



# LABORATORNÍ PŘÍRUČKA



## Ústav klinické imunologie a alergologie

<b>Účinnost od</b>	1.9.2022	<b>Verze č.</b>	10
<b>Tímto předpisem se ruší</b>	Laboratorní příručka, verze 08; platná od 1.4.2019		

	<b>Jméno a příjmení, funkce</b>	<b>Datum</b>	<b>Podpis</b>
<b>Odborný garant</b>	prof. RNDr. Ctirad Andrýs, PhD.	1.9.2022	
<b>Zpracoval</b>	ing. Lenka Bakešová	22.8.2022	
<b>Přezkoumal</b>	RNDr. Marcela Drahošová Mgr. Karolína Jankovičová, PhD.	25.8.2022 25.8.2022	
<b>Schválil</b>	prof. RNDr. Ctirad Andrýs, PhD.	1.9.2022	

Tento dokument je vlastnictvím ÚKIA a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

## OBSAH

1. Úvod
2. Rozdělovník
3. Základní informace o laboratoři
  - 3.1. Identifikace laboratoře, důležité údaje a kontakty
    - 3.1.1 Identifikace pracoviště, základní údaje
    - 3.1.2 Identifikace laboratoře, základní údaje
  - 3.2. Zaměření laboratoře
  - 3.3. Organizace laboratoře a její vnitřní členění
  - 3.4. Systém kontroly kvality
4. Pojmy a zkratky
5. Přehled prováděných vyšetření

### A. HUMORÁLNÍ IMUNITA

#### 5. 1 Autoprotilátky – systémová onemocnění

5. 1. 1 Antinukleární protilátky (ANF, ANA) /IF/
5. 1. 2 Antinukleární protilátky (ANA TOTAL) /ELISA/
5. 1. 3 Autoprotilátky proti nativní /dvouvláknové/ DNA (ds DNA) /IF/
5. 1. 4 Autoprotilátky proti nativní /dvouvláknové/ DNA (ds DNA) /ELISA/
5. 1. 5 Protilátky proti DFS70
5. 1. 6 Autoprotilátky proti denaturované /jednovláknové/ DNA (ss DNA) /ELISA/
5. 1. 7 Autoprotilátky proti nukleosomům /ELISA/
5. 1. 8 Autoprotilátky proti histonům /BLOT/
5. 1. 9 Autoprotilátky proti extrahovatelným nukleárním antigenům (ENA); screen /ELISA/
5. 1. 10 Autoprotilátky proti extrahovatelným nukleárním antigenům (ENA); profil /ELISA/
5. 1. 11 Autoprotilátky proti extrahovatelným nukleárním antigenům (ENA) /BLOT/
5. 1. 12 Autoprotilátky proti SS/A – Ro 52 kDa /BLOT/
5. 1. 13 Autoprotilátky proti ribosomálnímu P – proteinu /BLOT/
5. 1. 14 Revmatoidní faktor /nefelometrie/
5. 1. 15 Revmatoidní faktor; ve třídách IgG, IgA, IgM /ELISA/
5. 1. 16 Autoprotilátky proti cyklickému citrulinovanému peptidu (CCP) /ELISA/
5. 1. 17 Autoprotilátky proti fosfolipidům; screen /ELISA/
5. 1. 18 Autoprotilátky proti fosfolipidům; profil /ELISA/
5. 1. 19 Autoprotilátky proti kardiolipinu (ACLA, ACA); IgG, IgM /ELISA/
5. 1. 20 Autoprotilátky proti  $\beta$ 2 glykoproteinu I; IgG, IgM /ELISA/
5. 1. 21 Protilátky proti protrombinu /ELISA/
5. 1. 22 Protilátky proti annexinu /ELISA/
5. 1. 23 Autoprotilátky proti antigenům cytoplazmatických granulí neutrofilních granulocytů (ANCA) /IF/
5. 1. 24 Autoprotilátky proti antigenům cytoplazmatických granulí neutrofilních granulocytů (ANCA); MPO, PR3 /ELISA/
5. 1. 25 Autoprotilátky proti antigenům cytoplazmatických granulí neutrofilních granulocytů (ANCA); další antigeny /ELISA/

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

- 5. 1. 26 Protilátky proti *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA); IgG, IgA /ELISA/
- 5. 1. 27 Autoprotilátky proti imunoglobulinu A (anti IgA)
- 5. 1. 28 Cirkulující imunokomplexy (CIK) /precipitace/
- 5. 1. 29 Cirkulující imunokomplexy s vazbou na C1q složku komplementu (CIK – C1q) /ELISA/
- 5. 1. 30 Autoprotilátky proti endoteliálním buňkám (AECA) /IF/
- 5. 1. 31 Autoprotilátky – myositis /BLOT/
- 5. 1. 32 Autoprotilátky – cytoplazma /BLOT/
- 5. 1. 33 Autoprotilátky – sklerodermie /BLOT/
- 5. 1. 34 Autoprotilátky proti gangliosidům /ELISA/
- 5. 1. 35 Protilátky proti neuronálním antigenům (paraneoplastické protilátky) /BLOT/
- 5. 1. 36 Autoprotilátky proti antigenu hsp-70 /OTO blot/
- 5. 1. 37 Protilátky proti myokardu /IF/
- 5. 1. 38 Protilátky proti příčně pruhovanému svalu /IF/
- 5. 1. 39 Protilátky proti acetylcholinovému receptoru /ELISA/
- 5. 1. 40 Protilátky proti kůře nadledvin /IF/
- 5. 1. 41 Protilátky proti kartáčovému lemu (ABBA) /IF/

## 5. 2 Autoprotilátky – játra, ledviny, žaludek, kůže

- 5. 2. 1 Autoprotilátky proti mitochondriím (AMA) /IF/
- 5. 2. 2 Autoprotilátky proti mitochondriálnímu M2 antigenu /ELISA/
- 5. 2. 3 Autoprotilátky proti mikrosomálnímu antigenu jater a ledvin LKM – 1/ELISA/
- 5. 2. 4 Autoprotilátky proti mitochondriím M2, M4, M9/BLOT/
- 5. 2. 5 Autoprotilátky proti jaterním antigenům /BLOT/
- 5. 2. 6 Autoprotilátky proti hladkému svalu (ASMA) /IF/
- 5. 2. 7 Autoprotilátky proti bazální membráně glomerulů (GBM) /IF, BLOT/
- 5. 2. 8 Protilátky proti fosfolipázovému receptoru A2 (PLA2R) /IF/
- 5. 2. 9 Protilátky proti doméně trombospondinu typu I obsahující protein 7A (THSD7A) /IF/
- 5. 2. 10 Protilátky proti intrinsic faktoru (transport vitamínu B12) /ELISA/
- 5. 2. 11 Autoprotilátky proti parietálním buňkám ( $H^+/K^+$  - ATP) /ELISA/
- 5. 2. 12 Autoprotilátky proti parietálním buňkám /IF/
- 5. 2. 13 Protilátky proti antigenům kůže (profil) /ELISA/
- 5. 2. 14 Protilátky proti bazální membráně epidermis /IF/
- 5. 2. 15 Protilátky proti mezibuněčnému tmelu /IF/

## 5. 3 Potravinové intolerance (celiakie)

- 5. 3. 1 Autoprotilátky proti endomysiu (EMA) /IF/
- 5. 3. 2 Autoprotilátky proti retikulínu (ARA) /IF/
- 5. 3. 3 Autoprotilátky proti deamidovanému gliadinu (AGA) /ELISA/
- 5. 3. 4 Autoprotilátky proti kravskému mléku /ELISA/
- 5. 3. 5 Autoprotilátky proti tkáňové transglutamináze (AtTG) /ELISA/

## 5. 4 Autoprotilátky – diabetes mellitus

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

- 5. 4. 1 Autoprotilátky proti inzulinu (IAA) /ELISA/
- 5. 4. 2 Autoprotilátky proti ostrůvkovým buňkám pankreatu (ICA) /IF, ELISA/
- 5. 4. 3 Autoprotilátky proti dekarboxyláze kyseliny glutamové (GAD<sub>65</sub>) /ELISA/
- 5. 4. 4 Autoprotilátky proti tyrosinfosfatáze (IA – 2) /ELISA/

### 5. 5 Imunoglobuliny

- 5. 5. 1 Imunoglobuliny G, A, M (IgG, IgA, IgM) /nefelometrie/
- 5. 5. 2 Imunoglobulin D (IgD) /RID/
- 5. 5. 3 Imunoglobulin E (IgE) /LEIA/
- 5. 5. 4 Podtřídy imunoglobulinu G (IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>) /nefelometrie/
- 5. 5. 5 Podtřídy imunoglobulinu A (IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>) /nefelometrie/

### 5. 6 Komplementový systém

- 5. 6. 1 C1q podjednotka komplementu /RID/
- 5. 6. 2 C2 složka komplementu /RID/
- 5. 6. 3 C3 složka komplementu /nefelometrie/
- 5. 6. 4 C4 složka komplementu /nefelometrie/
- 5. 6. 5 C5 složka komplementu /RID/
- 5. 6. 6 C1 esterázový inhibitor (C1 inh.) /RID/
- 5. 6. 7 C1 esterázový inhibitor – funkční test /ELISA/
- 5. 6. 8 Funkčnost komplementové kaskády (celkový komplement) /ELISA/
- 5. 6. 9 Protilátky proti C1q /ELISA/

### 5. 7 Další sérové proteiny

- 5. 7. 1 C – reaktivní protein (CRP) /nefelometrie/
- 5. 7. 2 Interleukin 6 /LEIA/
- 5. 7. 3 β<sub>2</sub> – mikroglobulin /LEIA/

### 5. 8 Nepřímý průkaz bakteriálních infekcí

- 5. 8. 1 Antistreptolysin O (ASLO) /nefelometrie/
- 5. 8. 2 *Bordetella pertussis* – protilátky proti toxinu /ELISA/
- 5. 8. 3 *Bordetella pertussis* – protilátky /ELISA/
- 5. 8. 4 *Bordetella parapertussis* – protilátky /aglutinace/
- 5. 8. 5 *Brucella abortus* – protilátky /aglutinace, Coombsův test/
- 5. 8. 6 Protilátky proti *Borrelia burgdorferi sensu lato* /ELISA/
- 5. 8. 7 Protilátky proti *Borrelia garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto* /BLOT/
- 5. 8. 8 *Clostridium tetani* – protilátky proti tetanovému toxoidu /ELISA/
- 5. 8. 9 *Francisella tularensis* – protilátky /aglutinace/
- 5. 8. 10 *Haemophilus influenzae* typ B – protilátky proti kapsulárnímu antigenu /ELISA/
- 5. 8. 11 *Helicobacter pylori* – protilátky /ELISA/
- 5. 8. 12 *Helicobacter pylori* – protilátky /BLOT/
- 5. 8. 13 *Listeria monocytogenes* – protilátky /aglutinace/
- 5. 8. 14 *Salmonella* – protilátky (screen) /ELISA/

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

- 5. 8. 15 *Streptococcus pneumoniae* – protilátky proti kapsulárnímu polysacharidu /ELISA/
- 5. 8. 16 *Treponema pallidum* – rychlá reaginová reakce (RRR) /aglutinace/
- 5. 8. 17 *Treponema pallidum* – (TPHA) /hemaglutinace/
- 5. 8. 18 *Treponema pallidum* – (TPPA) /pomalá aglutinace/
- 5. 8. 19 *Treponema pallidum* – (FTA) /IF/
- 5. 8. 20 *Treponema pallidum* – specifické protilátky IgG, IgM /ELISA/
- 5. 8. 21 *Treponema pallidum* /BLOT/
- 5. 8. 22 *Yersinia enterocolitica* – protilátky /ELISA/
- 5. 8. 23 *Cryptococcus neoformans* – průkaz antigenu /aglutinace/
- 5. 8. 24 Quantiferon TB Gold /ELISA/
- 5. 8. 25 Stanovení počtu senzibilizovaných efektorových T-lymfocytů metodou ELISPOT u diagnostiky TBC /separace, ELISPOT test/
- 5. 8. 26 Quantiferon CMV /ELISA/

### 5.9 Přímý a nepřímý průkaz mykotických infekcí

- 5. 9. 1 *Aspergillus* – specifické protilátky /ELISA/
- 5. 9. 2 *Aspergillus* – průkaz galaktomannanového antigenu /ELISA/
- 5. 9. 3 *Candida albicans* – specifické protilátky /ELISA/
- 5. 9. 4 *Candida albicans* – průkaz antigenu /ELISA/

### 5.10 Alergologie

- 5.10. 1 IgE, specifické protilátky proti konkrétním alergenům /LEIA/
- 5.10. 2 Eosinofilní kationový protein (ECP) /ELISA/
- 5.10. 3 IgG, specifické protilátky proti konkrétním alergenům a antigenům /LEIA, FEIA/
- 5.10. 4 Stanovení specifických IgE proti rekombinantním a nativním molekulárně definovaným alergenům metodou ImmunoCAP /FEIA/
- 5.10. 5 Stanovení specifického IgE proti jednotlivým molekulárně definovaným alergenům – alergenovým komponentám metodou immunoassay na pevné fázi /macroarray/
- 5.10. 6 Tryptáza /FEIA/
- 5.10. 7 Lékové precipitace /dvojitá RID/
- 5.10. 8 Diaminoxidasa (DAO) /ELISA/

### 5.11 Biologická léčba

- 5.11. 1 Hladina biologik a neutralizující protilátky (adalimumab, infliximab) /ELISA/
- 5.11. 2 Kalprotektin /extrakce, ELISA/

## **B. BUNĚČNÁ IMUNITA**

### 5.12 Fenotypizace krevních buněk /cytometrie/

- 5.12. 1 Základní fenotypizace periferní krve
- 5.12. 2 Imunofenotypizace buněk krevních malignit
- 5.12. 3 Fenotypizace bronchoalveolární laváže

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

5.12. 4 Měření exprese CD34 na kmenových buňkách krvetvorby

### **5.13 Funkční testy lymfocytů /cytometrie/**

- 5.13. 1 Časné a pozdní aktivace lymfocytů
- 5.13. 2 Test blastické transformace lymfocytů

### **5.14 Funkční testy polymorfonukleárních granulocytů**

- 5.14. 1 Fagocytóza kvasinek – ingesce /mikroskopie/
- 5.14. 2 Metabolické vzplanutí granulocytů (Burst test) /cytometrie/

### **5.15 Vyšetření trombocytů /cytometrie/**

- 5.15. 1 Fenotypizace trombocytů
- 5.15. 2 Stanovení protilátek vázaných na trombocyty

### **5.16 Speciální vyšetření**

- 5.16. 1 Flowcytometrická analýza B lymfocytárních subpopulací u pacientů s podezřením na humorální imunodeficienci /cytometrie/
- 5.16. 2 Bazotest /cytometrie/
- 5.16. 3 Lymfocytární transformační test v diagnostice lékové a potravinové hypersenzitivity /cytometrie/
- 5.16. 5 Diagnostika hereditární sférocytózy (EMA)

## **C. REPRODUKČNÍ IMUNOLOGIE (NEPLODNOSTI)**

### **5.17 Reprodukční imunologie - humorální**

- 5.17. 1 Spermigram /mikroskopie/
- 5.17. 2 Akrosom spermií (určení kvality akrosomu spermií) /IF/
- 5.17. 3 Autoprotilátky proti spermiím /ELISA/
- 5.17. 4 Autoprotilátky proti spermiím /TRAY aglutinační test/
- 5.17. 5 Autoprotilátky proti spermiím /MAR test/
- 5.17. 6 Protilátky proti zona pellucida /ELISA/
- 5.17. 7 Protilátky proti protrombinu /ELISA/
- 5.17. 8 Protilátky proti annexinu /ELISA/
- 5.17. 9 Autoprotilátky proti fosfolipidům; screen /ELISA/
- 5.17.10 Autoprotilátky proti fosfolipidům; profil /ELISA/
- 5.17.11 Autoprotilátky proti kardiolipinu /ELISA/
- 5.17.12 Autoprotilátky proti  $\beta$ 2 glykoproteinu I /ELISA/
- 5.17.13 Anti - mülleriánský hormon /ELISA/

### **5.18 Reprodukční imunologie – buněčná /cytometrie/**

- 5.18. 1 Aktivace NK buněk s antigeny spermií a trofoblastu

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

- 5.18. 2 Stanovení vitality a počtu spermií, kvality akrozomu a počtu leukocytů ve spermatu (SpermFlow)

#### **D. TRANSPLANTOLOGIE**

- 5.19. 1 HLA – specifické protilátky /luminex/  
5.19. 2 Stanovení aloprotilátek průtokovou cytometrií (FCXM – CROSSMATCH)  
5.19. 3 Quantiferon (monitor) /ELISA/

#### **6. Procesy před laboratorním vyšetřením**

- 6.1. Odběr biologického materiálu a doporučený odběrový systém  
6.1.1 Odběr biologického materiálu a příprava pacienta  
6.1.2 Množství odebíraného materiálu  
6.1.3 Doporučený odběrový systém  
6.2. Požadavkové listy (žádanky)  
6.3. Ústní požadavky na vyšetření, dodatečná a opakovaná vyšetření  
6.4. Transport primárního vzorku

#### **7. Kritéria pro odmítnutí primárních vzorků**

#### **8. Uvolňování výsledků**

- 8.1. Informace o formách vydávání výsledků, typy nálezů a laboratorních zpráv  
8.2. Změny výsledků a nálezů  
8.3. Hlášení výsledků v kritických intervalech

#### **9. Způsoby řešení stížností a reklamací**

#### **10. Přílohy**

## Úvod

*Vážená kolegyně, vážený kolego,*

*dovolujeme si předložit Vám nabídku našich služeb v oblasti laboratorní imunologie a alergologie. Naše příručka je určena zejména lékařům a zdravotním sestřám. Shrnuje základní informace o činnosti našeho pracoviště a je navržena v souladu s nejnovějšími požadavky na tyto dokumenty, v souladu s normou ČSN EN ISO 15 189:2013.*

*Věříme, že tyto informace nejen přispějí ke vzájemné spolupráci mezi Vámi a naším pracovištěm, ale že Vás budou inspirovat ve Vaší další práci.*

*Údaje uvedené v textu jsou aktuální k datu vydání příručky. O zásadních změnách budete ihned informováni.*

*Děkujeme za Vaši přízeň a přejeme mnoho úspěchů ve Vaší práci.*

*Kolektiv pracovníků  
Ústav klinické imunologie a alergologie  
LF UK a FN Hradec Králové*

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**



## 2. Rozdělovník

Laboratorní příručka ÚKIA je k dispozici:

- Intranet Fakultní nemocnice Hradec Králové
- [www.fnhk.cz/ukia](http://www.fnhk.cz/ukia)
- Laboratoř ÚKIA (jedna tištěná verze)

Tato laboratorní příručka je závazná pro všechny pracovníky laboratoře ÚKIA.

## 3. Základní informace o laboratoři

### 3.1 Identifikace laboratoře, důležité údaje a kontakty

#### 3.1.1 Identifikace pracoviště, základní údaje

<u>Název:</u>	Ústav klinické imunologie a alergologie Fakultní nemocnice a Lékařská fakulta UK Hradec Králové
<u>Identifikační údaje:</u>	IČ 00 179 906 IČZ 61 004 000
<u>Adresa:</u>	Sokolská 581 Hradec Králové 500 05  budova č.17
<u>Ředitel nemocnice:</u>	prof. MUDr. Vladimír Palička, CSc., dr.h.c.
<u>Přednosta ÚKIA:</u>	prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc. e – mail: <a href="mailto:jan.krejsek@fnhk.cz">jan.krejsek@fnhk.cz</a> telefon: 49 583 3454
	fax ÚKIA: 49 583 2015
<u>Zástupce přednosta:</u>	doc. MUDr. Pavlína Králíčková, PhD. e – mail: <a href="mailto:pavlina.kralickova@fnhk.cz">pavlina.kralickova@fnhk.cz</a> telefon: 49 583 2673
<u>Zastupující vrchní laborantka:</u>	Hana Kotlandová e – mail: <a href="mailto:hana.kotlandova@fnhk.cz">hana.kotlandova@fnhk.cz</a> telefon: 49 583 2697

#### 3.1.2 Identifikace laboratoře, základní údaje

<u>Název:</u>	Ústav klinické imunologie a alergologie Úsek laboratorní diagnostiky
---------------	---

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Fakultní nemocnice a Lékařská fakulta UK  
Hradec Králové

Identifikační údaje: IČ 00 179 906  
IČZ 61 004 806      odbornost: 813

Webové stránky: [www.fnhk.cz/ukia](http://www.fnhk.cz/ukia)

### **Kontakty:**

Vedoucí laboratoře: prof. RNDr. Ctirad Andrýs, PhD.  
e – mail: [ctirad.andrys@fnhk.cz](mailto:ctirad.andrys@fnhk.cz)  
telefon: 49 583 2836

#### Zástupce vedoucího:

a) *úsek humorální diagnostiky* RNDr. Marcela Drahošová  
e – mail: [marcela.drahosova@fnhk.cz](mailto:marcela.drahosova@fnhk.cz)  
telefon: 49 583 2819

b) *úsek buněčné diagnostiky* Mgr. Karolína Jankovičová, PhD.  
e – mail: [karolina.jankovicova@fnhk.cz](mailto:karolina.jankovicova@fnhk.cz)  
telefon: 49 583 3260

#### Úseková laborantka:

a) *úsek humorální diagnostiky* Michaela Walter, Dis.  
e – mail: [michaela.walter@fnhk.cz](mailto:michaela.walter@fnhk.cz)  
telefon: 49 583 2569

b) *úsek buněčné diagnostiky* Renata Kuderová  
e – mail: [renata.kuderova@fnhk.cz](mailto:renata.kuderova@fnhk.cz)  
telefon: 49 583 3404

Příjem materiálu: Světlana Ordeltová  
e – mail: [svetlana.ordeltova@fnhk.cz](mailto:svetlana.ordeltova@fnhk.cz)  
telefon: 49 583 2607

Manažer kvality: Ing. Lenka Bakešová  
e – mail: [lenka.bakesova@fnhk.cz](mailto:lenka.bakesova@fnhk.cz)  
telefon: 49 583 3532

### **3.2 Zaměření laboratoře**

Laboratoř ÚKIA provádí základní i specializovaná imunologická vyšetření z krve, stolice, BAL, mozkomíšního moku a ejakulátu na úseku humorální diagnostiky, krve, BAL, výpotků,

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

kostní dřeně, mozkomíšního moku, ejakulátu a tkáni na úseku buněčné diagnostiky. V požadovaném rozsahu zajišťuje i konzultační činnost.

Pracoviště se pravidelně zúčastňuje ve všech dostupných parametrech systémů externí kontroly kvality organizovaných v ČR (SEKK, SZÚ) a je zapojeno do mezinárodního systému kvality INSTAND, SRN.

V rámci ústavu je zřízena Národní referenční laboratoř pro imunologii. Pracovníci laboratoře působí jako supervizoři kontrolních cyklů v oblasti autoimunity, potravinových intolerancí a imunofenotypizace v systému mezilaboratorního porovnávání SEKK.

### **Spektrum nabízených služeb**

Naše laboratoř zajišťuje laboratorní vyšetření v níže uvedeném rozsahu a frekvenci (odst. 5 – Přehled prováděných vyšetření), provádí konzultační činnost v oblasti vyšetření oboru klinické imunologie a alergologie, distribuci výsledků, na základě požadavků i distribuci odběrového materiálu pro jiná pracoviště ve FN a spádové oblasti. Laboratoř ÚKIA zajišťuje vhodné zpracování dat v laboratorním informačním systému Open LIMS firmy STAPRO, umožňujícím bezpečný přístup k datům.

#### Možnost odběrů na ÚKIA

Naše pracoviště ve spolupráci s naší ambulancí zajišťuje odběr krve v místě laboratoře, pokud je pacient vybaven řádně vyplněnou průvodkou (žádankou). Takto lze odebrat pouze dospělé pacienty. Tento způsob odběru je zvláště vhodný pro stanovení parametrů buněčné imunity, komplementu a ECP. Je vhodný i pro pacienty ze vzdálených lokalit.

#### Vyšetření cizích státních příslušníků

Vyšetření se provádí na základě požadavku ordinujícího lékaře. Pro vyplnění žádanky a odběr materiálu platí obecné zásady (viz. kapitola 6.1 „Odběr biologického materiálu a doporučený odběrový systém“), je však třeba uvést, zda se jedná o europojištěnce nebo jiného cizince. ÚKIA fakturuje provedená vyšetření prostřednictvím Odboru financí a analýz FN HK.

#### Vyšetření samoplátců

Vyšetření se provádí na základě požadavku ordinujícího lékaře. Na žádance je potřeba tuto skutečnost vyznačit a také uvést adresu, na kterou bude vyšetření fakturováno (adresa pacienta samoplátce nebo lékaře). Výsledky jsou vydány až po provedení platby (obdržení příslušné částky). Pro výsledek si může samoplátce dojít i přímo do laboratoře (s průkazem totožnosti). Potom je platba provedena na místě a samoplátce obdrží výsledek vyšetření ihned. Cena vyšetření je dána bodovou hodnotou v platném Seznamu výkonů a aktuální cenou bodu.

#### Požadavky na urgentní vyšetření (STATIM)

Vyšetření se provádí na základě požadavku ordinujícího lékaře. Na žádance je **nutno tuto skutečnost vyznačit a uvést telefonní číslo**, na které budou výsledky požadovaného vyšetření nahlášeny.

#### Přehled vyšetření STATIM

- *humorální diagnostika:*  
IgG, IgA, IgM, C3, C4, CRP, ASLO, podtřídy IgG, podtřídy IgA, RF, RPR (RRR), TPHA  
- výsledky těchto vyšetření jsou dostupné během 1,5 hodiny od přijetí materiálu

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Ve zvláště nutných případech ohrožujících život pacienta lze provést po telefonické domluvě i další vyšetření z naší nabídky (ANCA, anti GBM, Aspergillus – průkaz galaktomannanového antigenu). Výsledky jsou dostupné během 3 – 5 hodin po obdržení materiálu.

- *buněčná diagnostika:*  
ke zpracování materiálu u většiny metod dochází ihned po jeho příjmu; výsledky jsou k dispozici ihned po interpretaci (viz. odstavec 5)

### **3.3 Organizace laboratoře a její vnitřní členění**

Ústav klinické imunologie a alergologie je součástí Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Sídlí v budově č. 17. Samostatné oddělení klinické imunologie a alergologie bylo ustaveno v roce 1987. V roce 1998 byl změněn statut pracoviště a byl zřízen Ústav klinické imunologie a alergologie LF UK a FN v Hradci Králové.

Vedle laboratoří je součástí ÚKIA ambulance (možné odběry materiálu).

Laboratoře jsou rozčleněny do dvou částí:

- a) úsek buněčné diagnostiky
- b) úsek humorální diagnostiky

#### Denní provoz:

rutina, STATIM                      pondělí – pátek            7 – 15.30 hodin

pro STATIM vyšetření jsou zajištěny služby v režimu 24/365;

tel. 607 802 634 – humorální imunologie

tel. 607 802 628 – buněčná imunologie

Příjem materiálu:                      pondělí – pátek            7 – 15.30 hodin                      telefon: 49 583 2607

platí pro všechna vyšetření kromě speciálních testů označených dále, kde je vhodné příjem materiálu předem domluvit telefonicky vzhledem k náročnosti odběru či zpracování vzorku

Po vzájemné dohodě s ordinujícím lékařem přednostně provádíme vyšetření pro pacienty s ohrožením života (STATIM), dále pak upřednostňujeme vyšetření těhotných žen, starých nebo imobilních osob, v případě, kde urychlené vyšetření má význam ekonomický, urychluje nebo usnadňuje diagnostický a léčebný proces, při riziku infekce nebo z jiných závažných důvodů.

### **3.4 Systém kontroly kvality**

Laboratoř je vedena v Registru klinických laboratoří NASKL. Obhájila podmínky pro Audit R3 NASKL a získala osvědčení o Auditu R3 NASKL. Laboratoř důsledně uplatňuje systém vnitřní kontroly kvality a zásady správné laboratorní práce v souladu s požadavky normy ČSN EN ISO 15 189:2013 a managementu kvality Fakultní nemocnice v Hradci Králové, která sama je akreditovaným zdravotnickým zařízením.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

## 4. Pojmy a zkratky

### Pojmy a definice:

**měření:** soubor úkonů, jejichž cílem je stanovit hodnotu veličiny

**přesnost měření:** těsnost shody mezi výsledkem měření a správnou hodnotou měřené veličiny

**biologický referenční interval:** specifikovaný interval rozložení hodnot převzatý z biologického referenčního základního souboru

**varovný (kritický interval):** interval výsledků laboratorního vyšetření mající za následek varování o kritické hodnotě zkoušky, která signalizuje bezprostřední riziko poškození nebo smrt pacienta

**vyšetření:** soubor úkonů, jejichž cílem je stanovení hodnot nebo charakteristika vlastností

**doba odezvy:** čas, který uplyne mezi dvěma specifikovanými body v procesech před laboratorním vyšetřením, při vyšetření a po vyšetření

**postupy předcházející vyšetření:** preanalytická fáze; kroky začínající v chronologickém pořadí požadavkem lékaře a zahrnující žádanku, přípravu pacienta, odběr primárního vzorku, jeho skladování a dopravu do laboratoře nebo v rámci laboratoře a končící zahájením postupu analytického vyšetření

**postupy následující po vyšetření:** postanalytická fáze; procesy, které následují po vyšetření včetně systematického přezkoumání, formátování a interpretace, schvalování ke zveřejnění, předkládání zpráv a předávání výsledků a uložení vyšetřených vzorků

**primární vzorek:** diskrétní část tělní tekutiny, dechu, vlasů nebo tkáně odebraná pro laboratorní vyšetření, studii nebo analýzu jedné nebo více veličin nebo vlastností, o kterých lze předpokládat, že reprezentují celek

**vzorek:** jedna nebo více částí odebraných z primárního vzorku

**politika kvality:** celkové záměry a zaměření laboratoře ve vztahu ke kvalitě oficiálně vyjádřené vrcholovým vedením laboratoře

**systém managementu kvality:** systém managementu pro vedení a řízení organizace co se týká kvality

### Zkratky:

ÚKIA	Ústav klinické imunologie a alergologie
FNHK	Fakultní nemocnice Hradec Králové
NASKL	Národní autorizační středisko pro klinické laboratoře
SEKK	Společnost pro externí kontrolu kvality

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

SZÚ	Státní zdravotní ústav
IF	imunofluorescence
ELISA	enzymoimunoanalýza
LEIA	luminiscenční imunoanalýza
FEIA	fluoroenzymoimunoanalýza
RID	radiální imunodifuze

Odborné zkratky našich vyšetření uvedené v tomto textu vysvětlíme na požádání.

## **5. Přehled prováděných vyšetření**

### **A. HUMORÁLNÍ IMUNITA**

#### **5.1 Autoprotilátky – systémová onemocnění**

##### **5.1.1 Antinukleární protilátky (ANF, ANA)**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Pomocí vyšetření ANF lze detekovat protilátky proti antigenům jádra buňky (DNA, RNA, histony, nukleoproteiny) a antigenům cytoplazmy buňky (mitochondrie, skelet, mikrosomy, lysozomy, peroxisomy, Golgiho aparát). Jejich stanovení je důležitým diagnostickým stupněm při výskytu klinických známek systémového imunopatologického onemocnění (jejich nepřítomnost silně zpochybňuje tuto diagnózu). Vyšetření ANF slouží k diagnostice a monitorování léčby především SLE, Sjögrenova syndromu, revmatoidní artritidy, dermatomyositidy, polymyositidy, systémové sklerózy. Falešně negativní výsledek můžeme obdržet při užívání kortikosteroidů. V nízkých titrech lze ANF protilátky nalézt i u vaskulitidy, infekce, malignity, endokrinopatie, roztroušené sklerózy, chronického plicního a hematologického onemocnění a hepatopatie. Pozitivní ANF lze detekovat také při podávání některých léků (acylpyrin, sedativa, antikoncepce, antibiotika apod.).

Označení na žádance: ANA IF (žádanka „autoimunita“ a „reprodukce“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum, synoviální tekutina

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní; vychází ze základního ředění séra 1 : 40. Po domluvě lze stanovit titr protilátek (titrační řada je 1:40, 1:80, 1:160 atd.). U dětských pacientů se používá nižší screeningové ředění séra (1:10, 1:20) v závislosti na věku dítěte. V případě pozitivního výsledku se uvádí nalezený typ fluorescence (zrnitá, homogenní, perinukleární nukleolární, centromerová, složky dělicího aparátu atd.). Může existovat současně i několik typů

fluorescence, vzájemně se mohou i překrývat. Na vyžádání lze rovněž provést i typizaci ANF, tedy stanovení izotypu protilátky (IgG, IgA, IgM). Pozitivita ve třídě IgG a IgA je většinou přítomna u imunopatologických stavů, pozitivita ve třídě IgM u stavů postinfekčních. Výjimku tvoří případy dětských pacientů se SLE, kde dominující IgM protilátky implikují mírnější formu s lepší prognózou a s méně závažným postižením ledvin a jiných orgánů. IgA ANA korelují s IgG. Přínos jejich stanovení pro diagnostiku je nepatrný.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

2x týdně podle počtu pacientů

Doporučení:

V případě positivity ANF je vhodné doplnit vyšetření o stanovení protilátek proti extrahovatelným nukleárním antigenům (ENA).

### **5.1.2 Antinukleární protilátky (ANA TOTAL)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Stanovení je důležitým diagnostickým stupněm při výskytu klinických známek systémového onemocnění. Při podezření na systémový lupus erythematoses, Sjögrenův syndrom či systémovou sklerodermii jejich nepřítomnost silně zpochybňuje tuto diagnózu.

Označení na žádance: ANA total – ELISA (žádanka „autoimunita“ a „reprodukce“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

negativní do 55 U/ml

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.1.3 Autoprotilátky proti nativní /dvouvláknové/ DNA; imunofluorescence**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Pomocí vyšetření anti dsDNA lze detekovat heterogenní protilátky namířené proti různým epitopům na molekule dvouvláknové DNA. Vyšetření slouží k diagnostice a monitorování léčby především systémového lupusu (SLE). U pacientů s pozitivitou těchto protilátek se zpravidla vyvine nefritida. Test se vyznačuje vysokou specifitou. Silně pozitivní nález je typický pro neléčený SLE, léčba kortikoidy pozitivitu snižuje.

Označení na žádance: anti dsDNA IF (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum, synoviální tekutina

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní; vychází ze základního ředění séra 1:10, na vyžádání lze stanovit i titer protilátek. U dětských pacientů se provádí vyšetření z nižšího screeningového ředění v závislosti na věku dítěte.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1 - 2x týdně podle počtu pacientů

Doporučení:

V případě positivity je možné konfirmovat vyšetření metodou ELISA, která hladinu protilátek detekuje kvantitativně, vyšetřením protilátek proti nukleosomům, případně protilátek proti jednovláknové (denaturované) DNA a histonům.

### **5.1.4 Autoprotilátky proti nativní /dvouvláknové/ DNA; ELISA**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Pomocí vyšetření anti dsDNA lze detekovat heterogenní protilátky namířené proti různým epitopům na molekule dvouvláknové DNA. Vyšetření slouží k diagnostice a monitorování léčby především systémového lupusu (SLE). U pacientů s pozitivitou těchto protilátek se zpravidla vyvine nefritida. Silně pozitivní nález je typický pro neléčený SLE, léčba kortikoidy pozitivitu snižuje. Test se vyznačuje vysokou senzitivitou a nižší specifitou, zachytí i protilátky s nízkou aviditou.

Protilátky stanovené metodou ELISA se mohou v nízkých koncentracích nacházet u mnoha imunopatologických onemocnění. Vyšetření je vhodné k monitorování terapie SLE

Označení na žádance: anti dsDNA ELISA (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**



Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

negativní < 100 IU/ml

pozitivní ≥ 100 IU/ml

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

Doporučení:

V případě positivity je vhodné potvrdit vyšetření metodou fluorescenční, která odliší pozitivitu protilátek s vysokou aviditou od protilátek s nízkou aviditou, vyšetřením protilátek proti nukleosomům, případně protilátek proti jednovláknové (denaturované) DNA a histonům. Na požádání možno stanovit titer protilátek.

### **5.1.5 Protilátky proti DFS70**

Metoda stanovení: imunoblot

Význam stanovení:

Cílovým antigenem pro DFS70/LEDGF protilátky je jaderný transkripční koaktivátor p75 nebo LEDGF (lens epithelium growth factor) DNA vázající protein, který podporuje růst buněk a jejich rezistenci k buněčné smrti indukované environmentálními vlivy (tepelný šok, oxidativní stres, apod.). Ve zvýšené míře převládají u osob bez známek systémových autoimunitních onemocnění a s ANA asociovaných revmatických chorob. S nízkou frekvencí se vyskytují paralelně s dalšími autoprotiilátkami u pacientů s různými zánětlivými stavy, autoimunitním onemocněním a malignitami.

Přítomnost anti-DFS70 byla doposud prokázána např. u pacientů s intersticiální cystitidou, pacientů s atopickou dermatitidou, zdravých lidí a pacientů bez známek systémového onemocnění, pacientů s rakovinou prostaty, dětských pacientů – juvenilní lokalizovaná sklerodermie, juvenilní dermatomyozitida, dětský SLE, difuzní kožní systémová skleróza, celiakie a juvenilní idiopatická artritida, pacientů s trombofilií.

Označení na žádance: anti DFS70 ELISA (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum; venózní nesrážlivá krev nebo plazma

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní/negativní

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 3 týdny podle počtu pacientů

**5.1.6 Autoprotilátky proti denaturované /jednovláknové/ DNA**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Protilátky proti ssDNA se vyskytují u řady imunopatologických onemocnění jako je systémový lupus (SLE), systémová skleróza, revmatoidní artritida, dermatomyositida, polymyositida, dále pak u pacientů s mononukleózou, hepatitidou a u různých forem leukémie. Výskyt anti ssDNA je typický pro SLE indukovaného léky. Nález těchto protilátek je často provázen protilátkami proti histonům.

Označení na žádance: anti ssDNA ELISA (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

negativní do 20 IU/ml

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za měsíc podle počtu pacientů

Doporučení:

Vyšetření je vhodné doplnit o stanovení protilátek proti histonům a dsDNA, event. nukleozomům

**5.1.7 Autoprotilátky proti nukleosomům**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Nukleosomální autoprotilátky se objevují velmi časně, ještě před tím, než se objeví protilátky proti DNA a histonům. Titr těchto protilátek koreluje s vážností a aktivitou systémového lupusu a jejich výskyt je asociován s lupusovou nefritidou

Označení na žádance: anti nukleosomy (žádanka „autoimunita“)

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Stanovení se provádí ve třídě IgG.

Normální hodnoty jsou v rozmezí od 0 do 20 RU/ml.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.1.8 Autoprotilátky proti histonům**

Metoda stanovení: imunoblot

Význam stanovení:

Protilátky proti histonům představují sérologický marker SLE s pozitivitou u 20 – 50% pacientů. Nejčastěji se tyto protilátky vyskytují především u léky indukovaného lupusu (lupusové nefritidy), ale i u primární biliární cirhózy, chronické juvenilní artritidy, revmatoidní artritidy, aj. Většina těchto protilátek u SLE indukovaného léky má přechodný charakter a často mizí během několika měsíců po vysazení indukujícího léku.

Označení na žádance: anti histony (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.1.9 Autoprotilátky proti extrahovatelným nukleárním antigenům (ENA); screen**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Test stanovuje protilátky proti směsi jaderných proteinů. Tato směs obsahuje antigeny Sm, U1-RNP, RNP-70, SS/A, SS/B, Scl-70, Jo-1, centromera B. Vyšetření lze řadit k základním vyšetřením autoprotilátek při podezření na autoimunitní onemocnění (systémová onemocnění pojiva, Sjögrenův syndrom, SLE, systémová skleróza, dermatomyositida, polymyositida aj.).

Označení na žádance: ENA screen (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

2 - 3x za týden podle počtu pacientů

Doporučení:

V případě positivity je vhodné doplnit vyšetření o ENA profil, které Vám upřesní nález stanovením konkrétní autoprotilátky.

### **5.1.10 Autoprotilátky proti extrahovatelným nukleárním antigenům (ENA); profil**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Test stanovuje autoprotilátky proti osmi konkrétním antigenům:

U1RNP, Sn/RNP, Sm, SS – A/Ro, SS – B/La, Scl – 70, centromera B, Jo – 1

anti Ro (SS/A): nalézají se u pacientů se Sjögrenovým syndromem a SLE (subakutní kutánní SLE a neonatální SLE). Bývají pozitivní i u tzv. ANF pozitivních nálezů. Pozitivita anti Ro je často sdružena s pozitivitou protilátek proti kardiolipinu. Při pozitivním výsledku je vhodné u žen ve fertilním věku provést stanovení protilátek proti Ro-52 kDa vzhledem k možnému poškození plodu (kongenitální srdeční A-V blok) v případě gravidity.

anti La (SS/B): často se vyskytují současně s SS/A protilátkami a kardiolipinem, nalézají se u pacientů se Sjögrenovým syndromem, SLE, ale i dalších chorob, např. PBC. U pacientů s pozitivitou anti La se často vyvíjí postižení plic.

anti Sm, U1 – RNP a RNP: anti RNP (anti Smith)protilátky jsou namířeny proti směsi jaderných ribonukleoproteinů, které se dělí na Sm a U1-RNP pomocí citlivosti na ribonukleázu (Sm je rezistentní a U1-RNP je rozkládána). Anti Sm je autoprotilátka specifická pro SLE, přítomnost je asociována s postižením ledvin, CNS, plic, perikarditidou a odráží aktivitu SLE. Výskyt ve vysokých titrech je popisován u Sharpova syndromu, v nízkých titrech u ostatních onemocnění pojiva. U1- RNP autoprotilátky jsou markerem pro MCTD.

anti Scl-70: tyto protilátky se vyskytují u systémové sklerózy, jsou považovány za nepříznivý prognostický marker, protože u většiny pacientů bývá spojen s rychlou progresí choroby a výskytem difúzní formy systémové sklerózy.

anti Jo-1: toto vyšetření je indikováno při podezření na polymyositidu a dermatomyositidu a k diferenciální diagnostice systémových onemocnění pojiva.

anti centromera: tyto protilátky se vyskytují zejména u CREST syndromu a u pacientů s PBC.

Označení na žádance: ENA profil (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní pro jednotlivé antigeny.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1 - 2x za týden podle počtu pacientů

### **5.1.11 Autoprotilátky proti extrahovatelným nukleárním antigenům (ENA); imunoblot**

Metoda stanovení: imunoblot

Význam stanovení:

Vyšetření je vhodné u diagnosticky sporných případů a při sporném nálezu ANF a ENA technikou ELISA. Je indikováno pro diagnostiku systémových onemocnění pojiva. Test stanoví protilátky proti těmto antigenům: SS-A/Ro 60 a 52 kDa, SS-B/La, Sm B, Sm D, RNP C, RNP A, RNP-70 kDa, Jo-1, CENP-B, Scl-70, ribosomálnímu P proteinu a histonům.

Označení na žádance: ENA blot (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní pro jednotlivé antigeny.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.1.12 Autoprotilátky proti SS/A – Ro 52 kDa**

viz. 5.1.12 ENA blot

#### Význam stanovení:

Tyto autoprotilátky mohou být markerem primárního Sjögrenova syndromu (SS) a SLE, mohou se vyskytovat u malé části pacientů s PBC, AIH a sekundárního SS. Stanovení má největší význam u gravidních žen. Po průchodu placentou mohou být tyto autoprotilátky příčinou poškození plodu.

### **5.1.13 Autoprotilátky proti ribosomálnímu P proteinu**

viz. 5.1.12 ENA blot

#### Význam stanovení:

Protilátky proti ribosomálnímu P proteinu představují nejčastější typ antiribosomálních protilátek. Jsou diagnostickým markerem pro SLE, v některých případech SLE mohou být jedinou přítomnou protilátkou. Častěji jsou prokazovány u pacientů s psychotickými projevy.

### **5.1.14 Revmatoidní faktor; nefelometrie**

Metoda stanovení: nefelometrie

#### Význam stanovení:

Toto stanovení představuje základní test pro stanovení revmatoidních faktorů. Pozitivní výsledky vyšetření se vyskytují především u revmatoidní artritidy, systémových autoimunitních onemocnění, chronických infekcí, virové hepatitidy, infekční mononukleózy a nádorových onemocnění. Pro stanovení izotypů je nutné použít metodu ELISA.

Označení na žádance: RF – screen /nefelometrie/ (žádanka „autoimunita“)

#### Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

#### Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

#### Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnota je do 20 IU/ml.

#### Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

#### Provádí se:

do jedné hodiny po obdržení požadavku

### **5.1.15 Revmatoidní faktor; ve třídách IgG, IgA, IgM**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

RF ve třídě IgG koreluje lépe s aktivitou choroby než IgM. Pozitivita ve třídě IgA signalizuje jednak vážnější kloubní postižení a vyskytuje se také u agresivnějších forem RA s mimokloubními komplikacemi. Vyšetření je tedy indikováno pro detekci skrytých revmatoidních faktorů u séronegativní RA a pro monitorování aktivity RA. Je třeba také brát v úvahu věk pacienta. U pacientů starších než 60 let se mohou revmatoidní faktory vyskytovat až u 25% případů bez klinických známek onemocnění.

Označení na žádance: RF - IgG, IgA, IgM (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pro všechny třídy imunoglobulinů platí:

negativní do 20 IU/ml

pozitivní nad 20 IU/ml

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.1.16 Autoprotilátky proti cyklickému citrulinovanému peptidu (CCP)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Jako CCP se označují cyklické peptidové molekuly obsahující aminokyselinu citrulin. CCP je cílovou molekulou pro antiperinukleární faktor (APF). APF není v současnosti pro pracnost a obtížnou reprodukovatelnost stanovení používán. Protilátky proti CCP jsou nepostradatelným markerem v diagnostice revmatoidní artritidy. Specifita tohoto stanovení je 97% a senzitivita 70%. Nemocní s RA s přítomností těchto autoprotilátek jsou postiženi rozsáhlým erozivním poškozením kloubů. Protilátky proti CCP se mohou objevit i několik let před objevením se klinických příznaků a mohou tak sloužit ke včasnému stanovení diagnózy a zahájení léčby. Během úspěšné léčby dochází k poklesu hladiny anti CCP protilátek. Falešně pozitivní nálezy se vyskytují u nemocných se SLE, SS, CAH. Největší význam tedy spočívá v konfirmaci diagnózy u séronegativní RA a v monitorování léčby.

Označení na žádance: anti CCP (žádanka „autoimunita“)

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

negativní < 25 IU/ml

pozitivní ≥ 25 IU/ml

Pacienti, kterým byla naměřena hodnota autoprotilátek proti CCP 25 – 50 IU/ml, jsou slabě pozitivní a u nich se doporučuje opakovat vyšetření s časovým odstupem.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.1.17 Autoprotilátky proti fosfolipidům; screen**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Antifosfolipidové protilátky zahrnují velkou skupinu protilátek, které bývají spojovány s komplikacemi v časně graviditě a trombózou. Přítomnost vysokých hladin těchto protilátek může ovlivnit normální fertilizaci tím, že se tyto protilátky naváží na fosfolipidy ovariální tkáně tak, že zabraňují vytvoření a uvolnění funkčního oocytu. Vlastní fertilizační proces může být ovlivněn i přímými vazbami antifosfolipidových protilátek na povrchové komponenty oocytu a spermie.

Dále antifosfolipidové protilátky, které se tvoří v komplexu s kofaktory (beta-2 glykoprotein I), nacházíme v souvislosti s antifosfolipidovým syndromem, trombózou, trombocytopenií, SLE a jinými systémovými autoimunitními onemocněními. Antifosfolipidové protilátky, které se tvoří proti samotným fosfolipidům bez přítomnosti kofaktoru, doprovází řadu infekčních (syfilis, EBV aj.) a onkologických onemocnění. Vyskytují se také po mozkové příhodě a infarktu myokardu.

Označení na žádance: anti fosfolipidy – screen (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pro třídy IgG a IgM platí:

negativní < 10 IU/ml

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**



pozitivní  $\geq 10$  IU/ml

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

Doporučení:

v případě positivity vyšetřit profil (kardiolipin,  $\beta 2$  – glykoprotein I, fosfatidylethanolamin, fosfatidylinositol, fosfatidylserin, fosfatidylcholin a sphingomyelin)

**5.1.18 Autoprotilátky proti fosfolipidům; profil**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Viz. 5.1.18

Označení na žádance: anti fosfolipidy – profil (žádanka „autoimunita“ a „reprodukce“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Stanovují se protilátky proti kardiolipinu,  $\beta 2$  – glykoproteinu I, fosfatidylethanolaminu, fosfatidylinositolu, fosfatidylserinu, fosfatidylcholinu a sphingomyelinu, provádí se pro IgG a IgM třídy imunoglobulinů.

Pro obě třídy platí: stanovuje se index protilátek

Negativní  $< 0.8$

Hraniční  $\leq 1.2$

Pozitivní  $> 1.2$

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

**5.1.19 Autoprotilátky proti kardiolipinu (ACLA, ACA); IgG, IgM**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Viz. 5.1.18

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Označení na žádance: anti kardiolipin (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

	IgG	IgM
negativní	do 10 GPL IU/ml	do 7 MPL IU/ml
pozitivní	nad 10 GPL IU/ml	nad 7 MPL IU/ml

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.1.20 Autoprotilátky proti $\beta$ 2 glykoproteinu I; IgG, IgM**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Viz. 5.1.18

Označení na žádance: anti beta-2-glykoprotein (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pro obě třídy imunoglobulinů jsou normální hodnoty 0 – 8 IU/ml.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.1.21 Protilátky proti protrombinu**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Protilátky proti protrombinu patří ke skupině antifosfolipidových protilátek. Přítomnost těchto protilátek je spojena s klinickými příznaky tzv. antifosfolipidového syndromu (APS). Studie

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

prokázaly korelaci mezi těmito protilátkami a zvýšeným rizikem trombózy, trombocytopenie a spontánních abortů (jako následků placentární infarktizace). Protrombinové protilátky jsou důležitým markerem vyšetřovaným při opakovaných spontánních abortech v reprodukční imunologii.

Protilátky namířené proti komplexu protrombinu a fosfatidylserinu souvisejí s druhou velkou skupinou klinických příznaků spojených s APS – venózní a arteriální trombózou.

Označení na žádance: anti protrombin (žádanka „autoimunita“ a „reprodukce“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum, likvor

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení, referenční meze:

Pro třídy IgG a IgM platí:

negativní < 10 IU/ml

pozitivní ≥ 10 IU/ml

Omezení a interference:

hemolytická a lipemická séra nejsou pro vyšetření vhodná

Provádí se:

2x za měsíc podle počtu pacientů

### **5.1.22 Protilátky proti annexinu**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Annexin V je protein hojně zastoupený ve stěnách umbilikálních cév a placentě, jeho plazmatická koncentrace je ale nízká. Jeho hlavní funkcí je inhibice koagulačních reakcí závislých na fosfolipidech. Annexin V působí jako kompetitivní inhibitor při vazbě koagulačních faktorů na fosfatidylserin exprimovaný na membráně syncytiotrofoblastu. Formuje zde jakýsi antitrombotický štít a hraje tak významnou roli při udržování normální funkce placenty.

Protilátky proti annexinu V u pacientek s antifosfolipidovým syndromem jsou proto spojovány se vznikem placentárních trombóz a s apoptózou syncytiotrofoblastu. Předpokládá se, že by tyto protilátky mohly mít i významný vliv na růst plodu v těle matky v souvislosti se správnou funkcí placenty a mohly by hrát důležitou roli při opakovaných spontánních potratech.

Označení na žádance: anti annexin (žádanka „autoimunita“ a „reprodukce“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení, referenční meze:

Pro obě třídy imunoglobulinů platí hodnoty:

negativní < 5 IU/ml

hraniční 5 – 8 IU/ml

pozitivní < 8 IU/ml

Omezení a interference:

hemolytická a lipemická séra nejsou pro vyšetření vhodná

Provádí se:

2x za měsíc podle počtu pacientů

**5.1.23 Autoprotilátky proti antigenům cytoplazmatických granulí neutrofilních granulocytů (ANCA); imunofluorescence**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

ANCA protilátky představují skupinu protilátek namířených proti komponentám cytoplazmatických granulí neutrofilních granulocytů a monocytů. Malá množství granulárních antigenů se při aktivaci buněk mohou dostávat na buněčný povrch a indukují tak imunopatologickou zánětlivou reakci. Tyto protilátky se vyskytují u vaskulitidy, glomerulonefritidy, imunokomplexových onemocnění, zánětlivých střevních onemocnění a u jiných autoimunitních chorob.

U pozitivního fluorescenčního nálezu existují dva typy různých obrazů: c-ANCA a p-ANCA (viz.dále).

c-ANCA protilátky jsou hlavním laboratorním markerem pro Wegenerovu granulomatózu. Někdy lze u těchto pacientů prokázat oba typy protilátek, jejich hladina kolísá v závislosti na stupni postižení a aktivitě choroby.

p-ANCA protilátky jsou diagnostickým markerem pro různé druhy glomerulonefritidy, vaskulitidy, a Goodpastureova syndromu. Jsou přítomny i u dalších autoimunitních onemocnění (cistická fibróza, revmatoidní artritida, chronická aktivní hepatitida, SLE, Crohnova choroba aj.). Pod obrazem p-ANCA se však mohou objevit i protilátky proti laktoferinu, katepsinu, lysozymu, elastáze nebo BPI. Méně často se vyskytuje tzv. atypický fluorescenční obraz nebo tzv. GS – ANA (protilátky proti laminům jader neutrofilů).

Označení na žádance: ANCA screen IF (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní

U pozitivního fluorescenčního nálezu rozlišujeme dva základní obrazy:

p-ANCA perinukleární (protilátky především proti myeloperoxidáze, ale i dalším enzymům obsažených v azurofilních granulech)  
c-ANCA cytoplasmatické (protilátky proti proteináze 3)  
popř. a-ANCA (atypická), GS – ANA (granulocyt specifická ANA)

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

2x za týden podle počtu pacientů

Doporučení:

Při atypickém obraze a pro potvrzení pozitivity je třeba confirmovat výsledek pomocí ELISA metody. Aby se vyloučila případná pozitivita způsobená ANF protilátkami, doporučujeme při vyšetření ANCA provádět současně i vyšetření ANF.

**5.1.24 Autoprotilátky proti antigenům cytoplasmatických granulí neutrofilních granulocytů (ANCA); /MPO, PR-3/ ELISA**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Viz. 5.1.24

Označení na žádance: MPO ELISA, PR-3 ELISA (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

	myeloperoxidáza	proteináza 3
negativní	do 3 IU/ml	do 6 IU/ml
hraniční	3 – 5 IU/ml	6 – 8 IU/ml
pozitivní	nad 5 IU/ml	nad 8 IU/ml

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za týden podle počtu pacientů

Doporučení:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Vyšetření na atypické antigeny je třeba si zvláště vyžádat zaškrtnutím políčka na žadance „ANCA typizace (další antigeny)“. Výsledky jsou udávány v kvalitativní podobě pozitivní / negativní.

### **5.1.25 Autoprotilátky proti antigenům cytoplasmatických granulí neutrofilních granulocytů (ANCA); /profil/ ELISA**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Viz. 5.1.24

Dalšími antigeny zjišťovanými touto metodou jsou elastáza, katepsin G, laktoferin, BPI a opět MPO a PR-3.

Zvýšené koncentrace uvedených antigenů mohou provázet tyto nemoci:

*elastáza* zánětlivé revmatoidní onemocnění (revmatoidní artritida a vaskulitida

*katepsin G* kolagenózy a další příbuzná zánětlivá revmatoidní onemocnění (SLE, Sjögrenův syndrom, Feltyho syndrom)

*laktoferin* revmatoidní vaskulitida, ulcerózní kolitida, primární sklerotizující cholangitida

*BPI* chronické infekční střevní onemocnění (Crohnova choroba, ulcerózní kolitida)

*MPO* vaskulitidy malých a středních cév, glomerulonefritidy, nodózní polyartritidy, SLE, revmatoidní artritida a Churg – Straussův syndrom

*PR 3* Wegenerova granulomatóza (nekrotizující granulomatózní vaskulitida)

Označení na žadance: ANCA typizace (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Výsledky jsou udávány v kvalitativní podobě – pozitivní / negativní.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za týden podle počtu pacientů a v režimu „statim“

### **5.1.26 Protilátky proti *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA); IgG, IgA**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Protilátky proti fosfopeptidomannanu kvasinek rodu *Saccharomyces cerevisiae* jsou parametrem využitelným v diferenciální diagnostice nespecifických střevních zánětů (IBD). Přítomnost těchto protilátek je často asociována s Crohnovou chorobou. Pro diferencování

mezi Crohnovou chorobou (CD) a ulcerózní kolitidou (UC) je vhodné použít kombinaci testů ASCA a ANCA. Pro CD jsou typické vysoké hladiny ASCA protilátek a negativní nebo slabě pozitivní ANCA. U ulcerózní kolitidy je tomu naopak. Pozitivní ASCA a současně negativní ANCA se vyskytuje často u fibrostenické a perforující CD a koreluje i s četností nutných chirurgických zásahů. Tato kombinace testů je využitelná i pro monitorování léčby.

Označení na žádance: ASCA IgG, IgA (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

	IgG	IgA
negativní	do 15 IU/ml	do 15 IU/ml
pozitivní	nad 15 IU/ml	nad 15 IU/ml

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.1.27 Autoprotilátky proti imunoglobulinu A (anti IgA)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Anafylaktoidní reakce indukovaná IgG anti-IgA protilátkami může nastat u jedinců s IgA deficitem. Výskyt deficitu IgA je v populaci dosti častý. Jeho četnost dosahuje téměř 1:400. Tvorba imunokomplexů protilátek (IgG anti-IgA) s antigenem (IgA) vede k aktivaci komplementu. Anafylaktoidní reakce, při níž se uvolňují vasoaktivní anafylatoxiny (C3a, C4a, C5a), je závažnou komplikací při transfúzích nebo při substituční léčbě. Anafylaktoidní reakce je podobně jako reakce anafylaktická provázena kopřivkou, hypotenzí, dušností s bronchospasmem nebo stridorem.

Anti-IgA protilátky se vyskytují u pacientů s neměřitelnými hladinami IgA. U pacientů s IgA deficitem nebo běžnou variabilní imunodeficiencí (CVID) jsou anti-IgA protilátky přítomny přibližně v 10%. Byla prokázána příčinná souvislost IgG anti-IgA protilátek s rozvojem anafylaktoidních reakcí, zejména při jejich průkazu ve vyšších koncentracích.

Pacienti s deficitem IgA, kteří potřebují krevní transfúzi nebo substituci krevních derivátů, by měli obdržet IgA negativní krevní komponenty nebo by měla být provedena autotransfúze. U pacientů vyžadujících tuto léčbu by mělo být předem provedeno vyšetření anti-IgA protilátek. V případě proběhlé anafylaktoidní reakce je u daného pacienta po reakci doporučeno provést vyšetření s odstupem nejméně deseti dní (nástup tvorby protilátek). Jestliže se vyskytne anafylaktoidní reakce při intravenózní gamaglobulinové léčbě (IVIG) za přítomnosti anti-IgA protilátek, může připadat do úvahy alternativní subkutánní substituční imunoglobulinová

terapie (SCIG).

Označení na žádance: anti IgA (žádanka „sérové proteiny“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum; venózní nesrážlivá krev nebo plazma

Odběr a transport materiálu:

sklo nebo plast bez úpravy; plast s nesrážlivým činidlem (heparin, citrát nebo EDTA)

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

negativní < 12,5 IU/ml

pozitivní ≥ 12,5 IU/ml

Omezení a interference:

Hemolytická, lipemická séra a séra s vysokým obsahem bilirubinu mohou poskytnout chybné výsledky.

Provádí se:

1 – 2x za měsíc podle počtu pacientů

### **5.1.28 Cirkulující imunokomplexy (CIK)**

Metoda stanovení: precipitace polyetylen glykolem a turbidimetrie

Význam stanovení:

Stanovení detekuje větší cirkulující imunokomplexy, které se tvoří v přítomnosti nadbytku protilátky. CIK mohou být přítomny u různých infekčních (především bakteriálních) onemocnění. Vyšší hodnoty CIK jsou přítomny u onemocnění, která doprovázejí poškození tkání v důsledku ukládání imunokomplexů (SLE, různá další systémová onemocnění, revmatoidní artritida, glomerulonefritida, vaskulitida). Pro aktivitu chorobného procesu je rozhodující přítomnost imunokomplexů, které se deponovaly v cévní stěně a tím umožnily rozvoj cévního poškození. Metoda je nespecifická a kromě cirkulujících imunokomplexů může detekovat také přítomnost dalších patologických proteinů, např. kryoglobuliny, paraproteiny, defektní fibrinogen atd.

Označení na žádance: CIK PEG (žádanka „sérové proteiny“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Výsledky jsou uváděny v arbitrárních jednotkách dle absorbance. Za normálních lze považovat hodnoty do 50.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**



Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

Doporučení:

Zároveň se u imunokomplexových onemocnění doporučuje provést stanovení hladin C3 a C4 složek komplementu. Jejich pokles může svědčit o ukládání imunokomplexů.

**5.1.29 Cirkulující imunokomplexy s vazbou na C1q složku komplementu (CIK – C1q)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

viz. 5.1.29

Metoda prokazuje pouze skutečné cirkulující imunokomplexy, tzn. komplexy obsahující antigeny (infekční, autoantigeny aj.) a protilátky. Je založena na specifické vazbě imunokomplexů v testovaném séru na lidskou C1q podjednotku C1 složky komplementu zakotvenou na pevné fázi.

CIK – C1q jsou u normální populace nalézány zřídka a to obvykle v důsledku infekce. Hladiny CIK – C1q mohou být také zvýšeny po jídle.

Označení na žádance: CIK C1q ELISA (žádanka „sérové proteiny“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty jsou do 5 µg Eq/ml, za pozitivní jsou považovány hodnoty nad 10,8 µg Eq/ml.

Omezení a interference:

Je třeba vzít v úvahu, že séra mohou obsahovat látky interferující se stanovením, např. chelatační činidla, DNA, autoprotiilátky proti C1q, revmatoidní faktor nebo monomerní imunoglobulin.

Provádí se:

1x za měsíc podle počtu pacientů

Doporučení:

WHO doporučuje tuto metodu jako specifickou pro průkaz CIK.

### **5.1.30 Autoprotilátky proti endoteliálním buňkám (AECA)**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Protilátky proti buňkám endotelu se vyskytují u pacientů se zánětlivým onemocněním, např. u vaskulitid typu Wegenerovy granulomatosy, kde jsou zaznamenávány vysoké titry zejména v akutní fázi tohoto onemocnění. Dále jsou tyto protilátky nalézány u SLE nebo systémových chorob pojiva.

Existuje asociace mezi AECA protilátkami IgG a systémovou sklerózou, primární sklerotizující cholangiitidou, antifosfolipidovým syndromem, diabetem I. typu, ulcerózní kolitidou a Crohnovou chorobou. Jsou nalézány u pacientů po transplantaci srdce a jsou považovány za indikátor možné rejekce. Jsou namířeny proti různým antigenům.

Označení na žádance: anti endotel (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.1.31 Autoprotilátky – myositis (imunoblot)**

Metoda stanovení: imunoblot

Význam stanovení:

Nedílnou součástí diagnostických kritérií zánětlivých myopatií postihujících svaly je stanovení protilátek proti antigenům Mi-2 $\alpha$ , Mi-2 $\beta$ , TIF1 $\gamma$ , MDA5, NXP2, SAE1, Ku, PM-Scl100, PM-Scl75, Jo-1, SRP, PL-7, PL-12, EJ a OJ. Některé formy, např. polymyositida a dermatomyositida, jsou systémová onemocnění, která se manifestují i mimo svaly. Největší význam je přikládán skupině autoprotilátek namířených proti tRNA syntetázám. Typické je, že u každého nemocného s myositidou jsou nalézány protilátky pouze proti jednomu typu tRNA syntetázy.

Označení na žádance: myositis blot (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní pro jednotlivé antigeny

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.1.32 Autoprotilátky – cytoplazma (imunoblot)**

Metoda stanovení: imunoblot

Význam stanovení:

Vyšetření je určeno ke stanovení přítomnosti protilátek třídy IgG proti antigenům AMA-M2, M2-3E, ribosomal P-protein, Jo-1, SRP, PL-7, PL-12, EJ, OJ a Ro-52 v lidském séru nebo plazmě. Lze ji využít k typizaci autoprotilátek zodpovědných za některé cytoplasmatické obrazy, definované na základě nomenklatury ICAP (International Concensus on Antinuclear Antibody (ANA) Patterns), které můžeme pozorovat při vyšetření autoprotilátek metodou nepřímé fluorescence (IIFT) na Hep-2 buňkách.

Klinické relevance: jedná se o autoantigeny, které jsou významnými diagnostickými markery autoimunitních onemocnění, jako jsou např. primární biliární cirhóza, systémový lupus erythematosus, polymyositida či dermatomyositida.

Označení na žádance: cytoplasmatické antigeny - blot (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní pro jednotlivé antigeny

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.1.33 Autoprotilátky – sklerodermie (imunoblot)**

Metoda stanovení: imunoblot

Význam stanovení:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Vyšetření je určeno ke kvalitativnímu stanovení přítomnosti 13 protilátek třídy IgG proti antigenům Scl-70, CENP A, CENP B, RP11 (RNAP-III), RP155 (RNAP-III), fibrillarin, NOR-90, Th/To, PM-Scl 75, 100, Ku, PDGFR, Ro-52. Jejich výskyt podporuje diagnózu SSc (difúzní i ohraničenou formu) a overlap syndromu. Potvrzení přítomnosti SSc specifických autoproti látek je důležitou součástí sérologické diagnostiky SSc, včetně časného stanovení diagnózy, aktivity choroby, prognózy a monitorování průběhu onemocnění.

Scl-70	DNA topoisomerase I
CENP A a CENP B	Centromerové proteiny
Fibrillarin	U-3 RNP
NOR 90	Organizér jadérka
Th/To	7-2-RNP/7-2-RNA proteinový komplex
Pm-Scl	Komplex antigenů 11-16 polypeptidů, hlavní antigeny: PM-Scl 100 a PM-Scl 75
Ku	Součást DNA dependentní proteinkinázy
PDGFR	Platelet derived growth factor receptor
RNA Polymeráza III	Jedna s eukaryotických RNA polymeráz

Označení na žádance: sklerodermie - blot (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní pro jednotlivé antigeny

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.1.34 Autoproti látky proti gangliosidům a MAG**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Přítomnost anti – MAG v izotypu IgM je spjata s chronickou senzomotorickou demyelinizující periferní neuropatií, při které zpočátku dominují příznaky poškození senzitivních a až později motorických nervů. Asi 50% pacientů s monoklonální gamapatií IgM a s klinickými projevy neuropatie vykazuje pozitivitu anti – MAG.

Detekce autoproti látek proti gangliosidu GM1 má klinický význam při diferenciální diagnostice periferních neuropatií, zejména pro odlišení amyotrofické laterální sklerózy a multifokální motorické neuropatie, chorob projevujících se progredující asymetrickou svalovou slabostí a atrofií. Vysoké titry anti GM1 jsou diagnostické pro multifokální

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

motorickou neuropatii, onemocnění příznivě ovlivnitelné imunomodulační terapií, monitorování hladiny protilátek má význam pro kontrolu aktivity onemocnění po nasazení terapie.

Anti-GM2 jsou typické pro GBS (AIDP) spojený s infekcí cytomegalovirem. Pozitivní mohou být i pacienti s akutní CMV bez příznaků GBS.

Anti-GD1a jsou typické pro axonální formu GBS (AMAN, AMSAN), popsány byly u pacientů s GBS postižených faryngo-cerviko-brachiálním syndromem

Anti-GD1b se vyskytují u GBS s ataxií. Přítomnost těchto protilátek byla popsána i u atonální formy GBS (AMAN, AMSAN) a u multifokální motorické neuropatie

Anti-GQ1b ve třídě IgG se vyskytují u více než 90% pacientů s Miller-Fisherovým syndromem. Hladiny rychle klesají s ústupem obtíží. Jsou vysoce specifickým parametrem.

Označení na žádance: anti gangliosidy MAG (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Vyšetřují se protilátky proti „MAG“, GM1, GM2, GD1a, GD1b a GQ1b ve třídě IgG (IgM)

Výsledek	Ratio (%)
negativní	< 30%
šedá zóna	30 – 50%
cut-off	50%
pozitivní	> 50 – 100%
vysoce pozitivní	> 100%

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.1.35 Protilátky proti neuronálním antigenům (paraneoplastické protilátky)**

Metoda stanovení: imunoblot

Význam stanovení:

Vyšetření je možné provést při podezření na paraneoplastický neurologický syndrom. Jako paraneoplastický syndrom je označován komplex příznaků u pacientů s tumorem, které není možno vysvětlit lokálním šířením nebo metastatickým rozsevem nádoru nebo tvorbou hormonů vlastních pro tkáň, ze které vyrůstá. Odhaduje se, že se vyskytuje u asi 15 - 20 % všech pacientů se zhoubným nádorem. Paraneoplastický syndrom se může manifestovat širokou škálou systémových projevů spojených s neoplazií, ke kterým mohou patřit klinické příznaky i laboratorní abnormality. Paraneoplastický syndrom není vzácný, avšak rozvine se u

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

menšiny pacientů s nádorem. Jeho význam spočívá v tom, že může být prvním projevem zhoubného bujení umožňujícím jeho časnou detekci, může být použit jako nádorový marker a stejně tak může někdy ukazovat na metastatické onemocnění.

V souvislosti s paraneoplastickými syndromy centrální nervové soustavy, v souvislosti s neurologickými projevy, byly popsány diagnosticky významné autoprotilátky proti neuronálním antigenům. Tyto protilátky jsou prokazovány v séru u významného podílu (až 36%) pacientů s paraneoplastickými neurologickými projevy.

#### Výskyt těchto protilátek:

- **Anti – Hu (ANNA1; protilátky proti jádru neuronů):** u paraneoplastických encefalomyelitid a neuropatií u malobuněčného plicního karcinomu, neuroblastomu, adenokarcinomu prostaty a sarkomů
- **Anti – Ri (ANNA2):** podobně jako u anti-Hu u paraneoplastických syndromů malobuněčného plicního karcinomu a karcinomu prsu
- **Anti – Yo (PCA-1; protilátky proti cytoplasmě Purkyňových buněk):** u paraneoplastických syndromů při karcinomu ovárií a prsu
- **Anti – CV2:** u malobuněčného plicního karcinomu a thymomu
- **Anti – PNMA2:** u seminomu a karcinomu plic
- **Anti – amphiphysin:** u karcinomu prsu a u malobuněčného plicního karcinomu
- **Anti - recoverin:** u tumorově asociované retinopatie, PNS ve spojení s malobuněčným plicním karcinomem
- **Anti - SOX1:** u myastenického syndromu Lambert-Eaton, paraneoplastické degenerace mozečku, u paraneoplastické i neparaneoplastické neuropatie
- **Anti – titin:** u myastenia gravis spolu s protilátkami proti acetylcholinovým receptorům, u tymomu

Označení na žádance: anti neuronální protilátky (žádanka „autoimunita“)

#### Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

#### Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

#### Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní/negativní jednotlivé protilátky

#### Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

#### Provádí se:

1x za 3 týdny podle počtu pacientů

### **5.1.36 Autoprotilátky proti antigenu hsp-70 (OTO blot)**

Metoda stanovení: imunoblot

Význam stanovení:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Detekce protilátek proti antigenu hsp-70 je důležitou metodou v diagnostice autoimunitních poruch sluchu. Protilátky proti tomuto antigenu se nacházejí u pacientů se sensorineurální poruchou sluchu (SNHL) nebo v případě Menierova syndromu.

Označení na žádance: není uvedeno, nutné vypsát (např. OTO blot)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní/negativní

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 3 týdny podle počtu pacientů

### **5.1.37 Protilátky proti myokardu**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Zánětlivé onemocnění srdečního svalu je definováno jako poškození srdečního svalu (myokardu) zánětem na podkladě infekčních nebo neinfekčních příčin. Infekční příčiny zahrnují vlastní infekci, ale také infekčním agens navozenou imunitní odpověď.

Protilátky se tedy vyskytují u klinicky poměrně široké skupiny onemocnění od akutní myokarditidy po postinfekční dilatační kardiomyopatii. Často reagují zkříženě s protilátkami proti příčně pruhovanému svalu.

Označení na žádance: anti myokard (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za měsíc podle počtu pacientů

### **5.1.38 Protilátky proti příčně pruhovanému svalu**

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Protilátky proti příčně pruhovanému (kosternímu) svalu se popisují asi u 40 % případů myasthenie gravis a u nemocných s polymyozitidou. Společně s AMA a ASMA nalézáme pozitivní protilátky rovněž u četných systémových chorob (kolagenózy, sarkoidosa, M. Crohn, idiopatická plicní fibróza, lymfomy).

Označení na žádance: anti příčně pruhovaný sval (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za měsíc podle počtu pacientů

### **5.1.39 Protilátky proti acetylcholinovému receptoru**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Protilátky se vyšetřují při podezření na myasthenia gravis. Jedná se o autoimunitní onemocnění postihující nervosvalový přenos. Znamená to, že je oslaben volní pohyb, který vykonává příčně pruhované svalstvo. Okolo 65 % nemocných má patologické (chorobné) změny na thymu (brzlíku), ve kterém jsou známky folikulární hyperplasie, kdy autoreaktivní T buňky produkují autoprottilátky proti nikotinovým acetylcholinovým receptorům (Ab proti AChR) na postsynaptické membráně nervosvalové ploténky.

Receptory na povrchu svalových buněk za normálních okolností přijímají chemický signál přenášený z nervového zakončení, během onemocnění dochází k zablokování receptorů patologickými prottilátkami.

Označení na žádance: anti AChR (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**



Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za měsíc podle počtu pacientů

**5.1.40 Protilátky proti kůře nadledvin**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Protilátky proti kůře nadledvin se vyšetřují při podezření na Addisonovu chorobu, riziko její progresu a u polyglandulárního autoimunitního syndromu. Addisonova choroba je chronická adrenokortikální nedostatečnost vyskytující se ve všech věkových skupinách. Většinou je způsobena destrukcí kůry nadledvin. Asi v 70% případů je tato destrukce podmíněna autoimunitně, ve 20% případů je příčinou TBC.

Pozitivita protilátek proti kůře nadledvin je někdy také považována za významný rizikový faktor vzniku Addisonovy choroby.

Označení na žádance: anti kůra nadledvin (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za týden podle počtu pacientů

**5.1.41 Protilátky proti kartáčovému lemu (ABBA)**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Protilátky proti kartáčovému lemu tenkého střeva se vyšetřují u idiopatických střevních zánětů. Vyskytují se přibližně u 65% pacientů s Crohnovou chorobou a u 35% pacientů s ulcerózní kolitidou.

Označení na žádance: ABBA (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x týdně podle počtu pacientů

## **5.2 Autoprotilátky – játra, ledviny, žaludek, kůže**

### **5.2.1 Autoprotilátky proti mitochondriím (AMA); imunofluorescence**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Protilátky proti mitochondriím (AMA) tvoří heterogenní skupinu autoprotilátek. V současné době se rozlišuje devět typů (M1 – M9). Bývají přítomny u 85 – 98% pacientů s primární biliární cirhózou, dále u pacientů s chronickou aktivní hepatitidou a s kryptogenní cirhózou. Mohou se objevit rovněž u systémových onemocnění pojiva, syfilis, myokarditidy, polékového lupusu.

Označení na žádance: anti mitochondrie AMA IF (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní.

V případě potřeby lze stanovit i titer protilátek.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.2.2 Autoprotilátky proti mitochondriálnímu M2 antigenu**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Protilátky proti mitochondriím bývají nejčastěji namířeny proti M2 antigenu, kterým je enzym pyruvátdehydrogenáza, lokalizovaný na vnitřní mitochondriální membráně. Vyšetření protilátek proti M2 je indikováno při podezření na primární biliární cirhózu, chronickou aktivní hepatitidu, u kryptogenní cirhózy, malignit jater a systémových onemocnění pojiva. Toto vyšetření slouží především k podpoře diagnózy PBC.

Označení na žádance: anti M2 mitochondrie ELISA (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

negativní do 10 U/ml

pozitivní nad 10 U/ml

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.2.3 Autoprotilátky proti mikrosomálnímu antigenu jater a ledvin LKM – 1**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Anti LKM1 protilátky se vyskytují u autoimunitní hepatitidy 2. typu a jsou považovány za její hlavní laboratorní imunologický marker. Mohou být asociovány i s diabetem (hlavně u dětí), tyreopatií a vitiligem.

Označení na žádance: anti LKM – 1 (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty se pohybují v rozmezí 0 –18 IU/ml.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 3 týdny podle počtu pacientů

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

### **5.2.4 Autoprotilátky proti mitochondriím M2, M4, M9**

Metoda stanovení: imunodot

Význam stanovení:

Je známo devět podtříd protilátek typu AMA (M1 – M9). Jejich výskyt je charakteristický pro určitý typ onemocnění a jejich stanovení lze využít k diferenciální diagnostice různých hepatopatií. M2 protilátky jsou typické pro primární biliární cirhózu (96% pozitivních), M4 také (55% pozitivních) a M9 rovněž. U M9 a současného výskytu M2 protilátek (u 40% pacientů) se jedná o rozvinutou PBC. Pokud jsou přítomny protilátky proti M9 a současně M2 jsou negativní, jedná se o časnou PBC (82% pacientů). Protilátky M9 se vyskytují i u chronické aktivní hepatitidy (10%) a u akutní hepatitidy (3%).

Označení na žádance: anti M4, M9 mitochondrie /blot/ (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Hodnotí se protilátky proti jednotlivým antigenům M2, M4, M9; podle intenzity zabarvení proužku na membráně interpretujeme výsledky: negativní, hraniční, pozitivní a vysoce pozitivní

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 3 týdny podle počtu pacientů

### **5.2.5 Autoprotilátky proti jaterním antigenům**

Metoda stanovení: imunodot

Význam stanovení:

Autoimunitní onemocnění jater představují skupinu chronických zánětlivých postižení jater se závažnou prognózou. Mezi nejčastější autoimunitní onemocnění jater patří autoimunitní hepatitida (AIH), primární biliární cirhóza (PBC) a primární sklerotizující cholangitida (PSC). Autoimunitní hepatitida (AIH) je chronická hepatitida neznámé etiologie s typickými autoimunitními fenomény. Onemocnění se manifestuje nejčastěji v dětství a u mladých dospělých, postihuje převážně mladší ženy. Nejpresnější diagnostický marker pro AIH je protilátka SLA. Přestože prevalence protilátek proti SLA je jen 30%, predikční hodnota je 100%. Dále u pacientů s AIH nacházíme protilátky proti LC1, F-actinu (u 80 – 90% pacientů), LKM 1 a AMA.

Primární biliární cirhóza (PBC) je chronické onemocnění jater charakterizované postižením intrahepatálních žlučovodů a cholestázou. Pro diagnostiku PBC je významný průkaz antimitochondriálních autoprotilátek (AMA), jsou nalézány u více než 95% pacientů s PBC.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Charakteristická pro PBC je rovněž přítomnost antinukleárních protilátek ANA - četné jaderné tečky (sp100) a póry v jaderné membráně (gp210). Tyto autoprotilátky jsou významné zejména u AMA negativních pacientů a ukazuje na horší prognózu onemocnění. Progresivní sklerotizující cholangitida (PSC) je chronický progresivní zánět žlučových cest s fibrózou a zúžením vývodných žlučových cest. Vyskytuje se nejčastěji u mužů pod 45. rokem věku. Má souvislost s imunopatologickými stavy (atypická p-ANCA, laktoferin) a nespecifickými střevními záněty (Crohnova choroba, ulcerózní kolitida), které se vyskytují u více než 50% pacientů s PSC.

Označení na žádance: jaterní antigeny blot (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní

hodnotí se antigeny: AMA/M2, Sp 100, gp 210, SLA/LP, LKM1, LC1, F – actin, actinin a tropomyosin

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za týden podle počtu pacientů

### **5.2.6 Autoprotilátky proti hladkému svalu (ASMA)**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Protilátky proti hladkému svalu jsou tvořeny heterogenní skupinou protilátek, které reagují s antigeny cytoskeletu (např. s actinem, vimentinem, desminem, skeletinem, tropomyosinem nebo tubulinem). Vyskytují se u pacientů s chorobami jater různé etiologie, nachází se i u systémových imunopatologických onemocnění, infekčních nemocí, zánětlivých střevních onemocnění a myokarditidy. Mohou být přítomny i u pacientů s maligním onemocněním, astmatem, s infekční mononukleózou, PBC a chronickou aktivní hepatitidou.

Označení na žádance: anti SMA (hladký sval) IF (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Pozitivní / negativní

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.2.7 Autoprotilátky proti bazální membráně glomerulů (GBM)**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Protilátky proti bazální membráně glomerulů se nacházejí u idiopatické rychle progredující glomerulonefritidy. Patogeneticky se uplatňují cytotoxické protilátky proti bazální membráně glomerulů a alveolů u tzv. Goodpastureova syndromu. Jedná se o onemocnění s postižením plic a ledvin (tzv. pulmorenální syndrom).

Označení na žádance: anti GBM (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za týden podle počtu pacientů a v režimu „statim“

Doporučení:

Výsledky vyšetření GBM imunofluorescenčně jsou vždy potvrzovány metodou GBM imunodot, který využívá definovaný Goodpastureův antigen

### **5.2.8 Protilátky proti fosfolipázovému receptoru A2**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Idiopatická membranózní nefropatie (IMN) je chronické zánětlivé onemocnění glomerul, které je doprovázené progresivním poškozením funkce ledvin. Výsledkem je reakce autoprotilátek s receptory fosfolipázy A2, které jsou přítomné na povrchu podocytů v glomerulech. Tyto buňky ovlivňují propustnost při tvorbě glomerulárního filtrátu a při některých glomerulopatiích bývají poškozeny.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

IMN se vyskytuje nečastěji u mužů nad 40 let věku, u mladých žen se suspektní IMN, u pacientů s lupus nephritis a vzácně také u dětí (2 – 3% dětí s nemocí ledvin).

Indikace vyšetření:

- Sérologický screening IMN
- Proteinurie
- Mikroskopická hematurie
- Monitoring terapie IMN

Označení na žádance: anti PLA2R (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum; venózní nesrážlivá krev nebo plazma

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 4 týdny podle počtu pacientů

### **5.2.9 Protilátky proti doméně trombospondinu typu I obsahující protein 7A (THSD7A)**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Autoantigenem pro vznik těchto protilátek je doména trombospondinu typu I obsahující protein 7A (THSD7A). Jedná se o transmembránový protein, který je exprimován na povrchu podocytů v lidských ledvinných glomerulech. Vazbou autoproti látek na tento antigen dochází k poškození podocytů a uvolnění proteinů do primární moči (proteinurii).

Vyšetření autoproti látek anti-THSD7A je ideálním doplňkem ke stanovení anti-PLA2R protilátek, které se vyskytují u více než 70% pacientů s primární membranózní nefropatií (MN). U zbývajících 30% pacientů s primární MN lze předpokládat přítomnost jiného patogenního antigenu, tedy anti-THSD7A. Sérové protilátky anti-THSD7A byly detekovány u 2,5 – 5% všech pacientů s idiopatickou MN, resp. u 8 – 14% pacientů s primární MN bez prokazatelných anti-PLA2R protilátek.

Indikace:

- diagnostika membranózní nefropatie (MN)
- rozlišení formy membranózní nefropatie (primární vs. sekundární)
- monitorování průběhu onemocnění a odpovědi na léčbu

Označení na žádance: anti THSD7A (žádanka „autoimunita“)

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum; venózní nesrážlivá krev nebo plazma

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 3 týdny podle počtu pacientů

**5.2.10 Protilátky proti intrinsic faktoru (transport vitamínu B12)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Intrinsic faktor je glykoprotein, který se podílí na transportu vitamínu B12 přes střevní sliznici. Tento protein umožňuje absorpci vitamínu B12 do krevního řečiště. Vitamín B12 je nezbytný pro maturaci erytrocytů a jeho deficit vede k rozvoji anémie. Stanovení přítomnosti protilátek proti intrinsic faktoru pomáhá rozlišit mezi autoimunitní perniciózní anémií, non – autoimunitní perniciózní anémií (e. g. atrofická gastritida a pankreatická exokrinní insuficience) a dalšími formami anémií spojených s vitamínem B12.

Označení na žádance: anti intrinsic faktor (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

negativní < 20 AU

hraniční 20,1 – 24,9 AU

pozitivní > 25 AU

Ke stanovení diagnózy je třeba vzít v úvahu další sérologická vyšetření, zejména hematologické nálezy.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**



Doporučení:

V případě sporného výsledku se doporučuje doplnit vyšetření další metodou, např. imunofluorescenčním vyšetřením parietálních buněk.

**5.2.11 Autoprotilátky proti parietálním buňkám ( $H^+/K^+$  - ATP)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Autoprotilátky proti parietálním buňkám jsou detekovány u pacientů s chronickou atrofickou gastritidou a perniciózní anémií nebo se také mohou vyskytovat u pacientů s endokrinopatiemi zřejmě i u menšího množství zdravé populace.

Označení na žádance: anti  $H^+/K^+$  ATPáza (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Negativní jsou výsledky s koncentrací do 20 RU/ml.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

**5.2.12 Protilátky proti parietálním buňkám (APCA); / imunofluorescence /**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Test se používá v diagnostice perniciózní anémie, vyznačuje se vysokou citlivostí. V okamžiku stanovení diagnózy má tyto protilátky 80 – 90% pacientů. Vyšetření je rovněž indikováno při karcinomu žaludku, vředové chorobě a chronické atrofické gastritidě. Vysoká prevalence APCA je rovněž zaznamenána i u pacientů s autoimunitními endokrinními poruchami. Existuje vztah mezi věkem a zvýšenými hladinami protilátek. APCA se mohou vyskytovat až u 15% osob starších 60 let a asi u 2% zdravé populace.

Označení na žádance: anti parietální buňky (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.2.13 Protilátky proti antigenům kůže (profil)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

viz. 5.2.14, 5.2.15

Označení na žádance: kůže profil – ELISA (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Negativní jsou výsledky s koncentrací do 20 RU/ml.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za měsíc podle počtu pacientů

### **5.2.14 Protilátky proti bazální membráně epidermis**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Jedná se o protilátky u puchýřnatých kožních chorob, jsou namířené proti bazální membráně mezi dermis a epidermis. Protilátky proti bazální membráně epidermis jsou charakteristické pro bulózní pemphigoid, jizvící pemphigoid a herpes gestationis. Nekorelují s aktivitou nemoci a nacházejí se i v remisi.

Označení na žádance: pemphigoid – IF (bazální membrána epidermis)

popř. anti BP230-CF – ELISA, anti BP180-NC16A-4X – ELISA  
(žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za měsíc podle počtu pacientů

### **5.2.15 Protilátky proti mezibuněčnému tmelu**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Tvorba protilátek proti mezibuněčnému tmelu epiteliálních buněk je charakteristická pro kožní onemocnění pemfigus. Charakteristickým nálezem je intraepiteliální puchýř vytvářející se na podkladě akantolýzy (rozvolňováním buněk volně plujících v tekutině puchýřů).

Označení na žádance: pemphigus – IF (mezibuněčný tmel)

popř. anti desmoglein 1 – ELISA, anti desmoglein 3 – ELISA  
(žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za měsíc podle počtu pacientů

### **5.3 Potravinové intolerance (celiakie)**

#### **5.3.1 Autoprotilátky proti endomysiu (EMA)**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Protilátky proti endomysiu se vyšetřují ve třídě IgA a slouží jako novější a přesnější marker pro průkaz celiakie. Tyto protilátky velmi rychle reagují na dietu a hodí se proto pro

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

monitorování úspěšnosti a dodržování dietního režimu. Vyšetření endomysálních protilátek ve třídě IgG má malý diagnostický význam a hodí se k monitorování pacientů s celiakií zároveň trpících selektivním IgA deficitem.

Toto vyšetření se indikuje při celiakii, u diferenciální diagnostiky enteropatií, dermatitis herpetiformis Duhring, malnutrice, průjmu, retardace růstu a dalších onemocnění a jejich příznaků.

Označení na žádance: anti endomysium IgA (žádanka „autoimunita“ a „reprodukce“)  
anti endomysium IgG (žádanka „autoimunita“ a „reprodukce“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní; na vyžádání lze stanovit i titr protilátky a lze provést vyšetření i ve třídě IgG.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za týden podle počtu pacientů

Doporučení:

V kombinaci s vyšetřením protilátek proti tkáňové transglutamináze ve třídě IgA lze dosáhnout specifity a senzitivity pro průkaz celiakie téměř 100%.

### **5.3.2 Autoprotilátky proti retikulinu (ARA)**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Stanovení protilátek proti retikulinu je dalším významným parametrem pro průkaz celiakie, provádí se rovněž ve třídě IgA a koresponduje se stupněm poškození sliznice. K vyšetření ve třídě IgG se lze uchýlit při selektivním IgA deficitu pacienta.

Označení na žádance: anti retikulin IgA (žádanka „autoimunita“)  
anti retikulin IgG (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Pozitivní / negativní; na požádání lze určit i titer protilátky a lze vyšetřit protilátky i ve třídě IgG

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za týden podle počtu pacientů

### **5.3.3 Autoprotilátky proti deamidovanému gliadinu (AGA)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Protilátky proti gliadinu (glutenu, lepku) slouží jako diagnostický parametr pro průkaz celiakie (celiakální sprue, gluten senzitivní enteropatie, dermatitis herpetiformis Dühring). Gliadin je důležitý spouštěcí faktor celiakie. Pomocí IgA protilátek lze monitorovat dodržování bezlepkové diety, IgG protilátky mají menší význam a jejich hodnota spíše odráží zvýšení střevní propustnosti.

Označení na žádance: anti gliadin IgG (žádanka „autoimunita“)

anti gliadin IgA (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pro IgG a IgA stanovení jsou normální hodnoty protilátek proti deamidovanému gliadinu menší než 10 IU/ml.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za týden podle počtu pacientů

### **5.3.4 Autoprotilátky proti kravskému mléku**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Proteiny kravského mléka (lactoglobulin, lactalbumin, kasein) mohou být u senzitivních osob příčinou intolerance kravského mléka. klinický stav této nesnášenlivosti je charakterizovaný nespecifickými gastroenterologickými příznaky (zvracení, průjem, bolest břicha, příp. možnost vzniku malabsorbčního syndromu).

Stanovení se provádí reakcí protilátek se směsným antigenem kravského mléka.

Označení na žádance: není, nutné zadat (např. anti kravské mléko IgG, IgA)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

negativní < 18 IU/ml

hraniční 18 – 22 IU/ml

pozitivní > 22 IU/ml

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za týden podle počtu pacientů

Doporučení:

V případě pozitivního nálezu protilátek proti směsnému antigenu je možné provést analýzu protilátek i proti jednotlivým antigenům kravského mléka ( $\beta$ -lactoglobulin,  $\alpha$ -lactalbumin, kasein).

### **5.3.5 Autoprotilátky proti tkáňové transglutamináze (AtTG)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Celiakální sprue je závažné chronické zánětlivé onemocnění trávicího ústrojí, jehož důsledkem je výrazný malasorbční syndrom. Spojuje v sobě mechanismy potravinové intolerance s rysy autoimunitní imunopatologické nemoci. Stanovení protilátek proti tkáňové transglutamináze ve třídě IgA je moderním diagnostickým parametrem pro průkaz tohoto onemocnění. Tyto protilátky velmi rychle reagují na dietu, proto se hodí k monitorování úspěšnosti léčby a dodržování dietního režimu.

Vyšetření protilátek ve třídě IgG má malý diagnostický význam a hodí se k monitorování pacientů s celiakií, kteří zároveň trpí selektivním IgA deficitem.

Označení na žádance: anti transglutamináza IgA (žádanka „autoimunita“ a „reprodukce“)  
anti transglutamináza IgG (žádanka „autoimunita“ a „reprodukce“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Negativní jsou výsledky s koncentrací do 10 IU/ml, ale mohou být důsledkem deficitu IgA a nevylučují celiakii. Na vyžádání lze provést vyšetření ve třídě IgG.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za týden podle počtu pacientů

## **5.4 Autoprotilátky – diabetes mellitus**

### **5.4.1 Autoprotilátky proti inzulínu (IAA)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Protilátky proti inzulínu jsou časným markerem diabetu 1. typu. Jsou nalézány u 37% nově diagnostikovaných pacientů. Mohou být detekovány několik měsíců až let před klinickou manifestací choroby. Korelují s věkem pacienta (klesají s věkem). Pokud se vyskytnou bez současného výskytu protilátek proti GAD a IA-2, riziko vzniku diabetu 1. typu se významně snižuje. Dále se tyto protilátky stanovují při monitorování inzulínové terapie při hypo-senzitivitě nebo v případech zvyšování potřeby inzulínu.

Označení na žádance: anti insulin IgG (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

negativní	do 5 IU/ml
hraniční	5 – 10 IU/ml
pozitivní	nad 10 IU/ml

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.4.2 Autoprotilátky proti ostrůvkovým buňkám pankreatu (ICA)**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence, ELISA

Význam stanovení:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Autoprotilátky proti ostrůvkovým buňkám pankreatu (ICA) reprezentují velmi dobře validovaný sérologický marker pro diabetes mellitus 1. typu, ale zvýšené protilátky lze najít i u pacientů s chronickou pankreatitidou.

Test prokazuje protilátky proti různým antigenům ostrůvkových buněk. Nejvýznamnějšími cíly jsou GAD (dekarboxyláza kyseliny glutamové) a IA-2 (tyrosinofosfatáza)

Označení na žádance: anti ICA fluorescence (žádanka „autoimunita“)  
anti ICA IgG ELISA (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Protilátky proti ostrůvkovým buňkám pankreatu reagují s endokrinní částí pankreatické tkáně a jsou manifestovány granulární cytoplazmatickou fluorescencí ve všech ostrůvkových buňkách.

Hodnotíme přítomnost a intenzitu fluorescence (pozitivní / negativní).

V případě potřeby lze stanovit i titr protilátek.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

Doporučení:

Pro toto vyšetření využíváme i další metody stanovení – ELISA screen, ve které je použita směs antigenů GAD a IA – 2.

Hodnocení : referenční meze-normální hodnoty 0-4 U/ml

### **5.4.3 Autoprotilátky proti dekarboxyláze kyseliny glutamové (GAD<sub>65</sub>)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Protilátky proti GAD se vyskytují u 70 – 80% pacientů s počínajícím diabetem 1. typu a u 80 – 90% pacientů v preklinickém stadiu. Ze statistických studií vyplývá, že při výskytu těchto protilátek dojde k rozvoji IDDM u 52% pacientů. Klinické potíže se rozvinou obvykle do 5 – 7 let po vzniku protilátek.

Označení na žádance: anti GAD 65 IgG (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**



Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty protilátek jsou do 10 U/ml.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

#### **5.4.4 Autoprotilátky proti tyrosinfosfatáze (IA – 2)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Protilátky jsou v závislosti na věku detekovatelné u 50 – 70% pacientů s diabetem 1. typu na počátku onemocnění. Vysoká prevalence je zaznamenána u dětí a dospívajících, zatímco u méně než 50% dospělých pacientů jsou detekovány až s objevením se klinických projevů.

Označení na žádance: anti tyrosinfosfatáza (IA2) IgG (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Za normální jsou považovány hodnoty koncentrace do 15 U/ml.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.5 Imunoglobuliny**

#### **5.5.1 Imunoglobuliny G, A, M (IgG, IgA, IgM)**

Metoda stanovení: imunonefelometrie

Význam stanovení:

Imunoglobuliny jsou glykoproteiny charakteristické svou protilátkovou aktivitou. Rozpoznávají antigeny, přispívají k jejich odstranění a neutralizují toxiny. Vyšetření hladin imunoglobulinů je indikováno při podezření na vrozený a získaný imunodeficit,

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

k monitorování substituční léčby hypogamaglobulinémií, k diagnostice a monitorování monoklonálních gamapatií a chronických zánětlivých onemocnění.

Označení na žádance: IgG, IgA, IgM (žádanka „sérové proteiny“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum, likvor

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty uvádí následující tabulka:

Věk	IgG (g/l)	IgA (g/l)	IgM (g/l)
0 – 1 týden	5,20 – 11,68	0,02 – 0,55	0,04 – 0,20
1 týden – 2 měsíce	4,94 – 10,55	0,02 – 1,86	0,01 – 0,81
2 – 4 měsíce	1,85 – 10,84	0,07 – 0,87	0,01 – 1,39
4 – 6 měsíců	4,16 – 9,25	0,10 – 1,22	0,14 – 1,02
6 měsíců – 1 rok	3,39 – 12,54	0,02 – 1,94	0,15 – 1,23
1 – 2 roky	5,69 – 12,14	0,02 – 1,09	0,32 – 2,44
2 – 5 let	4,58 – 16,02	0,20 – 1,56	0,77 – 2,13
5 – 10 let	3,95 – 19,35	0,08 – 2,48	0,82 – 3,14
10 – 15 let	8,44 – 22,40	0,56 – 3,08	0,43 – 3,27
více než 15 let	7,30 – 19,50	0,80 – 4,80	0,40 – 3,00

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

denně od pondělí do pátku, lze vyšetřit i STATIM v režimu 24/365

### **5.5.2 Imunoglobulin D (IgD)**

Metoda stanovení: radiální imunodifuze

Význam stanovení:

Imunoglobulin D má krátký poločas rozpadu (2 – 3 dny) a jeho koncentrace v séru je velmi nízká. Velmi vzácný je hyper IgD syndrom, horečnaté onemocnění se zvýšenou hladinou IgD, které má recidivující charakter.

Označení na žádance: IgD (žádanka „sérové proteiny“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty jsou uvedeny v následující tabulce:

Věk	IgD (g/l)
0 – 2 roky	0,001 – 0,028
2 – 5 let	0,001 – 0,042
5 – 10 let	0,020 – 0,081
10 – 15 let	0,030 – 0,090
více než 15 let	0,010 – 0,200

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za měsíc podle počtu pacientů

### **5.5.3 Imunoglobulin E (IgE)**

Metoda stanovení: luminiscenční enzymoimunoanalýza LEIA

Význam stanovení:

IgE tvoří pouze 0,004% z celkových imunoglobulinů. Poločas rozpadu má 2 dny. Hraje roli v patogenezi přecitlivělosti 1. typu. Zvýšené hodnoty jsou nalézány u atopických onemocnění (alergická rýma, astma, urtikárie, ekzém). U atopické dermatitidy nejsou vzácné extrémní hladiny. Frekvence patologické koncentrace celkových IgE je vyšší u alergie pylové než u alergie na roztoče a plísně. Vyšší hodnoty v pupečnickové krvi jsou považovány za znak predispozice k alergii. Patologické hodnoty se vyskytují u parazitárních infekcí, aspergilózy a některých imunodeficiencí. Při vyloučení parazitárního postižení je specifita zvýšené koncentrace IgE pro alergie velmi vysoká (asymptomatický pacient – prealergický stav).

Označení na žádance: IgE celkové (žádanka „sérové proteiny“ a „alergologie“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty jsou uvedeny v následující tabulce:

Věk	IgE (IU/ml)
0 – 1 rok	3 – 12
1 – 5 let	10 – 50
5 – 9 let	15 – 75
9 – 15 let	40 – 160
více než 15 let	35 – 200

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Omezení a interference:

Hemolytická, lipemická séra a séra s vysokým obsahem bilirubinu mohou poskytnout chybné výsledky.

Provádí se:

3x za týden podle počtu pacientů

Doporučení:

U pacientů s alergiemi by mělo následovat vyšetření specifických IgE (upřesnění stimulačního alergenu). Hodnoty celkového a specifického IgE nemusí korelovat, normální hodnoty celkového IgE nevylučují alergii.

#### **5.5.4. Podtřídy imunoglobulinu G (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4)**

Metoda stanovení: imunonefelometrie

Význam stanovení:

Podle typu gama řetězce se imunoglobulin G dělí do čtyřech podtříd, které hrají různou roli při imunitních reakcích. Náchyllost k určitému typu onemocnění může být příznakem selektivního imunodeficitu některé podtřídy. Častý je kombinovaný imunodeficit. Celkové IgG nemusí být při imunodeficitu podtříd sníženo. Toto vyšetření indikujeme při opakovaných virových a bakteriálních infekcích, imunodeficienci, atopii, alergii, atopické dermatitidě, cystické fibróze, při podezření na autoimunitní onemocnění. Kombinované defekty podtříd se mohou manifestovat jako potravinová alergie, astma, chronická obstrukční bronchitida, opakované otitidy, sinusitidy a infekce horních cest dýchacích, nejčastěji vyvolané infekcí *Neisseria meningitidis* nebo *Haemophilus influenzae*.

Označení na žádance: IgG1 - G4 podtřídy (žádanka „sérové proteiny“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty jsou uvedeny v následující tabulce:

Věk	IgG1 (g/l)	IgG2 (g/l)	IgG3 (g/l)	IgG4 (g/l)
0 – 2 měsíce	2,18 – 4,96	0,40 – 1,67	0,04 – 0,23	0,01 – 0,33
2 – 5 měsíců	1,43 – 3,94	0,23 – 1,47	0,04 – 1,00	0,01 – 0,14
5 – 8 měsíců	1,90 – 3,88	0,37 – 0,60	0,12 – 0,62	0,001 – 0,01
8 měsíců – 2 roky	2,86 – 6,80	0,30 – 3,27	0,13 – 0,82	0,01 – 0,65
2 – 4 roky	3,81 – 8,84	0,70 – 4,43	0,17 – 0,90	0,01 – 1,16
4 – 6 let	2,92 – 8,16	0,83 – 5,13	0,08 – 1,11	0,01 – 1,21
6 – 8 let	4,22 – 8,02	1,13 – 4,80	0,15 – 1,33	0,01 – 0,84
8 – 10 let	4,56 – 9,38	1,63 – 5,13	0,26 – 1,13	0,01 – 1,21
10 – 12 let	4,56 – 9,52	1,47 – 4,93	0,12 – 1,79	0,01 – 1,68

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

12 – 15 let	3,47 – 9,93	1,40 – 4,40	0,23 – 1,17	0,01 – 0,83
více než 15 let	3,15 – 8,83	1,39 – 5,46	0,04 – 1,07	0,01 – 0,93

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

denně od pondělí do pátku, lze vyšetřit i STATIM v režimu 24/365

Doporučení:

Stanovením podtříd je vhodné doplnit vyšetřením celkového IgG.

### **5.5.5 Podtřídy imunoglobulinu A (IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>)**

Metoda stanovení: imunonefelometrie

Význam stanovení:

Imunoglobulin A má dvě podtřídy, které se vyskytují v krvi i sekretech. Toto vyšetření se indikuje u imunodeficitu IgA, chorob ledvin, IgA nefropatie, neuropatii a celiakii. Výrazně zvýšené hodnoty jedné nebo druhé podtřídy IgA jsou často spojeny s výskytem myelomu. Velmi nízké hladiny IgA<sub>2</sub> jsou projevem sinopulmonárních infekcí.

Označení na žádance: IgA1 – A2 podtřídy (žádanka „sérové proteiny“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty jsou uvedeny v následující tabulce:

<b>Věk</b>	<b>IgA1 (g/l)</b>	<b>IgA2 (g/l)</b>
6 měsíců – 1 rok	0,01 – 1,15	0 – 0,19
1 – 2 roky	0,03 – 1,2	0 – 0,23
2 – 3 roky	0,07 – 1,32	0,01 – 0,23
3 – 4 roky	0,11 – 1,43	0,01 – 0,25
4 – 8 let	0,23 – 1,75	0,02 – 0,33
8 – 12 let	0,33 – 2,04	0,02 – 0,37
12 – 18 let	0,47 – 2,49	0,04 – 0,50
dospělí	0,60 – 2,94	0,06 – 0,61

Omezení a interference:

hemolytické a lipemické vzorky se nedoporučují

Provádí se:

1x za měsíc podle počtu pacientů

Doporučení:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Při stanovení podtříd je vhodné provést i vyšetření celkového IgA.

## **5.6 Komplementový systém**

### **5.6.1 C1q podjednotka komplementu**

Metoda stanovení: radiální imunodifuze

Význam stanovení:

Toto vyšetření má klinický význam pro stanovení případné vzácné deficiencie C1q, která je často spojená s glomerulonefritidou, bakteriálními sepsemi a kožními lézemi.

Označení na žádance: C1q (žádanka „sérové proteiny“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty jsou v rozmezí od 0,1 do 0,25 g/l.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 3 týdny podle počtu pacientů

### **5.6.2 C2 složka komplementu**

Metoda stanovení: radiální imunodifuze

Význam stanovení:

Klinicky zajímavá je deficiencie této složky. Je často spojená s různými imunopatologickými a revmatoidními onemocněními jako je systémový lupus erytematodes, diskoidní lupus, vaskulitidy (Henoch-Schönleinova purpura), glomerulonefritidy.

Označení na žádance: C2 (žádanka „sérové proteiny“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty jsou v rozmezí od 0,01 do 0,03 g/l.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 3 týdny podle počtu pacientů

### 5.6.3 C3 složka komplementu

Metoda stanovení: imunonefelometrie

Význam stanovení:

Je pozitivním reaktantem akutní fáze zánětu. Snížené hodnoty je možno najít u glomerulonefritid, imunopatologických stavů imunokomplexových a imunodeficitů. Zvýšené hodnoty doprovázejí akutní a chronické záněty, bakteriální infekce a některé malignity.

Označení na žádance: C3 (žádanka „sérové proteiny“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty jsou uvedeny v následující tabulce:

Věk	C3 (g/l)
0 – 5 let	0,09 – 0,70
5 – 15 let	0,32 – 0,93
více než 15 let	0,40 – 1,20

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

denně od pondělí do pátku, lze vyšetřit i STATIM v režimu 24/365

### 5.6.4 C4 složka komplementu

Metoda stanovení: imunonefelometrie

Význam stanovení:

Snížené hodnoty C4 byly zaznamenány u hereditárního angioedému, imunopatologických chorob s imunokomplexovou etiologií, glomerulonefritid, Henoch-Schönleinovy purpury a vrozeného deficitu C4. Zvýšené hodnoty se vyskytují u zánětlivých stavů.

Označení na žádance: C4 (žádanka „sérové proteiny“)

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty se pohybují v rozmezí 0,2 – 0,4 g/l.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

denně od pondělí do pátku, lze vyšetřit i STATIM v režimu 24/365

### **5.6.5 C5 složka komplementu**

Metoda stanovení: radiální imunodifuze

Význam stanovení:

Deficience C5 může být spojena se systémovým lupusem nebo infekcí bakteriemi rodu *Neisseria*.

Označení na žádance: C5 (žádanka „sérové proteiny“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty se pohybují v rozmezí od 0,04 do 0,15 g/l.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 3 týdny podle počtu pacientů

### **5.6.6 C1 esterázový inhibitor (C1 inh.)**

Metoda stanovení: radiální imunodifuze

Význam stanovení:

Snížené hodnoty jsou významným ukazatelem hereditárního angioedému. Asi 15% nemocných má hladinu C1 inhibitoru v normě, ale tento inhibitor je nefunkční. Kromě dědičné existují ještě získané formy deficitu C1 inhibitoru (alergie, malignity, léky, fyzikální vlivy).

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**



Označení na žádance: C1 inhibitor (žádanka „sérové proteiny“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty se pohybují v rozmezí od 0,15 do 0,35 g/l.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 3 týdny podle počtu pacientů

Doporučení:

Je doporučeno provádět test funkčnosti C1 inhibitoru (5.6.7)

### **5.6.7 C1 esterázový inhibitor – funkční test**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Viz. 5.6.6

Označení na žádance: C1 inhibitor funkční test (žádanka „sérové proteiny“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní nesrážlivá krev nebo plazma, srážlivá krev nebo sérum

Odběr:

sklo nebo plast s úpravou (**výhradně EDTA!**); sklo nebo plast bez úpravy

Manipulace s materiálem, transport:

do laboratoře musí být materiál dopraven nejlépe do 2 hodin od odběru (oddělenou plazmu nebo sérum pak do 4 - 8 hodin); vhodná je teplota při transportu v rozmezí od 4 do 8 °C; není-li možné dopravit materiál nejdéle do 4 - 8 hodin, je nutné vzorek zmrazit na - 20 °C a ve zmraženém stavu poté zaslat do laboratoře ke zpracování

Hodnocení výsledku, referenční meze:

funkční C1 inh. více než 68%

hraniční 41 – 67%

nefunkční C1 inh. méně než 40%

Provádí se:

1x za 3 týdny podle počtu pacientů

### 5.6.8 Funkčnost komplementové kaskády (celkový komplement)

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Komplementem je nazýván systém plazmatických bílkovin produkovaných především jaterními buňkami, z menší části makrofágy, schpných, jsou-li aktivovány poškodit membránu bakterie a tím ji zničit. Celý komplementový systém je složen z desítek různých proteinů s regulačními funkcemi. Složky komplementu jsou přítomny v séru v neaktivní formě a lze je aktivovat třemi cestami: klasickou, lektinovou a alternativní. Na aktivaci těchto cest je založena naše metoda stanovení.

Sníženou aktivitu komplementového systému můžeme najít u imunopatologických stavů spojených s imunokomplexy (systémový lupus, revmatoidní artritida, vaskulitidy), u bakteriálních a virových infekcí a sepsí, hematologických chorob, u glomerulonefritidy. Zvýšená aktivita bývá spojena s akutními stavy, systémovými chronickými infekcemi a může být přítomna v těhotenství.

Označení na žádance: celkový komplement – cesty aktivace klasická, alternativní, lektinová  
(žádanka „sérové proteiny“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum; plazma není vhodná

Odběr:

sklo nebo plast bez úpravy

Manipulace s materiálem, transport:

do laboratoře musí být materiál dopraven nejlépe do 2 - 4 hodin od odběru ve velmi těsně uzavřených odběrových nádobách, aby bylo zabráněno in vitro aktivaci komplementu; sérum je třeba transportovat ve zmrzlém stavu nejdéle do 18 hodin od odběru, vhodné je chlazení suchým ledem

Vzhledem k velmi omezenému transportu vzorku do laboratoře by bylo vhodné pacienta telefonicky objednat k odběru do naší ambulance.

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Výsledek je vyjádřen jako procento komplementární aktivity.

Normální hodnoty:

klasická cesta > 40%

lektinová cesta > 10%

alternativní cesta > 10%

Kombinací těchto tří stanovení lze najít možné deficiencie. Na tuto skutečnost odkazuje následující tabulka:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Klasická cesta	MBL cesta	Alternativní cesta	Možné deficience
pozitivní	pozitivní	pozitivní	Není
negativní	pozitivní	pozitivní	C1q, C1r, C1s
pozitivní	pozitivní	negativní	Properdin, faktor B, D
pozitivní	negativní	pozitivní	MBL, MASP2
negativní	negativní	negativní	C3, C5, C6, C7, C8, C9
negativní	negativní	pozitivní	C4, C2 nebo jejich kombinace

Omezení a interference:

omezení spočívá v náročnosti transportu

Provádí se:

1x měsíc podle počtu pacientů

### 5.6.9 Protilátky proti C1q

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Protilátky proti C1q jsou nejvýznamnější autoprotiátkou proti komplementu. Jsou přítomny asi u třetiny nemocných se SLE, korelují s klinickou aktivitou a s přítomností lupusové glomerulonefritidy. Vysoké titry anti C1q protilátek jsou doprovázeny sníženými hladinami C1, ale také C3 a zejména C4 složky komplementu. Přítomnost anti-C1q protilátek není omezena či specifická pouze pro lupus. Poprvé byly popsány v případě syndromu HUVS (Hypocomplementemic Urticarial Vasculitis Syndrome), později také při Feltyho syndromu, revmatoidní vaskulitidě, u hepatitidy C a ve stárnoucí populaci. Asociace mezi přítomností protilátek anti C1q, spotřebou komplementu a přítomností renálního postižení v případě SLE vzbuzuje otázku, zda a jak se tyto autoprotiátky podílejí na patogenezi orgánového postižení. Jak ukazují zvířecí modely choroby, pro vznik lupusové nefritidy je potřebná přítomnost jak anti-dsDNA, tak anti-C1q protilátek, jejichž vzájemná interakce spouští mechanismy rozvoje imunokomplexového renálního postižení.

Označení na žádance: anti C1q (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

negativní < 10 IU/ml

pozitivní ≥ 10IU/ml

Provádí se:

1x za 4 týdny podle počtu pacientů

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

## **5.7 Další sérové proteiny**

### **5.7.1 C – reaktivní protein (CRP)**

Metoda stanovení: imunonefelometrie

Význam stanovení:

CRP je velmi rychle reagující protein akutní fáze zánětu, jeho vzestup nastává už za 6 hodin s maximem za 1 – 3 dny (nárůst až 1000x). Jeho stanovením lze orientačně odlišit bakteriální a virovou infekci – po bakteriální stoupá prudce a výrazně, virová infekce zpravidla nemá na CRP výraznější vliv. Toto vyšetření má dále význam při revmatologických onemocněních, tumorech, meningitidách, sepsích, při poškození tkání, při sledování pacientů s infarktem myokardu.

Označení na žádance: CRP (žádanka „sérové proteiny“ a „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Hodnoty nad 5 mg/l jsou považovány za zvýšené pro všechny věkové kategorie i obě pohlaví.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

pouze pro vnitřní potřeby ambulance ÚKIA

### **5.7.2 Interleukin – 6**

Metoda stanovení: luminiscenční enzymoimunoanalýza LEIA

Význam stanovení:

Interleukin – 6 je produkován makrofágy, Th2 – lymfocyty, fibroblasty nebo endotelem. Jeho hlavní funkcí je aktivace B – lymfocytů (jejich přeměna na plazmocyty) a tím zvýšení sekrece protilátek. IL – 6 je prozánětlivý, vyvolává akutní fázi zánětu.

Je rovněž růstovým faktorem pro myelom.

Označení na žádance: IL-6 plodová voda, sérum (žádanka „sérové proteiny“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum; plodová voda

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

normální hodnota 1,5 – 7 µg/l

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

Individuálně dle počtu a naléhavosti požadavků

### **5.7.3 Beta – 2 – mikroglobulin**

Metoda stanovení: luminiscenční enzymoimunoanalýza LEIA

Význam stanovení:

Beta 2 mikroglobulin je součástí molekul HLA I. třídy exprimovaných na povrchu všech jaderných buněk, zvláště vysoká hustota je na povrchu lymfocytů. Při rozpadu buněk se uvolňuje do krevní plazmy. Jako nízkomolekulární protein je filtrován v glomerulech a zpětně resorbován zdravými tubulárními buňkami. Zvýšené sérové hladiny představují laboratorní marker hematologických malignit odvozených od lymfocytů a plazmocytů jako je mnohočetný myelom (rozlišení maligní a benigní formy, prognostický význam), chronická lymfatická leukémie, lymfomy. Koncentrace beta 2 mikroglobulinu koreluje se závažností onemocnění, slouží pro sledování jeho průběhu a sledování úspěšnosti léčby. Během léčby je uvolňován v důsledku smrti buněk, toto zvýšení přetrvává minimálně 3 měsíce po terapii. Zvýšené hladiny jsou dále popisovány u chronických zánětlivých a autoimunitních onemocnění, u systémových onemocnění pojiva, revmatoidní artritidy, virové hepatitidy (prognostický význam), AIDS. Ke vzestupu sérové koncentrace beta 2 mikroglobulinu dochází také v důsledku poklesu glomerulární filtrace u některých poruch ledvin. Slouží k monitorování chronické i akutní renální insuficience, zvýšení hladiny v séru a pokles v moči je ukazatelem rejekce po transplantaci ledvin. Zvýšení odpadu beta 2 mikroglobulinu moči je citlivým indikátorem tubulárního poškození ledvin.

Označení na žádance: beta – 2 – mikroglobulin (žádanka „proteiny“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní sražitivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

normální hladina v séru je 0,8 – 3,0 mg/l

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

## **5.8 Nepřímý průkaz bakteriálních infekcí**

### **5.8.1 Antistreptolysin O (ASLO)**

Metoda stanovení: imunonefelometrie

Význam stanovení:

Streptolysin O je enzym produkovaný streptokoky A, C a G. Hladiny protilátek proti streptolysinu O stoupají týden po infekci, s vrcholem za 2 – 4 týdny. Následný pokles protilátek do normálních hodnot může trvat až několik měsíců. Stanovení má význam zejména pro diagnostiku a hodnocení rizika vzniku sterilních následků streptokokových nákaz (revmatická horečka, poststreptokoková glomerulonefritida), doprovázených perzistencí vysokých hodnot. U akutní infekce (faryngitida, spála) se doporučuje dvojí odběr v intervalu 2 – 4 týdnů. Test nemá dostatečnou citlivost u kožních streptokokových infekcí. Falešně pozitivní nález může být způsoben zvýšenými hladinami  $\beta$  lipoproteinů u jaterních chorob a v případě kontaminace séra bakteriemi rodu *Pseudomonas* nebo *Bacillus cereus*.

Označení na žádance: ASLO (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální je koncentrace v rozmezí od 0 do 200 IU/ml.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

denně od pondělí do pátku, lze vyšetřit i STATIM v režimu 24/365

### **5.8.2 Bordetella pertussis – protilátky proti toxinu (ELISA)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

*Bordetella pertussis* je původcem dávivého kašle. Vzhledem k očkování je v populaci běžná určitá základní hladina protilátek. Její výše závisí na odpovědi imunitního systému pacienta a intervalu posledního očkování. Po očkování lze stanovení použít jako kontrolu fyziologické humorální imunitní odpovědi organismu.

Protilátky jsou v séru detekovatelné za 2 – 3 týdny od počátku klinických projevů nemoci, s maximem za 8 – 10 týdnů. Pro diagnostiku akutní infekce je nezbytné vyšetření párových vzorků v rozmezí 14 dnů.

Pro stanovení specifických protilátek proti *B. pertussis* jsou doporučeny ELISA testy využívající jako antigen Pertussis Toxin. Tyto testy vylučují možnost detekce protilátek souvisejících s infekcí *B. parapertussis*.

Označení na žádance: Bordetella pertussis – antitoxin ELISA IgG, IgA (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

IgG:

negativní < 40 IU/ml

hraniční 40 – 100 IU/ml

pozitivní > 100 IU/ml

IgA:

negativní < 12 IU/ml

pozitivní ≥ 12 IU/ml

IgG/IgA protilátkový profil:

<b>IgG</b>	<b>IgA</b>	<b>Interpretace</b>
negativní	negativní	neindikuje žádnou infekci <i>B.pertussis</i>
hraniční	negativní	neindikuje nedávno prodělanou infekci
hraniční nebo negativní	pozitivní	indikuje nedávno prodělanou infekci
pozitivní	negativní nebo pozitivní	indikuje nedávnou nebo minulou infekci nebo minulou imunizaci
pozitivní	pozitivní	indikuje současnou infekci

Pokud nemůže být s určitostí stanovena diagnóza na základě testování jednoho vzorku séra (hraniční výsledky) a výsledky zcela nekorelují s klinickými příznaky, je potřeba zopakovat testování druhého vzorku po 2 – 4 týdnech.

Stanovení negativních protilátek nevylučuje infekci *B. pertussis*. Test může vykazovat negativní výsledek díky nízkému titru protilátek při časném stadiu infekce.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za týden podle počtu pacientů

### **5.8.3 Bordetella pertussis – protilátky IgG, IgA, IgM (ELISA)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

viz. 5.8.2

Označení na žádance: Bordetella pertussis IgG, IgA, IgM ELISA (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty jsou uvedeny v následující tabulce:

	negativní	hraniční	pozitivní
<b>IgG (IU/ml)</b>	< 14	14 – 18	> 18
<b>IgA (IU/ml)</b>	< 19	19 – 26	> 26
<b>IgM (IU/ml)</b>	< 11	11 – 17	> 17

U akutního onemocnění se vytváří protilátky ve třídě IgM a IgA. Protilátky ve třídě IgA se netvoří po očkování, pouze u probíhající infekce (v časně fázi infekce). Vzhledem k tomu lze toto vyšetření použít k rozlišení „přirozené infekce“ od postvakcinační reakce. Protilátky IgG jsou přítomny jak po sérokonverzi u infekce, tak i po vakcinaci.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za týden podle počtu pacientů

#### **5.8.4 Bordetella parapertussis – protilátky (aglutinace)**

Metoda stanovení: aglutinace

Význam stanovení:

*Bordetella parapertussis* vyvolává onemocnění podobné dávivému kašli, ale s mírnějším průběhem. Pro diagnostiku akutní infekce se vyšetřují párové vzorky odebrané v rozmezí 14 dnů. Vzhledem k promořenosti dětské populace jsou nízké (a stabilní) titry protilátek běžné.

Označení na žádance: Bordetella parapertussis (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**



Výsledek dodáváme v podobě titru protilátek. Normální hodnoty se při párovém odběru s odstupem 2 – 4 týdnů mohou lišit maximálně dvojnásobně.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.8.5 *Brucella abortus* – protilátky**

Metoda stanovení: přímá aglutinace a následný Coombsův test pro průkaz inkompletních protilátek

Význam stanovení:

*Brucella abortus* je primárně zvířecí intracelulární parazit. Snadno proniká do tkání, vyvolává postižení lymfatického systému, sleziny, pohlavních a dalších orgánů, má sklon k přetrvávání uvnitř buněk. Lidé se nejčastěji nakazí kontaktem se zvířaty nebo jejich exkrementy. Parazit proniká i neporušenou kůží. U nás se setkáváme výhradně s brucelózou typu Bangovy choroby. Brucelóza má u člověka různě dlouhou inkubační dobu (obvykle 1 – 3 týdny), může proběhnout i bez příznaků. Při aktivní infekci a krátce po ní jsou titry protilátek vysoké, zejména v testu pomalé aglutinace. Doporučuje se testovat séra v intervalu 5 dní. Progresivní nárůst protilátek svědčí o probíhající infekci. Po přeléčení protilátky v pomalé aglutinaci rychle klesají, Coombsův test zůstává zvýšený déle a proto se používá při diagnostice chronických brucelóz. Přetrvávající hladiny protilátek mohou značit zbytkové ložisko infekce s rizikem relapsu.

Označení na žádance: zoonózy - *Brucella abortus* (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

- a) aglutinace – silně pozitivní / slabě pozitivní / hraniční / negativní; dále pomocí titru protilátek, normální hodnoty jsou do titru 80. Většinou se při pozitivitě vyskytují titry od 160 do 640, které během několika měsíců klesají.
- b) Coombsův test – výsledek vyjadřujeme pomocí titru, normální hodnoty jsou do 80. V chronickém stadiu nemoci jsou protilátky přítomny v signifikantních hodnotách, kdežto kompletní protilátky jsou v aglutinační reakci velmi nízké nebo negativní.

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.8.6 Protilátky proti *Borrelia burgdorferi sensu lato* (ELISA)**

Metoda stanovení: ELISA

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Význam stanovení:

Původcem onemocnění lymeskou boreliózou u nás jsou zejména druhy *Borrelia afzelii* a *Borrelia garinii*, jen výjimečně zde byla nalezena *B. burgdorferi sensu stricto*. Onemocnění je přenášeno především klíštětem. Klinická diagnostika boreliózy je komplikovaná vzhledem k často nespecifickým příznakům zahrnujícím kůži, klouby, svaly, periferní nervy a srdce.

Protilátky IgM se objevují 1 – 3 týdny po nákaze, po 1 – 3 měsících obvykle mizí. Kontrolní odběr se doporučuje nejdříve za 3 měsíce od zahájení léčby. Protilátky IgG se objevují za 1 – 2 měsíce, vrcholí mezi 3. a 4. měsícem. Po léčbě mohou přetrvávat léta. *Borrelie* je pravděpodobně schopna přežít v těle hostitele léčbu, ale může zde pouze zanechat materiál obsahující nukleové kyseliny i imunogenní proteiny. Přetrvávající sérologická pozitivita tedy neznamená automaticky selhání terapie a perzistenci bakterií a není indikací k další léčbě.

Časté jsou také nespecifické positivity testu způsobené např. přítomností revmatoidních faktorů, antinukleárních a antifosfolipidových protilátek, polyklonální stimulací protilátkové odpovědi virovými infekcemi (EBV, VZV), infekcí jinými spirochetami, leptospirami i fylogeneticky vzdálenějšími druhy bakterií.

Negativní sérologický nález nevylučuje onemocnění boreliózou. V počáteční fázi infekce se doporučuje opakovat vyšetření po 2 – 4 týdnech. Negativita v pozdějších fázích může být dána vazbou protilátek v imunokomplexech.

Označení na žádance: *Borrelia* sp. IgG, IgM sérum, likvor (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum; nesrážlivá krev nebo plazma; likvor; synoviální tekutina

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Hodnotíme podle indexu positivity:

sérum, plazma, likvor

<b>index positivity</b>	<b>hodnocení</b>
menší než 0,9	negativní
0,9 – 1,1	hraniční
větší než 1,1	pozitivní

Pokud je zjištěn pozitivní index protilátek pouze ve třídě IgG, jedná se s největší pravděpodobností o možnou předchozí infekci nebo opakovanou infekci. Pokud jsou zjištěny protilátky pouze ve třídě IgM, jedná se pravděpodobně o primární infekci. A pokud jsou pozitivní indexy v obou třídách, jde pravděpodobně o akutní infekci.

Vyšetření hraničních vzorků (s indexem 0,9 – 1,1) je třeba opakovat z nového odběru za 2 – 6 týdnů s ohledem na specifika onemocnění.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

1x za týden podle počtu pacientů

Doporučení:

Vzhledem k poměrně častým nespecifickým reakcím, které vedou k falešné pozitivitě u ELISA metody (je doporučena jako screeningový test), se doporučuje jako konfirmační test imunoblotová technika stanovení specifických protilátek proti borreliím (viz. 5.8.7).

**5.8.7 Protilátky proti *Borrelia garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto* (imunoblot)**

Metoda stanovení: imunoblot

Význam stanovení:

Vyšetření protilátek imunoblotem umožňuje průkaz protilátek proti jednotlivým antigenním strukturám borrelií, které byly předem rozděleny na základě molekulových hmotností pomocí elektroforézy. Lze tak rozpoznat protilátky proti proteinům specifickým pouze pro borrelie a tedy diagnosticky významným, od protilátek proti proteinům konzervovaným a tedy nespecifickým, exprimovaným i jinými mikroby. Sérologická diagnostika suspektní boreliózy se tedy doporučuje provádět dvojestupňově (ELISA jako screeningový test a imunoblot jako test konfirmační). Imunoblotem jsme schopni prokázat i malá kvanta specifických protilátek, v ELISA testu ještě pod hranicí positivity.

Označení na žádance: *Borrelia* sp. IgG, IgM imunoblot (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Výsledek u obou tříd imunoglobulinů je v kvalitativní podobě (pozitivní / hraniční / negativní). Vychází z počtu nalezených reakcí, ze specifity protilátkami rozpoznaných antigenů pro borrelii a intenzity barevné reakce, která závisí na množství protilátek v séru pacienta a hodnotí se vizuálně se stupnicí -, +/-, +, ++. Na výsledkovém listě je uveden i podrobný rozpis nalezených reakcí proti konkrétním antigenům pro případné porovnání změn protilátkové odpovědi v čase.

Pro sledování odeznívání protilátkové odpovědi při eliminaci infekce léčbou však test není příliš vhodný, protilátková odpověď přetrvává dlouhodobě. Výsledky, které nejsou jednoznačně pozitivní nebo negativní, jsou označovány za hraniční (nejisté). Pokud klinický obraz (anamnéza) v těchto případech naznačuje počáteční fázi infekce, doporučuje se vyšetření opakovat se čtrnáctidenním odstupem a sledovat, zda dochází k rozvoji specifické protilátkové odpovědi (přechodu do positivity).

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za měsíc podle počtu pacientů

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

### **5.8.8 Clostridium tetani – protilátky proti tetanovému toxoidu**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Tetanus je celkové onemocnění, následek tvorby toxinu bakterií *Clostridium tetani* v infikované ráně. Mikrob sám není invazivní, zůstává prakticky vždy v místě infekce. Nejčastěji se vyskytuje v půdě, odkud se může lehce dostat i do malých povrchových neošetřených ran. *C. tetani* produkuje dva důležité toxiny: neurotoxin (tetanospasmin), který je odpovědný za soubor neurologických příznaků, a oxygenlabilní hemolysin (tetanolysin), který má slabě nekrotické vlastnosti. Neurotoxin se snadno převádí na toxoid (anatoxin), který je vhodný k aktivní imunizaci.

Stanovení slouží ke kontrole hladiny protilátek proti vakcinačnímu antigenu při rozhodování o vakcinaci, např. u osob s nejasnou anamnézou poslední dávky aktivní imunizace proti tetanu. Stanovení lze dále využít u imunokompromitovaných jedinců (CVID, AIDS, hematologické malignity, opakované sinopulmonální a gastrointestinální infekce) k monitorování schopnosti humorální imunity odpovídat na antigeny proteinového charakteru.

Označení na žádance: tetanový toxoid IgG (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty jsou udávány v rozmezí 0,19 – 3,10 mg/l (přepočteno z IU/ml na mg/l vztahem 1 IU/ml = 17 mg/l).

Při rozhodování o vakcinaci se uvádí následující kritéria:

< 0,1 IU/ml	základní očkování (3 dávky)
0,1 – 0,5 IU/ml	přeočkování (1 dávka)
0,5 – 1,0 IU/ml	vyšetření opakovat během dvou let, podle výsledku rozhodnout další postup
> 1,0 IU/ml	pokračovat v normálním očkovacím schématu s přeočkováním každých 15 let

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.8.9 Francisella tularensis – protilátky**

Metoda stanovení: aglutinace

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Význam stanovení:

*Francisella tularensis* je původcem tularémie. Jedná se primárně o onemocnění divoce žijících zvířat, především hlodavců, přenášené na člověka kontaktem s infikovaným zvířetem, kontaminovanou vodou, prachem. K šíření přispívají klíšťata a ovádi. Vstupní bránou infekce je kůže a sliznice. Podle místa vstupu infekce se onemocnění manifestuje jako ulceroglandulární (ulcerativní kožní léze, zvětšené spádové uzliny), anginózní, tyfoidní, plicní nebo okuloglandulární forma. Inkubační doba je 1 – 10 dní. Protilátky mohou být testem prokazatelné za 7 – 10 dnů po infekci, maxima u neléčené infekce dosahují za 1 – 3 měsíce. U suspektní tularémie s nízkým titrem protilátek se doporučuje sledovat pohyb titru s odstupem 1 – 2 týdny po prvním odběru. Čtyřnásobný vzestup titru je známkou probíhající infekce. Stálá hladina protilátek je typická pro překonanou infekci. Mírně zvýšené titry mohou přetrvávat řadu let, mnohdy i po celý život. V nízkých titrech existují zkřížené reakce s brucelami a s *Proteus* OX-19.

Označení na žádance: zoonózy - *Francisella tularensis* (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Výsledek je v podobě titru protilátek.

normální hodnota      titr do 20

Pokud je titr protilátky vyšší než 80, určuje se přesný titr protilátek opakovaným měřením (až 20 480).

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.8.10 *Haemophilus influenzae* typ B – protilátky proti kapsulárnímu antigenu**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

*Haemophilus influenzae* typu B (HiB) je opouzdřená Gram-negativní bakterie. Je původcem těžkých infekčních onemocnění, zejména u dětí do šesti let věku (meningitida, septikémie, epiglottitida, pneumonie). Onemocnění souvisí s nezralostí imunitního systému nebo s latentním imunodeficitem, se sníženou protilátkovou odpovědí na polysacharidový antigen pouzdra této bakterie. Tento kapsulární (pouzderný) antigen je důležitým faktorem virulence HiB. Protilátky proti němu jsou nezbytné pro antiinfekční obranu organismu. Ve spolupráci s komplementem podmiňují účinnou fagocytózu bakterií. Vakcinace kapsulárním

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

polysacharidem HiB u dětí se ukázala být účinnou prevencí, snižující počet i závažnost průběhu hemofilových infekcí. Stanovení protilátek před a po vakcinaci umožňuje hodnotit úspěšnost očkování.

Označení na žádance: Hemophilus influenzae IgG (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Rozmezí normálních hodnot protilátek proti HiB se uvádí nezávisle na věku a pohlaví pacienta 0,20 – 23,40 mg/l, ale imunitní odezva na HiB vakcínu závisí na věku pacienta. Jako orientační hodnota se všeobecně akceptuje koncentrace protilátky 0,15 mg/l jako minimální hladina vyžadovaná pro ochranu v daný okamžik; tato koncentrace však nezaručuje dlouhodobou ochranu. Optimální ochranná hladina by měla být vyšší než 1,0 mg/l.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.8.11 *Helicobacter pylori* – protilátky (ELISA)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Infekce *H. pylori* je pravděpodobně jednou z nejčastěji se vyskytujících bakteriálních infekcí. V dospělé populaci lze *H. pylori* nalézt až u 50% osob. Infekce probíhá v mnoha případech bez klinických projevů a zůstane proto neodhalena. Vede ke vzniku a rozvoji zánětu žaludeční sliznice, především sliznice antra, který ve většině případů přechází do chronické fáze. Chronická gastritida je obvykle dlouhodobý proces a může mít za následek vředovou chorobu gastroduodena, žaludeční adenokarcinom nebo MALT lymfom.

Pro diagnostiku infekce *H. pylori* je k dispozici celé spektrum metod. Vedle metod invazivních (biopsie žaludeční sliznice) jsou i testy neinvazivní, méně zatěžující pacienta: stanovení protilátek a dechový test. Sérologické testy jsou vhodné pro epidemiologické studie, pro vyšetření členů rodiny nemocného. Umožňují cílený výběr pacientů pro endoskopii, lze je využít pro monitorování úspěšnosti eradikační léčby. Jako kontrola se doporučuje porovnání hladin před a po léčbě, s odstupem 6 měsíců. Jako signifikantní je zde považován pokles protilátek minimálně a 40%. Ale ani po roce od ukončení léčby nemusí dojít k normalizaci hodnot.

Označení na žádance: *Helicobacter pylori* IgG ELISA (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

negativní	< 16 IU/ml
hraniční	16 – 22 IU/ml
pozitivní	> 22 IU/ml

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

**5.8.12 *Helicobacter pylori* – protilátky (imunoblot), průkaz protilátek proti antigenu CagA**

Metoda stanovení: imunoblot

Význam stanovení:

*Helicobacter pylori* je zakřivená Gram-negativní obrvená tyčinka, biochemicky nepříliš aktivní. Její schopnost přežít a množit se v prostředí žaludeční sliznice jí umožňuje vysoká tvorba ureázy, která rozkládá močovinu za vzniku amoniaku. Ten pufruje pH v blízkém okolí bakterie.

Kmeny *H. pylori* (typ I – vysoká virulence), které exprimují CagA (protein kódovaný genem *cag A* /cytotoxicity – associated gene A/), jsou spojeny s vyšší mírou poškození žaludeční sliznice a jsou nalézány u osob s duodenálními nebo žaludečními vředy, s atrofickou gastritidou a adenokarcinomem žaludku. Kmeny, které nesou gen CagA, velmi často koexprimují také gen VacA, kódující toxin schopný indukovat vakuolizaci epitelových buněk žaludku.

Vyšetření umožňuje stanovit protilátky ve třídě IgG a IgA a identifikovat specifitu těchto protilátek proti konkrétním vybraným diagnosticky relevantním antigenům této bakterie.

Označení na žádance: *Helicobacter pylori* CagA - blot IgG, IgA (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Antigeny jsou rozděleny do tří skupin:

1. skupina: antigeny se zkříženou reaktivitou a nedefinované antigeny s molekulovou hmotností 41, 50, 54, 57, 67 a 75 kDa
2. skupina: ureasa B (66 kDa)

3. skupina: druhově specifické antigeny s molekulovou váhou 17, 19, 26 (p26), 29 (p29 urea A), 30, 33, 95 (VacA) a 120 kDa (CagA)

Pro IgA platí:

- negativní - žádný antigen nebo některý slabě výrazný antigen 1. a 2. skupiny nebo jeden slabě výrazný antigen ze 3. skupiny
- hraniční - minimálně dva slabě antigeny ze 2. nebo 3. skupiny nebo výrazný typický antigen ze 3. skupiny
- pozitivní - minimálně dva výrazní typické antigeny ze 2. nebo 3. skupiny

Pro IgG platí:

- negativní - žádný antigen nebo některý slabě výrazný antigen 1. a 2. skupiny nebo jeden slabě výrazný antigen ze 3. skupiny
- hraniční - výrazný antigen 3. skupiny nebo minimálně dva slabě výrazné antigeny 3. skupiny
- pozitivní - minimálně dva výrazné antigeny 3. skupiny

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 14 dní podle počtu pacientů

### **5.8.13 Listeria monocytogenes – protilátky**

Metoda stanovení: přímá aglutinace

Význam stanovení:

Listerióza je onemocnění převážně alimentárního původu, přenášené ze zvířat na člověka nedokonale tepelně opracovanými potravinami (maso, mléko, sýry, zelenina). Listerie se v kontaminovaných potravinách množí i při chladírenských teplotách. Závažné jsou generalizované formy infekce (meningitida, sepse), které se objevují u oslabených jedinců, např. při imunosupresi po transplantacích, u nádorových onemocnění, starších lidí, diabetiků, novorozenců. Vysoce rizikovou skupinou jsou těhotné ženy. Plod se může nakazit transplacentárním přenosem od 10. týdne gestace. Novorozenec se může nakazit i při průchodu porodními cestami. Infekce u těhotné obvykle probíhá subklinicky, případně s mírnými chřipkovými projevy.

Při vyšetření je důležité sledovat dynamiku tvorby protilátek v odběrech s odstupem 5 – 10 dnů. U listerií se poměrně často vyskytují zkřížené reakce např. s enterokoky a stafylokoky, nízké a stabilní titry protilátek (do 160) jsou proto v populaci běžné.

Označení na žádance: zoonózy - Listeria monocytogenes O – I, II, O – V  
(žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**



Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pro antigenní příbuznost *L. monocytogenes* s některými běžnými patogeny (stafylokoky, enterokoky) je hodnocení sérologických výsledků obtížné. Titry do 160 se považují za suspektní a od 320 za diagnosticky průkazné.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.8.14 Salmonella – protilátky (screen)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Salmonely jsou původci gastroenteritidy a tyfoidní horečky a celosvětově patří mezi nejvýznamnější patogeny způsobující onemocnění z potravin. Rod *Salmonella* patří do čeledi *Enterobacteriaceae*, je to fakultativně anaerobní, nesporulující, gramnegativní tyčinka velikosti 0,7 – 1,5 x 2 – 5 µm. Salmonely jsou pohyblivé díky 4 – 5 peritrichálním bičikům (s výjimkou *S. pullorum* a *S. gallinarum*), povrch těla většiny salmonel je pokryt fimbriemi adhezivního typu.

V praxi lze salmonely rozdělit na sérotypy, které jsou primárně patogenní pro člověka a jsou příčinou závažných systémových onemocnění - tyfů a paratyfů (sérotypy *Typhi* a *Paratyphi*) a dále na původce tzv. salmonelóz – tj. průjemových onemocnění, způsobených převážně zoopatogenními kmeny salmonel. Zoopatogenní salmonely jsou v současné době spolu s kampylobaktery nejčastějšími původci bakteriálních střevních nákaz. Za vhodných podmínek se rychle množí v potravinách.

Při vyšetření Salmonella Screen se stanovují protilátky proti *S. typhimurium*, *S. enteritidis* a *Salmonella typhi*.

Označení na žádance: Salmonella typhi, enterica – protilátky  
(žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / hraniční / negativní

Výsledky získané pomocí tohoto stanovení nejsou diagnostickým důkazem přítomnosti nebo nepřítomnosti onemocnění. Pozitivní výsledek naznačuje určité onemocnění, které musí být

potvrzeno klinickými nálezy a dalšími sérologickými testy. Negativní výsledek může být naopak v časném stádiu infekce.

Omezení a interference:

hemolytické a lipemické vzorky nejsou pro stanovení vhodné

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.8.15 Streptococcus pneumoniae – protilátky proti kapsulárnímu polysacharidu**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

*Streptococcus pneumoniae* může vyvolat pneumonii, meningitidu, sepsi. Ohrožuje zejména nemocné se sníženou funkční kapacitou sleziny (hyposplenismus, splenektomie, hematologické malignity), malé děti a starší osoby. Hlavním faktorem patogenity *S. pneumoniae* je pouzdro, které brání fagocytóze. Fagocytózu opouzdřené bakterie umožňuje opsonizace pomocí protilátek proti kapsulárnímu (pouzdernému) polysacharidu (PCP) ve spolupráci s komplementem. Vzhledem k protektivnímu efektu těchto protilátek se PCP užívá k vakcinaci. Vakcína vpravuje do těla 23 polysacharidů izolovaných ze *S. pneumoniae*. Tyto polysacharidy reprezentují přibližně 80% běžně se vyskytujících virulentních sérotypů. Stanovení protilátek před a po očkování umožňuje hodnotit úspěšnost imunizace. Hladina protilátek odráží i funkci imunitního systému, reaktivitu na antigeny polysacharidového charakteru.

Označení na žádance: Streptococcus pneumoniae IgG (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnota je v rozmezí od 20 do 200 mg/l.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.8.16 Treponema pallidum – rychlá reaginová reakce (RRR)**

Metoda stanovení: aglutinace

Význam stanovení:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Jedná se o netreponemový test sloužící k průkazu syfilis. Test prokazuje tzv. reaginy, což jsou protilátky proti Wassermanově antigenu. RRR spolu s TPHA představují dva základní vyhledávací testy pro lues, které jsou doporučeny WHO. Povinnému screeningovému vyšetření podléhají těhotné ženy v prvním trimestru těhotenství, pupečnicková krev zachycená při porodu, novorozenci nemocných matek, krevní dárce a dárce orgánů. Protilátky v séru jsou testem RRR detekovatelné za 1 – 2 týdny po infekci, v likvoru po 4 – 8 týdnech. Test je pozitivní v aktivní fázi onemocnění, naopak v latentní fázi může přejít i bez léčby do negativity. Falešně pozitivní výsledky testu se mohou vyskytnout např. u systémových onemocnění pojiva, antifosfolipidového syndromu, jiných infekcí (malárie, lepra, mononukleóza, spalničky, borelióza), v těhotenství. Pozitivní nález musí být potvrzen, např. imunofluorescencí.

Označení na žádance: RPR (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum; likvor

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní; v případě positivity lze stanovit titr.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

denně od pondělí do pátku, lze vyšetřit i STATIM v režimu 24/365

### **5.8.17 *Treponema pallidum* – hemaglutinace (TPHA)**

Metoda stanovení: nepřímá hemaglutinace

Význam stanovení:

TPHA prokazuje protilátky proti treponemovým antigenům. Po prodělané infekci test zůstává dlouhodobě pozitivní. Nespecificky pozitivní reakce se mohou vyskytnout u některých autoimunitních onemocnění, infekci dýchacích cest, infekcí způsobených jinými spirochetami (borelie, leptospira), u malárie atd. Pozitivní výsledky testu dávají i protilátky proti nepatogenním treponemám. Pozitivní nález proto musí být potvrzen jiným testem, např. imunofluorescencí.

Označení na žádance: TPHA (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum; likvor

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní; stanovení pomocí titrů se doporučuje při vyšetření likvoru

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

denně od pondělí do pátku, lze vyšetřit i STATIM v režimu 24/365

**5.8.18 Treponema pallidum – pomalá aglutinace (TPPA)**

Metoda stanovení: nepřímá aglutinace

Význam stanovení:

Metoda je založena na stejném principu jako TPHA. Jako nosič antigenu jsou použity inertní (želatinové) částice.

Označení na žádance: TPPA /pomalá aglutinace/ (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

**5.8.19 Treponema pallidum – imunofluorescence (FTA)**

Metoda stanovení: nepřímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Jedná se o základní konfirmační test v diagnostice syfilis, který se aplikuje v případě positivity nebo nejednoznačného výsledku screeningových testů (RRR a TPHA). Vyšetřovaná séra jsou před provedením testu vysycována pomocí sonikátu *T. phagedenis*. Jsou tak vysyceny protilátky proti nepatogenním saprofytickým treponemám (*T. macrodentium*, *T. orale*, *T. denticola* aj.) a test dále prokazuje pouze protilátky proti treponemám patogenním. Test ale neodliší protilátky proti *T. pallidum* od protilátek u tropických treponematóz.

V primárním stádiu syfilis je test pozitivní u 85% případů, ve druhém a třetím až ve 100% případů, v latentním v 95%. FTA test zůstává pozitivní i po terapii. Ve třídě IgM test přispívá k diagnostice kongenitální syfilis. IgM protilátky, na rozdíl od protilátek ve třídě IgG,

neprojdou neporušenou placentární bariérou z krve matky do krevního oběhu plodu. Pozitivita ve třídě IgM svědčí pro onemocnění plodu.

I u této metody lze najít určité malé procento nespecifických pozitivit (v nízkém titru) a to např. u pacientů s paraproteinémií, hypergamaglobulinémií nebo autoimunitním onemocněním.

Označení na žádance: FTA – Abs IgG, IgM (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní; pozitivní výsledek se udává ve formě titru

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.8.20 *Treponema pallidum* – specifické protilátky proti IgG, IgM (ELISA)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Vyšetření lze použít jako podpůrné, doplňující základní sérologické testy tvořené RRR, TPHA a FTA. Stanovení ve třídě IgM napomáhá rozlišit dříve proběhlou infekci od současné nebo nedávno proběhlé. Umožňuje detekovat časnou protilátkovou odpověď u primární syfilis, přispívá k diagnostice kongenitální syfilis.

Stanovení ve třídě IgG může napomoci při nejasných výsledcích FTA a TPHA.

Označení na žádance: *Treponema pallidum* - lues IgG, IgM ELISA (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Provádí se:

1x za týden podle počtu pacientů

**5.8.21 Treponema pallidum – imunoblot**

Metoda stanovení: imunoblot

Význam stanovení:

Vyšetření umožňuje stanovit protilátky ve třídě IgG a IgM a identifikovat specifitu těchto protilátek proti konkrétním vybraným diagnosticky relevantním antigenům této bakterie. Přítomnost protilátek daného isotypu umožní stanovit stádium onemocnění. Tento test je většinou využíván ke confirmaci v případě neshody v ostatních výše uvedených testech. Séra pacientů s jinými chorobami, které způsobují spirochety (např. borelióza aj.) mohou vykazovat nespecificky pozitivní výsledky.

Označení na žádance: Treponema pallidum - lues imunoblot IgG, IgM  
(žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Hodnocení je stejné pro třídu IgG i IgM, je slovní, založené na viditelných liniích na blotové membráně (pozitivní / hraniční / negativní)

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

na vyžádání do druhého dne, jinak do 1 měsíce podle počtu pacientů

**5.8.22 Yersinia enterocolitica – protilátky**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Yersinie jsou široce rozšířené bakterie mezi domácími i divokými zvířaty (skot, vysoká zvěř, prasata, ptáci). Člověk se nejčastěji nakazí alimentární cestou (maso, mléko, voda aj.). Inkubační doba je 1 – 14 dnů. Projevuje se silnými střevními potížemi připomínajícími apendicitidu, bolestí hlavy, myalgií, zvýšenou sedimentací a leukocytózou. Může se objevit i septikémie, endokarditida, meningitida, pneumonie, faringitida, plicní a renální abscesy. Mohou se projevit i četné postinfekční komplikace ( např. revmatické projevy).

U akutní infekce je charakteristický nejméně čtyřnásobný nárůst titru protilátek při vyšetření párových vzorků odebraných s odstupem 2 – 3 týdnů. Nízké titry mohou přetrvávat i několik let po infekci, dlouhodobě vysoké titry mohou znamenat perzistenci bakterie v organismu.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Označení na žádance: zoonózy - Yersinia enterocolitica O3 (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

negativní < 16 IU/ml

hraniční 16 – 21 IU/ml

pozitivní ≥ 22 IU/ml

Omezení a interference:

hemolytická a lipemická séra nejsou vhodná

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.8.23 Cryptococcus neoformans – průkaz antigenu**

Metoda stanovení: aglutinace

Význam stanovení:

*Cryptococcus neoformans* může způsobit infekční onemocnění (kryptokózu) obvykle s primárním ložiskem v plicích a s charakteristickým šířením na mozkové pleny a ojediněle do ledvin, prostaty, jater, kostí a kůže. Onemocnění se vyskytuje sporadicky. Je zaznamenám 2x častější výskyt u mužů ve věku 40 – 60 let v porovnání se ženami. Velmi častý výskyt je u imunokompromitovaných nemocných, především nemocní s AIDS či hematologickými malignitami. Způsob přenosu je hlavně inhalační cestou, inkubační doba není zcela známá, u plicních onemocnění a postižení CNS jsou udávány měsíce až roky. Léčba spočívá v systémové antimykotické terapii. Je úspěšná u 85% pacientů, kteří nemají AIDS. U nemocných s tímto syndromem klesá na 50% úspěšnosti.

Označení na žádance: Cryptococcus neoformans – antigen (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum, likvor, BAL, moč

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / hraniční / negativní, na vyžádání titr

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

výsledek je dostupný do dvou dnů od zadání požadavku

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

### 5.8.24 Quantiferon TB Gold

Metoda stanovení: inkubace a následná ELISA

Význam stanovení:

Pomocí genomické a proteomické analýzy byly identifikovány proteiny ESAT 6, CFP 10 a TB7.7, které jsou specifické pro patogenní druhy komplexu *Mycobacterium tuberculosis* a nevyskytují se ve vakcinačních kmenech BCG ani v netuberkulózních mykobakteriích (s výjimkou *M. kansasii*, *M. szulgai* a *M. marinum*). V případě infekce *M. tuberculosis* má pacient v krvi efektorové Th1 T lymfocyty, které po stimulaci těmito mykobakteriálními antigeny in vitro produkují interferon  $\gamma$ . Jeho koncentrace je poté stanovena imunochemicky (ELISA).

Označení na žádance: vyšetření má speciální žádanku

Vyšetřovaný materiál:

nesrážlivá krev

Odběr:

Čtyři zkumavky (1. NIL kontrola /šedé víčko/, 2. TB1 – specifické antigeny /zelené víčko/, 3. TB2 – specifické antigeny /žluté víčko/, 4. MITogen kontrola /fialové víčko/) se spolu se speciální žádankou zasílají lékaři na vyžádání (tel. 495 832 607). Do všech zkumavek se odebere po 1 ml krve (ryška na zkumavce), zapíše se na ně čas odběru, obsah zkumavek se důkladně, ale opatrně promíchá.

Manipulace s materiálem a transport:

Zkumavky se okamžitě zašlou s vyplněnou žádankou do laboratoře ÚKIA (potrubní pošta 7171). Pokud nelze materiál okamžitě zaslat (odběr je uskutečněn mimo FN), lze naplněné zkumavky skladovat při **pokojevé!!!** teplotě, ale k zaslání do laboratoře musí dojít do 16 hodin od odběru (odběr je nejvhodnější provést těsně před svozem materiálu).

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní/ hraniční/ negativní

Jsou uvedeny naměřené koncentrace interferonu  $\gamma$  po stimulaci specifickými peptidy *M. tuberculosis* (TB1, 2), po stimulaci mitogenem (MIT) a hodnota kontroly bez antigenu (NIL) v IU/ml.

V souhrnném hodnocení je uvedena pravděpodobnost nebo nepravděpodobnost infekce.

Provádí se:

2x týdně podle počtu pacientů

### 5.8.25 Stanovení počtu senzibilizovaných efektorových T-lymfocytů metodou ELISPOT u diagnostiky TBC

Metoda stanovení: separace mononukleárních buněk (PBMC) a následný ELISPOT test

Význam stanovení:

Pomocí genomické a proteomické analýzy byly identifikovány proteiny ESAT 6, CFP 10 a TB7.7, které jsou specifické pro patogenní druhy komplexu *Mycobacterium tuberculosis* a

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**



nevyskytují se ve vakcinačních kmenech BCG ani v netuberkulózních mykobakteriích (s výjimkou *M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. marinum* a *M. goodii*). V případě infekce *M. tuberculosis* má pacient v krvi efektorové Th1 T lymfocyty specifické pro *Mycobacterium tuberculosis*.

Označení na žádance: Mycobacterium tuberculosis – T spot TB  
(žádanka „antiinfekční imunita“ a „buněčná imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

nesrážlivá krev odebraná do heparinu (15 ml)

Odběr:

úterý – čtvrtek; sklo nebo plast s úpravou (heparin); vhodný je odběr ráno nalačno

Manipulace s materiálem a transport:

Obsah zkumavky se musí opakovaným obrácením promíchat, skladují se při pokojové teplotě ve vertikální poloze, označené datem a časem odběru na žádance. Doprava do laboratoře ihned po odběru, nejdéle však do 13 hodin téhož dne.

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní/ hraniční/ neurčitý/ negativní

Provádí se:

úterý – čtvrtek

### **5.8.26 Quantiferon CMV**

Metoda stanovení: inkubace a následná ELISA

Význam stanovení:

CMV je herpes virus, kterým je infikováno 50-85% dospělých osob v populaci. Je častou komplikací při imunosupresivní léčbě, zejména po transplantacích orgánů. Současné způsoby imunosupresivní léčby používané k zabránění odmítnutí transplantovaného orgánu mají zhoubný vliv na T-lymfocyty a buněčnou imunitní odpověď, což má za následek zvýšenou náchylnost k virovým infekcím po transplantaci.

Krev osob infikovaných virem CMV obvykle obsahuje lymfocyty CD8+, které rozpoznávají peptidové antigeny CMV. Tento proces zahrnuje tvorbu a produkci cytokinu IFN- $\gamma$ . Jeho detekce je základem vyšetření.

Označení na žádance: vyšetření má speciální žádanku

Vyšetřovaný materiál:

nesrážlivá krev

Odběr:

Tři zkumavky (1. NIL kontrola /šedé víčko/, 2. CMV antigen /modré víčko/, 3. MITogen kontrola /fialové víčko/) se spolu se speciální žádankou zasílají lékaři na vyžádání (tel. 495 832 607). Do všech zkumavek se odebere po 1 ml krve (ryška na zkumavce), zapíše se na ně čas odběru, obsah zkumavek se důkladně, ale opatrně promíchá.

Manipulace s materiálem a transport:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Zkumavky se **okamžitě** zašlou s vyplněnou žádankou do laboratoře ÚKIA (potrubiční pošta 7171). Pokud nelze materiál okamžitě zaslat (odběr je uskutečněn mimo FN), lze naplněné zkumavky **skladovat při pokojové teplotě**, ale k zaslání do laboratoře musí dojít do 16 hodin od odběru (odběr je nevhodnější provést těsně před svozem materiálu).

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní/ nejednoznačný/ negativní

Jsou uvedeny naměřené koncentrace interferonu  $\gamma$  po stimulaci antigeny CMV, po stimulaci mitogenem (MIT) a hodnota kontroly bez antigenu (NIL) v IU/ml.

V souhrnném hodnocení je uvedena pravděpodobnost nebo nepravděpodobnost detekce CMV.

Provádí se:

1x týdně podle počtu pacientů

## **5.9 Přímý a nepřímý průkaz mykotických infekcí**

### **5.9.1 *Aspergillus* – specifické protilátky**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Plísně rodu *Aspergillus* se běžně nacházejí v přírodě. Vysoké koncentrace ve vzduchu bývají uvnitř místností, nemocnic, na staveništích a v klimatizaci. Přečasně se mohou objevit v respiračním a gastrointestinálním traktu. Mezi klinické formy a symptomy aspergilózy patří aspergilom, bronchiální astma, bronchopneumonie, sinusitida aj. Další formou je invazivní aspergilóza s rozsevem do různých orgánů, závažná je nosokomiální infekce ohrožující rizikové pacienty (leukémie, transplantace kostní dřeně). Pro diagnostické účely je vhodná kombinace průkazu specifických protilátek s testem průkazu antigenu v séru.

Označení na žádance: protilátky proti *A. niger*, *A. nidulans*, *A. terreus*, *A. flavus*, *A. fumigatus* (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum; venózní nesrážlivá krev (EDTA, heparin, citrát) nebo plazma

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

negativní	< 5 AU/ml
hraniční	5 – 10 AU/ml
pozitivní	> 10 AU/ml

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

### **5.9.2 Aspergillus – průkaz galaktomannanového antigenu**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Galaktomannan se v séru v průběhu aspergilózy objeví na přechodnou dobu. Je rychle eliminován vzhledem k tvorbě imunokomplexů, exkreci močí a endocytóze. Změna antigenu v organismu závisí na stupni diseminace. Definitivní diagnóza by měla být založena na kultivaci a histopatologickém vyšetření. Stanovení má zvláštní význam u imunokompromitovaných pacientů (orgánové transplantace, imunodeficitní stavy, protinádorová terapie) s podezřením na systémovou aspergilózu, kde je vhodnějším testem než průkaz specifických protilátek.

Označení na žádance: galaktomannan antigen Aspergillus (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum, BAL (nevhodným materiálem je moč a likvor)

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Výsledek je vyjádřen pomocí indexu :

negativní < 0,5

pozitivní ≥ 0,5

*Pozn.*

*Situace, kdy může dojít k falešně negativnímu výsledku:*

*Negativní výsledek izolovaného testu nevylučuje invazivní aspergilózu. Je doporučeno u pacientů v riziku provádět vyšetření opakovaně – minimálně 2x během týdne. Při vyšetření sér pacientů s chronickou granulomatózní chorobou a Jobovým syndromem může dojít ke snížení detekovaných hladin galaktomannanu. Souběžné podávání antifungální terapie může snížit senzitivitu testu. Antigeny dalších rodů hub, např. Penicilium, Alternaria, Paecilomyces, Geotrichum a Histoplasma, mohou v některých případech ovlivňovat výsledek testu.*

*Situace, kdy může dojít k pozitivnímu výsledku bez klinických příznaků:*

*Test není validován pro použití u novorozenců a malých dětí, kde se mohou sporadicky objevit pozitivní výsledky bez klinických příznaků. Galaktofuranosa je přítomna v mnohých potravinách: cereáliích, cereálních produktech, smetanových desertech. Lidské mléko a humanizovaná mléka obsahují často velké koncentrace galaktomannanu.*

*Pozitivní výsledek testu lze získat ze sér pacientů, kteří dostávají piperacillin/tazobactam. Při interpretaci pozitivních výsledků u těchto pacientů je třeba zvýšené obezřetnosti. Detekce galaktomannanu byla zaznamenána u některých skupin amoxicilinů asociovaných s kyselinou klavulonovou. Z tohoto důvodu je třeba při interpretaci výsledku vzít v úvahu používání semi-laktamových preparátů.*

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Galaktomanan může být přítomen v různých preparátech používaných pro parenterální i orální aplikaci, jejichž biotechnologická výroba je založena na využití fungálních mikroorganismů.

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

2x za týden a v režimu statim

### **5.9.3 Candida albicans – specifické protilátky**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Vyšetřují se protilátky proti kvasinkám *Candida albicans* a *C. crusei*. Candida je běžným mykoorganismem osídľujícím kůži, vagínu, orointestinální trakt. Za určitých podmínek, při vzestupu virulence mykoorganismu a/nebo poklesu odolnosti lidského organismu (těžká celková onemocnění – diabetes, tumory, imunodeficity, léčba imunosupresivy), však může způsobit povrchovou mykózu kůže a sliznic, ale i život ohrožující diseminovanou mykózu. Rod *Candida* je nejčastějším původcem systémových mykóz, původcem nosokomiálních nákaz. Průkaz protilátek se uplatňuje u diseminovaných forem kandidózy a sepsí, k monitorování pacientů ohrožených vznikem systémových mykóz. Samotná detekce protilátek, zejména v nižších koncentracích, není obvykle dostatečně specifickou známkou infekce. Tvorba protilátek může reflektovat kontakt s patogenem bez klinické odpovědi. Vzhledem k menší citlivosti metody dvojité radiální imunodifuze však pozitivní výsledek testu dávají pouze vysoké titry protilátek. Pro optimální diagnostiku je vhodné doplnit průkaz protilátek o průkaz antigenu.

Označení na žádance: protilátky proti *Candida albicans*, protilátky proti *Candida crusei*  
(žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum; venózní nesrážlivá krev nebo plazma (citrát, heparin nebo EDTA)

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

negativní	< 5 UA/ml
hraniční	5 – 10 UA/ml
pozitivní	≥ 10 UA/ml

Stanovení může poskytovat falešně pozitivní výsledky v následujících případech:

- pokud patientské vzorky obsahují ≥ 60 g/l lidských Ig
- u některých vzorků pozitivních na RF
- u některých vzorků pozitivních na protilátky proti ds-DNA
- u některých vzorků pozitivních na protilátky proti *Aspergillus*

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

**5.9.4 Candida albicans – průkaz antigenu**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Průkaz antigenu *C. albicans* v séru se užívá u diseminovaných forem kandidóz a sepsí. Vyšší hladiny antigenu svědčí s velkou pravděpodobností pro invazivní kandidózu, jsou však přítomny pouze u 19 – 71% pacientů. Vhodné je opakovat vyšetření. Nízké hladiny antigenu mohou doprovázet superficiální mykózu sliznic a kůže.

Označení na žádance: manan antigen Candida albicans (žádanka „antiinfekční imunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Index pozitivity: negativní <1

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

**5.10 Alergologie**

**5.10.1 IgE, specifické protilátky proti konkrétním alergenům**

Metoda stanovení: luminiscenční enzymoimunoanalýza (LEIA)

Význam stanovení:

V současné době je stanovení koncentrace specifických IgE protilátek v periferní krvi nejrozšířenějším a nejpoužívanějším in vitro testem pro diagnostiku alergií zprostředkovaných IgE. Význam a uváženost indikace tohoto laboratorního vyšetření musí být posuzována individuálně a zodpovědně. Je třeba zdůraznit, že interpretaci výsledku je vždy nutno provádět společně s posouzením klinického stavu pacienta, případně i s posouzením výsledků kožních testů.

Vyšetření specifických IgE protilátek je diagnostickou metodou volby zejména v těchto situacích:

- u pacientů s některými kožními chorobami bránícími provedení kožních testů

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

- u pacientů s onemocněním, které neumožňuje vysadit léky interferující s výsledkem kožních testů
- v situacích, kdy není k dispozici kvalitní extrakt k provedení kožního testu nebo kdy kožní testy dávají méně spolehlivé výsledky (např. některé potravinové alergie aj.)
- při výrazné diskrepanci mezi údaji anamnestickými a výsledkem kožních testů
- pro potvrzení relevantního alergenu před zahájením specifické imunoterapie nebo stupně citlivosti při ukončení imunoterapie
- při odůvodněných obavách z velkého rizika anafylaktické reakce při provádění kožních testů
- při vyšetření silně nespolupracující osoby (mentálně nebo somaticky postižené)
- v situaci nutného vyšetření dítěte, jehož věk nedovoluje použití kožního testu

Toto vyšetření není vhodné provádět v těchto situacích:

- tam, kde se apriorně očekává reakce zprostředkovaná IgE (např. některé polékové reakce)
- roztestovávat jednotlivé alergeny tam, kde se předpokládá výrazná zkřížená reaktivita těchto alergenů (např. pyly některých čeledí rostlin). Zde je ve většině případů vhodnější použít jeden směsný alergen
- provádět vyšetření bezprostředně po anafylaktické reakci (např. hmyzí jed, léky), protože existuje refrakterní perioda; vhodné je odložit vyšetření o několik týdnů

Označení na žádance: na žádance je uvedena rámcová nabídka alergenů, požadavek na vyšetření spec. IgE proti dalším alergenům je možno vypsát; je možná i telefonická konzultace s laboratoří, popř. s ambulantním lékařem – alergologem (žádanka „alergologie“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty pro všechny vyšetřované alergeny jsou do 0,35 IU/ml.

Omezení a interference:

hemolytická a lipemická séra nejsou vhodná

Provádí se:

3 – 4x za týden podle počtu pacientů

Poznámka:

Speciální alergeny, které nejsou součástí základního panelu vyšetření, se provádějí metodou ELISA na mikrotitrační destičce. Normální hodnoty jsou do 0,35 IU/ml.

### **5.10.2 Eosinofilní kationický protein (ECP)**

Metoda stanovení: ELISA

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Význam stanovení:

Eosinofilní kationický protein (ECP), eosinofily tvořený neurotoxin (EDN) a hlavní bazický protein (MBP) jsou známy jako hlavní proteinové mediátory produkované aktivovanými eosinofily. ECP a EDN se nalézají v matrix granul v eosinofilech, zatímco MBP se nalézá v jejich kůře. ECP a EDN patří do skupiny ribonukleáz A. ECP a MBP mají vysokou cytotoxicitu. Tyto tři bílkoviny jsou vysoce kationické. Aktivovaný eosinofil hraje důležitou úlohu při pozdní astmatické odpovědi a zánětu dýchacích cest při astmatu. ECP je vylučován aktivovanými eosinofily, může proto být markerem aktivace eosinofilů i jejich degranulace.

Využití stanovení ECP:

- sledování zánětlivé aktivace astmatika
- sledování průběhu a tíže chronicky probíhajícího alergického zánětu
- monitorování úspěšnosti léčby astmatika (kortikoterapie)
- při expozici alergenu (pyly, prachy) ECP stoupá
- sledování účinnosti hyposenzibilizační léčby

Označení na žádance: ECP (žádanka „alergologie“ a „sérové proteiny“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

negativní	< 15 ng/ml
hraniční	15 – 20 ng/ml
pozitivní	> 20 ng/ml

Výrobce udává normální hodnoty < 16 ng/ml.

Omezení a interference:

hemolytická a lipemická séra nejsou vhodná

Provádí se:

1x za týden podle počtu pacientů

### **5.10.3 IgG, specifické protilátky proti konkrétním alergenům a antigenům**

Metoda stanovení: LEIA nebo FEIA (CAP systém Pharmacia)

Význam stanovení:

Mezi tato vyšetření patří stanovení specifických IgG protilátek proti potravinovým antigenům v rámci diagnostiky potravinových intolerancí, kde slouží jako pomocný ukazatel doplňující další testy. Další použití má toto stanovení při predikci reakcí na očkování bakteriálními vakcínami a v neposlední řadě slouží tento test k hodnocení jiných typů přecitlivělosti než zprostředkovaných IgE (reakce na léky apod.). Vyšetření specifických IgG protilátek je možné stejně jako v případě specifických IgG<sub>4</sub> protilátek použít k monitorování specifické imunoterapie alergenem a hodnocení úspěšnosti této terapie.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Označení na žádance: vzhledem k omezené nabídce alergenů a antigenů pro tento test je vhodné se předem domluvit s laboratoří na konkrétní spolupráci

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Výsledky jsou udávány v mg/l specifického IgG

Provádí se:

po telefonické domluvě

#### **5.10.4 Stanovení specifických IgE proti rekombinantním a nativním molekulárně definovaným alergenům metodou ImmunoCAP**

Metoda stanovení: FEIA (CAP systém Pharmacia)

Význam stanovení:

Molekulární alergenová diagnostika poskytuje relevantní informace a hraje důležitou roli ve třech aspektech diagnostiky alergie: vysvětlení křížové reaktivity (rozlišení skutečné senzibilizace na určitý alergenový zdroj od senzibilizace způsobené křížově reagujícími IgE protilátkami), výběr pacientů a vhodných alergenů pro AIT a odhad rizika systémové reakce.

Označení na žádance: na žádance je uvedena rámcová nabídka alergenů, požadavek na vyšetření spec. IgE proti dalším alergenům je možno vypsát; je možná i telefonická konzultace s laboratoří (žádanka „alergologie“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum; nesrážlivá krev nebo plazma

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty jsou v rozmezí 0 až 0,35 IU/ml.

Omezení a interference:

hemolytická a lipemická séra nejsou vhodná

Provádí se:

1x za měsíc podle počtu pacientů

#### **5.10.5 Stanovení specifického IgE proti jednotlivým molekulárně definovaným alergenům – alergenovým komponentám metodou immunoassay na pevné fázi**

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**



Metoda stanovení: macroarray (ALEX)

Význam stanovení:

Extraktů alergenů nebo molekulární alergeny, které jsou navázány na nanočástice, jsou nafižovány na pevné fázi v macroarray formátu.

Seznam alergenů:

- a) alergenové extraktů (117)
- b) purifikované nativní komponenty (50)
- c) rekombinantní komponenty (133)

Molekulární alergenová diagnostika (stanovování komponent) poskytuje relevantní informace a hraje důležitou roli ve třech aspektech diagnostiky alergie: vysvětlení křížové reaktivity (rozlišení skutečné senzibilizace na určitý alergenový zdroj od senzibilizace způsobené křížově reagujícími IgE protilátkami), výběr pacientů a vhodných alergenů pro AIT a odhad rizika systémové reakce. Vyšetření pomáhá zjistit příčinu u multisenzibilizovaných pacientů (po kompletních testech a SPT), odhalí potenciální riziko u potravinových alergií, identifikuje IgE profil u pacientů s nedostatečnou odpovědí na léčbu, inhalační alergeny, atopická dermatitida, anafylaxe, HIGE syndrom.

Označení na žádance: na žádance je nutno vyšetření zaškrtnout nebo napsat macroarray nebo ALEX

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum; nesrážlivá krev nebo plazma (**ne do EDTA!!**)

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

hodnocení je semikvantitativní v arbitrárních jednotkách kUA/l

Výsledky jsou vyjádřeny čtyřmi semikvantitativními třídami:

0 (nedetekovatelné nebo velmi slabé)	< 0,3
1 (slabé)	≥ 0,3 až <1
2 (střední až vysoké)	≥ 1 až < 15
3 (velmi vysoké)	≥ 15

Omezení a interference:

hemolytická a lipemická séra nejsou vhodná

Provádí se:

minimálně 1x za měsíc podle počtu pacientů

### **5.10.6 Tryptáza**

Metoda stanovení: FEIA (CAP systém Pharmacia)

Význam stanovení:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Tryptáza je enzym, který je spolu s histaminem a s dalšími působky uvolňován ze žírných buněk po jejich aktivaci. Stanovení hladiny tryptázy je indikováno při aktivaci žírných buněk, v případě výskytu zarudnutí kůže, pocitů na zvracení, otoku krku, při nízkém krevním tlaku ve spojitosti se život ohrožující alergickou reakcí, v případě výskytu příznaků mastocytózy.

Označení na žádance: tryptáza (žádanka „alergologie“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty jsou v rozmezí 0 až 14 µg/l.

Omezení a interference:

hemolytická a lipemická séra nejsou vhodná

Provádí se:

1x za měsíc podle počtu pacientů

### **5.10.7 Lékové precipitace**

Metoda stanovení: dvojitá radiální imunodifuze (precipitace v gelu podle Ouchterlonyho)

Význam stanovení:

Odhalení lékové alergie.

Označení na žádance: lékové precipitace (žádanka „obecná“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum + léky (nejlépe šarže užívaná pacientem)

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Pozitivní / negativní

Provádí se:

denně podle počtu pacientů

### **5.10.8 Diaminooxidáza (DAO)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Odhalení histaminové intolerance.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Histaminová intolerance (HIT) je důsledkem nepoměru mezi přísunem a odbouráváním histaminu v těle. Hromadění histaminu může být způsobeno nedostatečnou aktivitou nebo sníženou koncentrací enzymu diaminoxidázy (DAO), která odbourává histamin.

DAO je produkována přednostně v buňkách trávicího traktu, proto bývá snížena u pacientů s poškozením střevní sliznice, a to jak při akutních a chronických zánětlivých onemocněních (např. Crohnova choroba), tak i při nekompenzované celiakii či vlekých potravinových střevních alergiích. Snížená produkce DAO může být přechodná, mění se v čase. Syndrom HIT se vyskytuje u 2 – 3 % populace, častěji jsou postiženy ženy středního věku.

Označení na žádance: DAO (žádanka „alergologie“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

< 3 U/ml	nízká hodnota koncentrace DAO (vysoká pravděpodobnost HIT)
3 – 10 U/ml	hraniční hodnota koncentrace DAO
> 10 U/ml	zvýšená hodnota koncentrace DAO (malá pravděpodobnost HIT)

Provádí se:

1x za měsíc podle počtu pacientů

## **5.11 Biologická léčba**

### **5.11.1 Hladina biologik a neutralizující protilátky (adalimumab, infliximab)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Stanovení hladin biologických léků (infliximab a adalimumab) a vyšetřování neutralizačních protilátek proti těmto lékům se provádí u pacientů s revmatoidní artritidou, ankylozující spondylitidou, psoriatickou artritidou a enteropatickými artritidami, kteří podstupují biologickou léčbu. Dále se biologická léčba využívá u nespecifických střevních zánětů, v dermatologii nebo onkologii.

Základním mechanismem účinku biologické léčby u revmatických chorob je inhibice cytokinů. Mezi ně patří zejména TNF- $\alpha$ , interleukin 1 a 6.

Infliximab a adalimumab byly vyvinuty k blokadě TNF-alfa. Infliximab se aplikuje v nitrožilních infuzích, adalimumab v podkožních injekcích.

Podle studií biologická léčba svým působením neovlivňuje a nepoškozuje ostatní buňky a orgány lidského těla. Navíc je o 75% účinnější než klasické postupy léčby.

Biologická léčba má i určité nežádoucí účinky, např. alergické reakce na podané léky, infekce, autoimunitní nebo neurologická postižení i malignity.

U cca 5% pacientů se vyskytují neutralizační protilátky, které biologickou léčbu znemožňují.

Označení na žádance: biologická léčba (žádanka „autoimunita“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení výsledku, referenční meze:

**hladina:**

koncentrace adalimumabu

negativní  $\leq 0,024 \mu\text{g/ml}$

pozitivní  $> 0,024 \mu\text{g/ml}$

koncentrace infliximabu

negativní  $\leq 0,035 \mu\text{g/ml}$

pozitivní  $> 0,035 \mu\text{g/ml}$

**protilátky:**

adalimumab

negativní  $\leq 10 \text{ AU/ml}$

pozitivní  $> 10 \text{ AU/ml}$

infliximab

negativní  $\leq 5 \text{ AU/ml}$

pozitivní  $> 5 \text{ AU/ml}$

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují

Provádí se:

1x za 3 týdny podle počtu pacientů

**5.11.2 Kalprotektin**

Metoda stanovení: extrakce a ELISA

Význam stanovení:

Metoda slouží k odlišení funkčních a organických poruch gastrointestinálního traktu. Je vhodným ukazatelem při diagnostice a monitorování terapie akutních i chronických střevních zánětlivých onemocnění – ulcerózní kolitidy a Crohnovy choroby, nebo nekrotizující enterokolitidy u dětí.

Označení na žádance: kalprotektin ve stolici (žádanka „sérové proteiny“)

Vyšetřovaný materiál:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

stolice (vzorek velikosti lískového oříšku)

Odběr:

odběrová nádobka pro stolici; sklo nebo plast bez úpravy

Manipulace s materiálem a transport:

do laboratoře musí být materiál dopraven nejlépe do 24 hodin od odběru; vhodná je teplota při transportu v rozmezí od 4 do 8 °C, lze i při pokojové teplotě

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Stolice: negativní jsou výsledky s koncentrací kalprotektinu menší než 50 µg/g stolice

Omezení a interference:

bez omezení a interferencí

Provádí se:

1x za týden podle počtu pacientů

## **B. BUNĚČNÁ IMUNITA**

### **5.12 Fenotypizace krevních buněk**

#### **5.12.1 Základní fenotypizace periferní krve**

Metoda stanovení: průtoková cytometrie

Význam stanovení:

Metoda slouží ke stanovení relativního počtu leukocytárních populací v periferní krvi na základě exprese jejich povrchových markerů.

Označení na žádance: žádanka „buněčná imunita“

Vyšetřovaný materiál:

- venózní nesrážlivá krev odebraná do heparinu, EDTA nebo citrátu
- zároveň se odebere krev na stanovení počtu leukocytů a diferenciálního rozpočtu

Odběr:

sklo nebo plast s úpravou (heparin nebo EDTA nebo citrát)

Manipulace s materiálem:

do laboratoře musí být materiál dopraven nejlépe do 2 – 5 hodin od odběru

Hodnocení výsledku, referenční meze:

písemná interpretace výsledků

Normální hodnoty:

	<b>1 – 3 měsíce</b>	<b>3 měsíce – 6 let</b>	<b>6 – 17 let</b>	<b>17 let a více</b>
<b>CD3+</b>	55 – 75%	55 – 75%	60 – 75%	60 – 80%
<b>CD4+</b>	33 – 52%	33 – 52%	30 – 50%	35 – 50%
<b>CD8+</b>	18 – 30%	18 – 30%	20 – 35%	19 – 39%

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

<b>CD19+</b>	19 – 35%	15 – 30%	9 – 17%	5 – 15%
<b>NK</b>	8 – 17%	8 – 17%	8 – 17%	5 – 23%

Omezení a interference:

K vypočítání absolutních hodnot měřených populací je nutné znát krevní obraz a diferenciální rozpočet.

Provádí se:

denně

Doporučení:

Tento základní panel je možné doplnit řadou dalších povrchových i intracelulárních diferenciálních antigenů a jejich kombinacemi, které napomáhají bližší specifikaci měřené buněčné populace.

### **5.12.2 Imunofenotypizace buněk krevních malignit**

Metoda stanovení: průtoková cytometrie

Význam stanovení:

Cílem tohoto vyšetření je stanovit přítomnost, liniovou příslušnost a případně i diferenciační stupeň nádorových buněk hematopoetického původu ve vzorcích kostní dřevě, periferní krve, likvoru, výpotků, lymfatických uzlin. U poruch krvetvorby je fenotypizace nezbytná při podezření na zvrát do akutní leukémie. Určení fenotypu nádorových buněk akutních leukémií umožní ve většině případů sledovat reziduální chorobu.

Označení na žádance: žádanka „imunofenotypizace“

Vyšetřovaný materiál:

nesrážlivá krev, kostní dřev, likvor, výpotky, lymfatické uzliny, biopsie sliznice trávicí trubice

Odběr:

sklo nebo plast s úpravou (heparin nebo EDTA nebo citrát) pro odběr krve, ostatní sklo nebo plast bez úpravy

Manipulace s materiálem:

do laboratoře musí být materiál dopraven nejlépe do 2 – 5 hodin od odběru

Hodnocení výsledku, referenční meze:

písemná interpretace výsledků po konzultaci s ošetřujícím lékařem

Provádí se:

denně

### **5.12.3 Fenotypizace bronchoalveolární laváže**

Metoda stanovení: průtoková cytometrie

Význam stanovení:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Metoda doplňuje diagnostiku intersticiálních plicních onemocnění, hlavně sarkoidózy a CFA (idiopatické plicní fibrózy).

Označení na žádance: žádanka „imunofenotypizace“

Vyšetřovaný materiál:

bronchoalveolární lavážní tekutina

Odběr:

sklo nebo plast bez úpravy

Manipulace s materiálem:

do laboratoře musí být materiál dopraven nejlépe do 2 – 5 hodin od odběru, vhodná je teplota při transportu v rozmezí od 4 do 8 °C

Hodnocení výsledku, referenční meze:

písemná interpretace výsledků

Provádí se:

denně

#### **5.12.4 Měření exprese CD34 na kmenových buňkách krvetvorby**

Metoda stanovení: průtoková cytometrie

Význam stanovení:

Vyprávající krvetvorné buňky jsou charakterizovány různými povrchovými antigeny. Jedná se především o antigen o molekulové hmotnosti 115 kDa CD34. Nachází se v 1 – 4% buněk kostní dřeně a v 0,01% buněk periferní krve. Transplantace krvetvorných buněk je velmi rozšířenou metodou léčby ve vymezených indikacích. Nejprve je nutné zvýšit jejich produkci z kostní dřeně a leukaferézou oddělit z krve frakci bohatou na kmenové buňky krvetvorby. Sledováním exprese znaku CD34 se sleduje účinnost mobilizace pacienta nebo zdravého dárce.

Označení na žádance: žádanka „buněčná imunita“

Vyšetřovaný materiál:

- venózní nesrážlivá krev odebraná do heparinu, EDTA nebo citrátu
- frakce buněk z vaku

Odběr:

sklo nebo plast s úpravou (heparin nebo EDTA nebo citrát)

Manipulace s materiálem:

do laboratoře musí být materiál dopraven nejlépe do 2 – 4 hodin od odběru, materiál z vaku musí být zpracován nejdéle do 6 hodin od odběru

Hodnocení výsledku, referenční meze:

písemná interpretace výsledků

Provádí se:

denně

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

## 5.13 Funkční testy lymfocytů

### 5.13.1 Časné a pozdní aktivace lymfocytů

Metoda stanovení: průtoková cytometrie

Význam stanovení:

Lymfocyty jsou stimulovány pomocí mitogenů nebo antigenů. Schopnost aktivace lymfocytů po stimulaci se zjišťuje měřením zvýšené exprese aktivačních znaků v různých časových intervalech. Ty se začínají objevovat na povrchu buněk před vznikem nové DNA. Výsledkem jsou procenta aktivačních znaků naměřených vzhledem k negativní kontrole (tj. lymfocyty bez působení mitogenů). Test časné a pozdní aktivace lymfocytů slouží hlavně pro rychlou orientaci u novorozenců s podezřením na primární imunodeficit.

Označení na žádance: žádanka „buněčná imunita“

Vyšetřovaný materiál:

venózní nesrážlivá krev odebraná do heparinu

Odběr:

sklo nebo plast s úpravou (heparin), vhodný je odběr ráno nalačno

Manipulace s materiálem:

do laboratoře musí být materiál dopraven nejlépe do 2 – 5 hodin od odběru

Hodnocení výsledku, referenční meze:

písemná interpretace výsledků

	<b>24 hodin (%)</b>	<b>48 hodin (%)</b>
<b>T lymfo – spontánní</b>	0,5 – 3	2 - 7
<b>T lymfo – PHA</b>	42 - 64	15 – 39
<b>T lymfo – PWM</b>	19 - 44	15 - 26
<b>B lymfo – spontánní</b>	1 - 7	5 - 31
<b>B lymfo – PHA</b>	54 - 83	19 - 45
<b>B lymfo – PWM</b>	52 - 78	14 - 46

Provádí se:

pondělí - středa

### 5.13.2 Test blastické transformace lymfocytů

Metoda stanovení: průtoková cytometrie

Význam stanovení:

Metoda se používá ke sledování schopnosti lymfocytů proliferovat působením polyklonálních mitogenů nebo antigenů. Využívá schopnosti některých fluorescenčních látek vázat se stechiometricky na nukleové kyseliny. Analýza pomocí průtokového cytometru pak poskytuje informace o podílu buněk vyskytujících se v jednotlivých fázích buněčného cyklu (G1, S, G2). Výhodou je též možnost stanovení obsahu DNA jednotlivých buněčných subpopulací.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**



Tento test má význam v diagnostice primárních imunodeficiencí zejména u novorozenců a dětí, u sekundárních imunodeficiencí buněčného typu, u HIV pozitivních pacientů a k monitorování účinku chemoterapie u malignit.

Označení na žádance: žádanka „buněčná imunita“

Vyšetřovaný materiál:

venózní nesrážlivá krev odebraná do heparinu

Odběr:

sklo nebo plast s úpravou (heparin); vhodný je odběr ráno nalačno

Manipulace s materiálem:

do laboratoře musí být materiál dopraven nejlépe do 2 – 5 hodin od odběru

Hodnocení výsledku, referenční meze:

písemná interpretace výsledků

	% S + G2 fáze buněčného cyklu
<b>spontánní</b>	0,3 – 1,5
<b>stimulace PHA</b>	32,9 – 62,7

Provádí se:

každé pondělí, úterý a pátek

## **5.14 Funkční testy polymorfonukleárních granulocytů**

Při laboratorním vyšetření fagocytózy je pozornost zaměřena na PMNL (neutrofilní granulocyty) v periferní krvi. Fagocytóza probíhá v několika stupních – adheze, chemotaxe, ingesce, usmrcování (cidie) a destrukce (digesce). Je možné vyšetřit jednotlivé stupně tohoto procesu. Dále je možné vyšetřit expresi molekul na povrchu polymorfonukleárních leukocytů usnadňujících průnik těchto leukocytů cévní stěnou do tkání – CD11/CD18. Vyšetření má význam hlavně při podezření na Leukocyte Adhesion Deficiency (LAD) syndrom.

### **5.14.1 Fagocytóza kvasinek – ingesce**

Metoda stanovení: mikroskopie

Význam stanovení:

Ingestivní fáze fagocytózy se sleduje po inkubaci periferní krve s kvasinkami *Saccharomyces cerevisiae*. Obarvený nátěr se hodnotí mikroskopicky. Fagocytární aktivita se stanoví výpočtem fagocytujících monocytů, fagocytujících PMNL (neutrofilů, eosinofilů) a fagocytujících leukocytů.

Rámcově platí, že u všech akutních zánětů při normální imunitní odpovědi bývá ingesce zvýšena, snížena se objevuje u protilátkových defektů, popř. u defektů komplementového systému (nedostatek opsoninů).

Označení na žádance: žádanka „buněčná imunita“

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Vyšetřovaný materiál:

venózní nesrážlivá krev odebraná do heparinu

Odběr:

sklo nebo plast s úpravou (heparin); vhodný je odběr ráno nalačno

Manipulace s materiálem:

do laboratoře musí být materiál dopraven nejlépe do 2 – 4 hodin od odběru, odebraná krev se musí zpracovat do 6 hodin od odběru

Hodnocení výsledku, referenční meze:

písemná interpretace výsledků

	%
<b>fagocytující leukocyty</b>	31 – 64
<b>fagocytární aktivita</b>	65 – 99

Provádí se:

denně

### **5.14.2 Metabolické vzplanutí granulocytů (Burst test)**

Metoda stanovení: průtoková cytometrie

Význam stanovení:

Test slouží ke stanovení oxidativního vzplanutí polymorfonukleárních granulocytů. Tvorba mikrobicidních látek, především peroxidu vodíku, superoxidového aniontu kyslíku a dalších kyslíkových radikálů, patří mezi nejvýznamnější metabolické děje, k nimž dochází ve fagocytujících buňkách. Vznik oxidativních produktů je detekován dihydrorhodaminem 123. Výsledkem je procento buněk schopných odpovídat na stimulaci tvorbou kyslíkových radikálů.

Tento test slouží k zachycení chronické granulomatózy, kdy sice dojde k ingesci mikrobů, ale pro vrozený defekt NADPH oxidázy se netvoří peroxid vodíku, který by napomáhal usmrcování těchto mikrobů.

Označení na žádance: žádanka „buněčná imunita“

Vyšetřovaný materiál:

venózní nesrážlivá krev odebraná do heparinu

Odběr:

sklo nebo plast s úpravou (heparin); vhodný je odběr ráno nalačno

Manipulace s materiálem:

do laboratoře musí být materiál dopraven nejlépe do 2 – 4 hodin od odběru, odebraná krev se musí zpracovat do 6 hodin od odběru

Hodnocení výsledku, referenční meze:

písemná interpretace výsledků

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

	% aktivovaných granulocytů
spontánní	0,3 – 1,5
stimulované	75 – 100

Provádí se:  
denně

## 5.15 Vyšetření trombocytů

### 5.15.1 Fenotypizace trombocytů

Metoda stanovení: průtoková cytometrie

Význam stanovení:

Touto metodou se pomocí monoklonálních protilátek hodnotí trombocytární membránové antigeny a výsledky se porovnávají s fyziologickými hodnotami. Metoda se využívá hlavně v oblasti hematologických malignit (např. leukémie vycházející z megakaryocytární linie) a poruch spojených s absencí či poruchou exprese trombocytárních membránových antigenů (Glazmannova trombasthenie, Bernard – Soulierův syndrom).

Označení na žádance: žádanka „buněčná imunita“; vhodné je předem se domluvit s laboratoří (tel. 495 833 404)

Vyšetřovaný materiál:

venózní nesrážlivá krev odebraná do **citrátu sodného**

Odběr:

sklo nebo plast s úpravou (citrát sodný); vhodný je odběr ráno nalačno; odebírají se dvě zkumavky po 2 ml (stanovení základních hematologických parametrů a imunologická detekce povrchových trombocytárních antigenů)

Manipulace s materiálem:

do laboratoře musí být materiál dopraven ihned, odebraná krev se musí zpracovat do 2 hodin od odběru

Hodnocení výsledku, referenční meze:

písemná interpretace výsledků

	rozmezí positivity (%)
<b>CD9+</b>	92,0 – 100
<b>CD31+</b>	89,8 – 100
<b>CD36+</b>	85,7 – 100
<b>CD41+</b>	93,4 – 100
<b>CD42a+</b>	92,4 – 100
<b>CD42b+</b>	88,4 – 100
<b>CD62P+</b>	0,0 – 1,4
<b>CD63+</b>	0,0 – 1,4

Provádí se:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

pondělí – čtvrtek

### **5.15.2 Stanovení protilátek vázaných na trombocyty**

Metoda stanovení: průtoková cytometrie

Význam stanovení:

V případě trombocytopenií nejasné etiologie se pátrá, zda v periferní krvi pacienta nejsou zvýšené hladiny protilátek vázaných na destičky. K detekci se využívá souprava s monoklonální protilátkou proti destičkám (CD42a-PE) a protilátky proti jednotlivým třídám imunoglobulinů.

Označení na žádance: žádanka „buněčná imunita“; vhodné je předem se domluvit s laboratoří (tel. 495 833 404)

Vyšetřovaný materiál:

venózní nesrážlivá krev odebraná **výhradně do EDTA!!!**

Odběr:

sklo nebo plast s úpravou (EDTA); vhodný je odběr ráno nalačno

Manipulace s materiálem:

do laboratoře musí být materiál dopraven ihned, odebraná krev se musí zpracovat do 4 hodin od odběru

Hodnocení výsledku, referenční meze:

písemná interpretace výsledků

- pokud exprese povrchového imunoglobulinu přesáhne 20% pozitivitu na trombocytech, považují se protilátky proti trombocytům za pozitivní

Provádí se:

pondělí - čtvrtek

## **5.16 Speciální vyšetření**

### **5.16.1 Flowcytometrická analýza B lymfocytárních subpopulací u pacientů s podezřením na humorální imunodeficienci**

Metoda stanovení: průtoková cytometrie

Význam stanovení:

Podle diferenciací B lymfocytů se CVID pacienti zařazují podle tzv. Freiburské klasifikace do tří skupin. CVID pacienti skupiny I se sníženým počtem paměťových B lymfocytů jsou rozděleni do dvou skupin: do skupiny Ia - pacienti se zvýšeným počtem CD21- B lymfocytů, skupina Ib - pacienti s normálním počtem CD21- B lymfocytů. Ve skupině Ia bylo zjištěno, že obsahuje nejvíce pacientů se splenomegalií a autoimunitními onemocněními. Pacienti s CVID zařazení do skupiny II mají normální počet izotypově přepnutých paměťových B lymfocytů (class-switched memory B cells). Tato klasifikace je založena na sledování exprese dvou markerů, a to CD27 znaku pro paměťové B lymfocyty a CD21- jako markeru progresu nezralých B lymfocytů do stádia maturovaných B lymfocytů.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Označení na žádance: žádanka „buněčná imunita“

Vyšetřovaný materiál: venózní nesrážlivá krev odebraná do heparinu, EDTA nebo citrátu

Odběr:

sklo nebo plast s úpravou (heparin nebo EDTA nebo citrát)

Manipulace s materiálem:

do laboratoře musí být materiál dopraven nejlépe do 2 – 5 hodin od odběru

Hodnocení výsledku, referenční meze:

písemná interpretace výsledků

Provádí se:

po domluvě s laboratoří

### 5.16.2 **Bazotest**

Metoda stanovení: průtoková cytometrie

Význam stanovení:

Detekce bazofilů z plné krve pomocí průtokové cytometrie využívá značení CD203c a aktivačního znaku CD63 pomocí monoklonálních protilátek. CD203c je membránová molekula s enzymatickou aktivitou nacházející se na klidových i aktivovaných bazofilech. CD63 je proteinová molekula exprimovaná na cytoplazmatických granulích různých klidových buněk. Bylo prokázáno, že lidské bazofily aktivované in vitro (alergenem nebo anti IgE protilátkami) prostřednictvím jejich vysokoafinitního receptoru pro IgE, nově exprimují znak CD63 také na své membráně. Expresí CD63 na povrchu bazofilů tak velmi dobře koreluje s jejich degranulací.

Označení na žádance: žádanka „buněčná imunita“

Vyšetřovaný materiál: venózní nesrážlivá krev odebraná do heparinu; popř. testovaný lék

Odběr: sklo nebo plast s úpravou (heparin)

Manipulace s materiálem:

Do laboratoře musí být materiál dopraven nejdéle do 2 – 5 hodin od odběru.

Pacient by měl min. 48 hod. před odběrem vysadit léky typu **antagonistů leukotrienů** a 2 týdny před odběrem **systemové kortikosteroidy**.

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Hodnotí se % CD63 pozitivních bazofilů. Pro různé druhy alergenů jsou stanoveny odlišné meze positivity:

Inhalační + potravinové alergen	> 15%
Hmyzí jedy, latex	> 10%
Léky	> 5% (stimulační index -SI > 2)

SI = % CD63+ bazofilů po stimulaci alergenem / % CD63+ bazofilů bez stimulace

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Po stimulaci bazofilů anti IgE protilátkou musí být více než 20 % bazofilů CD63+. V opačném případě je pacient považován za non-respondera a výsledek testu nelze hodnotit.

Provádí se:  
každé úterý až čtvrtek

### **5.16.3 Lymfocytární transformační test v diagnostice lékové a potravinové hypersenzitivity**

Metoda stanovení: průtoková cytometrie

Význam stanovení:  
Lymfocytární transformační test měří proliferaci lymfocytů po inkubaci s lékem nebo s testovaným alergenem in vitro, u kterého je podezření na alergickou reakci v důsledku přecitlivělosti k danému léku nebo alergenu.

Označení na žádance: žádanka „buněčná imunita“

Vyšetřovaný materiál: venózní nesrážlivá krev odebraná do heparinu; popř. testovaný lék

Odběr: sklo nebo plast s úpravou (heparin)

Manipulace s materiálem:

Do laboratoře musí být materiál dopraven nejdéle do 2 – 5 hodin od odběru.

Pacient by měl 2 týdny před odběrem vysadit **systémové kortikosteroidy**.

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Výsledek je vyjádřený jako stimulační index SI, což je podíl hodnoty proliferační odpovědi vzorku stimulovaného testovaným alergenem a hodnotou proliferační odpovědi nestimulovaného vzorku. Výsledek do hodnoty  $SI \leq 2$  hodnotíme jako negativní,  $SI = 2 - 3$  jako hraniční,  $SI > 3$  je pozitivní. Každý pacient je však posuzovaný individuálně i podle kontroly.

Provádí se:  
úterý až čtvrtek

### **5.16.5 Diagnostika hereditární sférocytózy (EMA)**

Metoda stanovení: průtoková cytometrie

Význam stanovení:

Hereditární sférocytóza (HS) je autozomálně dědičné onemocnění cytoskeletárního aparátu erytrocytů, v jehož důsledku dochází k morfologickým změnám membrány buněk a jejich snížené osmotické rezistenci. Takto pozměněné erytrocyty jsou při průchodu slezinou snadno hemolyzovatelné, což má za důsledek rozvoj hemolytické anemie.

Smyslem metody je diagnostika hereditární (dědičné) sférocytózy průtokovou cytometrií na základě snížené schopnosti onemocněním poškozených erytrocytů vázat na svůj povrch fluorescenční barvivo eosin-5 maleimid.

Označení na žádance: žádanka „buněčná imunita“

Vyšetřovaný materiál:

venózní nesrážlivá krev odebraná do EDTA

Odběr: plast s úpravou

Manipulace s materiálem:

Do laboratoře musí být materiál dopraven nejdéle do 2 hodin od odběru.

Hodnocení výsledku, referenční meze:

písemná interpretace výsledků

Hodnotí se míra intenzity fluorescence (MFI) u erytrocytů pacienta a erytrocytů kontrolních vzorků. Každá laboratoř si stanoví sama meze normálních hodnot MFI dle souboru zdravých jedinců. V naší laboratoři je výsledek považován za pozitivní, pokud se intenzita MFI nachází pod cut-off hodnotou, která je nastavena na 39,8.

Ke každému výsledku je kromě hodnoty MFI přidáno i slovní hodnocení, které popisuje, zda se intenzita fluorescence erytrocytů značených EMA nachází nad či pod cut-off hodnotou.

Provádí se:

denně

## **C. REPRODUKČNÍ IMUNOLOGIE (NEPLODNOSTI)**

### **5.17 Reprodukční imunologie - humorální**

#### **5.17.1 Spermigram**

Metoda stanovení: mikroskopie

Význam stanovení:

Jedná se o analýzu ejakulátu, která je nedílnou součástí vyšetření mužské plodnosti. Odhalí abnormality spermií, jejich koncentraci (počet), přítomnost cizích buněk v ejakulační tekutině a další parametry.

Označení na žádance: spermigram (žádanka „reprodukce“)  
kvalita spermií (žádanka „reprodukce“)

Vyšetřovaný materiál:

čerstvý ejakulát (do 2 hodin po odběru, po třídní abstinenci)

Odběr:

sklo nebo plast bez úpravy

Manipulace s materiálem a transport:

Odběr je součástí celého bloku vyšetření neplodnosti. Podmínky vyšetření je vhodné předem s laboratoří a naší ambulancí domluvit vzhledem ke zvýšeným nárokům na odběr, transport, skladování i zpracování vzorků

- do laboratoře musí být materiál dopraven nejlépe do 2 hodin od odběru

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Při vyšetření spermiogramu je stanovován objem ejakulátu, viskozita, přítomnost jiných buněk, celkový počet spermií, jejich morfologie, propulzivita a pohyblivost.

Referenční meze:

Celkový objem ejakul.	1,5 – 20,0 ml
Denzita ejakulátu	20,0 – 500 mil. spermií /ml
Motilita (kat. A, B, C, D)	%
Vitalita	75 – 100%
Propulzivita	0 – 5 minut
Morfologie spermií	30 – 100%
Přidatné buňky	0 – 5 mil. /ml
pH ejakulátu	7,2 – 8,0
Leukocyty v ejakulátu	0 – 1 mil. /ml

Provádí se:

2 – 4x za měsíc

**5.17.2 Akrosom spermií (určení kvality spermií)**

Metoda stanovení: přímá imunofluorescence

Význam stanovení:

Samčí zárodečné buňky mají jedinečnou vesikulární strukturu – akrosom, která obsahuje enzymy potřebné pro průnik spermie do vajíčka. Integrita akrosomu, tj. jeho celistvost a neporušenost, je důležitým požadavkem pro úspěšnou interakci pohlavních buněk. Jenom spermie s intaktním akrosomem se mohou vázat na vajíčko a podstoupit akrosomovou reakci, při které se uvolní dostatečné množství akrosinu. Vyskytne-li se v ejakulátu velký podíl spermií s nekvalitním akrosomem, přirozená fertilizační schopnost je snížena. Potom je vhodné použít některou z fertilizačních technik.

Označení na žádance: akrosom spermií (žádanka „reprodukce“)

Vyšetřovaný materiál:

čerstvý ejakulát

Odběr:

sklo nebo plast bez úpravy

Manipulace s materiálem a transport:

do laboratoře musí být materiál dopraven nejlépe do 2 hodin od odběru

Podmínky vyšetření je vhodné předem s laboratoří a naší ambulancí domluvit vzhledem ke zvýšeným nárokům na odběr, transport, skladování i zpracování vzorků.

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Výsledky jsou udávány v procentech spermií s normálním výskytem akrosinu v hlavičce z celkového počtu spermií. Normální hodnoty jsou v rozmezí 50 – 100%.

Provádí se:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**



2 – 4x za měsíc

### **5.17.3 Protilátky proti spermiím (ELISA)**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Metoda slouží k průkazu protilátek proti spermiím v séru žen i mužů. Tyto protilátky mohou být příčinou sterility. Jedná se buď o autoprotilátky vznikající v mužském organismu nebo protilátky u žen imunizovaných antigeny spermií.

Označení na žádance: protilátky proti spermiím – ELISA (žádanka „reprodukce“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum obou partnerů

Odběr:

sklo nebo plast bez úpravy

Manipulace s materiálem a transport:

Odběr je součástí celého bloku vyšetření neplodností. Podmínky jsou stanoveny po domluvě (uvedeno viz. 5.17.1).

Hodnocení výsledku, referenční meze:

negativní do 20 IU/ml

pozitivní nad 20 IU/ml

Omezení a interference:

hemolýza ani lipemie neinterferují; toto stanovení nemusí korelovat se stanovením protilátek proti spermiím TRAY aglutinačním testem (protilátky lze potvrdit nebo vyvrátit jiným imunoenzymatickým vyšetřením nebo imunofluorescenčně)

Provádí se:

2 – 4x za měsíc

### **5.17.4 Protilátky proti spermiím (TRAY aglutinační test)**

Metoda stanovení: mikroaglutinační test podle Friberga

Význam stanovení:

Viz. 5.17.3

Označení na žádance: protilátky proti spermiím – aglutinace (žádanka „reprodukce“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum obou partnerů a současně čerstvý ejakulát

Odběr:

sklo nebo plast bez úpravy

Manipulace s materiálem, transport:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Odběr je součástí celého bloku vyšetření neplodností. Podmínky jsou stanoveny po domluvě (uvedeno viz. 5.17.1)

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Prohlížíme pod mikroskopem, zda spermie se sérem vytvářejí aglutináty. Pokud tomu tak není, je zkouška negativní (nepřítomnost protilátek proti spermii). V případě positivity lze séra dále ředit geometrickou řadou a určit tak titer protilátek.

Omezení a interference:

v případě oligospermie partnera vyšetřujeme pomocí spermií vhodného dárce

Provádí se:

2 – 4x za měsíc

### **5.17.5 Autoprotilátky proti spermii (MAR test)**

Metoda stanovení: přímá aglutinace s latexovými částicemi

Význam stanovení:

Viz. 5.17.3

Označení na žádance: MAR test – přímý (žádanka „reprodukce“)

Vyšetřovaný materiál:

čerstvý ejakulát

Odběr:

sklo nebo plast bez úpravy

Manipulace s materiálem, transport:

Odběr je součástí celého bloku vyšetření neplodností. Podmínky jsou stanoveny po domluvě (uvedeno viz. 5.17.1).

Hodnocení výsledku, referenční meze:

V případě přítomnosti protilátek proti spermii vázaným na spermie jsou spermie potaženy latexovými částicemi. Počítá se procento spermií s navázanými částicemi z celkového počtu spermií. Diagnóza imunologické infertility je pravděpodobná, pokud se 40 a více procent spermií pokryje latexovými částicemi. Suspektní výsledek je 10 – 40%, normální výsledek je do 10 %.

Omezení a interference:

lze použít pouze ejakulát s pohyblivými spermii

Provádí se:

2 – 4x za měsíc

### **5.17.6 Protilátky proti zona pellucida (ELISA)**

Metoda stanovení: ELISA

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Význam stanovení:

Zona pellucida, deset mikrometrů silná glykoproteinová matrix obklopující oocytární hmotu, slouží v podstatě jako ochranná vrstva obklopující dozrávající oocyt. Je také základem pro iniciační vývoj granulózových buněk. Zabraňuje oplodnění vajíčka více spermii, napomáhá akrosomální reakci a chrání oplozené vajíčko při cestě z vejcovodu do děložní dutiny.

Protilátky proti zona pellucida se mohou vázat na specifické receptory pro spermie, maskovat je a deformovat a bránit tak fertilizaci. Fertilizaci může zabránit rovněž precipitace povrchové vrstvy zona pellucida.

Příčinou vzniku těchto protilátek mohou být záněty vaječníků a jejich okolí (např. zánět slepého střeva). Je zjištěno, že hladiny protilátek proti zona pellucida bývají u pacientek tím vyšší, čím častěji u nich dochází k odběru oocytů ze stimulované ovariální tkáně při in vitro fertilizaci.

Indikací k vyšetření je sterilita z neznámé příčiny, endometrióza, neúspěšná in vitro fertilizace, opakované potraty.

Označení na žádance: anti zona pellucida – ELISA (žádanka „reprodukce“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr:

sklo nebo plast bez úpravy

Manipulace s materiálem, transport:

Odběr je součástí celého bloku vyšetření neplodností. Podmínky jsou stanoveny po domluvě (uvedeno viz. 5.17.1)

Hodnocení výsledku, referenční meze:

negativní 0 – 10 IU/ml

pozitivní > 10 IU/ml

Omezení a interference:

hemolytická a lipemická séra a séra pacientek s jaterními chorobami nejsou pro vyšetření vhodná

Provádí se:

2 – 4x za měsíc

**Pro stanovení správné diagnózy u neplodných párů jsou důležitá i následující vyšetření:**

**5.17.7 Protilátky proti protrombinu**

viz. kap. 5.1 Autoimunita

**5.17.8 Protilátky proti annexinu**

viz. kap. 5.1 Autoimunita

**5.17.9 Autoprotilátky proti fosfolipidům; screen**

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

viz. kap. 5.1 Autoimunita

#### **5.17.10 Autoprotilátky proti fosfolipidům; profil**

viz. kap. 5.1 Autoimunita

#### **5.17.11 Autoprotilátky proti kardiolipinu**

viz. kap. 5.1 Autoimunita

#### **5.17.12 Autoprotilátky proti $\beta$ 2 glykoproteinu I**

viz. kap. 5.1 Autoimunita

#### **5.17.13 Anti - mülleriánský hormon**

Metoda stanovení: ELISA

Význam stanovení:

Hormon AMH je u mužů nezbytný pro správnou sexuální diferenciaci, u žen reguluje dozrávání folikulů. Stanovení sérové hladiny je důležité při hodnocení funkčního stavu gonád a souvisejících poruch. AMH inhibuje tvorbu primordiálních folikulů a potlačuje vnímavost rostoucích folikulů na FSH. AMH je na rozdíl od většiny hormonálních biomarkerů produkováno jedinečně granulózovými buňkami folikulů v mnoha stádiích (od primárních po časné antrální stadium). Bylo zjištěno, že koncentrace AMH v séru je přímo úměrná počtu antrálních folikulů a je lepším indikátorem ovariální rezervy než FSH, inhibin B nebo estradiol měřené 3. den cyklu. Kromě toho, na rozdíl od výše zmíněných markerů, se hladiny AMH v séru významně nemění ani v průběhu menstruačního cyklu, ani mezi následnými cykly. Při asistované reprodukci se z hladin AMH dá odhadnout, jaká bude odezva vaječníků a jaká je šance na úspěšné otěhotnění.

Označení na žádance: AMH (žádanka „reprodukce“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum; venózní nesrážlivá krev nebo plazma

Odběr a transport materiálu:

Viz. kapitola 6.1.1

Hodnocení, referenční meze:

dospělí muži	1,3 – 4,8 ng/ml
dospělé ženy	0 – 12,6 ng/ml
ženy ve třetím dni cyklu	0 – 10,6 ng/ml
ženy po menopauze	0
chlapci před pubertou	3,8 – 159,8 ng/ml
dívky do 15 let	0 – 8,9 ng/ml

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Omezení a interference:

hemolytická a lipemická séra nejsou pro vyšetření vhodná

Provádí se:

1x za 2 týdny podle počtu pacientů

## **5.18 Reprodukční imunologie - buněčná**

### **5.18.1 Aktivace NK buněk s antigeny spermií a trofoblastu**

Metoda stanovení: průtoková cytometrie

Význam stanovení:

Součástí imunologické reaktivity je také buněčná imunita. Za užitečné vyšetření v případě žen s diagnózou opakovaného potrácení, po neúspěšných IVF zákrocích či s jiným neobjasněným důvodem neplodnosti, je proto považována také detekce NK buňkami zprostředkované imunologické reaktivity, která je namířena proti spermiím či buňkám trofoblastu. U těchto žen bývá vyšší podíl aktivovaných NK buněk in vitro i po kultivaci s antigeny spermií či trofoblastu.

Označení na žádance: aktivace NK buněk s antigeny

spermií a trofoblastu (žádanka „reprodukce“)

Vyšetřovaný materiál:

venózní nesrážlivá krev odebraná do heparinu od ženy, ejakulát od muže

Odběr:

krev: sklo nebo plast s úpravou (heparin)

ejakulát: nejlépe sterilní jednorázové nádobky

Manipulace s materiálem:

Odběr je součástí celého bloku vyšetření neplodností. Podmínky jsou stanoveny po domluvě (uvedeno viz. 5.17.1)

Hodnocení výsledku, referenční meze:

písemná interpretace výsledků

Udává se procento spontánně aktivovaných NK buněk, procento aktivovaných NK buněk s mitogenem, spermiemi a trofoblastem. Výsledek aktivace se u spermií i trofoblastu dále vztahuje k pozitivní kontrole – mitogen (100%).

Provádí se:

2 – 4x za měsíc

### **5.18.2 Stanovení vitality a počtu spermií, kvality akrozomu a počtu leukocytů ve spermatu (SpermFlow)**

Metoda stanovení: průtoková cytometrie

Význam stanovení:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Mezi základní parametry ovlivňující schopnost oplození patří počet spermií v ejakulátu, jejich vitalita a kvalita akrozomu, který obsahuje enzymy potřebné pro průnik spermie do vajíčka. Integrita akrozomu je důležitým požadavkem pro úspěšnou interakci pohlavních buněk. Neprůkaznost intra-akrozomálních proteinů ve spermii znamená závažný defekt. Přítomnost leukocytů ve vzorku naznačuje probíhající infekci, která může negativně ovlivnit kvalitu spermatu.

Označení na žádance: žádanka „reprodukce“

Vyšetřovaný materiál: ejakulát

Odběr:

Čerstvý ejakulát získaný po 2-3 denní sexuální abstinenci masturbací. Na odběr vzorků se používají nejlépe sterilní jednorázové nádoby.

Manipulace s materiálem:

Při odběru mimo ambulanci je důležité dopravit vzorek do 60 minut od odběru při teplotě odpovídající teplotě lidského těla.

Hodnocení výsledku, referenční meze:

Normální hodnoty:

Počet spermií v ejakulátu:  $> 15 \times 10^6 / \text{ml}$

Počet leukocytů v ejakulátu:  $< 1 \times 10^6 / \text{ml}$

Životnost spermií:  $> 58 \%$

Integrita akrozomu:  $< 30 \%$  patologických spermií

Přítomnost akrozomálního proteinu  $> 90 \%$  spermií

Provádí se:

2 – 4x za měsíc

## **D. TRANSPLANTOLOGIE**

### **5.19.1 HLA – specifické protilátky**

Metoda stanovení: luminex (vyšetření na pevné fázi)

Význam stanovení:

Transplantace ledvin je metodou volby u pacientů s vážným onemocněním ledvin a terapeutickou možností pro léčbu terminálního stádia renálního selhání. Počty přežití a doba přežívání pacientů po transplantacích ledviny ukazuje v posledních dekádách progresivní vzestup díky citlivějším laboratorním vyšetřením, kvalitnějšímu výběru dárců a lepší imunosupresi. Zatím neexistuje jednoznačný test k odhalení případné budoucí rejekce alotransplantátu, nicméně jasný benefit umožňuje HLA typizace. Pro transplantaci ledvin je nutná shoda v systému AB0 a ideálně co nejbližší soulad HLA, přičemž z hlediska rejekce je významnější shoda v HLA – II. třídy. Na imunologické rejekci se mohou podílet přirozené protilátky proti HLA dárce, popřípadě se mohou donor specifické protilátky tvořit následně po transplantaci. Pro předcházení hyperakutní a akutní rejekce je nutno vždy před transplantací provést lymfocytotoxický test (CDC, crossmatch) nebo další metodu, která prokazatelně určuje protilátky proti HLA antigenům se stejnou nebo vyšší citlivostí než CDC.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Každá laboratoř musí mít program pro pravidelný screening vzorků séra potenciálních příjemců orgánů (každé 3 měsíce, metoda Luminex 1x ročně). Vyšetření HLA specifických protilátek by mělo být provedeno do jednoho měsíce po krevní transfúzi, těhotenství nebo grafektomii. Informace o screeningu jsou prostřednictvím KST (Koordinační středisko transplantací), které je přidružené k Transplantačnímu centru, zaznamenávány v databázi TRINIS. Přítomnost donor-specifických protilátek před transplantací určených metodou Luminex ještě nemusí představovat kontraindikaci k transplantaci, ale v případě negativního CDC se zhodnocení rizika rejekce provádí na základě posouzení MFI (průměrná intenzita fluorescence) metody Luminex.

Označení na žádance: vyšetření má speciální žádanku ([www.fnhk.cz/ukia](http://www.fnhk.cz/ukia))

Vyšetřovaný materiál:

venózní srážlivá krev nebo sérum

Odběr: plast bez úpravy

Manipulace s materiálem a transport:

Do laboratoře musí být materiál dopraven nejdéle do 2 hodin od odběru; vhodná je teplota při transportu v rozmezí od 4 do 8 °C.

Hodnocení výsledku, referenční meze:

písemná interpretace výsledků

Výsledky jsou vydávány jako střední hodnota fluorescence (MFI) jednotlivých specifit protilátek proti HLA. Tato veličina je bezrozměrná a je nutné ji vždy hodnotit ve vztahu k hodnotám MFI negativního kontrolního séra. Na základě doporučení České nefrologické společnosti je možné dle hodnot MFI rozdělit riziko rejekce na:

1. nízké - Ab proti HLA-I MFI 1 500-2 000, Ab proti HLA-II MFI 2 000-3 000
2. středně vysoké – MFI do 10 000
3. vysoké – MFI nad 10 000

V případě 2. a 3. varianty je virtuální crossmatch pozitivní.

Hodnoty pod 1500 MFI u HLA-I. třídy a pod 2000 u HLA-II. třídy jsou hodnoceny jako negativní.

Provádí se: podle potřeby, min. 1x týdně

### **5.19.2 Stanovení aloprotilátek průtokovou cytometrií (FCXM – CROSSMATCH)**

Metoda stanovení: průtoková cytometrie

Význam stanovení:

Metoda slouží pro detekci aloprotilátek/cytotoxických protilátek (třídy IgG) proti HLA antigenům I. třídy u pacientů před transplantací ledvin. Jde o alternativu „klasického“ lymfocytotoxického testu (LCT). Určuje přítomnost nebo nepřítomnost aloprotilátek.

Označení na žádance: žádanka „buněčná imunita“ nebo žádanka pro vyšetření HLA - specifických protilátek

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Vyšetřovaný materiál:

- venózní nesrážlivá krev dárce odebraná do heparinu, EDTA nebo citrátu
- venózní srážlivá krev příjemce

Odběr: sklo nebo plast bez úpravy a plast s úpravou (heparin, EDTA, citrát)

Manipulace s materiálem:

Do laboratoře musí být materiál dopraven nejdéle do 2 hodin od odběru.

Hodnocení výsledku, referenční meze:

písemná interpretace výsledků

**Léčba pacienta léky Rituximab, Campath, Thymoglobulin, IVIG ovlivňuje výsledek vyšetření.**

Provádí se:

do 6 hodin od odběru

### **5.19.3 Quantiferon Monitor**

Metoda stanovení: inkubace a následná ELISA

Význam stanovení:

Imunodeficiencie je charakterizována sníženou schopností účinně nastolit imunitní odpověď. Tato snížená nebo chybějící odpověď může být způsobena primární nebo získanou (sekundární) imunodeficiencí. Primární imunodeficiencie jsou geneticky vrozené a charakterizují je deficiencie různých složek adaptivní nebo vrozené imunity.

Většina imunodeficiencí je získaných (sekundárních) a lze je navodit léčbou, např. imunosupresivní po transplantaci orgánů, cytostatiky. Příčinou může být i onemocnění, např. malignity zvláště leukémie a lymfomy nebo kontaminující látky, xenobiotika z životního prostředí.

Quantiferon monitor je diagnostický test in vitro, který využívá kombinaci stimulantů (ve formě pelet LyoSphere), které specificky stimulují různé typy buněk zapojených do přirozené i specifické imunity. Funkční stav imunitního systému pacienta se vyhodnocuje měřením odpovědi na stimulaci vrozeného a adaptivního imunitního systému pomocí agonistů TLR receptoru (Toll Like Receptor), respektive receptoru pro antigen na T-lymfocytech (TCR). Stimulované buňky odpovídají tvorbou interferonu gama (IFN- $\gamma$ ). Detekce interferonu gama (IFN- $\gamma$ ) pomocí tohoto testu poskytuje kvalitativní i kvantitativní hodnocení funkce buňkami zprostředkované imunity.

Označení na žádance: vyšetření má speciální žádanku

Vyšetřovaný materiál:

nesrážlivá krev

Odběr:

Zkumavky pro odběr krve QuantiFERON Monitor (bílý uzávěr, bílý kroužek) se spolu se speciální žádankou zasílají lékaři na vyžádání (tel. 495 832 607). Do zkumavky se odebere 1 ml krve (ryska na zkumavce), zapíše se na ni čas odběru, obsah zkumavky se důkladně, ale opatrně promíchá.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**



Manipulace s materiálem:

Zkumavky se **okamžitě** zašlou s vyplněnou žádankou do laboratoře ÚKIA (potrubní pošta 7171). Pokud nelze materiál okamžitě zaslat (odběr je uskutečněn mimo FN), lze naplněné zkumavky **skladovat při pokojové teplotě**, ale k zaslání do laboratoře musí dojít do **8 hodin** od odběru (odběr je nejvhodnější provést těsně před svozem materiálu).

Hodnocení výsledku, referenční meze:

<b>Výsledek IFN-<math>\gamma</math> (IU/ml) testu QFM</b>	<b>Klasifikace</b>	<b>Interpretace</b>
< 15	Nízká	Pacient má nízkou odpověď IFN- $\gamma$ na stimulanty vrozené a adaptivní imunity
15–1000	Střední	Pacient má střední odpověď IFN- $\gamma$ na stimulanty vrozené a adaptivní imunity
> 1000	Vysoká	Pacient má vysokou odpověď IFN- $\gamma$ na stimulanty vrozené a adaptivní imunity

Provádí se:

1x týdně podle počtu pacientů

## **6. Procesy před laboratorním vyšetřením**

### **6.1 Odběr biologického materiálu a doporučený odběrový systém**

Ve FN HK se odběry materiálů provádí podle platných zdravotnických pracovních postupů. Obecné zásady preanalytické fáze jsou obsahem nemocniční směrnice ZS/8.

Stav pacienta, vlastní způsob odběru, doprava do laboratoře, skladování a další manipulace se vzorkem před provedením vlastní analýzy mohou v některých případech významně ovlivnit výsledek a interpretaci stanovení.

Odběr biologického materiálu pro imunologická vyšetření by měl probíhat na základě doporučení uvedených v následující části této příručky.

#### **6.1.1 Odběr biologického materiálu a příprava pacienta**

##### **a) Odběr venózní krve**

Většina vyšetření v naší laboratoři se provádí ze séra nebo plazmy pacienta získaného sedimentací nebo centrifugací venózní krve.

Odběr je vhodné provést ráno nalačno mezi 7 – 9 hodinou. Pacient by měl být poučen o dietě před odběrem, po konzultaci s lékařem o vynechání léků před odběrem, pokud je to vhodné a důležité pro analýzu. Ráno před odběrem se doporučuje, aby pacient vypil 0,25 l vody nebo čaje. Tekutina může být mírně oslazená.

Při použití vakuového odběrového systému se vloží vhodná jehla do držáku, nasadí se turniket, dezinfikuje se místo vpichu na kůži, dezinfekce se nechá zaschnout a provede se venepunkce. Následně se do držáku vkládají jednotlivé zkumavky při dodržení následujícího pořadí:

- odběrová zkumavka bez přísad
- odběrová zkumavka pro hemokoagulaci
- odběrová zkumavka s dalšími přísadami v tomto pořadí: K3EDTA, citrát, heparin

Jakmile krev začne pomocí vakua vtékat do zkumavky, lze turniket odstranit. Vakuum ve zkumavce zajistí přiměřené naplnění zkumavky a správný poměr krve a přidaných činidel. Po odběru je nutné zkumavku 5 – 10x šetrně obrátit.

##### **Zkumavka se srážlivou krví:**

po odběru je nutné nechat zkumavku 1 – 2 hodiny stát při pokojové teplotě a maximálně do druhého dne dopravit do laboratoře. Lze také zaslat již oddělené sérum, nejlépe do 48 hodin po odběru.

##### **Zkumavka s nesrážlivou krví:**

ve velké většině se používá k vyšetření na úseku buněčné imunologie. V kapitole 5 B „Buněčná imunita“ této Laboratorní příručky je pro každé vyšetření uvedeno, jaký typ protisrážlivého činidla je pro vyšetření vhodný a dále různé specifikace odběru a transportu materiálu pro jednotlivá vyšetření.

##### **Chyby při odběru venózní krve**

- chyby při přípravě pacienta (odběr nalačno v závislosti na denní době, vysazení léků)
- chyby způsobené nesprávným použitím turniketu při odběru (hemolýza)

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

- nevhodné zkumavky
- nesprávné protisrážlivé činidlo nebo jeho nesprávný poměr k plné krvi
- špatné označení zkumavek s materiálem
- potřísnění zkumavek s materiálem
- uplynutí dlouhé doby mezi odběrem a oddělením krevního koláče nebo erytrocytů od séra nebo plazmy
- krev byla vystavena nevhodné teplotě
- krev byla vystavena přímému slunečnímu světlu

#### Manipulace s materiálem a transport do laboratoře:

nejvhodnější je doprava do laboratoře nejdéle do 24 hodin od odběru při teplotě 2 – 8 °C (oddělené sérum nebo plazma pak do 48 hodin). Pokud nastane při transportu neočekávaná situace, lze tolerovat pokojovou teplotu.

Při zasílání materiálu ve FN potrubní poštou lze transport uskutečnit při pokojové teplotě (vzhledem k rychlosti transportu až při 28 °C).

#### Specifické odběry venózní krve

##### Odběr venózní srážlivé krve pro vyšetření ECP:

Odběr je třeba provádět zvláště opatrně, protože hemolýza znehodnocuje výsledek vyšetření. Odběr je nejvhodnější provést do zkumavky BD Vacutainer s akcelerátorem koagulace a separačním gelem (v odběrovém systému zkumavka s červeným uzávěrem se žlutým kroužkem). Po odběru je třeba materiál opatrně promíchat a ihned odeslat do laboratoře, aby došlo k včasnému oddělení krevního koláče (do 2 hodin od odběru). Nejvhodnější je zajistit pro pacienta odběr na našem pracovišti.

Do laboratoře lze poslat již oddělené sérum při zachování výše uvedeného postupu.

##### Odběr venózní krve pro stanovení Quanti FERON TB Gold test:

Čtyři zkumavky (žluté, zelené, fialové a šedé víčko) se spolu se speciální žádankou zasílají lékaři na vyžádání (tel. 495 832 607). Do všech zkumavek se odebere po 1 ml krve (černá ryska na zkumavce), zapíše se na ně čas odběru, obsah zkumavek se důkladně, ale opatrně promíchá. Zkumavky se okamžitě zašlou s vyplněnou žádankou do laboratoře ÚKIA (potrubní pošta 7171). Pokud nelze materiál okamžitě zaslat (odběr je uskutečněn mimo FN), lze naplněné zkumavky skladovat při **pokojuvé!!!** teplotě, ale k zaslání do laboratoře musí dojít do 16 hodin od odběru (odběr je nejvhodnější provést těsně před svozem materiálu).

##### Odběr venózní krve pro stanovení Quanti FERON CMV test:

Tři zkumavky (modré, fialové a šedé víčko) se spolu se speciální žádankou zasílají lékaři na vyžádání (tel. 495 832 607). Do všech zkumavek se odebere po 1 ml krve (černá ryska na zkumavce), zapíše se na ně čas odběru, obsah zkumavek se důkladně, ale opatrně promíchá. Zkumavky se okamžitě zašlou s vyplněnou žádankou do laboratoře ÚKIA (potrubní pošta 7171). Pokud nelze materiál okamžitě zaslat (odběr je uskutečněn mimo FN), lze naplněné zkumavky skladovat při **teplotě 37 °C!!!**, ale k zaslání do laboratoře musí dojít do 16 hodin od odběru (odběr je nejvhodnější provést těsně před svozem materiálu).

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Odběr venózní srážlivé krve pro určení funkčnosti komplementové kaskády:

Odebírá se venózní srážlivá krev (lze zaslat i sérum). Do laboratoře musí být materiál dopraven nejdéle do 2 - 4 hodin od odběru ve velmi těsně uzavřených odběrových nádobách, aby bylo zabráněno in vitro aktivaci komplementu; sérum je třeba transportovat ve zmrzlém stavu nejdéle do 18 hodin od odběru, vhodné je chlazení suchým ledem. Vzhledem k velmi omezenému transportu vzorku do laboratoře by bylo vhodné pacienta telefonicky objednat k odběru do naší ambulance.

b) Odběr materiálu pro analýzu nádorových buněk hematopoetického původu (leukémie)

Vyšetření buněčné imunity spočívá v analýze živých buněk a klade značné nároky na správný odběr a rychlý transport do laboratoře. Pro vyšetřování povrchových/cytoplazmatických znaků na leukocytech je nutný odběr periferní krve, kostní dřeně i mozkomíšního moku do zkumavky s protisrážlivým činidlem: K3EDTA, heparin (koncentrace heparinu 20 jednotek na 1 ml materiálu), citrát. Mozkomíšní mok by neměl být kontaminován krví.

Ascitická tekutina se odebírá do zkumavky s heparinem.

Vzorek nádorové/zánětlivé tkáně se vyřízne a vloží do zkumavky s fyziologickým roztokem s azidem sodným.

Bronchoalveolární laváž se odebírá při bronchoskopickém vyšetření do zkumavky, kterou není třeba ošetřit protisrážlivým činidlem. Odebraný materiál by neměl být kontaminován krví.

Veškerý materiál kromě mozkomíšního moku se musí zpracovat do 24 hodin. Pokud to není možné, je třeba jej uchovat při 2 - 8°C a měření provést do 48 hodin po odběru.

Mozkomíšní mok je nutné zpracovat okamžitě. Pokud nelze zajistit včasné zpracování, je možné materiál stabilizovat přidáním fixačního činidla (Transfix, v poměru 1 : 5; uchování při 2 - 8°C). Takto stabilizovaný materiál je možné analyzovat do 72 hodin po odběru (dle výrobce až 10 dní).

c) Odběr materiálu pro vyšetření aktivace bazofilů (Bazotest)

Pacient by měl minimálně 48 hodin před odběrem vysadit léky typu antihistaminik a antagonistů leukotrienů a 2 týdny před odběrem systémové kortikosteroidy. Odebírá se nesrážlivá krev (cca 5 ml) do zkumavek s heparinem.

d) Odběr stolice na vyšetření kalprotektinu

Odebírá se vzorek z vnitřní části stolice (maximálně velikosti hrášku) do určeného odběrového kontejneru. Vzorek je nutné odeslat do laboratoře do 24 hodin po odběru.

e) Odběr ejakulátu pro vyšetření neplodných párů

Sperma se odebírá po dvou až třídní sexuální abstinenci. Kratší odstup od předchozí ejakulace může snížit objem ejakulátu a koncentraci spermií. Při delší abstinenci může být snižená motilita spermií. Sperma se odebírá masturbací, přerušovaný styk může vést ke kontaminaci spermatu bakteriemi poševního prostředí, použití kondomu ke kontaminaci spermicidními látkami. Na odběr vzorků se používají nejlépe sterilní jednorázové nádoby.

Při odběru mimo ambulanci je důležité dopravit vzorek do 60 minut od odběru při pokojové teplotě do laboratoře. Cílem je udržet optimální motilitu spermií pro analýzu kvality spermatu.

### 6.1.2 Množství odebíraného materiálu

Tabulka 1: Doporučené množství materiálu při primárním odběru

Stanovení základních parametrů humorální imunity	6 – 8 ml srážlivé krve
Stanovení základních parametrů buněčné imunity	6 – 8 ml nesrážlivé krve
Stanovení speciálních analytů (spec. IgE, autoprotilátek, protilátek proti infekčním agens aj.)	vždy 1 ml srážlivé krve na 2 – 3 analyty
Stanovení speciálních analytů buněčné imunity	množství nesrážlivé krve a specifikace jsou uvedeny u jednotlivých metod
Vyšetření kalprotektinu	množství stolice o velikosti hrášku
Průkaz galaktomannanového antigenu	6 ml srážlivé krve pro Aspergillus (1 ml BAL) 6 ml srážlivé krve pro Candidu
Vyšetření HLA – specifických protilátek	8 – 10 ml srážlivé krve

### 6.1.3 Doporučený odběrový systém

Ve FN je používán bezpečnostní systém BD Vacutainer. Slouží k odběru krve pro analýzu v laboratorní diagnostice. Jedná se o uzavřený vakuový systém, který vylučuje možnost kontaminace zdravotnického personálu, pacienta a prostředí krví a tím i možnost infikování odebíraným materiálem.

Zkumavky jsou sterilní, nerozbitné při pádu i centrifugaci, dokonale průhledné se štítkem pro identifikaci, spolehlivě uzavřené s přesně definovaným, elektronicky testovaným vakuem postačujícím k naplnění právě jen uvedeným objemem krve. V odběrovém systému jsou využity technologie umožňující téměř okamžitě získání séra pro laboratorní vyšetření (akcelerátory hemokoagulace, separační gely), zajišťující dlouhodobou stabilitu vzorku a snadný transport.

Všechna potřebná, vysoce kvalitní chemická aditiva jsou ve zkumavkách přesně nadávkována, takže je zachován jejich poměr k nabranému objemu krve, který je na zkumavce vyznačen. Tento systém nabízí kompletní sortiment zkumavek v objemových velikostech od 1 do 10 ml.

Na dětské klinice je používán odběrový systém SARSTEDT.

Obr. 2 Typy odběrových zkumavek BD Vacutainer

**Ústav klinické imunologie a alergologie  
Fakultní nemocnice Hradec Králové**

Testovaný materiál Laboratoř	Barevný kód	Písmenný kód	Chemická aditiva	Centrifugace RCF= 1,118 x 10 <sup>-2</sup> x r x t <sup>2</sup>	Poznámka
Sérum klinická biochemie, serologie		Z	akcelerátor hemokoagulace	minimum 1500g - 10 min.	standardní odběr více než 2 ml krve
				minimum 1500g - 10 min.	pediatrický odběr max. 2 ml krve
				minimum 1800g - 10 min.	separační gel, prodloužená stabilita, lze zamrazit při -20 °C
				minimum 1800g - 10 min.	separační granule
		Z NH	akcelerátor hemokoagulace nebo natrium heparin	•	nelze použít pro stanovení Al a Mn (pouze ve zkumavkách bez aditiv)
Heparin-plazma klinická biochemie imunologie		LH NH AH	lithium heparin nebo natrium heparin nebo amonium heparin	2000g - 3000g 15 min.	standardní odběr, nelze použít pro stanovení Kalia
				2000g - 3000g 15 min.	pediatrický odběr max. 2 ml krve
				2200g - 10 min.	separační gel
EDTA - krev klinická hematologie		K3E K2E	K <sub>2</sub> EDTA nebo K <sub>3</sub> EDTA (pevně po stěnách) nebo K <sub>3</sub> EDTA (kapalné)	•	standardní odběr, krevní obraz provést do 3 hod. po odběru
				•	pediatrický odběr, krevní obraz provést do 3 hod. po odběru
Citrat-plazma klinická hematologie - koagulace		9NC	natrium citrát 1:9	plazma bohatá na destičky 150g - 5 min.	zpracovat do 2 hod. po odběru
				nebo plazma chudá na destičky 1500g - 2000g 10 min.	zpracovat do 2 hod. po odběru
		CTAD	natrium citrát + theophylin + adenosin + dipyridamol	nebo bezdestičková plazma 2500g - 3000g 20 min.	zpracovat do 4 hod. po odběru
Plazma klinická biochemie		FE FX FH LH/MJA	natrium fluorid + EDTA nebo natrium fluorid + kalium oxalát nebo natrium fluorid + lithium heparin nebo lithium heparin + monoiodacetát	•	inhibitor glykolýzy, stabilita max. 24 hod.
			•	inhibitor glykolýzy, stabilita max. 24 hod.	
Citrat-plazma odb. místa		4NC	natrium citrát 1:4	•	polouzavřená sedimentace s kapičarou
			natrium citrát 1:4	•	plně uzavřená sedimentace manuální i automatická v sedimentačním analyzátoru
Serum EDTA-krev ACD-krev transfúzní oddělení		ACD-A ACD-B CPDA	kys. citronová + trisnatrium citrát + dextrosa (v poměru A nebo B) nebo kys. citronová + dihydrogennatrium fosfát + dextrosa + adenin	•	stanovení krevních skupin, stabilita erytrocytů 21 resp. 35 dnů při 1 - 6 °C
		Z K3E	akcelerátor hemokoagulace nebo K <sub>3</sub> EDTA	•	HLA typizace
		Z	bez aditiv	•	lze i bez štítku a bajonetového uzávěru
Serum plazma genetika		K2E/ Gel	K <sub>2</sub> EDTA	1800g - 2200g 10 min.	separační gel, PCR a molekulární biologie
		Z	bez aditiv	400g - 5 min.	kónické dno
klinická biochemie, mikrobiologie		Boric acid	kyselina boritá (konzervans)		kulaté dno

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Výše uvedený systém je námi pouze doporučován. Pokud je odběr proveden do správné zkumavky jiného výrobce, je materiál podle požadavků zpracován.

Tabulka 3: Specifikace odebíraného materiálu (venózní krev) a typ odběrové zkumavky pro ÚKIA

Biologický materiál	Typ odběrové nádoby	Použití
Srážlivá žilní krev	Zkumavka s aktivátorem hemokoagulace (červené víčko)	ASLO, CRP, RF, imunoglobuliny, komplement, specifické protilátky, autoprotilátky, specifické proteiny, specifické IgE, antiinfekční protilátky, HLA protilátky aj.
Nesrážlivá žilní krev	Zkumavka s K <sub>3</sub> EDTA (fialové víčko)	Imunofenotypizace
Nesrážlivá žilní krev	Zkumavka s Na-citrátem (modré víčko)	Vyšetření destičkových a plazmatických funkcí
Nesrážlivá žilní krev	Zkumavka s heparinem (zelené víčko)	Stanovení fagocytózy (ingesce částic)
Srážlivá žilní krev	Zkumavka s dělicím gelem (žluté víčko)	Sérologická vyšetření (např. ECP, komplement aj.)

Odběrové zkumavky a nádoby pro jiný odběrový materiál:

- likvor, punktát, BAL, sputum, kostní dřev, ejakulát, tkáň – plastová zkumavka nebo jiná nádoba bez úpravy
- moč – močová zkumavka, popř. plast nebo sklo bez úpravy
- stolice – odběrová nádoba na stolici, popř. jiná plastová nebo skleněná nádoba

## 6.2 Požadavkové listy (žádanky)

Všechny žádanky jsou pro buněčná i humorální vyšetření nově upraveny v elektronické podobě a jsou k dispozici na stránkách našeho ústavu ([www.fnhk.cz/ukia](http://www.fnhk.cz/ukia)), odkud si je můžete stáhnout a vytisknout. Naše pracoviště poskytuje žádanky na svá vyšetření (jedná se o žádanku „obecnou“, „alergologickou“ a „buněčnou“). Tyto žádanky obdržíte obratem na požádání. Požádat lze telefonicky, písemně i e – mailem.

Požadavek na vyšetření lze poslat i na jakémkoli jiném typu žádanky, pokud bude obsahovat tyto povinné údaje:

- rodné nebo identifikační číslo pojištěnce (číslo pojištěnce u cizinců)
- jméno a příjmení pacienta
- pohlaví pacienta
- kontakt na pacienta
- kód zdravotní pojišťovny
- základní diagnózu pacienta
- platné IČP lékaře, jeho odbornost, razítko a podpis
- kontakt na objednavatele (adresa, telefon, fax)

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

- požadovaná vyšetření, vč. označení urgentnosti vyšetření (statim)
- druh primárního vzorku
- datum odběru, čas odběru (pokud je to relevantní – např. u statim vyšetření), identifikace odebírajícího pracovníka
- datum a čas příjmu vzorku; podpis pracovníka příjmu
- další doplňující údaje, pokud jsou potřebné pro provedení nebo interpretaci testu

Požadavek musí být vždy jednoznačný a údaje musí být čitelné.

Požadavkový list je nutné přiložit k řádně označenému materiálu – min. jméno, rodné číslo pacienta (prevence možné záměny).

V případě požadavků na vyšetření antiinfekční imunity pacienta je třeba vyplnit naši žádanku ÚKIA – antiinfekční imunita nebo ÚKIA – obecná žádanka, popř. lze použít i jiný typ žádanky, ale **je nutné** pro potřeby hlášení případné positivity nálezu některých infekčních onemocnění vyplnit i **adresu pacienta**.

#### Identifikace pacienta na žádance a označení vzorku

V laboratoři jsou přijímány pouze řádně označené vzorky materiálů, které mají na štítku čitelně napsáno minimálně jméno a rodné číslo pacienta. Je překontrolována shoda identifikace materiálu s požadavkovým listem. Pokud je vše v pořádku, je žádance i materiálu přiděleno pořadové číslo v daném dni, které pacienta provází po celou dobu vyšetření v naší laboratoři. Identifikační znaky pacienta jsou zadány do laboratorního informačního systému. Tak je zajištěna návaznost identifikovaného jedince na žádance i na zkumavce s biologickým materiálem a rovněž s případnými podíly tohoto materiálu. Přiřazené laboratorní číslo je uvedeno na výsledkovém listu.

### **6.3 Ústní požadavky na vyšetření, dodatečná a opakovaná vyšetření**

Opakovaná či dodatečná (i statimová) vyšetření lze provést ze vzorků již v laboratoři přijatých po telefonické domluvě s ordinujícím lékařem. Dodatečná vyšetření lze u některých analytů provádět s určitým omezením, které je dáno stabilitou analytu v odebraném materiálu. Laboratoř skladuje vzorky při 4 °C u rutinních metod maximálně 5 dnů, u speciálních metod až 1 měsíc při – 20 °C. Po uplynutí této doby nelze vyšetření provést a je nutný nový odběr vzorku.

Pokud je vzorek pro dodatečné vyšetření dostupný, je možné toto vyšetření provést pouze za předpokladu, že ordinující lékař pošle nový požadavkový list s označeným dodatečným vyšetřením a všemi náležitostmi uvedenými v kap. 6.2.

### **6.4 Transport primárního vzorku**

Požadavky na transport materiálu jsou uvedeny v kapitole 5 u jednotlivých vyšetření.

Obecně platí, že:

- žádanka ani vnější strana odběrové zkumavky nesmí být kontaminována biologickým materiálem
- vzorky od pacientů s již diagnostikovaným přenosným virovým onemocněním musí být viditelně označeny

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**



- vzorky musí být přepravovány v uzavřených odběrových zkumavkách, které jsou vloženy do stojánku nebo přepravního kontejneru tak, aby během transportu vzorku do laboratoře nemohlo dojít k rozlití, pořísnění biologickým materiálem nebo jinému znehodnocení vzorku

## **7. Kritéria pro odmítnutí primárních vzorků**

Laboratoř vyvíjí maximální úsilí vyřešit co největší počet těchto událostí vhodnou cestou, např. pomocí telefonických dotazů.

Odmítnout lze:

- žádanku s biologickým materiálem, na které chybí nebo jsou nečitelné základní identifikační údaje pacienta nebo ordinujícího lékaře nebo obsahuje-li požadavek (požadavky) na vyšetření, které laboratoř neprovádí ani nezajišťuje předání
- žádanku nebo odběrovou nádobku znečištěnou biologickým materiálem
- nádobku s biologickým materiálem, který není z hlediska nezaměnitelnosti dostatečně identifikovatelný
- nádobku s biologickým materiálem, kde zjevně došlo k porušení doporučení o preanalytické fázi
- neoznačenou nádobku s biologickým materiálem
- biologický materiál bez žádanky
- biologický materiál, který není vhodný k požadovanému vyšetření

### **a) Postup laboratoře při nesprávné identifikaci biologického materiálu:**

- analýza se neprovádí
- odesílající lékař obdrží informaci o odmítnutí materiálu s odůvodněním (nejčastěji telefonická domluva s lékařem)

### **b) Postup laboratoře při nesprávné nebo neúplné identifikaci pacienta nebo lékaře na žadance**

- při nedostatečné identifikaci pacienta na žadance se materiál v laboratoři uskladní a pokud je k dispozici údaj o odesílajícím subjektu, je tento požádán (nejčastěji telefonicky) o doplnění údajů; pak lze teprve přistoupit ke zpracování materiálu
- pokud není k dispozici údaj o odesílateli, materiál nemůže být zpracován a je odmítnut

## **8. Uvolňování výsledků**

### **8.1 Informace o formách vydávání výsledků, typy nálezů a laboratorních zpráv**

Po provedení vyšetření jsou výsledky převedeny do laboratorního informačního systému, zde jsou překontrolovány odpovědnými osobami a připraveny pro expedici. Expedice výsledků probíhá pomocí laboratorního informačního systému, který provede tisk výsledkových listů a denní knihy vzorků, odešle vybrané nálezy elektronickou cestou a zařadí uzavřené výsledky pacientů do archivu. Výsledkové listy jsou po kontrole a parafování odesílány lékařům ve FN potrubní poštou a mimo FN přes podatelnu. Všechny výsledky jsou archivovány ve formě denní knihy a rovněž elektronicky. Na vyžádání lze pořídit kopie výsledků.

Časové údaje o zpracování vzorku jsou uvedeny u každého jednotlivého analytu v 5. kapitole „Přehled prováděných vyšetření“ a na webových stránkách UKIA ([www.fnhk.cz/ukia](http://www.fnhk.cz/ukia)).

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

## 8.2 Změny výsledků a nálezů

Opravy již odeslaných výsledkových listů lze provádět pro

- identifikační část
- výsledkovou část

### Oprava identifikační části

Opravou identifikace pacienta se rozumí oprava rodného čísla, změna pojišťovny, změna příjmení. Provádí se buď při zadávání požadavků do LIS nebo v rámci oprav databáze. Číslo pojišťovny se opravuje také po odmítnutí vyúčtování původně uvedenou zdravotní pojišťovnou.

### Oprava výsledkové části

Lze ji provést, pokud má pacient vyšetření ve stádiu rozpracovanosti. Pokud jsou jeho výsledky již uzavřeny a je vytištěn výsledkový list, lze opravu provést následujícím způsobem:

- opravu výsledku schvaluje vedoucí laboratoře
- opravu provádí pověřený pracovník s přístupovými právy. O každé změně výsledku se provede záznam v LIS formou textu do příslušné žádanky včetně autora opravy.

Opravený výsledkový list se spolu s vysvětlujícím komentářem odešle lékaři a jeho kopie se uloží do dokumentace laboratoře.

## 8.3 Hlášení výsledků v kritických intervalech

Výrazně patologické výsledky se neprodleně telefonicky konzultují s ošetřujícím lékařem pacienta bez ohledu na to, zda bylo vyšetření provedeno v režimu vitální indikace, statim nebo se jednalo o rutinní (běžný) vzorek.

Tabulka 4: Kritické hodnoty

Tabulka kritických hodnot na úseku humorální imunologie:

<b>Parametr</b>	<b>Kritická hodnota</b>
CRP	$\geq 50$ mg/l
ASLO	$\geq 1000$ IU/ml
ANCA myeloperoxidáza	$\geq 30$ IU/ml
ANCA proteináza 3	$\geq 30$ IU/ml
GBM	při pozitivitě
Mannan antigen Aspergillus	při pozitivitě

Tabulka kritických hodnot na úseku buněčné imunologie:

<b>Parametr (vyšetření)</b>	<b>Kritický nález</b>
Imunofenotypizace pro průkaz krevních malignit	záchyt akutní leukémie, přítomnost abnormální, blastické populace buněk

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**

Analýza základních lymfocytárních populací periferní krve	nález krevní malignity nebo imunodeficiencie, který není očekáván dle diagnózy nebo komentáře na žádance
---	--

Laboratoř denně provádí konzultační činnost formou interpretace laboratorních nálezů a konzultace s indikujícím lékařem. Pravidelně konzultovanými nálezy jsou výsledky imunofenotypizační analýzy periferní krve, kostní dřeně nebo likvoru v diagnostice krevních malignit. Podrobná konzultace se provádí rovněž u nálezů reprodukční imunologie a autoimunity a u vyšetření HLA – specifických protilátek.

Kromě těchto specializovaných konzultací Ústav klinické imunologie pořádá pro klinické pracovníky v regionu pravidelné semináře.

## 9. Způsoby řešení stížností a reklamací

Kromě drobných připomínek k práci laboratoře, které přijímá, okamžitě řeší a následně informuje svého nadřízeného kterýkoliv pracovník laboratoře, je vyřizování stížností a reklamací v kompetenci vedoucího laboratoře.

### Přijetí stížnosti a reklamace

Drobnou připomínku k práci v laboratoři řeší okamžitě pracovník, který stížnost nebo reklamaci přijal, je-li to v jeho kompetenci. Jinak předává stížnost nebo reklamaci vedení laboratoře. Při zjevně neoprávněné stížnosti (reklamaci) pracovník informuje a předává k řešení tuto skutečnost vedení laboratoře.

### Vyřízení ústní stížnosti

- Jde-li o drobnou připomínku k práci laboratoře a je možné ji vyřešit ihned, učiní se tak. Tento typ stížností se nezaznamenává.
- Závažnější stížnost, kterou lze vyřešit ihned, vyřeší pracovník, který stížnost přijal. O stížnosti a jejím řešení informuje vedení laboratoře a provede zápis do knihy stížností.
- Není-li možné vyřešit stížnost ihned, podává se návrh řešení, způsob odpovědi a určí se termín k vyřízení. Provede se zápis do knihy stížností.

### Vyřízení písemné stížnosti

- Písemnou stížnost řeší vždy vedení laboratoře. Stížnost se zaznamenává do knihy stížností a pokud ji lze vyřešit ihned, učiní se tak písemně.
- Není-li možné stížnost vyřešit ihned, navrhne se postup řešení a termín vyřízení a vše se oznámí stěžovateli. Provede se zápis do knihy stížností a do uvedeného termínu se stížnost písemně vyřeší.

## 10. Přílohy

Příloha č. 1 Záznam o proškolení

Příloha č. 2 Změnové řízení

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

**Pořízené kopie jsou pouze informativní!**