační stojánky, aby byla nutnost výměny minimalizována.

Po ustálení provozu zvládá preanalytickou linku kontrolovat a obsluhovat tatáž laborantka, která má na starosti kontrolu statimových výsledků.

Před spuštěním ostrého provozu na novém systému jsme provedli nutné, časově velmi náročné porovnání všech metod proti měření na původním systému. Za tím účelem jsme průběžně sbírali vzorky, resp. alikvoty do hlubokomrazičích boxů a zapisovali výsledky do připravených tabulek. Matematicko-statistické procedury pro všech 115 výměnou dotčených metod byly provedeny pomocí

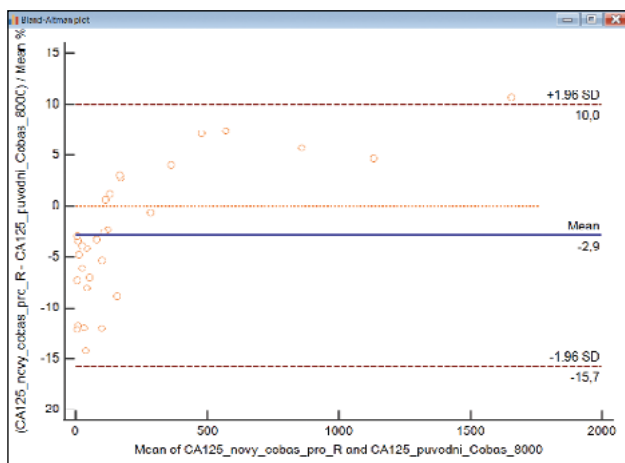
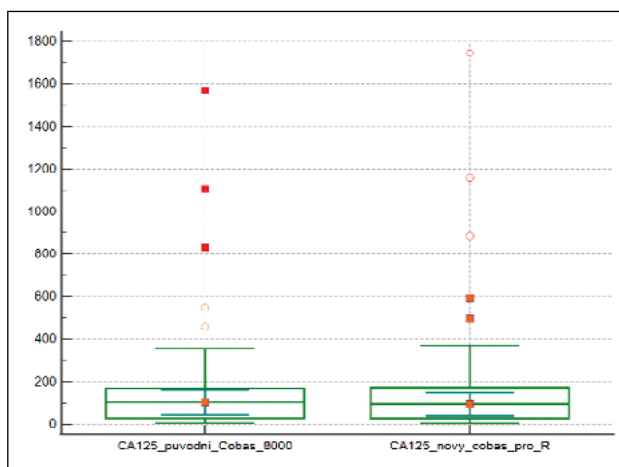
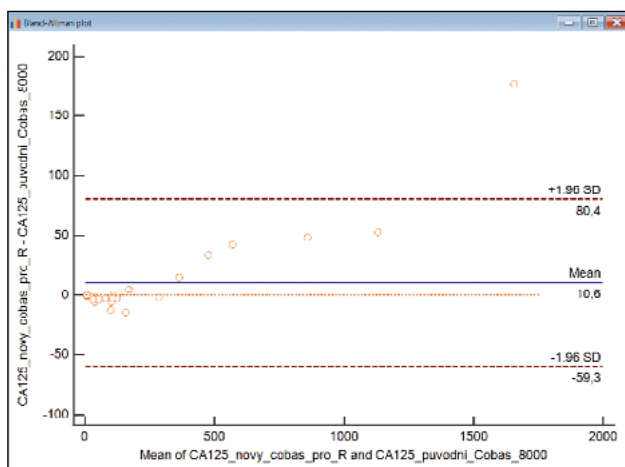
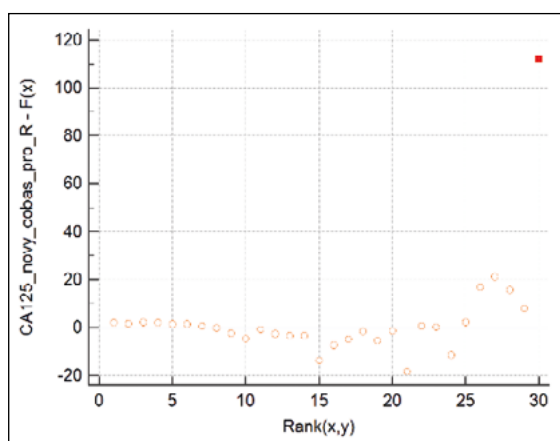
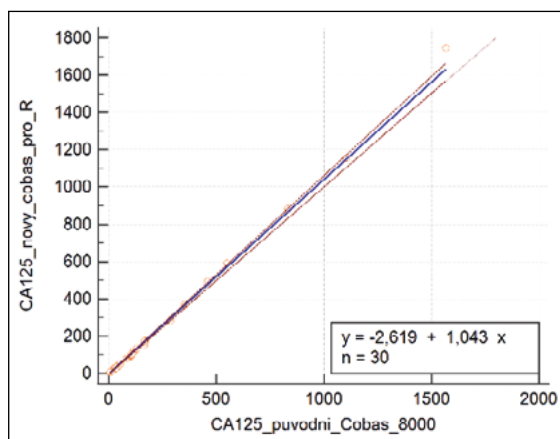
aplikace Microsoft® Excel® a MedCalc Software verze 20; porovnávány byly výsledky z původního analyzátoru s výsledky z nového analyzátoru na 20–30 patientských vzorcích, u metod duplicitně zastoupených na obou nových analyzátořech i tyto proti sobě (u základních metod tedy trojí srovnání). Příklad záznamu statistického vyhodnocení viz obr. č. 2 – vedle základních popisných charakteristik byla vždy provedena korelační (Spearman) a regresní (Passing-Bablok) analýza, rozdílové (Bland-Altman relativní i absolutní) a krabicové grafy, testy významnosti rozdílu výběrových







Passing and Bablok regression		
Variable X	CA125_puvodni_Cobas_8000	
Variable Y	CA125_novy_cobas_pro_R	
Sample size	30	
	Variable X	Variable Y
Lowest value	5,8000	5,3900
Highest value	1568,0000	1745,0000
Arithmetic mean	224,5600	235,1273
Median	104,4500	95,8000
Standard deviation	360,2298	393,5131
Standard error of the mean	65,7687	71,8453
<b>Regression Equation</b>		
$y = -2,619143 + 1,043009 x$		
<b>Systematic differences</b>		
Intercept A	-2,6191	
95% CI	-5,6898 to -0,8447	
<b>Proportional differences</b>		
Slope B	1,0430	
95% CI	1,0056 to 1,0618	
<b>Random differences</b>		
Residual Standard Deviation (RSD)	22,7426	
± 1.96 RSD Interval	-44,5756 to 44,5756	
<b>Linear model validity</b>		
Cusum test for linearity	No significant deviation from linearity (P=0,06)	
<b>Spearman rank correlation coefficient</b>		
Correlation coefficient	0,999	
Significance level	P<0,0001	
95% CI	0,998 to 1,000	



Wilcoxon test (paired samples)		
Sample 1	CA125_puvodni_Cobas_8000	
Sample 2	CA125_novy_cobas_pro_R	
	Sample 1	Sample 2
Sample size	30	30
Lowest value	5,8000	5,3900
Highest value	1568,0000	1745,0000
Median	104,4500	95,8000
95% CI for the median	41,5525 to 157,8804	36,7174 to 146,6752
Interquartile range	27,0000 to 169,2000	25,4000 to 174,0000
Hodges-Lehmann median difference	-0,3500	
95% Confidence interval	-2,0000 to 14,3000	
<b>Wilcoxon test (paired samples)</b>		
Number of positive differences	10	
Number of negative differences	20	
Large sample test statistic Z	0,298241	
Two-tailed probability	P = 0,7855	

▲ Obr. č. 2: Příklad statistického vyhodnocení porovnání výsledků na původním a novém analytickém systému



souborů (párový t-test / Wilcoxonův test) a závěrečné slovní zhodnocení. Všechny metody měly vzájemnou srovnatelnost velmi dobrou, v naprosté většině případů nebyly odchylky výsledků klinicky významné. Významnější posun hodnot byl nalezen u stanovení anti-TSHR (shoda ve vztahu ke cut-off pro Graves-Basedowovu chorobu však byla vysoká), NSE, železa, žlučových kyselin a hydroxybutyrátu. Výsledky srovnání byly oznámeny klinickým partnerům. Rovněž jsme současně u všech metod revidovali referenční rozmezí doporučené výrobcem, technické meze (rozsah měření), stabilitu analytů a omezení analýzy kvalitou vzorku (hemolýzou, chylozitou a iktericitou) a provedli a oznámili potřebné změny. Spektrum metod se (prozatím) rozšířilo o čtyři nová vyšetření, stanovení dvou analytů bylo ukončeno.

Ve srovnání s původním analytickým systémem jsme vyhodnotili především tato vylepšení: je prodloužena stabilita reagentů a tím je omezena nutná manipulace s nimi, je možnost vkládat reagenty do všech modulů za chodu vyjma ISE, vkládat mikrokepy s minimálním objemem vzorku do všech analytických modulů, je výrazně menší spotřeba vzorku a menší mrtvý objem. Ačkoliv inkubační doby reakcí jsou shodné s původním systémem, vylepšením technických parametrů analyzátoru je celková doba měření kratší. Technologie „SonicWash“ (UZ čištění vzorkové jehly) umožňuje optimalizaci a další zrychlení procesu měření – již

není nutné předřazovat k pipetování nejprve imunochemické požadavky. Díky autokalibracím je snížena ekonomická zátěž a čas potřebný na kalibrace, reagenty opatřené RFID čipy jsou shodné pro obě analytické linky. Je snížený počet kroků údržby, některé kroky údržby probíhají „na pozadí“. Velmi jsme uvítali možnost jednoduchého zadání vícečetných opakování měření analytu pro sledování opakovatelnosti. Preanalytická linka šetří práci pracovníků na příjmu laboratoře, podstatně redukuje možnost chyby vlivem lidského faktoru, minimalizuje kontakt pracovníků s potenciálně infekčním biologickým materiálem. Je k dispozici přehledný archiv vzorků s uzavřenými zkumavkami, což dále snižuje biologické riziko a odpařování vzorku pro případné dodatečné požadavky vyšetření, archivační stojánky uspořily místo v lednicích, vzorky jsou pro případné doordínace snadno dohledatelné. SW **cobas® infinity** umožňuje sledování cesty vzorku laboratoří a užitečnou kontrolu času od příjmu vzorku do laboratoře do prvního načtení v preanalytickém nebo analytickém systému, umožňuje sledování denních průměrů, „inteligentní“ dozor nad spotřebou reagentů (podle spotřeby v posledních 9 týdnech je vyhodnocena odhadovaná spotřeba konkrétní reagenty podle jednotlivých dnů v týdnu a hlášeno upozornění na insuficientní množství).

Závěrem je zcela namísto poděkovat vedení FTN za profesní i lidskou podporu zejména v psychicky náročném období



přecházejícím vlastní výměně analytického systému, firmě Roche s.r.o., Diagnostics Division, za příkladnou spolupráci, vstřícnost k řešení našich požadavků a nebyvalou obětavost pracovníků firmy a samozřejmě našim klinickým partnerům za trpělivost především v počátečních fázích výměny. Zvláště však musím své velké díky směřovat ke všem pracovníkům Oddělení klinické biochemie FTN. Tak nesmírně obtížný úkol, jakým výměna hlavních analyzátorů v takto velkém rozsahu bezesporu je, za plného provozu laboratoře, a tedy s obrovským přidělem práce navíc, v provizorních podmínkách, při covidové pandemii a s nutným absolvováním externího auditu, zvládli opravdu se ctí. Děkuji!



#### MUDr. Klára Bořecká, Ph.D.

Oddělení klinické biochemie, Fakultní Thomayerova nemocnice Praha  
Kontakt: klara.borecka@ftn.cz

Vystudovala 1. LF UK v Praze, atestace z klinické biochemie získala roku 1999 a 2007. Od roku 1996 pracuje ve Fakultní Thomayerově nemocnici, kde od roku 2010 zastává funkci primářky Oddělení klinické biochemie a od roku 2020 pozici vedoucího Úseku laboratorních metod. Ve volném čase ráda čte, běhá, dobře pije a jí a navštěvuje únikové hry.



Základní informace o IVD zdravotnickém prostředku firmy Roche – systémech **cobas® pro**, **cobas® 6000**, **cobas® 8000**, **cobas® connection modules (CCM)**, **cobas p 471 + cobas p 512** a software **cobas® infinity** naleznete na [go.roche.com/CZ\\_eLabDoc](http://go.roche.com/CZ_eLabDoc). Základní informace o zmíněných IVD zdravotnických prostředcích jiných dodavatelů žádejte u zodpovědných firem.





Rozšíření nákazy SARS-CoV-2 a postupné vyhlášení epidemie a nouzového stavu představovalo zcela nový druh výzvy pro celý zdravotnický systém v ČR a jednotlivá zdravotnická zařízení. Ústřední vojenská nemocnice – Vojenská fakultní nemocnice Praha (dále jen ÚVN) ihned po vyhlášení nouzového stavu dne 12. března 2020 se již v sobotu 13. března 2020 zřízením odběrového místa aktivně zapojila do systému testování a screeningu infekce SARS-CoV-2. Nafukovací stan postavený v areálu ÚVN pro odběry nazofaryngeálních stěrů se tak stal jedním z prvních podobných testovacích míst v ČR.<sup>1</sup>

## Validace použití samoodběrové soupravy GARGTEST pro provedení testu cobas® SARS-CoV-2 Roche

plk. gšt. MUDr. MILOŠ BOHONĚK, Ph.D., Ing. LUDMILA LANDOVÁ, Ph.D.

Oddělení hematologie a krevní transfuze, Ústřední vojenská nemocnice – Vojenská fakultní nemocnice Praha

Odebrané vzorky byly zpočátku zasílány k laboratornímu vyšetření do externích laboratoří, proto byly zanedlouho po otevření prvního odběrového místa podniknuty nezbytné kroky, aby mohla být zahájena laboratorní vyšetření vzorků v ÚVN co nejdříve. Aktivitu v tomto směru vyvinulo Oddělení hematologie a krevní transfuze (dále jen OHKT), které má několikaletou zkušenost s velkoobjemovým automatizovaným vyšetřováním dárců krve a jejich složek metodou přímé detekce nukleové kyseliny, a volba padla na vysoce kapacitní systém fy Roche cobas® 6800 s právě na evropský trh uvedeným testem RT PCR SARS-CoV-2. Po nutných drobných stavebních úpravách a instalaci v rekordním čase laboratoř na vyšetřování RT PCR SARS-CoV-2 na OHKT zahájila provoz 3. dubna 2020. V té době se jednalo o nejvýkonnější laboratoř na testování RT PCR SARS-CoV-2 v ČR s možnou kapacitou až 1 000 provedených testů za 24 hodin.<sup>1</sup>

Kit cobas® SARS-CoV-2 je kvalitativní test pro použití v systému cobas® 6800 a systému cobas® 8800 pro detekci RNA nového koronaviru z roku 2019 (SARS-CoV-2) v individuálních nebo poolovaných vzorcích nazálních, nazofaryngeálních a orofaryngeálních výtěrů odebraných v médiu

Copan Universal Transport Medium System (UTM-RT), médiu BD™ Universal Viral Transport System (UVT), médiu cobas® PCR Media nebo v 0,9% fyziologickém roztoku. Při zpracování se do každého vzorku přidává RNA interní kontrola, která se používá pro monitorování celé přípravy vzorku a procesu amplifikace při PCR. Test navíc využívá externí kontroly (pozitivní kontrolu s nízkým titrem a negativní kontrolu).<sup>2</sup>

Běžnou a většinovou praxí jsou odběry individuálních vzorků z nazofaryngeálního výtěru, u nově definovaných preventivních vyšetření jsme od června 2021 zavedli poolování s použitím rozpipetovacího automatu Microlab® HAMILTON STAR IVD v systému cobas® Synergy SOFTWARE v poolu 6.

V souvislosti s diskusí o širším zavedení PCR testování ve školách jsme hledali vhodnou odběrovou soupravu na odběry slin, abychom tuto možnost mohli případně nabídnout potenciálním zákazníkům.

Možnou soupravou pro otestování byla zvolena samoodběrová sada GARGTEST na principu kloktání dutiny ústní a hltanu, výrobce IntellMed, s.r.o., Olomouc. Sada je určena k odběru vzorků, které se vyhodnocují na přítomnost virů infikujících dutinu ústní a horní cesty dýchací ve zdravotnické laboratoři metodou přímého průkazu nukleové kyseliny. Virus v transportním médiu zůstává vitální a lze ho použít i pro kultivační vyšetření. Odebraný vzorek je stabilizován speciálním pufrem, není třeba jej uchovávat a převážet do laboratoří při snížené



## NÁVOD K POUŽITÍ

Při samotném odběru přesně dodržte uvedené instrukce.

**Elektronická žádanka**

**1**

Před provedením testu vyplňte elektronickou žádanku dostupnou na webu GARGTESTU.

**2**

Opatrně otevřete krabičku a vyndejte obsah. Krabičku nepoškozujte, bude použita pro zpětný transport Vašeho odebraného vzorku.

**3**

Napustte vodu do přiložené odměrky přesně po rysku 5 ml.

**4**

Zhluboka se nadechněte a zakašlejte. Tím zvýšíte pravděpodobnost zachytu infekce z dolních cest dýchacích.

**5**

Obsah odměrky vlejte do úst - nepolykejte! Pokud omylem polknete, postup opakujte od bodu 3.

**6**

Kloktejte v rozmezí 20 až 30 vteřin. Kloktat můžete i přerušovaně, dodržte však min. celkovou doporučenou dobu kloktání.

**7**

Vykloktaný obsah úst vyplivněte zpět do odměrky.

**8**

Vykloktaný obsah odměrky opatrně přelijte do přiložené zkumavky. Ve zkumavce je stabilizační prášek, který nesmíte vyspat.

**9**

Zkumavku pečlivě uzavřete a protřepejte. Na štítek napište své jméno, rodné číslo, u cizinců datum narození.

**10**

Uzavřenou zkumavku vložte do sáčku společně s absorpční vložkou. Pak uzavřete.

**11**

Zkumavku v uzavřeném vnějším sáčku vložte do nepoškozené krabičky a uzavřete. Krabičku odnesete na odběrové místo, sběrné místo, k lékaři nebo do laboratoře.

Odebraný vzorek uchovejte při teplotě 4-37 °C, je takto stabilní po dobu nejméně 1 týdne.

**Nevystavujte mrazul**

▲ Obr. 1: Návod k použití odběrové soupravy GARGTEST

teplotě. V roztoku virus zůstává dlouhodobě stabilní v širokém rozpětí teplot (4–37 °C) po dobu nejméně 1 týdne.

Jako srovnávací test byl použit rutinně zavedený odběrový set COROTEST VTM (výrobce LabMediaServis s.r.o., Hradec Králové) pro nazofaryngeální odběr vzorku. Jedná se o polypropylenovou zkumavku s transportním médiem s 2 odběrovými tyčinkami. Médium obsahuje BSF: bovinní fetální sérum, guanidin thiokyanát, ATB potlačující růst mikroflóry, PBS pufr (pH = 7,3/25 °C).

### Předmět, cíl a metoda validace

Cílem validace bylo provést ověření a potvrzení funkčnosti metody SARS-CoV-2 kitem **cobas**® SARS-CoV-2 (Roche, Rotkreuz, Švýcarsko) s následnou evaluací samoodběrové sady GARGTEST v rámci komparace s nazofaryngeálním odběrem do transportního média. Nedílnou součástí validace bylo provedení analytické návaznosti na testování externích

kontrol kvality INSTAND EQAS Düsseldorf a externích kontrol AccuPLEX SARS-CoV-2 (SeraCare).

Výpočty byly prováděny statistickým softwarem Statistica® společnosti StatSoft/DELL (verze 12 – Oklahoma, USA), určeným k biostatistickým a lékařským výpočtům klinických studií.

### Rozsah validace

#### Specifita

Specifita, tj. těsnost souladu mezi jedním výsledkem měření a dohodnutou referenční hodnotou daného parametru. Očekávaný výsledek je 10 negativních vzorků pro daný kvalitativní parametr a minimálně 5 reaktivních vzorků (reaktivní výsledek u vzorků obsahující RNA daného viru).

#### Detekční limit

Detekční limit, tj. nejnižší spolehlivě detekovatelné množství nukleové kyseliny (NK) ve vzorku, která nemusí být

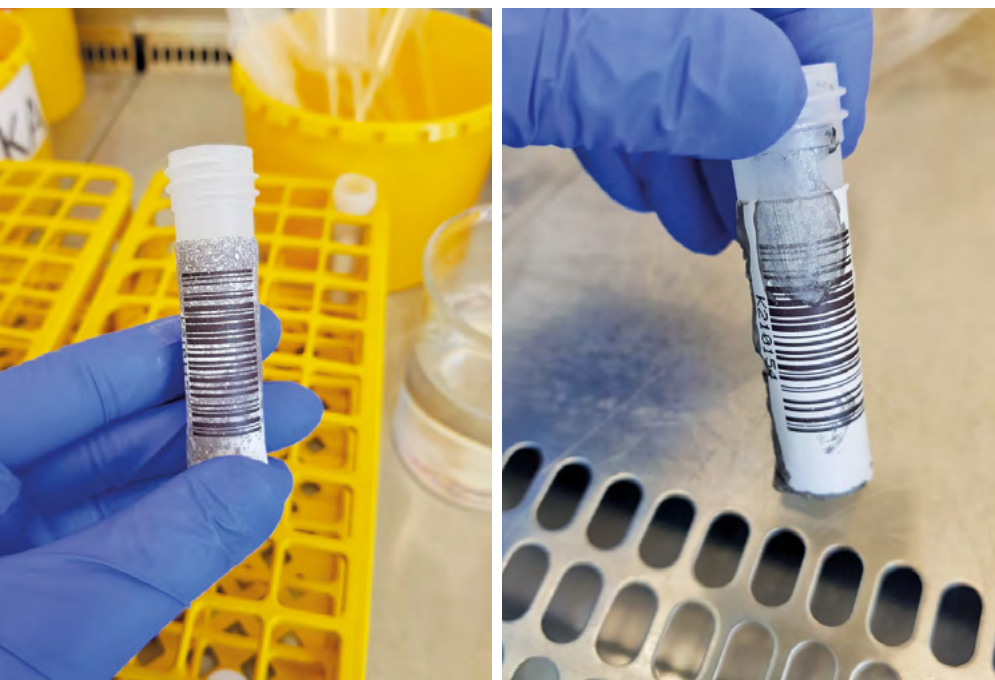
stanovena kvantitativně. Jasně a spolehlivě stanovení NK od matrix vzorku (LoD, limit of detection) analytického postupu je dáno nejmenším množstvím analytu ve vzorku, které může být detekováno, ale které nemusí být stanovitelné jako exaktní hodnota. Očekávaný výsledek a kritérium přijatelnosti je detekce ve 100% všech spuštěných běhů.

#### Robustnost

Robustnost, tj. míra schopnosti metody stanovit správné a přesné výsledky při malých změnách pracovních podmínek, ke kterým dochází při rutinní analýze, ale s dodržením pracovního postupu. Očekávaný výsledek a kritérium přijatelnosti je pozitivita všech spike vzorků.

### Vyhodnocení validace

V rámci validace bylo odebráno celkem 310 synchronních odběrů (samoodběr vs. nazofaryngeální stěr), z toho 279 bylo zařazeno do studie z důvodu velkého množství neshod (viz dále).



▲ Obr. 2 a 3: Náhledy na poškozené ID barcody



▲ Obr. 4 a 5: Náhledy na precipitáty uvnitř zkumavek

Všechny vzorky byly testovány IDT, následně nazofaryngeální stěr také primárním poolem 6 (viz **tab. 1**).

### Vyhodnocení preanalytické fáze

Při příjmu materiálu odebraného do soupravy GARGTEST bylo zjištěno množství neshod (celkem 31):

1) poškození ID barcodu (poškození vodou – postříkání po vyplivnutí nebo

nalévání vody do připraveného kalíšku) – při možném budoucím používání je nutné volit laserový lesklý štítek.

2) četné precipitáty a zbytky jídla uvnitř vlastního vzorku. Ani po ředění a lyzaci nebylo možné některé vzorky změřit – při vlastním měření byla v SW **cobas**® 6800 informace o přítomnosti sraženiny (clotu) nebo poruchy aspirace při pipetování vzorku.

### Vyhodnocení kvalitativní metody SARS-CoV-2

#### Specifita

Použité vzorky byly testované jako negativní a pozitivní (viz **tab. 2–7**).

#### Závěr vyhodnocení specifity

Test **cobas**® SARS-CoV-2 má 100% specifitu v samoodběrové sadě GARGTEST a skutečně stanovuje negativní výsledek v externích kontrolách AccuPlex.

Výsledek byl pozitivní pouze u 3 vzorků, 276 vzorků bylo negativních. Byla provedena komparace mezi nazofaryngeální odběrovou soupravou COROTEST VTM, kdy všechny vzorky byly změřeny jak v primárním poolu 6, tak i jako IDT. Veškeré pooly a IDT byly negativní. Odchylka v negativitě oproti GARGTESTům může být způsobena např. chybně provedeným nazofaryngeálním stěrem apod.

Specifita je pro COROTEST o 1,075% nižší než u GARGTESTu. Výrobce testu **cobas**® SARS-CoV-2 fa Roche v příbalovém letáku uvádí specifitu testu v poolu 6 100% (95% CI: 83,9–100%), konfidenční interval tak odpovídá našemu zjištění specifity 98,9%.

Vzhledem k malému počtu pozitivních vzorků a všech negativních vzorků v COROTESTu nelze provést statistickou analýzu specifity při porovnání těchto dvou odběrových souprav a vyhodnocení specifity není možné uzavřít.

### Detekční limit a analytická senzitivita

#### Použité vzorky a metodika

Byla použita 1 nezávislá série ředění pozitivních vzorků (STD SZÚ), které byly testovány ve dvou odlišných dnech; celkem změřeno 12 výsledků pro ředící řadu následujícím způsobem: 6 replikátů pro každé ředění – 2 dny – 1 ředící řada. Dále byl použit Accuplex™ SARS-CoV-2 SeraCare, který byl také použit pro vývoj kity Roche, kdy byla do vzorku vody přidána kontrola v poměru 1 : 10 (viz **tab. 8–9**).



Typ testu	Počet neg.	Počet poz.
GARGTEST IDT	276	3
COROTEST VTM IDT	279	0
COROTEST VTM PP6	279	0

▲ Tab. 1: Základní vyhodnocení

Parametr	Počet použitých vzorků ÚVN	Použitá metoda	Reagenční kit cobas® SARS-CoV-2 Lot/Exp.
SARS-CoV-2 RNA +	3		
SARS-CoV-2 RNA -	276	PCR	H093183/31.3.2022

Použitý reagenční kit **cobas®** SARS-CoV-2 nerozlišuje jednotlivé genotypy/varianty/delece atd., pouze detekuje reaktivitu vzorku, jde tedy o kvalitativní metodu.

▲ Tab. 2: Použité reaktivní a negativní vzorky (odběrová souprava GARGTEST)

Reagent lot/exp.	Sample type	Počet vzorků	Výsledek Target 1	Výsledek Target 2	Výsledek externí kontroly TGT1 TGT2	Výsledek interní kontroly
<b>SARS-CoV-2</b>						
H093183/31.3.2022	IDT	276	negative	negative	negative	valid

▲ Tab. 3: Přehled vyšetření – negativní vzorky – **cobas®** 6800 GARGTEST

Reagent lot/exp.	Sample type	Počet vzorků	Výsledek Target 1	Výsledek Target 2	Výsledek externí kontroly TGT1 TGT2	Výsledek interní kontroly
<b>SARS-CoV-2</b>						
H093183/31.3.2022	IDT	279	negative	negative	negative	valid

▲ Tab. 4: Přehled vyšetření – negativní vzorky – **cobas®** 6800 COROTEST VTM

Reagent lot/exp.	Sample type	Počet vzorků	Výsledek Target 1	Výsledek Target 2	Výsledek externí kontroly TGT1 TGT2	Výsledek interní kontroly
<b>SARS-CoV-2</b>						
H093183/31.3.2022	IDT	3	reactive	reactive	reactive	valid

▲ Tab. 5: Přehled výsledků jednotlivých IDT – pozitivní vzorky – **cobas®** 6800 – GARGTEST

Pozit. vzorek	CT1	CT2
1	38,7	38,8
2	38,8	38,9
3	37,9	38,1

▲ Tab. 6: Přehled CT hodnot u pozitivních vzorků

Reagent lot/exp.	Sample type	Počet vzorků	Výsledek Target 1	Výsledek Target 2	Výsledek interní kontroly
<b>SARS-CoV-2</b>					
G030835/30.11.2021	IDT	5	positive	positive	valid
	IDT	5	negative	negative	valid

▲ Tab. 7: Přehled testování na referenčním panelu SARS-CoV-2 AccuPlex™ Verification Reference Material kit





Parametr SARS-CoV-2	Počet replikátů	Metodika	% reaktivních vzorků v cobas® 6800	LOD 95% detekční hranice Roche
Dilution level 1	6	IDT	100	25/32 cps/ml
Dilution level 2	6		100	
Dilution level 3	6		100	
Dilution level 4	6		100	
Dilution level 5	6		100	
Dilution level 6	6		100	

\* Vzhledem k vysoké virové náloži v primárním standardu dále ředěn poslední testovaný vzorek 1 : 10 vždy předchozím dilučním levellem až do hodnoty 180 cps/ml.

Parametr SARS-CoV-2 (AccuPlex™)	Počet replikátů	Metodika	% reaktivních vzorků v cobas® 6800	LOD 95% detekční hranice Roche
Dilution level 1–100	6	IDT	100	25/32 cps/ml
Dilution level 2–50	6		100	
Dilution level 3–25	6		75	
Dilution level 4–12,5	6		50	

▲ Tab. 8 a 9: Výsledky testování SARS-CoV-2 cobas® 6800

### Závěr vyhodnocení detekčního limitu a analytické senzitivity

U parametru SARS-CoV-2 bylo provedeno ředění vzorků dle postupu v příbalovém letáku. Z těchto naředěných vzorků byly vytvořeny ředící řady, kdy se každé ředění testovalo v 6 replikátech.

Všechny ředící řady v jednotlivých měřeních byly vyhodnoceny procentuálně. Po vyhodnocení výsledků jednotlivých výsledků ředících řad je možné konstatovat, že lze spolehlivě detekovat přítomnost nukleové kyseliny viru kitem cobas® SARS-CoV-2.

Pro stanovení nejnižších detekovatelných dávek (LOD) byly použity referenční panely z externí firmy SeraCare se 100% detekcí do 50 cps/ml, standard SZÚ. Vyhodnocení bylo provedeno dle mezinárodních standardů: jako nejnižší detekovatelná hladina/senzitivita použita hladina viru, kde je detekováno 100 % reaktivit ve všech bězích s použitím 6 replikátů. V našem případě tedy jde o hladinu 50 cps/ml (AccuPlex™).

Lze předpokládat, že další ředění by ukázalo pozitivitu i v dalším násobném ředění, což ukazují hladiny specifity, viz výše.

Kvůli nedostatku materiálu ale nebylo možné tento předpoklad ověřit.

### Robustnost

Bylo použito 5 náhodně vybraných negativních vzorků k vytvoření „spike sample“ s přibližným 3násobkem 95% LOD, tj. 150 cps/ml. Všechny vzorky v běhu byly reaktivní.

### Závěr vyhodnocení robustnosti

Test cobas® SARS-CoV-2 je vysoce robustní, ve všech námi testovaných vzorcích byla zjištěna reaktivita v obou cílech (ORF1ab, E-gen).

### Závěr

Při vyhodnocení preanalytické fáze lze konstatovat, že odběry vzorků na vyšetření PCR SARS-CoV-2 pomocí odběrové soupravy GARGTEST nepředstavují optimální způsob provedení odběru biologického materiálu pro PCR vyšetření, obzvláště v automatizovaném systému (poškozené štítky s ID barcodey, precipitáty a zbytky potravy), což je z velké části dáno laickým samoodběrem, který prakticky vylučuje jakoukoli standardizaci vzorku. Část odebraných vzorků nelze

použít pro vlastní analytickou fázi vyšetření, což následně znehodnocuje celý případný screeningový proces.

Ve validační studii byla prokázána vyšší specifita PCR testu cobas® SARS-CoV-2 (Roche) ve vzorcích odebraných soupravou GARGTEST (o 1,075% více než u vzorků odebraných běžným nazofaryngeálním stěrem soupravou COROTEST). Bohužel toto konstatování je obecné, neboť nelze vyslovit spolehlivý závěr s pouze třemi pozitivními vzorky.

Vzhledem k tomuto nízkému počtu pozitivních vzorků v GARGTESTu a všem negativním vzorkům v COROTESTu nelze provést statistickou analýzu specifity při porovnání těchto dvou odběrových souprav.

Vzorky odebrané soupravou GARGTEST i COROTEST, které byly způsobilé pro analytickou fázi vyšetření, splňují podmínky pro dosažení detekčního limitu, analytické senzitivity a robustnosti a pro detekci přítomnosti nukleové kyseliny viru SARS-CoV-2 kitem cobas® SARS-CoV-2 jsou spolehlivé, nicméně by bylo vhodné provést validační studii s větším množstvím pozitivních vzorků.



### plk. gšt. MUDr. Miloš Bohoněk, Ph.D.

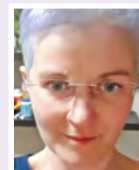
Oddělení hematologie a krevní transfuze, Ústřední vojenská nemocnice Praha – Vojenská fakultní nemocnice Praha  
Kontakt: milos.bohonek@uvn.cz

Pracuje jako primář Oddělení hematologie a krevní transfuze ÚVN Praha, je hlavním odborníkem pro hematologii a transfuzní službu Zdravotnické služby AČR a v současnosti též předsedou Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP a Společnosti vojenské medicíny ČLS JEP. Ve výzkumné a vědecké činnosti se věnuje zejména otázkám kryokonzervace krve, moderním metodám testování dárců krve a v uplynulém roce mj. i vysoce aktuální problematice výroby tzv. rekonvalescentní plazmy pro léčbu onemocnění COVID-19. Na jaře 2020 se spolu s laboratorním týmem OHKT ÚVN aktivně zapojil do diagnostiky COVID-19, nyní se v této oblasti věnuje zejména otázkám protilátkové odpovědi proti SARS-CoV-2. Zúčastnil se rovněž dvou zahraničních misí AČR – v roce 2013 mise Iraqi Freedom se 6. polní nemocnicí AČR v Basře a na přelomu let 2014/15 mise NATO Winter Race v zemětřesení postiženém Kašmíru (Pákistán).

### Ing. Ludmila Landová, Ph.D.

Oddělení hematologie a krevní transfuze, Ústřední vojenská nemocnice Praha – Vojenská fakultní nemocnice Praha  
Kontakt: ludmila.landova@uvn.cz

Pracuje jako bioanalytik pro klinickou hematologii a transfuzní službu Oddělení hematologie a krevní transfuze ÚVN Praha, přednáší v rámci oboru Zdravotní laborant na FBMI ČVUT. Podílela se na zavádění PCR metod pro vyšetření SARS-CoV-2 RNA v ÚVN Praha včetně zavedení screeningového poolování vzorků.



Základní informace o IVD zdravotnickém prostředku firmy Roche – analyzátoru **cobas**<sup>®</sup> 6800, testu **cobas**<sup>®</sup> SARS-CoV-2, softwaru **cobas**<sup>®</sup> Synergy SOFTWARE a kultivačním médiu **cobas**<sup>®</sup> PCR Media – najdete na webu [go.roche.com/Navody](https://go.roche.com/Navody). Podrobné návody k použití naleznete na [go.roche.com/CZ\\_eLabDoc](https://go.roche.com/CZ_eLabDoc). Základní informace o zmíněných IVD zdravotnických prostředcích jiných dodavatelů žádejte u zodpovědných firem.

## LITERATURA

- 1 Bohoněk M. et al, ÚVN Praha a koronavirus, Zpravodaj vojenského zdravotnictví, 1-2/2020: 5–13.
- 2 <https://diagnostics.roche.com/cz/cs/products/params/cobas-sars-cov-2-test.html>.



Symposium společnosti Roche je pravidelná dvoudenní akce pro vedoucí pracovníky laboratoří. Jejím cílem je představit novinky v portfoliu výrobků a služeb a také vytvořit prostor ke vzájemné diskusi nad technickou i klinickou problematikou. Letos přišlo s podtitulem „V barvách nové doby“. Metafora skrývá několik symbolických významů. Co vše tedy představuje?

## V barvách nové doby aneb Roche symposium 2021

**Mgr. ANEŽKA HUCÍKOVÁ**

ROCHE s.r.o., Diagnostics Division

### *Možnost znovu se potkat osobně*

Akci jsme plánovali v období nejtvrděšího lockdownu, barvy nové doby tak pro nás byly symbolem opětovných osobních setkání a živých diskusí po čase, který tomu nepřál. A této symbolice jsme s radostí učinili zadost.

### *Novinky v portfoliu integrovaných řešení cobas®*

Druhou barvu nové doby představoval náš nejmladší (a nejkrásnější) člen portfolia integrovaných řešení **cobas®**. **cobas® pure** pro nás není jen nový systém. V situaci kritického nedostatku několika významných komponent to byl spolu se všemi devíti nově dostupnými konfiguracemi systému **cobas® pro** především důkaz, že Roche dodržuje své závazky k inovacím bez ohledu na obtíže doby. Inovativnost umocnila i netradiční prezentace **cobas® pure** s videomappingem, kterou si můžete prohlédnout i ze záznamu.

### *Dopady onemocnění COVID-19 na lidské zdraví*

Nové barvy přinesl i COVID-19. Široké spektrum dopadů tohoto onemocnění na lidské zdraví vyžaduje nová řešení, inovativní přístupy a mezioborové vazby. Ty byly klinickými tématy druhého dne Roche symposia.

### **Roche symposium 2021 v číslech** (Interní analýza účasti)

Fyzicky přítomných účastníků celkem: **133**. Online účastníků celkem: **53**. Průměrná doba sledování online: **264 min.** Prezentace řečníků i videozáznam z Roche symposia 2021 naleznete na <https://go.roche.com/Symposium2021>

Na pódiu přednášeli přednostka Infekční kliniky MUDr. Hana Roháčová, zástupce přednosta pro vzdělávací a vědeckou činnost Ústavu klinické biochemie a hematologie FN Plzeň MUDr. Daniel Rajdl, Ph.D., a také přednosta I. interní kliniky FN Plzeň prof. MUDr. Martin Matějovič, Ph.D. Přednášky byly doplněny moderovanými diskusemi na kardiologickou problematiku s doc. MUDr. Štěpánem



Havránkem, Ph.D., zástupcem přednosta pro vědu a výzkum II. interní kliniky kardiologie a angiologie VFN v Praze, a také s prof. MUDr. Martinem Hutyrrou, Ph.D., FESC, vedoucím lékařem I. interní kliniky – kardiologické FN Olomouc.

### *Digitalizace*

Poslední, „třešničkovou“ barvou nové doby, které věnujeme stále více prostoru, jsou nepochybně online řešení. Letošní

Roche symposium bylo hybridní, tj. prezentováno nejen přítomným v auditoriu, ale i v přímém přenosu se záznamem, který můžeme i nadále sdílet s těmi, kteří se nemohli účastnit. Hojná účast hostů i hodnocení akce ukázaly, že podobné formáty nejenže mají smysl, ale jsou také velmi oblíbenou aktivitou. V přípravách na další Roche akce na to budeme myslet. **Už brzy na shledanou!**



### **Mgr. Anežka Hucíková**

ROCHE s.r.o., Diagnostics Division

Kontakt: [anezka.hucikova@roche.com](mailto:anezka.hucikova@roche.com)

Od začátku září 2020 pracuje na marketingovém oddělení společnosti Roche jako marketingový manažer pro CPS.

Má na starosti marketingovou podporu systémů **cobas®** pro centrální laboratoře včetně relevantních softwarových řešení.



Základní informace o IVD zdravotnických prostředcích firmy Roche – systémech **cobas® pro** a **cobas® pure** – naleznete na [go.roche.com/CZ\\_eLabDoc](https://go.roche.com/CZ_eLabDoc).

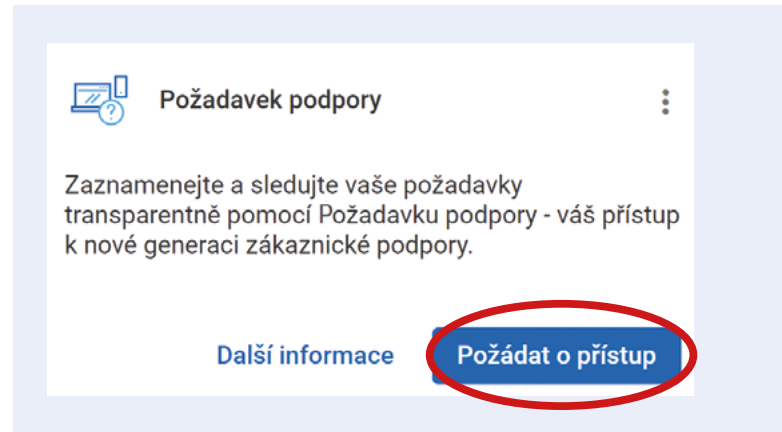


# Roche Dialog přináší Rozcestník

**Ing. Mgr. BARBORA MOTLOVÁ**

ROCHE s.r.o., Diagnostics Division

Pro lepší orientaci na portálu DiaLog jsme pro vás připravili novou e-službu s názvem „Rozcestník“. S její pomocí máte přehled o tom, co jednotlivé e-služby nabízejí, a rychleji se dostanete k potřebným informacím. Zjistěte, které služby vám usnadní každodenní provoz, a v případě potřeby požádejte o jejich aktivaci...



## POTŘEBUJETE:

## VYUŽIJTE SLUŽBU:

### Stáhnout...

- metodické listy
- CE certifikáty
- certifikáty o analýze
- bezpečnostní listy
- kontroly kvality - hodnoty
- listy s čárovými kódy
- uživatelské příručky
- návaznosti a nejistoty



eLabDoc

- servisní výkazy
- BTK protokoly
- instalační protokoly
- deinstalační protokoly



Požadavek podpory

- doklady způsobilosti pracovníků Roche Diagnostics
- servisní podmínky analyzátorů
- certifikát ISO 9001:2015



Certifikáty

- dodací listy
- faktury (dostupnost faktur závisí na nastavení vašeho účtu)



Dokumentace dodávek

- aktuální číslo časopisu Labor Aktuell
- archiv časopisu Labor Aktuell



Labor Aktuell

## POTŘEBUJETE:

## VYUŽIJTE SLUŽBU:

### Zjistit...

- jiné informace o přístrojích nebo produktech Roche Diagnostics
- katalogové číslo produktu pro objednání
- seznam dostupných produktů (katalog)
- historii vašich objednávek



Požadavek podpory



eLabDoc



Objednávky

### Objednat...

- reagentie Roche Diagnostics
- příslušenství k přístrojům Roche Diagnostics



Objednávky

### Nahlásit...

- poruchu nebo jakýkoliv problém s přístrojem Roche Diagnostics



Požadavek podpory

### Vyzkoušet...

- jak funguje software vybraných přístrojů Roche Diagnostics



Simulátor obsluhy přístroje

### Nastavit...

- otevřené kanály pro reagentie třetích stran



CDC Tool



### Ing. Mgr. Barbora Motlová

ROCHE s.r.o., Diagnostics Division  
Kontakt: barbora.motlova@roche.com

Od začátku roku 2018 pracuje na oddělení profesionálního servisu v Roche, kde má na starosti podporu servisních techniků a kontrolu dat v CRM. Kromě toho se věnuje správě uživatelů a obsahu portálu DiaLog a testuje jeho nové e-služby.





Dnes si představíme recept na čočkový dhal – recept rostlinný, neboť brzy tomu bude 10 let od chvíle, kdy jsem se jako 15letý rozhodl přejít plně na celistvou rostlinnou stravu. Až na jedno krátké období jsem se takto stravoval nepřetržitě. Moje strava je tedy primárně založená na obilovinách, luštěninách, ovoci a zelenině, nechybí v ní však ani ořechy či semena.

# Čočkový dhal s batáty

JAKUB ELLIOT MÍL

ROCHE s.r.o., Diagnostics Division

Když se člověk rozhodne pro takovou změnu stravy, myslím si, že je důležité, aby zvažil, zda chce ve svém jídelníčku mít tradiční jídla v rostlinné podobě, anebo zda se rozhodne zcela změnit uvažování o tom, jaké typy pokrmů tvoří náš každodenní jídelníček. Já jsem si zvolil možnost druhou.

Většina mých jídel jsou tedy jednoduché variace luštěnin a obilovin doplněné a zeleninu a ovoce v nespočetně pestřých kombinacích a v různé úpravě. Je to strava, se kterou jsem spokojený; ačkoliv okolí občas vnímá takový způsob stravování jako omezený (tedy s pocitem, že si člověk musí něco dobrého odříkat).

### Ingredience

**Dhal:** 3 šálky horké vody | 1 šálek červené čočky (ideálně púlené) | 2 polévkové lžíce kokosového oleje | 1 žlutá cibule nakrájená na kostičky | 1 lžíce nastrohaného čerstvého zázvoru | 4 stroužky utřeného česneku | 1 čajová lžička kmínu | 1 lžička černých hořčičných semínek (můžete i žluté, nemáte-li) | 1 lžička fenyklových semínek | 1–3 čerstvé chilli papričky serrano (nebo jalapeño), rozříznuté po straně vertikálně | 1 lžíce koření garam masala | 1 lžíce čerstvých listů pískavice řecké seno | 2 bobkové listy | 2–3 středně velká rajčata nakrájená na kostičky | 1 lžička soli | 2 nakrájené středně velké batáty | 1 lžička medu | čerstvý koriandr

**Kořeněný olej:** 2–3 lžíce kokosového oleje | 1 lžička kmínu (nebo drceného koriandru) | 1 lžička fenyklových semínek | 1 lžička černých hořčičných semínek | 8 listů kari





Cítím se výborně, stejně jako řada těch, které jsem v životě inspiroval a po mém vzoru se začali stravovat buď zcela rostlinně, nebo omezili množství živočišné stravy v jídelníčku. Tímto obecně prospíváme také našemu životnímu prostředí, protože je zcela nesporné, že rostlinná strava představuje menší ekologickou zátěž pro naši planetu, a já věřím, že je to trend, který bude více z nás postupně následovat.

K samotnému receptu – suroviny i koření si v zásadě můžete upravit dle svých možností a chutí. Nemáte-li batáty, můžete upéct jinou zeleninu, například květák. Nechcete-li používat kokosový olej, který jídlu dodává určitou jemnost, použijte jiný rostlinný olej. A tip na závěr – přidejte kari listy i do rýže při jejím vaření (netřeba je vyndávat jako například bobkový list, po uvaření se dají celé sníst, jsou měkké).

### Postup

- Čočku propláchněte a namočte do 3 šálek horké vody v misce.
- Ve velkém hrnci rozeďte kokosový olej na středním plameni.
- Přidejte celá semínka – kmín, fenykl, hořčičná semínka – a smažte je, dokud nezačnou „syčet“ a „prskat“.
- Přidejte cibuli, za stálého míchání ji 2–3 minuty restujte, pak přidejte



zázvor a česnek a restujte, dokud cibule nezměkne a nezezlátne (asi 5 minut).

- Přidejte pískavici, bobkové listy, garam masalu, čerstvé chilli, rajčata a sůl. Smažte 3–4 minuty, dokud se rajčata nezačnou rozpadat.
- Batáty můžete buď upéct v troubě se solí, pepřem a olivovým olejem a poté je přimíchat do jídla před podáváním (doporučuji), nebo je můžete přidat syrové již nyní v tomto kroku.
- Do hrnce přidejte čočku s horkou vodou a med.
- Promíchejte, přiveďte k varu, přikryjte, ztlumte oheň a nechte mírně vařit asi 10–15 minut, nebo dokud čočka

nezměkne. Po 15 minutách odkryjte a zkontrolujte konzistenci, pokud je vodnatá, pokračujte ve vaření bez pokličky, dokud se voda nezredukuje a jídlo nezhoustne.

- Podle chuti upravte množství soli.
- V samostatné pánvi rozeďte kokosový olej (dle ingrediencí na kořeněný olej) na středně vysoké teplotě, přidejte koření a kari listy a smažte nebo míchejte, dokud neuslyšíte praskání koření (asi 30–45 sekund). Vypněte oheň. Lžící kořeněného oleje přelijte jídlo těsně před servírováním.

Podávejte s opečeným chlebem naan nebo rýží basmati a ozdobte koriandrem.



#### Jakub Elliot Míl

ROCHE s.r.o., Diagnostics Division  
Kontakt: jakub.mil.jm1@roche.com

V právním oddělení Roche Diagnostics pracuje od začátku roku 2018 na pozici Contract & Risk Management Consultant. Studoval na Právnické fakultě Univerzity Karlovy. Řadu let je veganem a ve volném čase rád sedá na horské kolo a dá si trail – nejraději v okolí Podkrkonoší, odkud pochází.



Určeno pro odborné pracovníky ve zdravotnictví.

Vychází čtvrtletně, uzávěrka tohoto čísla: 30. 11. 2021. Časopis je možné bezplatně objednat na adrese vydavatele či zaslání zrušit na webu časopisu: [www.labor-aktuell.cz](http://www.labor-aktuell.cz). Stanoviska a názory podepsaných příspěvků se nemusí shodovat se stanovisky a názory redakce a vydavatele.

Copyright © Roche 2021. Registrace MK ČR 7374, ISSN 1214-7672.

Foto na obálce: Jednobuněčné houby rodu *Candida*, *Candida albicans* a *C. auris*, patří mezi nejčastější původce plísňové infekce u pacientů s COVID-19. Autor 3D ilustrace Kateryna Kon. Doplněno ilustrací matky s dítětem, autor Mikhail Gnatuyk, obojí Shutterstock.

