



ZPRAVODAJ

Centra klinických laboratoří
Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě

Vážené kolegyně, vážení kolegové, milí přátelé,

dovoluji si Vám všem touto cestou popřát klidné a pohodové prožití svátků vánočních a do roku 2012 Vám přeji pevné zdraví, hodně štěstí, dostatek osobních i pracovních úspěchů.

Děkuji Vám za možnost spolupracovat s Vámi, být Vaším laboratorním a konzultačním servisem. Vaše spokojenost je naší jednoznačnou prioritou. Proto máme více než 90 % rutinně prováděných metod akreditovaných, dbáme na odborný růst všech našich pracovníků, investujeme do nejmodernějšího strojového vybavení. V diagnostickém procesu usilujeme vždy o provedení mozaiky metod, tak, ať je výsledek co nejpřesnější. Podporujeme také svoz klinického materiálu, dnes pro nás denně jezdí na území Moravy 25 svozových aut.

V neposlední řadě se snažíme o co nejlepší informovanost a komunikaci mezi námi, a to i prostřednictvím odborných konferencí. Rád bych Vás na první akci roku 2012 co nejsrdečněji pozval. Uskuteční se 18. ledna od 14,00 v seminárním centru Akademia Ostrava a bude zaměřena na problematiku z oblasti mykologie a diagnostiky mykobakterií. Podrobnou informaci naleznete na www.zu.cz.

Vážené kolegyně, vážení kolegové, pevně věřím, že naše spolupráce bude pokračovat i v roce nadcházejícím a že se bude i v této složité době rozvíjet.

RNDr. Petr Hapala, ředitel

Odběr klinického materiálu pro bakteriologické vyšetření

Tereza Škapová

Oddělení bakteriologie a mykologie

Laboratorní vyšetření klinického vzorku je komplexní proces. Tento proces začíná a končí na klinickém pracovišti (fáze preanalytická a postanalytická), střední – vlastní analytická část – probíhá v mikrobiologické laboratoři. Na správnosti laboratorního vyšetření se významně podílí preanalytická část. Zahrnuje indikaci vyšetření, provedení odběru vzorku, jeho uchování a transport do laboratoře.

strana 2

Laboratorní diagnostika virových hepatitid

Alena Kloudová

Oddělení imunologie a alergologie

Praktický lékař bývá většinou první, který požaduje diferenciální diagnostiku virových hepatitid. Může to být na základě klinického obrazu akutního hepatocelulárního postižení, zvýšení biochemické aktivity některých markerů (elepace ALT, AST) nebo při zjištění rizikového faktoru v anamnéze vyšetřované osoby. Z anamnestických údajů se jedná zejména o podání krevních derivátů před rokem 1990, i.v. aplikaci narkotik, sexuální promiskuitu, tetování, kontakt s osobou s virovou hepatitidou, pobyt v rizikových oblastech apod.

strana 5

2. Pracovní konference

zdravotních laborantů a zdravotních sester

Hana Bílková Fránková
Centrum klinických laboratoří

10.11.2011 proběhla, v režii Fakultní nemocnice Ostrava a Zdravotního ústavu v Ostravě, 2. Pracovní konference zdravotních laborantů a zdravotních sester.

strana 10

Informace pro zdrav. zařízení - nová vyhláška č. 238/2011 Sb.

Vladimíra Němcová
Centrum anorganických analýz

Vyhláška č.238/2011 Sb. o stanovení hygienických požadavků na koupaliště, sauny a hygienické limity písku v pískovištích venkovních hracích ploch která je platná od srpna tohoto roku, nově zahrnuje do své působnosti i bazény ve zdravotnických zařízeních nebo ústavech sociální péče...

strana 11

Co je to průtoková cytometrie?

Alexandra Lochmanová

Oddělení imunologie a alergologie

Průtoková cytometrie je jedním z podoborů cytologie, též buněčné biologie, vědy zabývající se studiem buněk. Cytologie je jen jedním z biologických oborů a je úzce teoreticky i experimentálně provázána s histologií, mikrobiologií, biochemií, biofyzikou, organickou chemií a molekulární biologii. Dějiny cytologie sahají více než 300 let do minulosti a jsou úzce spjaty s objevem mikroskopu.

strana 3

Černý kašel – pořád aktuální problém

Jana Motlochová

Oddělení imunologie a alergologie

Pertuse - černý (dávivý) kašel je vysoce nakažlivá kapénková infekce horních cest dýchacích, vyvolaná bakterií *Bordetella pertussis*.

Ve Spojených státech byla ve 20. století pertuse nejčastějším dětským onemocněním a hlavní příčinou dětské mortality. Podle údajů WHO každoročně onemocní dávivým kašlem 20-30 miliónů osob především v rozvojových zemích, z toho 200-300 tisíc onemocněných podlehne (v 85% jsou to děti do dvou let života).

strana 7

Medicínální vzduch

Eduard Ježo

Oddělení faktorů prostředí

V roce 2010 (1. 7. 2010) byl vydán Státním ústavem pro kontrolu léčiv pokyn SÚKL LEK-15, který specifikuje požadavky na přípravu léčivé látky - medicínálního vzduchu dodávaného do rozvodových systémů plynů pro medicínální účely ve zdravotnických zařízeních.

strana 11

Rozpis služeb o vánočních svátcích

Laboratoř bakteriologie

Oddělení bakteriologie a mykologie

strana 12

Laboratorní vyšetření klinického vzorku je komplexní proces. Tento proces začíná a končí na klinickém pracovišti (fáze preanalytická a postanalytická), střední – vlastní analytická část – probíhá v mikrobiologické laboratoři. Na správnosti laboratorního vyšetření se významně podílí preanalytická část. Zahrnuje indikaci vyšetření, provedení odběru vzorku, jeho uchovávání a transport do laboratoře.

Indikace vyšetření

O indikaci vyšetření rozhoduje lékař. Výsledek vyšetření by měl ovlivnit v kontextu klinického stavu pacienta rozhodování lékaře při stanovení diagnózy, monitorování onemocnění, změně terapie apod. Lékař rovněž volí, jaké konkrétní vyšetření bude provedeno (bakteriologické, sérologické, virologické, vyšetření na TBC aj.). S tím souvisí správná technika odběru - jaký typ klinického materiálu se odebere a do jaké odběrové soupravy nebo nádobky.

Obecné zásady odběru klinického materiálu

K hlavním zásadám odběru materiálu patří jeho jednoznačná identifikace, aby nemohlo dojít při transportu a zpracování k jeho záměně. Nezbytnou identifikaci klinického vzorku tvoří nejméně příjmení pacienta a číslo pojištěnce (rodné číslo), případně druh vzorku nebo označení pořadí vzorku číslicí v rámci jednoho dne nebo jiný vhodný způsob podrobnější identifikace biologického materiálu. Neoznačení biologického materiálu je důvodem k odmítnutí!

Dokladem o žádosti o vyšetření je žádanka o vyšetření (průvodka). Představuje objednávku služby, bez žádanky nemůže být služba (vyšetření) proplacena. Žádanka je důležitým zdrojem údajů o pacientovi, jejichž znalost může významně ovlivnit samotné vyšetřování. Správně vyplněná žádanka obsahuje:

- * Osobní údaje. Jde o jméno a příjmení pacienta, rodné číslo, identifikaci plátce vyšetření (kód pojišťovny), identifikaci odesílajícího pracoviště (IČP).
- * Datum a čas odběru.
- * Přesný popis typu vzorku, specifikace místa a způsobu odběru.
- * Přesný popis požadovaného vyšetření, zejména jde-li o speciální nebo méně běžná bakteriologická vyšetření (vyšetření toxinů, mykoplazmata aj.).
- * Diagnóza pacienta související s vyšetřením.
- * Popis stávající antibiotické léčby.
- * Případné další údaje – cestovatelská anamnéza, kontakt s infekcí, pracovní anamnéza apod.

Žadanky používané v laboratořích Centra klinických laboratoří ZÚ Ostrava jsou distribuovány zaměstnanci obchodního týmu, lze je telefonicky objednat na **Centrálním příjmu (tel.: 596 200 461)** a jsou zveřejněny na internetových stránkách www.zuova.cz, odkud je možné je vytisknout.

Odběr klinického materiálu

Vzhledem k široké škále typů klinického materiálu zasílaného na bakteriologické vyšetření, klade odběr vzorků větší nároky na dodržení všech pravidel, znalost

spektra patogenů a možnosti jejich průkazu.

V případě nejasností lze pravidla pro odběr jednotlivých vzorků nalézt v Laboratorní příručce Centra klinických laboratoří, která je k dispozici na webových stránkách www.zuova.cz nebo v elektronické podobě na CD. V případě mimořádných vzorků doporučujeme, aby lékař nebo zdravotní sestra kontaktoval přímo bakteriologickou laboratoř, kde mu pověřený pracovník poradí nebo upřesní jak a do jaké odběrové soupravy je nevhodnější materiál odebrat. Tabulka s pokyny pro odběr vzorků pro bakteriologické kultivační vyšetření je přiložena v tomto čísle Zpravodaje.

Uchovávání vzorků po odběru

Vzorky je nutno uchovávat tak, aby byla udržena jejich původní forma a aby se předešlo kontaminaci z jiných zdrojů či znehodnocení vzorku. Odběrové soupravy s biologickým materiálem musí být zasilány uzavřené co nejdříve po odběru, jinak je nutno počítat s možným zkrácením výsledků vyšetření jak ve smyslu falešné negativy tak i pozitivy nálezu. Zejména v ambulancích doporučujeme, je-li to možné, při plánování odběru pacienta brát v úvahu den v týdnu a hodinu, kdy do ambulance zajíždí svozová služba. Lze tak snížit prodlevu mezi odběrem a zpracováním vzorku. Je-li materiál odebrán v době, kdy laboratoř není dostupná, zákazníci se řídí pokyny uvedenými v Laboratorní příručce.

Zjednodušená pravidla pro uchovávání vzorků klinického materiálu před transportem jsou tato:

- * Vzorky na bakteriologické vyšetření uchovat při pokojové teplotě, chránit před slunečním zářením, moč chladit.
- * Vzorky na mykologická vyšetření chladit.
- * Krev chladit (výjimkou je krev na hemokultivaci – ta se ponechává při pokojové teplotě!).
- * Séra zmrazit.
- * Séra, stolici, moč, likvor, stěry pro průkaz antigenů chladit.
- * Stěry na přítomnost *Trichomonas vaginalis* uchovávat při pokojové teplotě, chránit před slunečním zářením.

Transport vzorků

Transport vzorků klinického materiálu pro laboratoře CKL je zajišťován externí svozovou službou, která dodržuje pravidla Evropské dohody o mezinárodní silniční přepravě nebezpečných věcí (ADR). Informace o svozu vzorků jsou poskytovány zákazníkům buď v rámci činnosti členů marketingového týmu nebo na vyžádání. Optimální trasa svozu je zajišťována pracovníky svozové služby a je upravována na základě aktuálních požadavků zákazníků, kteří dostávají vizitky s kontaktem na řidiče svozu a mohou telefonicky přímo u řidičů nebo u odpovědného pracovníka laboratoře objednat přepravu urgentního vzorku. Během víkendů je transport vzorků do laboratoře zajišťován svozovou službou nebo samotnými zákazníky.

Za zabezpečení materiálu pro transport odpovídá odesílatel vzorku. Za zabezpečení materiálu během transportu odpovídá přepravce.

Faktory preanalytické fáze mohou výrazně ovlivnit průběh a výsledek vyšetření. Aby však celý proces mikrobiologického vyšetření zdárně proběhl, je nutná úzká spolupráce klinického pracoviště s laboratorii. Zejména poslední část vyšetření – fáze interpretace výsledku – má často charakter spolupráce mezi laboratorii a indikujícím lékařem. Je proto nezbytné, aby mezi klinickým pracovištěm a laboratorii existoval partnerský vztah.

Laboratoře Centra klinických laboratorii Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě jsou tím pravým partnerem pro Vás.

Co je to průtoková cytometrie?

Alexandra Lochmanová

Průtoková cytometrie je jedním z podoborů cytologie, též buněčné biologie, vědy zabývající se studiem buněk. Cytologie je jen jedním z biologických oborů a je úzce teoreticky i experimentálně provázána s histologií, mikrobiologií, biochemií, biofyzikou, organickou chemií a molekulární biologii. Dějiny cytologie sahají více než 300 let do minulosti a jsou úzce spjaty s objevem mikroskopu. Základy cytologie byly položeny roku 1665, když anglický vědec Robert Hooke pozoroval za pomoci primitivního mikroskopu vlastní výroby první buněčné struktury. Další významný posun cytologie je spojen se jménem Holanďana Antoni van Leeuwenhoeka. Mikroskopické pozorování buněčných struktur je od té doby stále nejrozšířenější metodou buněčného studia. Možnosti mikrostrukturálních analýz se však rozšířily o nové generace pokročilejších mikroskopů typu elektronových a konfokálních laserových, které mohou poskytnout komplexní informaci o mikrostruktuře, chemickém složení a o mnoha dalších vlastnostech zkoumaného vzorku. Obrazová cytometrie je technika sloužící k měření různých kvantitativních parametrů částic založená na mikroskopii a digitální analýze obrazu. Studované objekty jsou snímány pomocí kamery připojené k mikroskopu a převedeny do digitální podoby. I dnes se však jedná o metodu technicky a časově poměrně náročnou, využívanou především v oblasti základního a aplikovaného výzkumu.

V oblasti běžné laboratorní diagnostiky byl vyvíjen tlak především na možnost automatizovaného zpracování a vyhodnocení buněčných suspenzí, zaměřené na automatické počítání a analýzu buněčných elementů. Začátkem padesátých let minulého století patentoval Wallace H. Coulter tzv. „Coulterův impedanční princip“, vynález spočívající ve využití měření elektrického odporu ke stanovení počtu a velikosti mikroskopických částic. Tato technologie se rozšířila především v oblasti měření krevních elementů a přinesla automatizaci do hematologických laboratorii. Z Coulterova principu vychází i technika průtokové cytometrie, která nachází široké uplatnění jak ve výzkumu, tak v běžné laboratorní praxi.

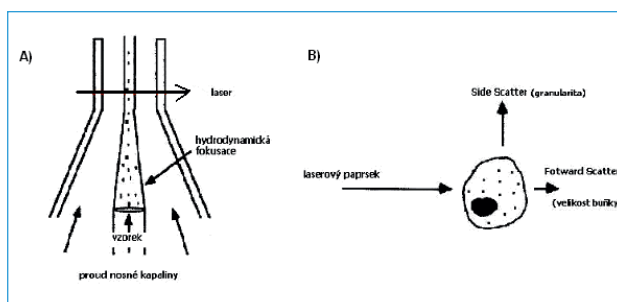
Průtokovou cytometrii lze volně chápat jako „měření buněk v pohybu“. Jedná se o techniku, při které jsou částice suspendované v kapalině prohádný kapilárou, kterou prochází světelný paprsek z laserového zdroje, který je zhasen a rozptylován podle charakteru procházejících částic. Částice/buňky jsou značeny fluorescenčními barvivy, takže dopadající světlo jedné vlnové délky je

Literatura:

1. Votava, M. et al. 2010. Lékařská mikrobiologie vyšetřovací metody. Neptun. ISBN 978-80-86850-04-8
2. Zima, T. 2007. Laboratorní diagnostika. Galén. ISBN 978-80-7262-372-3.
3. Laboratorní příručka CKL – www.zuova.cz

Oddělení imunologie a alergologie

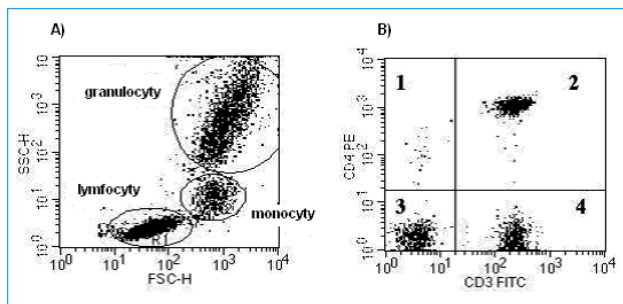
emitováno při jiné vlnové délce. Pomocí senzorů je pak zaznamenávána intenzita prošlého, rozptýleného a emitovaného světla a podle těchto parametrů měřena individuální velikost a další molekulární charakteristiky procházejících částic. Za minutu tak mohou být změřeny charakteristiky desítek až tisíců částic a získaná data jsou zpracovávána pomocí počítače. Intenzita lineárně rozptýlených paprsků (FSC) je přímo úměrná velikosti buňky, intenzita bočně rozptýleného paprsku (SSC) je úměrná granularitě buňky (obr. č.1). Laserem excitované a rozptýlené světlo použitých fluorescenčních barviv je směřováno do detektorových polí, složených z fotonásobičů. Optický signál je následně převáděn na elektronický a zároveň je digitalizován. Zobrazení dat je realizováno nejčastěji formou tzv. „dot plotu“, což je dvourozměrný graf, ve kterém je každá buňka zobrazena jako tečka. Výsledná data mohou být rovněž zobrazena v trojrozměrném izometrickém grafu nebo ve formě histogramu pro každý jednotlivý parametr. Výrazným přínosem této technologie je multiparametrová analýza. Jedná se o možnost použití dvou a více protilátek proti různým znakům v jednom analyzovaném vzorku (zkumavce), přičemž každá protilátka je značena jiným fluorochromem. Současná analýza exprese několika znaků na jedné buňce umožní lépe charakterizovat a definovat analyzovanou populaci (obr. č.2). V současné době počet fluorochromů, a tudíž i parametrů v multiparametrové analýze výrazně stoupá, což slouží k simultánní detekci většího počtu buněčných znaků a racionalizaci laboratorního vyšetření a rovněž k identifikaci unikátních buněčných populací.



Obr. č. 1:

A) Průchod buněk měřicí komůrkou

B) FSC x SSC jako indikátory velikosti buňky a granularity



Obr. č. 2:
 A) Rozdělení periferních lymfocytů na základě lomu (FSC) a rozptylu světla (SSC)
 B) souběžná analýza dvoubarevné fluorescence periferních lymfocytů za užití monoklonálních protilátek proti antigenu CD3 (značeno FITC) a CD4 (PE). Buňky značené (pozitivní) oběma fluorochromy najdeme v kvadrantu č. 2, v kvadrantu č. 1 a č. 4 se zobrazí populace nesoucí pouze jeden z analyzovaných znaků (CD4-PE resp. CD3-FITC) a buňky ve 3. kvadrantu neexprimují žádný z uvedených znaků, jsou negativní.

Éra novodobé buněčné imunologie začala objevem existence dvou hlavních, funkčně odlišných populací lymfocytů - na thymu závislých T lymfocytů a B lymfocytů diferencujících se v kostní dřeni. Přímý důkaz existence těchto dvou subpopulací lymfocytů byl podmíněn objevem hybridomové technologie, vedoucí k přípravě monoklonálních protilátek, popsaná v roce 1975 Köhlerem a Milsteinem. Při klasické metodě výroby protilátek pomocí imunizace zvířat je kvalita takto připravených protilátek značně rozdílná. Jsou to směsi molekul různých fyzikálně-chemických a biologických vlastností, ale i různé specifčnosti. Při výrobě monoklonálních protilátek se využívá tzv. hybridomové technologie, kdy z normálních a nádorových lymfocytů se vytvoří hybridní buněčná linie tzv. hybridom, která produkuje jeden druh protilátek proti jednomu epitopu. Nádorová buňka poskytuje hybridomu neomezenou schopnost dělení (jakousi nesmrtnost) a lymfocyty imunizovaného zvířete schopnost tvořit protilátky žádané specifity. Protilátky produkované hybridomy jsou chemicky, fyzikálně i imunologicky homogenní, protože jsou produkovány buňkami odvozenými od jednoho buněčného klonu. Lze je velmi dobře a jasně charakterizovat z hlediska jejich analytických vlastností a jejich použití podstatně snižuje riziko nespecifických interakcí a zkřížených reakcí.

Každá buňka má na svém povrchu velké spektrum nejrůznějších molekul, které jí umožňují orientaci na určité mikroprostředí a které ji funkčně charakterizují. Na základě exprese těchto molekul můžeme stanovit zastoupení leukocytárních subpopulací v periferní krvi včetně jejich aktivačního a vývojového stadia. Výsledky přispívají k diagnostice imunodeficitů, autoimunitních onemocnění, ale i ke klasifikaci hematologických malignit. V roce 1982 byl v Paříži založen CD klasifikační systém a od té doby mají všechny antigeny definované pomocí monoklonálních protilátek označení, které je tvořeno velkými písmeny CD (Cluster of Differentiation) a určitým pořadovým číslem. V současné době je takto definováno na více než 270 molekul. Mezi nejčastěji užívané aplikace průtokové cytometrie patří především buněčná imunofenotypizace. Cílem imunofenotypizace je identifikace jednotlivých buněčných populací a subpopulací přítomných v analyzovaném vzorku. Mezi další aplikace patří průkaz cytoplazmatických a nukleárních antigenů, DNA, RNA analýza, studium buněčného cyklu, buněčné aktivity, diferenciaci a studium apoptózy. Tyto aplikace jsou hojně využívány rovněž v oblasti farmakologie, toxikologie, rostlinné biologie, mikrobiologie a parazitologie.

Metoda průtokové cytometrie se postupně začíná

rozšiřovat i do oblasti biochemie. V současnosti dostupné přístroje pro automatizované vyšetření močového sedimentu pracují na principu průtokové cytometrie nebo digitálního snímání částic. Pomocí průtokového cytometru lze identifikovat všechny buněčné elementy – erythrocyty, leukocyty, bakterie a epitelové buňky. Kromě toho je schopen diferencovat některé klinicky významné modifikace jako jsou izomorfní a dysmorfní erythrocyty. Průtoková cytometrie výrazně snižuje nutnost mikroskopických analýz, zlepšuje přesnost měření a usnadňuje standardizaci získaných výsledků. Kromě posouzení pouhé pozitivitu či negativitu příslušného znaku se do popředí zájmu dostává v poslední době i kvantimetrie, umožňující stanovit přímo počet molekul příslušného znaku přítomných na povrchu sledované buňky (ABC – Antibody Binding Cell).

Imunofenotypizace je využívána zejména při diagnostice a monitorování imunodeficiencí (primárních i sekundárních), autoimunitních onemocnění a alergických stavů. Kromě klasické imunofenotypizace se v těchto případech využívá průtokové cytometrie i k funkční analýze buněk. Jedná se především o studium fagocytózy, lymfocytární proliferace, aktivace bazofilů a produkce cytokinů. V oblasti hematologie slouží k diagnostice hematologických malignit (akutní a chronické leukémie, lymfomy), detekci zbytkové nemoci (Minimal Residual Disease), analýze krevních destiček (stanovení počtu retikulocytů, kvantifikaci adhesivních a agregáčních glykoproteinů), průkazu exprese CD55 (DAF) a CD59 (MIRL) na povrchu erythrocytů a granulocytů při diagnostice paroxysmální noční hemoglobinurie. Další možnosti jsou v oblasti transplantologie, jedná se zejména o stanovení počtu progenitorových CD34 kmenových buněk a dále při studiu hlavního histokompatibilitního systému a to jak antigenů I., tak i II. třídy (HLA B27, B7, DR oblast).

Speciální aplikací průtokové cytometrie je buněčné třídění (cell sorting). Jedná se o kombinaci analytických postupů průtokové cytometrie se schopností tříditi buňky na základě předem známých parametrů za účelem získání přesně definované buněčné populace.

Na principu průtokové cytometrie jsou založeny rovněž multiplexové techniky. Jedná se o techniky, které umožňují simultánní analýzu většího počtu analytů v jednom vzorku v jedné reakční nádobce nebo na jedné reakční ploše. Multiplexová technika ALBIA (Addressable Laser Bead Immunoassay) využívá mikročástic, na kterých jsou navázány antigeny a je kombinací enzymové immunoanalýzy a průtokové cytometrie. V současné době jsou k dispozici dva systémy umožňující tuto analýzu: xMAP technology (Luminex) a BD Cytometric Bead Array (CBA BD Biosciences). Princip je v obou případech stejný. Jako nosič specifické protilátky slouží polystyrénové mikročástice s vysokoafinitním povrchem a vysokou vazebnou kapacitou. Částice jsou interně značeny fluorescenčními barvami a individuální sada částic je barevně kódována na základě různé intenzity fluorescence. Populace se stejnou intenzitou fluorescence pak slouží jako nosič specifické protilátky pro příslušný analyt. Rozdíl obou technologií spočívá jednak ve zdroji a velikosti polystyrénových mikročástic, principu imunofluorescenčního značení a odlišného přístrojového vybavení.

V současné době se rovněž začínají objevovat přístroje kombinující průtokovou cytometrii s obrazovou analýzou.

Zpracování i vlastní vyhodnocení vzorků je v tomto případě časově i technicky daleko náročnější než v případě samotné průtokové cytometrie a hodí se spíše pro podrobnou analýzu jednotlivých buněk nebo malých souborů buněk. Jedná se o metodu využívanou zatím především pro vědecké účely.

Závěrem je možno říci, že metoda průtokové cytometrie je metoda s velkými možnostmi fungující na celkem jednoduchém principu. Oddělení alergologie a klinické imunologie Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě se zabývá laboratorní diagnostikou založenou na principu průtokové cytometrie již více než 15 let a jeho laboratoře jsou schopny nabídnout kromě základní imunofenotypizace krevních leukocytů rovněž řadu výše zmiňovaných specializovaných aplikací zahrnujících jak funkční testy, tak aplikace využívající multiplexové analýzy.

Literatura:

1. Haynes JL. Principles of flow cytometry. Cytometry Suppl. 1988;3:7-17.
2. Stewart CC. Multiparameter flow cytometry. J Immunoassay. 2000 May-Aug;21(2-3):255-72.
3. Gratama JW, Kern F. Flow cytometric enumeration of antigen-specific T lymphocytes. Cytometry A. 2004 Mar;58(1):79-86.
4. Craig FE, Foon KA. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. Blood. 2008 Apr 15;111(8):3941-67.
5. Lugli E, Roederer M, Cossarizza A Data analysis in flow cytometry: the future just started. Cytometry A. 2010 Jul;77(7):705-13.



Obr. č.3: FACS Calibur (BD)



Obr. č.4: Luminex 100

Laboratorní diagnostika virových hepatitid

Alena Kloudová

Oddělení imunologie a alergologie

Praktický lékař bývá většinou první, který požaduje diferenciální diagnostiku virových hepatitid. Může to být na základě klinického obrazu akutního hepatocelulárního postižení, zvýšení biochemické aktivity některých markerů (elepace ALT, AST) nebo při zjištění rizikového faktoru v anamnéze vyšetřované osoby. Z anamnestických údajů se jedná zejména o podání krevních derivátů před rokem 1990, i.v. aplikaci narkotik, sexuální promiskuitu, tetování, kontakt s osobou s virovou hepatitidou, pobyt v rizikových oblastech apod.

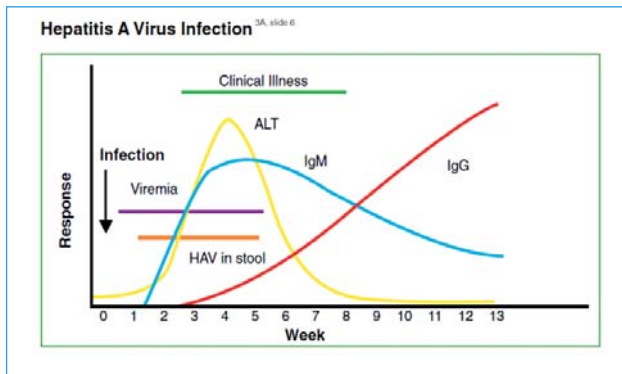
Laboratorní testy mají významnou úlohu v diferenciální diagnostice virových hepatitid, a proto jsou při podezření na virovou infekci jater indikována tzv. sérologická screeningová vyšetření. Provádí se ze srážlivé krve sérologickými imunoenzymatickými metodami, jako jsou ELISA, MEIA, CMIA a další. Velmi důležité je zajistit, aby do laboratoře, která se zabývá diagnostikou virových hepatitid (VH), byla zaslána pokud možno primární zkumavka s odebranou krví a ne stočené sérum, resp. jeho alikvoty. Při manipulaci se vzorky (centrifugace, alikvotace séra) může totiž snadno dojít ke kontaminaci vzorků

i nepatrným množstvím pozitivního vzorku (zvláště séra pacientů s akutní virovou hepatitidou B). Toto platí i při požadavku na nadstavbová vyšetření (markery VH) a zejména při požadavku vyšetření nukleové kyseliny (NK) viru molekulárně-biologickými metodami (při nedodržení správné preanalytické fáze může dojít k degradaci NK, zvláště RNA).

Základní screeningové testy pro rozlišení virové hepatitidy A, B a C jsou anti-HAV IgM, HBsAg, anti-HCV.

Anti-HAV IgM jsou protilátky, jejichž přítomnost ve vysokých titrech svědčí o akutní fázi onemocnění virovou hepatitidou A. Při detekci nízkých hladin IgM anti-HAV se doporučuje opakovat odběr přibližně za 10 dní. Vzestup titru protilátek potvrzuje akutní infekci hepatitidou A. Nízké hladiny jsou nalézány častěji ve fázi rekonvalescence nebo se jedná o nespecifické protilátky vzniklé polyklonální aktivací IgM protilátek silným antigením stimulem (např. po vakcinaci proti virové hepatitidě A). IgM protilátky přetrvávají většinou 3-6 měsíců, výjimečně až 1 rok. Vhodné je zároveň u pacienta stanovovat i celkové protilátky proti HAV, které jsou

reprezentovány převážně protilátkami ve třídě IgG (*anti-HAV IgG, resp. anti-HAV total*). Tyto protilátky se objevují záhy po IgM anti-HAV, ale na rozdíl od nich jejich hladiny přetrvávají mnohem déle, a proto jsou převážně využívány při diagnostice již dříve proběhlé infekce, nebo k monitorování protilátkové imunity po vakcinaci proti virové hepatitidě A. Na obrázku je znázorněn průběh infekce virem hepatitidy A společně se změnami jednotlivých laboratorních parametrů. Téměř od začátku infekce, ještě před klinickými příznaky, dochází k virémii, a tím také k vylučování viru stolicí (průkaz viru se většinou rutinně neprovádí).



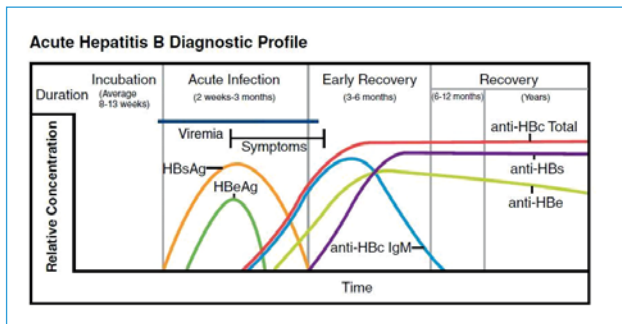
Obr. č.1: Časový profil markerů virové hepatitidy A.

Jako první screeningový test v sérologické diagnostice virové hepatitidy B slouží vyšetření na přítomnost povrchového antigenu **HBsAg** („Australský antigen“). U prvně stanovených „reaktivních“ nálezů se v laboratoři potvrzuje pozitivita konfirmačním neutralizačním testem nebo v případě rozšířeného vyšetření pozitivitou celkových protilátek *anti-HBc*, popřípadě *IgM anti-HBc*. Virémii a infekčnost pacienta lze zjistit vyšetření HBeAg nebo průkazem HBV DNA. V tabulce jsou uvedeny další sérologické markery využívané v diagnostice virové hepatitidy B a základní interpretace výsledků (pro zjednodušení nejsou uvedeny všechny možné případy - dg. okno, neúplná sérokonverze atd.).

	HBsAg	Anti-HBs	HBeAg	Anti-HBe	Anti-HBc total	Anti-HBc IgM	HBV DNA
Akutní VHB	+	-	+	-	+	+	+
Chronická VHB aktivní replikace	+	-	+	-	+	+/-	+

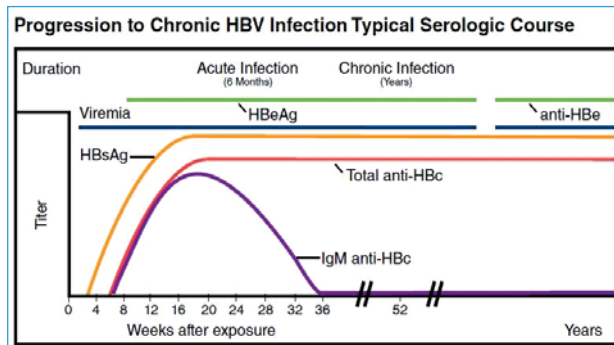
Tab. č.1: Typické sérologické a molekulárně biologické nálezy v jednotlivých stádiích přirozeného vývoje infekce virem hepatitidy B.

Na následujících obrázcích je znázorněna exprese jednotlivých laboratorních ukazatelů VHB v kontextu s průběhem infekce.



Obr. č.2: Časový profil markerů akutní virové hepatitidy B.

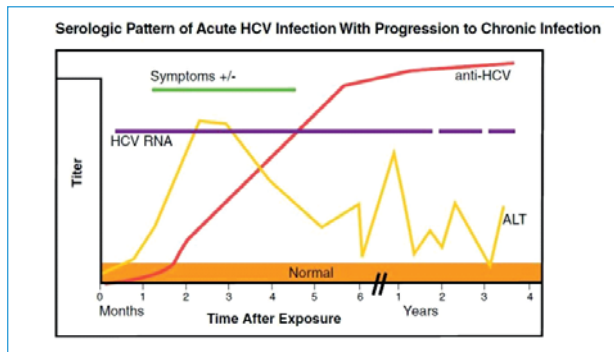
Úspěšnost vakcinace proti virové hepatitidě A i B lze monitorovat. U virové hepatitidy A se stanovují protilátky



Obr. č.3: Časový profil markerů chronické virové hepatitidy B.

anti-HAV total (IgG). V tomto případě nelze rozlišit postinfekční a postvakcinační protilátky. U virové hepatitidy B se k tomuto účelu využívá stanovení hladiny **anti-HBs** protilátek, kdy za protektivní hodnoty jsou považovány hladiny nad 10 IU/l. Po vakcinaci proti hepatitidě B jsou přítomny pouze anti-HBs protilátky, kdežto po prodělané infekci jsou přítomny také celkové anti-HBc protilátky.

Základním diferenciálně diagnostickým vyšetřením při podezření na onemocnění virovou hepatitidou C je



Obr. č.4: Časový profil markerů virové hepatitidy C.

detekce celkových **anti-HCV** protilátek. Protilátky se objevují za 6-8 týdnů po infekci, ale často i později. Na základě tvorby protilátek nelze odlišit akutní a chronickou infekci. Zkrácení diagnostického okna (doba od infikování virem do doby než se začnou vytvářet protilátky) lze docílit stanovením antigenu a protilátek zároveň v kombi-novaném, tzv. combo testu. Při použití combo testu však opět není možné rozlišit akutní a chronickou infekci.

Vyšetření HCV RNA je indikováno vždy při pozitivitě anti-HCV protilátek. Virémie se kvantifikuje a zároveň se určuje i genotyp. Na obrázku je vykreslen obraz akutní HCV infekce s progresí do chronicity v souvislosti s laboratorními testy.

Pokud je v laboratoři potvrzena pozitivita některého screeningového testu na VH (anti-HAV IgM, HBsAg, anti-HCV) u daného pacienta poprvé, tak je tato pozitivita telefonicky nahlášena indikujícímu lékaři a také protiepidemickému oddělení příslušné KHS.

Praktičtí nebo i jiní odborní lékaři mohou pozitivitu ve screeningovém testu na VH zachytit také náhodně při odběru krve na preventivní prohlídku, předoperační vyšetření (HBsAg, anti-HCV) nebo při podezření na jiné onemocnění. Jedná-li se o pacienta s chronickou VH, může se onemocnění projevovat jen nespecifickými příznaky a mohou se objevovat i autoprotilátky (např. anti-LKM

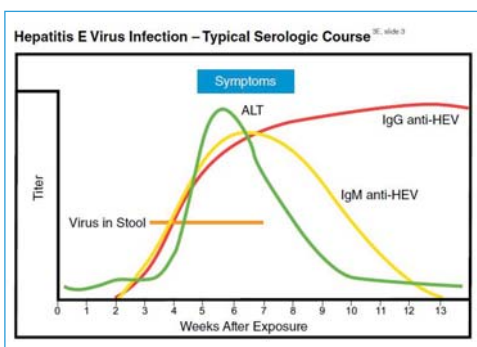
po VHC).

Při zjištění pozitivita na anti-HAV IgM, HBsAg nebo anti-HCV je nutné pacienta odeslat ke specialistovi v oboru infekční lékařství a k upřesnění diagnózy je možno využít další sérologická (HBeAg, anti-HBe, anti-HBc IgM, anti-HBc, anti-HBs) a molekulárně-biologická vyšetření (kvantitativní stanovení virémie, určení genotypu a vyhledávání případných klinicky významných mutací viru - preCore HBV, lékové rezistence HBV), která mohou významně přispět k rozhodnutí o další terapii pacienta.

Výsledky laboratorních nálezů je nutné hodnotit v úzké souvislosti s klinickým stavem pacienta a jeho anamnézou. S přihlédnutím k cestovatelské anamnéze nebo k profesnímu zařazení či ke stravovacím zvyklostem pacienta lze pomýšlet taky na „vzácnější“ virové hepatitidy.

Na infekci virovou hepatitidou E myslíme zejména v souvislosti s konzumací nedostatečně tepelně zpracovaného masa (vepřové, kančí maso, játra) a pobytu v rizikových oblastech, např. JV Asii. Při podezření na onemocnění způsobené virovou hepatitidou E se provádí vyšetření HEV specifických IgM a IgG protilátek v séru metodou ELISA. Pozitivní výsledky se potvrzují imunobloty v a c i m i technikami nebo lépe, pokud je možnost, tak detekcí RNA ve stolici nebo v séru.

V i r o v á hepatitida D se vyskytuje pouze v koinfekci s virovou hepatitidou B, případně dochází k super-infekci virem hepatitidy D u pacienta infikovaného virem hepatitidy B. Stanovení protilátek proti virové hepatitidě D se pro raritní výskyt tohoto onemocnění běžně neprovádí. Při podezření se materiál zasílá



Obr. č.5: Časový profil markerů virové hepatitidy E.

do specializovaných laboratoří (NRL pro VH SZÚ Praha).

Virovou hepatitidu G lze prokázat pouze detekcí její RNA. Klinický význam tohoto viru je dosud předmětem odborných diskuzí.

V tabulce je uvedeno spektrum laboratorních vyšetření, která se provádějí k diferenciální diagnostice virových hepatitid v laboratořích ZÚ se sídlem v Ostravě. Vzhledem k urgentnosti požadavků v odůvodněných případech provádíme statimová sérologická vyšetření virových hepatitid A, B, C během pracovního týdne a také v sobotu. Požadavek je nutné předem nahlásit do laboratoře (tel. 596 200 225) a materiál pacienta (sražlivou krev) doručit do laboratoře ve všední dny do 13:00 a v sobotu do 10:00 hodin).

Virové hepatitidy	
<input type="checkbox"/>	anti - HAV total
<input type="checkbox"/>	anti - HAV IgM
<input type="checkbox"/>	HBsAg
<input type="checkbox"/>	HBeAg
<input type="checkbox"/>	anti - HBs
<input type="checkbox"/>	anti - HBe
<input type="checkbox"/>	anti - HBc total
<input type="checkbox"/>	anti - HBc IgM
<input type="checkbox"/>	DNA HBV (vč. kvantifikace)
<input type="checkbox"/>	genotyp HBV
<input type="checkbox"/>	PreCore HBV
<input type="checkbox"/>	HBV - lékové rezistence
<input type="checkbox"/>	anti - HCV
<input type="checkbox"/>	RNA HCV (vč. kvantifikace)
<input type="checkbox"/>	genotyp HCV
<input type="checkbox"/>	anti - HEV IgG, IgM
<input type="checkbox"/>	RNA HGV

Obr. č.6: Nabídka vyšetření na VH na žadance CKL a OIA ZÚ Ostrava.

Obrázky byly převzaty z výukových materiálů firmy Abbott.

Černý kašel – pořád aktuální problém

Jana Motlochová

Oddělení imunologie a alergologie

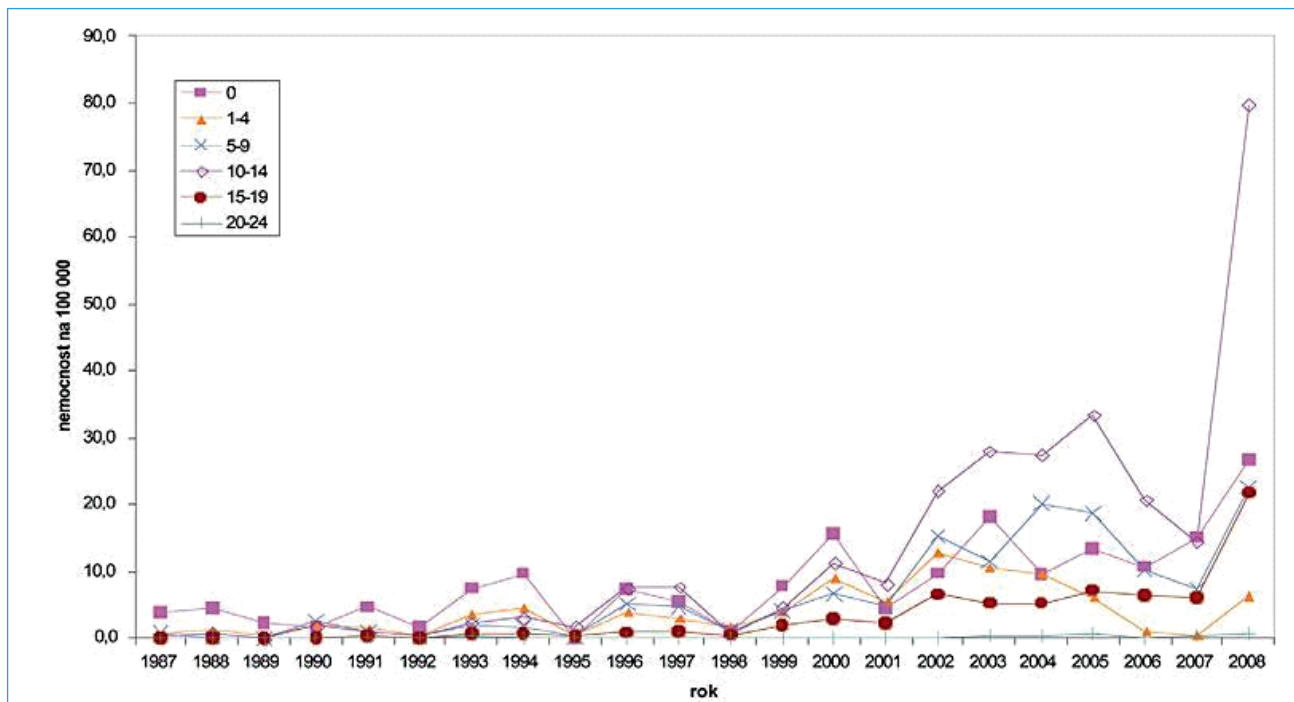
Pertuse - černý (dávivý) kašel je vysoce nakažlivá kapénková infekce horních cest dýchacích, vyvolaná bakterií *Bordetella pertussis*.

Ve Spojených státech byla ve 20. století pertuse nejčastějším dětským onemocněním a hlavní příčinou dětské mortality. Podle údajů WHO každoročně onemocní dávivým kašlem 20–30 miliónů osob především v rozvojových zemích, z toho 200–300 tisíc onemocnění podlehne (v 85% jsou to děti do dvou let života). Ve 40. letech minulého století, po zavedení očkování celobuněčnou vakcínou, došlo k poklesu případů onemocnění o více než 80%.

V České republice bylo v roce 1958 zavedeno očkování trivakcínou Di-Te-Pe (záškrt, tetanus, pertuse). Vysoká

proočkovanost populace snížila výskyt těchto nemocí na minimum, u záškrtu a tetanu se povedlo dokonce dosáhnout eliminace.

Od devadesátých let minulého století incidence pertuse stoupá, a to i ve státech, kde je delší dobu používána nová, acelulární vakcína. Největší nárůst je pozorován u dětí ve vyšší věkové skupině (10–14 let) a u dětí mladších 6 měsíců (obr. 1). Příčinou zvýšeného výskytu pertuse u adolescentů a dospělých je postupný pokles imunity získané očkováním. Vzhledem k často atypické a obtížně diagnostikovatelné infekci se stávají nemocní (adolescenti a dospělí) zdrojem pro neočkované nebo neúplně očkované kojence a batolata, u nichž transplacentárně přenesené protilátky mizí v průběhu 4. – 8. týdne života.



Obr. č.1: Hlášená nemocnost, dávkový kašel, věkové kategorie 0–24, 1987–2008, ČR

Patogenéza

Bordetella pertussis je gramnegativní, striktně aerobní kokobacil, velice citlivý na zevní podmínky. Rezervoárem *B. pertussis* je pouze člověk a infekce se šíří velice rychle především v uzavřených kolektivech (školy, školky, vysokoškolské koleje, ubytovny ...) a v rodinách, kde rodinní příslušníci jsou často zdrojem nákazy kojenčů.

Bordetely po vstupu do vnímavého organismu osidlují především řasinkový epitel laryngu a nasofaryngu a způsobují katarální zánět až nekrózu postižené sliznice. Drážděním receptorů pro kašel a paralýzou mukociliárního transportu vzniká dráždivý kašel.

Bordetela neproniká do krevního řečiště, osidluje pouze řasinkový epitel a produkuje řadu biologicky aktivních látek (pertusový toxin, filamentózní hemaglutinin, pertaktin, fimbrie, adenylátcykláza, tracheální cytotoxin, dermonekrotický toxin, aglutinogeny).

Nejvýznamnější z nich jsou:

Pertusový toxin (PT) - zlepšuje adhezi a kolonizaci řasinkového epitelu a podporuje produkci hlenu

Filamentózní hemaglutinin (FHA) a fimbrie (FIM) – jsou faktory adheze zejména na sliznici trachey

Pertaktin (PRN) – je protein zevní membrány a také faktor adheze

Tracheální cytotoxin – paralyzuje mukociliární aparát

Průběh onemocnění

Onemocnění probíhá ve třech stádiích. Po inkubační době, která trvá většinou 1–2 týdny, následuje

Katarální stádium – trvá 10–15 dní a projevuje se jako běžné nachlazení s rýmou, teplotou, kašlem a chrápáním. Katarální stádium je obvykle klinicky těžce odlišitelné od běžného katarálního onemocnění horních cest dýchacích s jinou etiologií.

Paroxysmální stádium – trvá většinou 2–6 týdnů, ale i déle – vyznačuje se typickými záchvaty dráždivého kašle, někdy s apnoickou pauzou, po záchvatu často

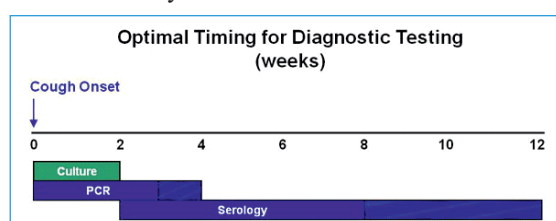
dochází ke zvracení. Záchvatů kašle může být 40–50 denně. V tomto stádiu se toxiny dostávají do krevního řečiště a dochází ke vzniku dalších komplikací, zejména pneumonií a tvoří se také proti nim protilátky. Antibiotická terapie v tomto stádiu nemá již vliv na vývoj vlastního onemocnění, chrání jen postiženého jedince před možnými nasedajícími bakteriálními infekcemi.

Rekonvalescentní stádium – několika týdnů – snižuje se frekvence a intenzita kašle, ale mohou se projevit jiné sekundární komplikace, pneumonie, jiné bakteriální či virové infekce. Období nakaživosti je celé katarální i paroxysmální stádium, někdy přetrvává i do rekonvalescence. Po prodělání pertuse není navozena celoživotní imunita proti tomuto mikrobu. Protilátky přetrvávají a jsou detekovatelné v séru individuálně asi 4–20 let.

Respirační infekce s podobným klinickým obrazem jako pertuse může vyvolat i *B. parapertussis*, ty však mívají mírnější průběh. *B. parapertussis* pro svou kultivaci není tak náročná na laboratorní podmínky a neprodukuje pertusový toxin.

Laboratorní diagnostika

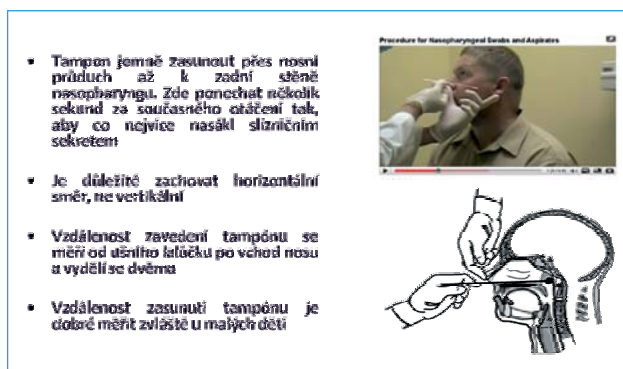
Pro správnou a úspěšnou laboratorní diagnostiku je důležitý správně odebraný materiál a jeho transport do laboratoře, a to především pro přímý průkaz mikroba (viz níže). Pro přímý průkaz *B. pertussis* kultivačně nebo pomocí PCR je důležité, aby odběr byl na začátku onemocnění, nejlépe na počátku katarálního stádia, při požadavku na kultivaci zásadně před zahájením antibiotické léčby.



Obr. č.2: Období vhodná pro odběr materiálu na laboratorní vyšetření na pertusi

Zásady pro správný odběr na kultivaci a PCR:

- o požadavku vyšetření na pertusi je vhodné den předem informovat laboratoř, jelikož pro kultivaci musí být připraveny speciální čerstvé kultivační půdy.
- odběrové soupravy určené ke kultivaci a PCR průkaz bordetel je možné si vyžádat na ZÚ Ostrava
- odběru materiálu je třeba věnovat zvláštní pozornost (viz obr. 3)
- vyšetřovaným materiálem je výtěr z nasofaryngu nebo aspirát z nasofaryngu
- odběrová souprava pro kultivaci obsahuje tampon na tenkém kovovém drátku, který se transportuje v Amies médiu s aktivním uhlím
- odběrová souprava pro PCR eSwab obsahuje tampon s dakronovým vláknem a odběrové médium
- materiál má být doručen do laboratoře co nejrychleji po odběru, maximálně do 24 hodin
- uchováván a transportován při pokojové teplotě, nikoliv v lednici



Obr. 3: Technika odběru určená ke kultivaci a PCR průkazu bakterií rodu *Bordetella*
Převzato z prezentace Lochman I. et al.: Laboratorní diagnostika dávivého kašle - možnosti a realita, Ostrava 30.9.2009

Kultivace – přímý průkaz

Standardní test se 100% specificitou, ale velmi náročný na odběr a transport materiálu do laboratoře.

Kultivace bordetel se provádí na speciální kultivační půdě Bordet-Gengou a probíhá 7 dnů při 35-36 °C.

Kultivační vyšetření může být negativní u očkovaných osob nebo u těch, kterým již byla podána antibiotika. Avšak negativní kultivace onemocnění nevylučuje.

PCR – přímý průkaz

Citlivější a specifitější metoda. Výhodou je možnost provádět stanovení v době již započaté antibiotické léčby a vzhledem k vysoké citlivosti metody provést odběr i v pozdějším období nemoci.

Sérologie – nepřímý průkaz

Poskytuje pozdní a spíše retrospektivní diagnózu. K sérologickému průkazu je důležitý odběr dvou vzorků a jejich stanovení provést v jedné laboratoři. První odběr je zapotřebí provést co nejdříve po objevení se prvních příznaků pertusse a druhý odběr provést za 2-4 týdny po prvním odběru. Pro sérologickou diagnostiku se nabízí několik metod:

Aglutinace – testem jsou prokazovány protilátky ve všech imunoglobulinových třídách (nelze rozlišit), především pak IgM a IgG. Párová séra se vyšetřují vždy současně a potvrzením akutně probíhajícího onemocnění je minimálně

čtyřnásobný vzestup titru protilátek.

Testy ELISA, Imunoblot – umožňují detekci protilátek ve třídách IgG, IgA, IgM

Interpretace výsledků není jednoduchá

- * závisí na použitých antigenech (FHA, PRN, PT, FIM) v soupravách ELISA nebo v imunoblotu. Uvádí se, že nejvyšší senzitivity a specifity pro sérologickou diagnostiku pertuse je dosahováno stanovením protilátek proti PT ve třídě IgA a IgG metodou ELISA.

- * protilátky proti dalším výše zmíněným antigenům se vytvářejí i u jiných bordetelových infekcí, takže nejsou specifické pro *B. pertussis*.

- * Vysoké titry protilátek mohou být také výsledkem zkřížené reakce s *H. influenzae*, *M. pneumoniae*, *Ch. pneumoniae* a případně s dalšími bakteriemi a respiračními viry.

- * Protilátky ve třídě IgA se tvoří pouze u probíhající infekce, a to především na jejím počátku, kdežto protilátky IgG jsou přítomny jak po sérokonverzi v pozdějších stádiích infekce, tak i po vakcinaci.

- * U některých kultivačně pozitivních pacientů, zvláště u dětí mladších 3 měsíců, se nevytvoří protilátky, které by bylo možné detekovat.

- * Výhodou imunoblotu je možnost průkazu protilátek proti několika antigenům současně.

Pertuse patří mezi povinně hlášené nemoci. Potvrzený případ pertuse je definován klinickými příznaky a průkazem pomocí jedné z následujících tří laboratorních metod:

- * Izolace *B. pertussis* z klinického materiálu
- * Detekce nukleové kyseliny specifické pro *B. pertussis*
- * Průkaz specifické protilátkové odpovědi

Imunizace

Ve 40. letech minulého století se začalo ve Spojených státech a později i v jiných zemích celoplošně očkovat celobuněčnou pertusovou vakcínou. Došlo k poklesu incidence onemocnění, ale pertuse se přesto vyskytovala nadále v tří až pětiletých cyklech. U více než 20% očkovaných docházelo k vedlejším účinkům (horečka, letargie, neurologické reakce). V 80. letech byla vyvinutá acelulární vakcína obsahující PT, FHA, PRN a FIM, která byla poprvé rutinně použita v Japonsku.

U nás se k očkování a přeočkování dětí v 5 letech začala používat trivakcína s acelulární pertusovou složkou (DTaP) od roku 2005.

Bezprostředně po imunizaci se tvoří protilátky IgM i IgG, které mohou být prokazovány sérologickými testy.

Imunita po očkování proti pertusi přetrvává asi 3-12 let a s věkem hladina protilátek postupně klesá až na hraniční hodnoty.

Závěr

Pertuse se díky očkování stala neprávem opomíjeným onemocněním. Imunita získaná po očkování proti pertusi v časném dětském věku není doživotní. Postupně dochází k jejímu poklesu a narůstá tak vnímavá populace mezi adolescenty a dospělými. Dávivý kašel u nich má však lehčí a často atypický průběh a stává se zdrojem pro další vnímavé jedince. Proto je nutno pořád myslet na to, že výskyt dávivého kašle očkovaním nebyl zcela eliminován

a provádět jeho diagnostiku. Pro přímý průkaz *B. pertussis* je klíčové provádět správně a ve vhodný čas odběry materiálu, při sérologickém stanovení je vhodné využívat výsledky získané z párových vzorků.

Aby se předešlo zbytečným nálezům je zapotřebí o rizicích pertuse informovat rodiče neočkovaných dětí, aby nepodceňovali dlouhodobý kašel v rodině a vyhýbali se kontaktu s nemocnými.

Literatura:

1. Mattoo, S., Cherry, JD. Molecular Pathogenesis, Epidemiology, and Clinical Manifestations of Respiratory Infections Due to *Bordetella pertussis* and Other *Bordetella* Subspecies. *Clinical Microbiology Reviews*, 2005, Vol. 18, No.2, p.326-382

2. Hučková, D., Kollárová, K., Adamčáková, J., Kovács, L., Kováč, L. Možnosti včasné diagnostiky pertusis. *Pediatrica pro praxi*, 2009, Vol 10, No.4, p.180-183

3. Blechová, Z. Opomíjená infekce – pertuse. *Pediatrica pro praxi*, 2008 Vol 8, No. 4, p. 223-226

4. Zavadilová, J., Fabiánová, K., Maixnerová, M. Doporučení pro laboratorní diagnostiku dávivého kašle. *Zprávy epidemiologie a mikrobiologie (SZÚ, PRAHA)*, 2009, Vol 18, No. 1, p. 24

5. Faulnkner, A., Skoff, T., and al. VPD Surveillance Manual, 5th Edition, 2011, Pertusis: Chapter 10

6. www.cdc.gov/pertusis/Clinical_Features/Diagnosis_Confirmation/Clinical_Complications,

2. Pracovní konference zdravotních laborantů a zdravotních sester

Hana Bílková Fránková

Centrum klinických laboratoří

10. 11. 2011 proběhla, v režii Fakultní nemocnice Ostrava a Zdravotního ústavu v Ostravě, 2. Pracovní konference zdravotních laborantů a zdravotních sester. O účast byl opět velký zájem, vzhledem k připomínkám k 1. ročníku jsme však tentokrát omezili počet účastníků na 120.

Na konferenci zaznělo 12 odborných sdělení. V prvním bloku jsme se seznámili s problematikou leukémií, pak následovaly informace z laboratoří – zde hlavně se zaměřením na novinky v bakteriologické diagnostice a na zásady odběru klinického materiálu k biotickému vyšetření. V části nozo-komiálních nákaz byla propojena problematika legislativy, prevence, dezinfekce a výsledků bakteriologických vyšetření ve zdravotnických zařízeních.

Následující blok byl věnován aktuálnímu *Clostridium difficile* a stále diskutovaným a problematickým chlamydiovým infekcím. Co je na konferenci ceněno je to, že zde propojíme jedno téma z několika úhlů pohledu.

Děkuji pracovníkům FN za jejich entuziasmus a pozitivní naladění, které dělají z tohoto odborného setkání navíc setkání přátelské. Poděkování patří všem přednášejícím, ale také p. náměstkyni Bc. Márii Dobešové, Mgr. Evě Mynaříkové, vedoucí laborantce oddělení patologie Mgr. Janě Vaculové a hlavně vedení nemocnice za velkou podporu akce.



Z pracovní konference zdravotních sester a laborantek se stává tradice. Pevně věřím, že se 23. května 2012 znovu všichni v přednáškovém sále Domu sester potkáme a že znovu najdeme zajímavá témata, nad kterými budeme diskutovat. Budu velmi ráda, když mi své náměty zašlete na adresu barbora.kulaviakova@zuova.cz.

Hana Bílková Fránková
vedoucí CKL ZÚ Ostrava

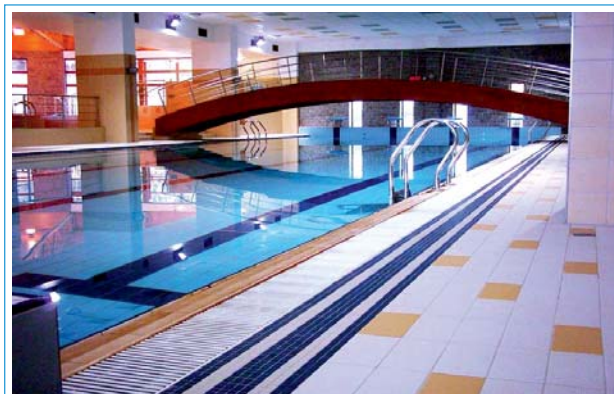
Informace pro zdrav. zařízení - nová vyhláška č. 238/2011 Sb.

Vladimíra Němcová

Oddělení anorganických analýz

Vyhláška č. 238/2011 Sb. o stanovení hygienických požadavků na koupaliště, sauny a hygienické limity písku v pískovištích venkovních hracích ploch, která je platná od srpna tohoto roku, nově zahrnuje do své působnosti i bazény ve zdravotnických zařízeních nebo ústavech sociální péče, které slouží k poskytování zdravotní péče k léčebným, rehabilitačním nebo regeneračním účelům. V uvedené vyhlášce jsou této problematice vymezeny paragrafy 24-28. Léčebné bazény se dělí podle užití do 2 kategorií. Pro obě tyto kategorie platí hygienické požadavky na jakost vody dle uvedené vyhlášky, požadavky na recirkulaci, úpravu a desinfekci vody, požadavky na četnost kontrol i určení odběrových míst. Nově je definována povinnost zasílání výsledků rozborů elektronicky do databáze PiVo. Toto zasílání je schopna naše laboratoř bezplatně zajistit.

Ing. Vladimíra Němcová
tel.: 596 200 126



Medicinální vzduch

Eduard Ježo

Oddělení faktorů prostředí

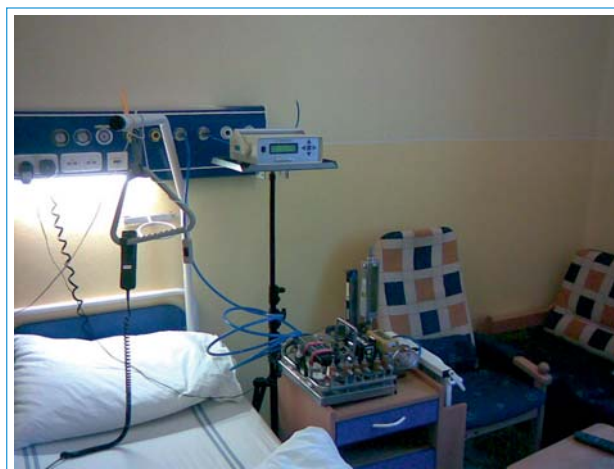
V roce 2010 (1. 7. 2010) byl vydán Státním ústavem pro kontrolu léčiv pokyn SÚKL LEK-15, který specifikuje požadavky na přípravu léčivé látky - medicijního vzduchu dodávaného do rozvodových systémů plynů pro medicijní účely ve zdravotnických zařízeních.

Základním požadavkem kladeným na tento systém přípravy léčivé látky je poskytovat medicijní vzduch v dostatečném množství a v požadované kvalitě. Všechny části systému přípravy (zdroj napájení, potrubní rozvod, terminální jednotky) musí mimo jiné také tvořit jeden funkční celek, obsahovat zálohové zásobovací zdroje a kvalita medicijního vzduchu musí být pravidelně kontrolována. V rámci kontroly kvality medicijního vzduchu je dle Českého lékopisu 2009, článku 6.0:1238 nutno sledovat obsah příměsí medicijního vzduchu: CO₂, CO, SO₂, NO, NO₂, O₂, H₂O, olej (pokud se při výrobě použije kompresor mazaný olejem). Nad rámec těchto parametrů je možno stanovit i mikrobiální kontaminace medicijního vzduchu.

ZÚ nyní pro své zákazníky nabízí novou službu vyplývající s požadavku LEK-15 a to Kontrolu medicijního vzduchu - roční zkoušku s vyšší vypovídací schopností kvality medicijního vzduchu dle Českého lékopisu 2009, článku Air medicinalis.

V měsíci říjnu ZÚ Ostrava jako první v ČR úspěšně absolvoval posouzení SÚKLu pro zkoušku „Stanovení chemických a fyzikálních ukazatelů ve stlačených plynech“ jejíž součástí je rovněž stanovení kvality Medicijního vzduchu.

Eduard Ježo
e-mail: eduard.jezo@zuova.cz



Rozpis služeb o vánočních svátcích

Pracoviště Ostrava - Laboratoř bakteriologie, Oddělení bakteriologie a mykologie

24.12.2011	6:00-14:30	provoz jako sobotní služba
25.12.2011	8:00-13:30	provoz jako nedělní služba
26.12.2011	6:00-14:30	provoz jako sobotní služba
31.12.2011	8:00-14:30	provoz jako sobotní služba
1.1.2012	6:00-13:30	provoz jako nedělní služba

Pracoviště Havířov - Laboratoř bakteriologie, Oddělení bakteriologie a mykologie

24.12.2011	6:00-14:30	provoz jako sobotní služba
25.12.2011	7:00-11:00	provoz jako nedělní služba
26.12.2011	6:00-12:30	přijem materiálu do 12:00
31.12.2011	6:00-14:30	provoz jako sobotní služba
1.1.2012	7:00-11:00	provoz jako nedělní služba

Pracoviště Bruntál - Laboratoř bakteriologie, Oddělení bakteriologie a mykologie

24.12.2011	8:00-10:00	pouze příjem vzorků, příp. tel. dotazy, neodečítá se
25.12.2011	6:00-10:00	nebo po dobu nutnou k odečtení vzorků
26.12.2011	8:00-10:00	pouze příjem vzorků, příp. tel. dotazy, neodečítá se
31.12.2011	6:00-14:30	
1.1.2012	8:00-10:00	pouze příjem vzorků, příp. tel. dotazy, neodečítá se

Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

Partyzánské nám. 7, 702 00 Ostrava, tel.: 596 200 111, e-mail: podatelna@zuova.cz

Redakční rada:

Mgr. Hana Fránková Bílková, RNDr. Ivo Lochman, Ing. Pavel Jurčík,
Mgr. Tereza Škapová, MVDr. Romana Mašková

Tisk: Kartis + Co s.r.o., Náklad: 1 500 výtisků

www.zuova.cz