

**Doporučení České společnosti klinické biochemie ČLS JEP a Společnosti všeobecného
lékařství ČLS JEP**

**Doporučené diagnostické a terapeutické postupy pro všeobecné
praktické lékaře**

**LABORATORNÍ METODY
Část 1. Biochemické metody**

Autoři:

Za ČSKB ČLS JEP:

Tomáš Zima, Jaroslav Racek, Milan Dastych, Miluše Kreidlová, Drahomíra Springer, Petr Kocna,
Marcela Draždáková, Jan Štěpán, Helena Marečková

Za SVL ČLS JEP:

Bohumil Seifert, Jaroslava Laňková, Cyril Mucha, Jana Vojtíšková

Oponenti:

Dana Moravčíková

Richard Průša

OBSAH

Doporučené diagnostické a terapeutické postupy pro všeobecné praktické lékaře	1
ÚVOD	3
1. OBECNÁ ČÁST	3
1.1. Biochemická vyšetření a jejich význam	3
1.1.1. Referenční hodnoty	3
1.2. Preanalytická fáze laboratorního vyšetření	4
1.2.1. Biologické vlivy	4
1.2.2. Odběr materiálu	6
1.2.3. Separace a transport materiálu	8
1.2.4. Skladování materiálu	8
1.3. Analytická fáze: systémy kvality v laboratoři	8
1.4. Postanalytická fáze	9
2. SPECIÁLNÍ ČÁST	10
2.1. Poruchy jater a slinivky břišní	10
2.2. Porucha funkce ledvin	12
2.3. Tyreopatie	13
2.4. Celiakie	13
2.5. Laboratorní ukazatele zánětu	13
2.6. Poškození myokardu	14
2.6.1. Ukazatele poškození kardiomyocytů	14
2.6.1.1. Kardiální troponin I či T (cTnI, CTnT)	14
2.6.1.2. Myoglobin	15
2.6.2. Ukazatele poruchy funkce myokardu	15
2.6.2.1. Natriuretický peptid typu B (BNP) či N-terminální štěp jeho prekurzoru (NT-proBNP)	15
2.7. Vnitřní prostředí a výživa	15
2.8. Lipidový metabolismus	16
2.9. EBV infekce	16
2.10. Sexuálně přenosné choroby	17
2.11. Lymeská borelióza	17
2.12. Poruchy kostního metabolismu	18
2.13. Základní imunologická vyšetření	19
2.14. Nádorové markery	19
2.15. Vyšetření lékových hladin	21
2.16. POCT metody	22
3. LITERATURA	25

ÚVOD

Praktický lékař může v různých fázích diagnostického a diferenciálně-diagnostického procesu využívat širokou paletu laboratorních metod. Pod tlakem regulace nákladů je motivován k jejich efektivnímu využívání, racionální indikaci a správné interpretaci.

Na pomoc praktickým lékařům v oblasti racionálního využívání laboratorních metod byl vypracován tento doporučený postup. Předkládáme jeho první část věnovanou biochemickým a vybraným imunologickým metodám. Zahrnuje obecné zásady laboratorních vyšetření a jejich 3 fází: preanalytické, analytické a postanalytické. Ve své speciální části popisuje portfolio současných biochemických a základních imunologických metod, pravidla jejich indikace a správné interpretace. Popisuje metody použitelné přímo v ordinaci (Point of care testing, POCT) a definuje pravidla zajištění jejich kvality. Přináší algoritmy pro využití v nejvýznamnějších klinických situacích. Záměrně neobsahuje algoritmy biochemické diagnostiky a monitoringu zpracované podrobně v jiných doporučených postupech pro praktické lékaře.

1. OBECNÁ ČÁST

1.1. Biochemická vyšetření a jejich význam

Lékař by si měl vždy před požadováním laboratorního i jiného vyšetření zodpovědět klíčovou otázku: Ovlivní výsledek v kontextu klinického stavu pacienta mé rozhodování (stanovení diagnózy, monitorace choroby, popř. změnu terapie)?

Rozdělujeme je dle dostupnosti na základní, speciální a vysoce specializovaná. Z hlediska rychlosti provedení vyšetření na rutinní, statimová a z vitální indikace. Některé metody lze s výhodou provádět přímo na místě (např. v ordinaci praktického lékaře) – tzv. POCT (point of care testing).

Pro rozhodování v medicíně má zásadní význam hranice, od které můžeme považovat příznak – změnu koncentrace analytu – za pozitivní nález. U většiny metod dochází k částečnému překrytí zdravých a nemocných, čímž vzniká skupina zdravých s pozitivním testem a (falešně pozitivních), nemocných s pozitivním testem (správně pozitivních) a také oblast správné a falešné negativity. Mezi nejzákladnější charakteristiky patří specificita, senzitivita a efektivita testu.

Senzitivita je procento správně pozitivních nálezů (u probandů s prokázaným výsledkem, např. jinou referenční metodou).

Specificita je procento správně negativních nálezů (u probandů s negativním laboratorním výsledkem, ověřeným referenční metodou).

1.1.1. Referenční hodnoty

Současné zdravotnictví chápe normálnost jako zdravý a diagnostický problém rozlišení stavu zdravý a nemoci je u kvantitativních znaků řešen pomocí normálního rozmezí intervalu hodnot. Tento termín je nahrazován pojmem referenční hodnoty, protože je velmi obtížné definovat termín »normální«. Statisticky definovaný referenční interval zahrnuje hodnoty v hranicích průměr \pm 2 směrodatné odchylky. Hodnoty mimo toto rozmezí není vhodné a priori označovat za patologické, ale za velmi vysoké nebo velmi nízké, protože tyto hodnoty se vyskytují ve zdravé výběrové referenční populaci s určitou předem definovanou (např. 95%, případně 99%) pravděpodobností.

Platnost referenčních mezí převzatých z literatury je nutné pro analytickou metodu používanou v konkrétní laboratoři a pro danou populaci ověřit.

Laboratorní vyšetření rozdělujeme na 3 fáze:

- preanalytickou

- analytickou
- postanalytickou

1.2. Preanalytická fáze laboratorního vyšetření

Je definována jako postupy a operace od indikace vyšetření po zahájení analyzování vzorku, tj. zahrnuje přípravu vyšetřovaného na odběr, odběr biologického materiálu, jeho uchování a transport do laboratoře.

Při indikaci nesmíme zapomínat na možné riziko pro pacienta. Lékař si musí uvědomit přínos daného vyšetření pro pacienta při negativním nebo pozitivním výsledku. Je potřebné volit metody v určitém algoritmu a vybírat metody pro daný problém co nejvíce specifické. Z hlediska indikace vyšetření a jeho případného opakování hraje podstatnou roli znalost charakteristiky vyšetřovaného analytu, především její biologický poločas, rychlost stimulace syntézy nebo degradace při patologickém procesu. Je nesmyslné vyšetřovat denně cholesterol, každý týden glykovaný hemoglobin nebo TSH. Příklad špatné indikace vyšetření je např. požadování vyšetření všech dostupných nádorových markerů při podezření na nádorový proces nebo přesvědčení se o tom, že při běžném infekčním onemocnění je CRP doopravdy zvýšeno. Nádorové markery především slouží k monitorování průběhu léčby nebo identifikaci případné recidivy. Pouze některé z nich jsou vysoce citlivé pro určité druhy nádorů a lze je např. použít pro diagnostický screening. CRP slouží především ke kvantifikaci stupně zánětlivého procesu a sledování jeho průběhu u závažných infekčních nebo autoimunitních onemocnění.

Faktory ovlivňující preanalytickou fázi:

1. biologické vlivy:

- ovlivnitelné
 - neovlivnitelné
2. odběr materiálu
 3. transport materiálu
 4. skladování materiálu

1.2.1. Biologické vlivy

- *neovlivnitelné* (rasa, pohlaví, věk, biologické rytmy),
 - *ovlivnitelné* (hmotnost organismu, životní styl, dietní návyky, užívané léky)
- **Rasa** – je někdy obtížně odlišit vliv rasy, socioekonomických a geografických rozdílů na změny naměřených hodnot analytů. Různé rasy mají odlišné některé metabolické cesty – např. odlišná enzymatická aktivita, ale také množství svalové hmoty (např. u černochů až dvojnásobná aktivita CK, u Asiatů vyšší aktivita slinné amylázy apod.)
 - **Pohlaví** – před pubertou jsou minimální rozdíly hodnot mezi dívkami a chlapci. Rozdíly v hodnotách analytů nejsou jen v aktivitě pohlavních hormonů, ale jsou popisovány rozdíly v koncentraci (aktivitě) ALT, AST, ALP, CK, kyseliny močové, močoviny, hemoglobinu, ferritinu, železa. Všeobecně jsou u řady analytů o něco vyšší normální hodnoty u mužů.
 - **Věk** – hraje významnou roli ve správné interpretaci nálezu. Řada biochemických systémů nebo dějů je spojena s určitou fází vývoje organismu. Zde uvádíme jen některé z nich. Koncentrace IgM a IgA lineárně stoupá od narození v souvislosti s jejich syntézou v organismu novorozence. Aktivita ALP je vysoká v dětství a dosahuje maxima v období 10 - 16 let věku, pak prudce klesá. Vysoké hodnoty v pubertě jsou dány především vývojem skeletu a obdobné hodnoty např. ve věku 40 nebo 50 let věku by znamenaly patologický nález. Další takový analyt je ferritin, který je nižší u žen ve fertilním věku, později se zvyšuje a může dosáhnout až hodnot mužské populace (tyto změny jsou dány fyziologickými ztrátami železa u fertilních žen).
 - **Gravidita** – těhotenství znamená výraznou změnu biochemických dějů. Změny analytů mohou být dány řadou mechanismů – např. indukci (navýšení ALP), zvýšením plazmatických

transportních proteinů v plazmě (hladin tyroxinu ↑, mědi ↓, ceruloplazminu ↑), hemodilucí (celková bílkovina, albumin), zvýšením tělesného objemu (zvýšení clearance kreatininu), relativním deficitem (snížení železa, ferritinu), zvýšením proteinů akutní fáze (nadhraniční hladiny CRP).

- **Biologické cykly** - analyty v lidském organismu podléhají chronobiologickým faktorům jak lineárním (věk), tak cyklickým, z nichž nejvíce prostudovány jsou denní (cirkadiánní) a biologické - např. menstruační cyklus – změna koncentrace hormonů, ale též cholesterolu a železa). O cyklech sezónních je v současné době pouze málo údajů, ale jsou známy údaje o některých změnách – např. aktivitě AST a ALT, triacylglycerolů, které v průběhu ročních období mají svá maxima a minima s výchytkou více než 5%.
 - Cirkadiánním změnám nepodléhají jen hormony, ale také běžné analyty, jako je železo (změna až 50 %), draselné ionty, urea, kreatinin a řada dalších. Nejznámější je denní cyklus kortizolu s maximem v ranních hodinách a večerním minimem s možnou odchylkou až 250 %, ale i jiné analyty mají denní odchylky v řádu desítek procent (AST, ALT, LD, ALP, testosteron, T4, prolaktin)
- **Hmotnost organismu** – může ovlivnit koncentrace analytů změnou distribučních objemů. S obezitou pozitivně koreluje koncentrace cholesterolu (LDL), triacylglycerolů, kyseliny močové, kortizolu a inzulínu.
- **Stravovací návyky** – ovlivňují různými mechanismy vyšetřované analyty. Vyplavují se hormony a enzymy před příjmem stravy a během jídla, některé analyty se přesouvají do jiných kompartmentů (pokles draselných iontů a fosfátů vlivem vyplavení inzulínu, pokles chloridových iontů). Požití potravy se projeví nejvíce na koncentraci glukózy, železa, lipidů, ALP. Jídlo bohaté na proteiny zvýší fosfáty, močovinu, kyselinu močovou, ale významně se zde uplatňuje intraindividuální variabilita.
 - Čtyři dny po změně standardní diety na vysoce proteinovou se zdvojnásobí koncentrace urey a zvýší se cholesterol a fosfáty. Dieta bohatá na tuky sníží podíl dusíkatých látek např. kyselinu močovou. Strava bohatá na sacharidy zvýší ALP a LD, sníží triacylglyceroly, cholesterol a celkovou bílkovinu, avšak změna aktivity AST závisí na typu sacharidů.
 - U vegetariánů je LDL a VLDL cholesterol velmi nízký, včetně celkového cholesterolu a triacylglycerolů. Jsou jen malé rozdíly v koncentraci bílkovin a enzymů, může docházet k poklesu albuminu a urey, některých stopových prvků, bilirubin bývá zvýšený a pH moče je výrazně alkalické.
 - Některé potraviny a nápoje mohou ovlivnit specifické metabolické cesty. Příkladem může být kofein, který zvyšuje hladinu katecholaminů, koncentraci glukózy a koncentraci volných mastných kyselin.
- **Kouření** ovlivňuje hladinu řady analytů především vlivem nikotinu. Kouření působí na metabolismus glukózy, zvyšuje hladinu cholesterolu a triacylglycerolů, zvyšuje kortizol, olovo, kadmium a také CEA (karcinoembryonální antigen), naopak snižuje koncentraci imunoglobulinů a vitamínu B12.
- **Alkohol** – konzumace alkoholu mění biochemické analyty odlišně podle toho, zda se jedná o akutní nebo chronický abúzus. Jednorázové požití alkoholu v mírné a střední dávce minimálně ovlivňuje biologické testy. Při akutním abúzu se zvyšují triacylglyceroly, aldosteron a klesá prolaktin, antidiuretický hormon, kortizol. Při chronickém abúzu se zvyšuje ALT, AST, GGT, kortizol, adrenalin a estradiol. Dlouhodobý abúzus vede k hypoglykémii a ketoacidóze, stoupá laktát a koncentrace kyseliny močové. Je známý účinek mírných dávek alkoholu na zvýšení HDL cholesterolu, který je však přechodný.
- **Léky a drogy** – je nemožné zobecnit vliv léků a drog na laboratorní testy. Podávané léky mají vliv na biologické procesy in vivo (indukce enzymů nebo inhibice, zvýšení transportních proteinů, cytotoxicita), ale též vyvolávají fyzikálně chemické interference in vitro (zkřížená reaktivita při imunochemických stanoveních). Je třeba upozornit laboratoř nebo s ní konzultovat nejasný nález, který může souviset s medikací pacienta. Příbalový souhrn informací o přípravku

a další materiály uvádějí možné změny laboratorních testů, které příslušná účinná látka může vyvolat, nebo se kterými může interferovat.

- **Fyzická zátěž** – ovlivňuje změnu složení tělních tekutin a závisí na délce a intenzitě cvičení.
- **Akutní silová a vyčerpávající zátěž** zvyšuje podíl anaerobního metabolismu, při akutních změnách se analyty redistribuují mezi kompartmenty, nastupuje stresová poplachová reakce. Střední zátěž zvyšuje stresovou reakci organismu s následným zvýšením hladiny glukózy a stimulací sekrece inzulínu, zvyšuje se také aktivita enzymů souvisejících s činností svalů jako je AST, CK, LD, ale i bilirubin. Namáhavé cvičení vede k hypoglykémii a až desetinásobně může stoupnout laktát. Náročné cvičení také zvyšuje reninovou aktivitu a stimuluje sekreci kortizolu s narušením jeho diurnálního cyklu. Cholesterol a triacylglyceroly bývají sniženy.
- **Zevní prostředí** – nemalou měrou ovlivňuje koncentrace analytů, jedná se o nadmořskou výšku, teplotu prostředí, ale také geografickou lokalizaci – venkov, město. Tyto faktory se uplatňují především u cizinců nebo osob dlouhodobě působících v zahraničí. Cestování přes časová pásma se projevuje změnou některých analytů, nejčastěji se jedná o retenci sodných iontů a tekutin s normalizací za 2 dny po návratu.
- **Mechanické vlivy** – svalové trauma i intramuskulární injekce mohou zvýšit aktivitu ALT, AST, CK a koncentraci myoglobinu, tlak dělohy ve vysokém stupni gravidity zvyšuje aktivitu ALT, při maratónském běhu stejně jako při chlopenních náhradách jsou mechanicky poškozovány erytrocyty s následnou hemolýzou.

1.2.2. Odběr materiálu

K obecným zásadám při odběru materiálu patří především přesná a jednoznačná identifikace biologického materiálu. Při odběru materiálu musíme mít na mysli způsob odběru v závislosti na typu biologického materiálu, mít správný odběrový materiál (odlišná stabilizační nebo protisrážlivá činidla), postupovat odpovídající technikou odběru a v neposlední řadě mít správně poučeného a připraveného pacienta.

Vlastní odběr může být významně ovlivněn dobou odběru (cirkadiální rytmy, lačnění), polohou pacienta při odběru, typem odběrových zkumavek a technikou odběru.

Odběr krve

Odebírá se krev venózní, arteriální nebo kapilární. Nejčastěji se používá venózní krev získaná venepunkcí, u malých dětí a nedonošenců se odebírá kapilární krev.

Poučení pacienta hraje klíčovou roli v celém procesu laboratorního vyšetření a je nezbytné pro správnost vyšetření. **Odběr nalačno** pro většinu laické populace znamená nesnídat, ale odběrem nalačno se rozumí, že pacient cca 10–12 hodin nejedl, byl v relativním klidu a odběr byl proveden v ranních hodinách. Doporučuje se též vypít ráno cca 2-3 dl vody. Nedodržením lačnění vznikají zkreslené nálezy v parametrech sacharidového a lipidového metabolismu. Pro některá speciální vyšetření nebo funkční testy jsou předepsaná opatření dietní (např. vyšetření kyseliny vanilmandlové, hydroxyindolactové) nebo režimová (PSA může být pozitivní po jízdě na kole apod.).

Venepunkce se má provádět u pacienta, který je v klidu, paže má být natažena. Nemá být používána paže, na které jsou výrazné jizvy, hematom, zavedená infuze nebo u žen na straně po provedené mastektomii. K odběru se používá kubitální žíla ve fossa antebrachii nebo žíly v loketním ohbí. Žíly na hřbetu ruky je možné využít, ovšem je třeba si uvědomit rizika u diabetiků a osob s horší cirkulací (vznik možných trofických defektů).

Poloha pacienta při odběru je velmi významná a může ovlivnit koncentraci řady látek. **Standardní poloha pacienta při odběru** je poloha vsedě. Při poloze vstaje je např. koncentrace vysokomolekulárních látek (bílkovin) o cca 10 % vyšší. Některé hormony (např. aldosteron, renin, adrenalin) mají až o 50 % vyšší koncentraci vstaje. Změna polohy vleže do stoji znamená asi 10% redukci krevního volumu se vzestupem koncentrace proteinů. Alterace krevního volumu je asi úplná za 30 min z polohy vstaje do lehu a asi za 10 minut z lehu do stoji. Změny jsou výraznější u

hypertoniců a pacientů s nižší koncentrací proteinů a u starších osob. Hospitalizace a imobilizace vede k retenci tekutin a s poklesem albuminu a bílkoviny.

Po dezinfekci místa vpichu se přikládá turniket, jehož přiložení nemá být delší než 1 minuta a pacient nemá »paží pumpovat«. Při delším zaškrcení končetiny (cca 5 min) a výraznějším cvičení dochází až k 10% změně aktivity nebo koncentrace řady analytů (stoupá např. AST, CK, bilirubin, cholesterol, vápník, kreatinin). Tato změna je dána nejčastěji přestupem nízkomolekulárních látek z intravaskulárního prostoru do intersticia v důsledku zvýšení filtračního tlaku přes kapilární stěnu a metabolickými změnami v místě zaškrcení (anaerobní metabolismus).

V současné době se používají uzavřené odběrové systémy, které chrání pacienta a zdravotnický personál provádějící odběr a minimalizuje tak riziko kontaktu s krví pacienta. V případě použití odběru do zkumavek s gelovými separátory je nutné si uvědomit vzácné, ale možné ovlivnění výsledku mechanickými a chemickými vlastnostmi gelu a možnou adsorpcí látek na gel.

Při odběru více zkumavek z jednoho vpichu, je potřeba zachovat doporučené pořadí odběru: zkumavky bez přísad a po té zkumavky s přísadami. Bezprostředně po naplnění je nutné krev promíchat opakovaným otáčením zkumavky minimálně 5x (netřepat!).

K odběru je vhodné používat **jehly se širším průsvitem**. Při šetření pacienta tenkou jehlou a pomalém natékání krve do zkumavky mohou vznikat mikrofibrinová vlákna, která ovlivňují výsledky koagulačních analýz.

Jestliže potřebujeme pouze malé množství krve, je možné použít punkci kůže (nejčastěji odběr u diabetiků na glykémii a glykovaný hemoglobin). Ke zvýšení prokrvení se používá teplý vlhký obklad 3 min před vlastním odběrem. Krev se odebírá do kapilár nebo mikrozkušavek. Při odběru tzv. arterializované kapilární krve na vyšetření krevních plynů je nutné pracovat anaerobně (pozor na bubliny v kapiláře). Jediným vhodným způsobem je volné odtékání kapilární krve do odběrového zařízení. Kontaminace vzorku desinfekčním činidlem může přicházet v úvahu při kapilárním odběru krve.

Antikoagulační látky

Odběr plné krve je kromě hematologických vyšetření nutný pro stanovení krevních plynů, amoniaku, glykovaného hemoglobinu, některých stopových prvků, někdy pro stanovení glukózy nebo laktátu, stanovení minerálů v plné krvi a pro vyšetření analytů z plazmy. Velkou pozornost je nutné věnovat výběru vhodného protisrážlivého činidla a zachování dodržení poměru mezi krví a protisrážlivým činidlem. Mezi plazmou a sérem jsou určité rozdíly ve složení dané buď spotřebou analytů při srážení krve (fibrinogen, glukóza, trombocyty) nebo vznikajícím uvolněním z buněk (draselné ionty, fosfáty, laktát, amoniak). Antikoagulační činidlo může interferovat se stanovením.

Mezi běžně užívaná antikoagulantia patří heparin, EDTA, citrát sodný, oxaláty. Heparin se užívá jako sodná, draselná, lithná nebo amonná sůl, a tak může stanovení těchto analytů ovlivnit. Draselné soli EDTA mají malý vliv na laboratorní testy – kromě některých metod stanovení železa a vápníku. Citrát sodný není vhodný ke stanovení vápníku. Fluorid sodný se využívá jako stabilizační činidlo ke stanovení glukózy (vzorek nelze použít např. ke stanovení sodných iontů).

Interference stanovení

Hemolýza

Mírná hemolýza má malý efekt na laboratorní testy, avšak střední nebo masivní hemolýza ovlivní koncentraci a aktivitu řady analytů (zvysuje se draslík, LD, AST, hořčík, ALT, HDL-cholesterol, CK, ACP) a naopak snizuje (GGT, ALP, amyláza). Velikost změny koncentrace nebo aktivity analytů je závislá na koncentraci hemoglobinu v hemolytickém séru. Uvolněný hemoglobin ovlivňuje fotometrická stanovení, ale může také svými fyzikálně chemickými vlastnostmi ovlivnit průběh reakcí sloužících ke stanovení analytů.

Trombolýza

Kromě relativně známého účinku hemolýzy je třeba si uvědomit, že možný rozpad trombocytů může ovlivnit laboratorní testy – jedná se především o zvýšení koncentrace draselných iontů.

Mezi další nejčastěji interferující látky při stanovení patří zvýšená koncentrace triacylglycerolů a hyperbilirubinemie (ikterické nebo chylózní plazma/serum).

Odběr ostatního biologického materiálu

Pro vyšetření moče je nejčastěji používaná první ranní moč (střední porce) pro orientační stanovení analytů a elementů. Pro podrobnější vyšetření je nutno vyšetřit vzorek sbírané moče za různě dlouhé intervaly – obvykle za 3 hodiny (Hamburgerův sediment), za 12 nebo za 24 hodin, nebo hodnoty vztáhnout na koncentraci kreatininu. Při sběru moče za 12–24 hodin je nutné moč uchovávat v chladu nebo použít konzervační látky zabraňující pomnožení bakterií a změně chemického složení (např. thymol, azid sodný, kyselina chlorovodíková).

1.2.3. Separace a transport materiálu

Pro oddělení krevních elementů od séra (plazmy) je vhodná centrifugace při 1000 – 1500 g (g = násobek gravitačního zrychlení) po dobu 10 minut při pokojové teplotě. Delší doba centrifugace nebo zvýšení počtu g vede často k částečné či úplné hemolýze. Plazma nebo sérum mají být odděleny co možná nejdříve, nejpozději však do 2 hodin od odběru (pro stanovení draselných iontů do 1 hodiny od odběru). Krev pro stanovení tepelně nestálých analytů (parathormon, osteokalcin, natriuretické peptidy a další) musí být centrifugována v chlazené centrifuze.

Předčasné oddělení séra od krevních elementů (dříve než za cca 20 – 30 minut) však může vést k dodatečné tvorbě fibrinu a dochází tak k pocentrifugační koagulaci. Z tohoto pohledu je plazma jako biologický materiál pro další analýzy vhodnější – krev je možné ihned centrifugovat, hrozí menší nebezpečí hemolýzy.

Transport materiálu má být šetrný, rychlý, při adekvátní teplotě a světelných podmínkách (kyselina listová, bilirubin jsou nestabilní na přímém světle). V případě, že je vzorek krve transportován neprodleně po odběru do laboratoře, postačuje pro transport většinou pokojová teplota. Při delším transportu je vhodnější posílat materiál v chladícím boxu apod. Pro stanovení některých analytů (amoniak, krevní plyny, homocystein, parathormon, kyselá fosfatáza) je doporučen transport na tajícím ledu. Pokud nelze dopravit krev do laboratoře do požadované doby, je vhodnější do laboratoře zaslat plazmu nebo sérum.

V každém případě je důležité seznámit se s podmínkami transportu a skladování biologického materiálu pro vyšetřovaný analyt.

1.2.4. Skladování materiálu

V případě odběru krve je nejprve odděleno sérum, popř. plazma od krevních elementů a následně závisí teplota skladování biologického materiálu na dvou faktorech:

- stabilitě analytu
- době provedení analýzy

Pokud je vzorek zpracován do 24–48 h, maximálně do týdne, postačuje pro většinu analytů uchování při teplotě 4 °C. Pro dlouhodobé skladování proteinů je vhodná teplota -20 °C, popř. až -80 °C. Při skladování je nutné, aby materiál byl dobře uzavřen a bylo zabráněno zahuštění vzorku odpařováním, mikrobiální kontaminaci, vlivu světla a difúzi plynů a samozřejmě metabolismu krevních elementů. Chemická konzervace se pro sérum nebo plazmu užívá vzácně, spíše používáme konzervační činidla při skladování moče.

1.3. Analytická fáze: systémy kvality v laboratoři

Základním opatřením je zavedení systému **interní – vnitrolaboratorní kontroly (IQA)**. Cílem interní kontroly je zabezpečování analytické spolehlivosti výsledků monitorováním stability měření a získání souboru dat, z nichž je možné odhadnout nejistoty měření v klinické laboratoři. Interní kontrola kvality se obvykle provádí denní analýzou dvou kontrolních vzorků o různých koncentracích analytů.

Laboratoř je povinně zapojena do systému **externího hodnocení kvality**. Externí hodnocení kvality (EHK – EQA - External Quality Assessment) je systém objektivního hodnocení laboratorních výsledků nezávislou organizací, které se provádí pravidelným porovnáváním výsledků měření hodnocených laboratoří navzájem a porovnáváním k referenčním hodnotám měření.

1.4. Postanalytická fáze

Postanalytická fáze má interdisciplinární charakter spolupráce: laboratoř - indikující lékař. Postanalytická fáze spočívá v interpretaci výsledků ve vztahu k fyziologickým hodnotám, k výsledkům dalších vyšetření a ke klinickému obrazu pacienta.

Součástí vyhodnocování výsledků je i přístup k překvapivému nálezu, např. excesivní nebo neočekávané hodnotě, která nekoreluje s klinickým stavem pacienta, opakování vyšetření nebo ověřování jinou vyšetřovací metodou.

2. SPECIÁLNÍ ČÁST

2.1. Poruchy jater a slinivky břišní

Při hodnocení laboratorních výsledků v hepatologii si musíme uvědomit, že řada laboratorních vyšetření je nespecifických a mohou se vyskytovat i u nejaterních onemocnění. Játra jsou orgánem s velkou funkční rezervou a vynikající regenerační schopností, proto řada vyšetření je pozitivních až v pokročilé fázi onemocnění.

Používané laboratorní testy můžeme rozdělit do několika skupin:

- testy odrážející poškození hepatocytů a drobných žlučových – ALT, AST, GGT (tzv. aminotransferázy), ukazují na poškození hepatocytů, zvýšená ALP (alkalická fosfatáza) a GGT jsou typické pro cholestázu a abusus alkoholu. Izolované zvýšení GGT může být prvním příznakem adenokarcinomu pankreatu nebo je způsobeno lékovou indukci (včetně farmakologické antikoncepce).
- testy měřící kapacitu jater transportovat organické anionty a odstraňovat endogenní a exogenní látky z cirkulace – bilirubin, žlučové kyseliny,
- testy měřící kapacitu jater metabolizovat cizorodé látky – lidokain, bromsulfoftalein, aminopyrin,
- testy měřící syntetickou činnost jater – albumin, cholinesteráza, koagulační faktory (fibrinogen protrombinový čas),
- nespecifické testy neodrážející přímo metabolickou situaci jaterní, ale umožňující přesnou diagnózu – sérologické testy na hepatitidy, hladiny imunoglobulinů, specifické protilátky.

Virové hepatitidy dnes představují jednu z nejčastějších příčin akutního i chronického onemocnění jater. Diagnostika je opřena o kombinaci sérologických a molekulárně genetických metod, primární je však diagnostika screeningová (viz tabulka 1).

Tabulka 1: Screeningová vyšetření při podezření na virovou hepatitidu

Hepatitis A	Hepatitis B	Hepatitis C
anti - HAV IgM	HBsAg	anti – HCV
anti - HAV TOTAL/IgG	anti – HBc IgM	

Postvakcinační kontrola u virové hepatitidy A: anti-HAV IgG, u hepatitidy B: anti-HBs.

Přehled souboru tzv. jaterních testů v tabulce 2.

Tabulka 2: Soubor jaterních testů

Test	změna	pravděpodobná diagnóza	poznámka
ALT, AST	zvýšení cca 20x	aktivní vir. hepatitis, polékové a toxické poškození, cirkulační šok	pokles hodnot může znamenat ústup onemocnění, ale i masivní nekrózu, výše hodnot odpovídá rozsahu poškození, ale nikoli prognóze
	zvýšení cca 10x	těžká biliární kolika	většinou do 72 hodin návrat do normy
	zvýšení cca 3x	jat. steatosa, nealkoholická jaterní steatofibróza, chronická hepatitis	
	mírné zvýšení	kompensovaná jaterní cirhóza, cholestatické nemoci jater, neoplázie	
ALP	zvýšení 5x a více	onemocnění žlučových cest	
	zvýšení méně než 5x	jaterní onemocnění	
GGT	zvýšení	vliv exogenních látek: alkohol, fenobarbital, estrogeny, fenytoin, cimetidin, karbamazepin, heparin, furosemid	
	několikanásobné zvýšení	obstrukce žlučových cest, biliární kolika	
Albumin	snížení	jaterní cirhóza, ascites	
Bilirubin	zvýšení	cholestáza, primární biliární cirhóza, akutní jaterní selhání, jaterní cirhóza	

V běžné praxi spočívá základní diagnostika **akutní pankreatitidy** průkazem zvýšení pankreatických enzymů (pankreatické amylázy a lipázy) spolu s typickým klinickým obrazem. Zvýšené hodnoty sérové amylázy se mohou po 3–5 dnech od počátku onemocnění normalizovat. Stanovení pankreatického izoenzymu výrazně zvyšuje diagnostickou specifitu stanovení amylázy, jako markeru akutní pankreatitidy. Stanovení amylázy v moči má diferenciatně diagnostický význam pro průkaz makroformy enzymu (makroamylázy), která je v 8 – 12 % případů faktorem zvýšené hladiny amylázy v séru.

Diagnostický problém vzniká kromě atypického klinického obrazu obvykle tehdy, jestliže se diagnostické laboratorní metody aplikují s odstupem 3–5 dnů od počátku onemocnění, kdy enzymy již mohou poklesnout a v klinickém obraze již převažují pouze necharakteristické příznaky. Nutné je také mít na paměti zvýšené hodnoty amylázy v séru při renálním selhání (snížená glomerulární filtrace). Další základní parametry změněné při akutní pankreatidě je leukocytóza, vzestup močoviny, CRP, AST, pokles vápníku a změny vnitřního prostředí.

2.2. Porucha funkce ledvin

Mezi screeningová vyšetření patří kvalitativní a semikvantitativní vyšetření moči (Tab. 3). **Proteinurie** při vyšetření testovacím papírkem má být při pozitivním nálezu následována kvantitativním vyšetřením (vzorek sbírané moče za časovou jednotku). U diabetu a u některých nemocných s hypertenzí je také důležité vyšetření tzv. **mikroalbuminurie**, kdy hodnota je zvýšená již při malém poškození ledvin na rozdíl od proteinurie. Doporučuje se vyšetření 2. ranní moče, kdy hodnota albuminu je přepočítaná na mmol kreatininu. Proteinurie může být způsobena řadou příčin, resp. v moči nalézáme různé typy bílkovin – myoglobin (rhabdomyolýza), hemoglobin (hemolýza), paraprotein (myelom), beta-2-mikroglobulin (tubulární poškození) a další. Glomerulární proteinurie může být způsobena buď ztrátou negativního náboje glomerulární bazální membrány nebo poškozením glomerulární membrány se vznikem rozsáhlejších defektů, kterými prochází dle závažnosti poškození molekuly s různou velikostí až po proteiny s velkou molekulovou hmotností, např. IgG.

Glomerulární filtrace nám dává jen přibližný odhad závažnosti renálního onemocnění a není ani ideálním markerem k monitoraci progresu renálního onemocnění. Normální glomerulární filtrace je cca 2 ml/s/1,73 m² tělesného povrchu, u žen je nižší a s věkem klesá. Glomerulární filtrace je měřena nepřímou jako tzv. **renální clearance**, kdy nejčastěji využíváme stanovení clearance endogenního kreatininu. Koncentrace kreatininu odráží množství svalové hmoty jedince a také jeho stanovení není specifické. V poslední době se tedy stále více doporučuje využívat pro odhad glomerulární filtrace u pacientů v hyperuremii výpočet podle Cockcrofta a Gaulta nebo Schwartz (u dětí), nutná je znalost koncentrace kreatininu v séru, nevyžaduje 24hodinový sběr moči. Další možností je výpočet glomerulární filtrace dle rovnice MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) nebo stanovením pomocí koncentrace cystatinu C v séru a výpočet dle Grubbovy rovnice.

Koncentrace **močoviny (urey)** se často vyšetřuje u nemocných s chorobami ledvin, avšak její koncentrace závisí na příjmu bílkovin ve stravě (vysoký příjem proteinů ↑ urea), proteinovém katabolismu (↑), glomerulární filtraci (snížená filtrace ↑ urea) a perfuzi ledvin.

Tabulka 3: Základní vyšetření moči

Vyšetření moči	Patologie	Onemocnění
Chemické	Proteinurie	Akutní pyelonefritida, tubulopatie, selhání ledvin, diabetická neuropatie, glomerulonefritidy–nefrotický syndrom
	Hematurie	Infekce močových cest, urolitiáza, obstrukce, některé glomerulopatie, nádory ledvin a močových cest Cave menses u žen – falešné výsledky
	Glykosurie	Diabetes mellitus (kvantitativní vyšetření je obsolentní)
	Ketolátky	Diabetická ketoacidóza, vegetariáni, negativní energetická bilance
	Urobilinogen	hemolytický a hepatocelulární ikterus
	Bilirubin	obstrukce žlučových cest
	Nitrity	Bakteriální zánět
Mikroskopické	Erytrocyty	Glomerulonefritidy, nádory, urolitiáza, glomerulární v. neglomerulární erythrocyturii lze rozlišit vyš. erythrocytů ve fázovém kontrastu,
	Leukocyty	Infekce, glomerulonefritidy, intersticiální nefritidy
	Válce	Infekce močových cest, nefrotický syndrom, tubulopatie, chronická renální nedostatečnost, glomerulonefritidy
	Krystaly	Riziko urolitiázy

2.3. Tyreopatie

Štítná žláza je nejčastěji postižena hyperfunkcí, hypofunkcí nebo zánětem. Při podezření na poruchu funkce volíme jako úvodní vyšetření TSH. Nižší TSH nacházíme při substituční léčbě nebo při hypertyreóze. Vyšší TSH svědčí pro hypotyreózu. Hraniční TSH může být při subklinických formách funkčních poruch. Vyšetření koncentrace celkového tyreoxinu se v moderní diagnostice již neuvádí. Více informací poskytne stanovení volné frakce (FT4, popř. FT3). Vyšetření trijodtyroninu (TT3 a FT3) by mělo být vyhrazeno jen nejasným stavům a podezření na subklinickou hyperfunkci, při dysproteinemiích a dysalbuminemiích.

Vysoké hladiny protilátek proti peroxidáze (anti TPO) nebo proti tyreoglobulinu (anti Tg) se nacházejí u autoimunitních zánětů štítné žlázy. Při podezření na hyperfunkci vyšetřujeme protilátky proti TSH receptorům (TRAK). Vysoké hladiny protilátek mohou provázet neplodnost i u žen, které nemají zjevnou funkční poruchu štítné žlázy.

Vyšetření funkce štítné žlázy je doporučeno u žen před plánovanou koncepcí nebo v rané fázi gravidity a to vyšetřením volného tyroxinu (FT4), tyreostimulačního hormonu (TSH) a protilátek proti tyreoidální peroxidáze (anti TPO).

2.4. Celiakie

Pro základní screeningové vyšetření je dnes doporučeno stanovení protilátek třídy IgA ke tkáňové transglutamináze (atTG, aTG, ATG) metodou s lidským, rekombinantním antigenem. Pokud je u nemocného prokázán deficit IgA protilátek, je doporučeno stanovení protilátek atTG ve třídě IgG.

Tkáňová transglutamináza je enzymem, který má klíčovou roli nejen v diagnostice, ale i ve vlastní patogenezi onemocnění. Gliadin, gliadinové fragmenty a peptidy obsahují velmi vysoké procento glutaminu (30 - 40% tvoří glutamin a prolin) a gliadin je proto velmi dobrým substrátem pro enzym tkáňovou transglutaminázu. Tkáňová transglutamináza je strukturou v endomyziu, proti které se tvoří protilátky, je vlastním autoantigenem celiakie. Tkáňová transglutamináza vytváří vazbu na substrát (gliadin), modifikuje tyto peptidy a vznikající neoepitopy se vážou s povrchovými glykoproteiny HLA-DQ2/DQ8 pozitivních imunokompetentních buněk a vyvolávají imunitní odpověď ve sliznici tenkého střeva.

K definitivní diagnóze celiakie je nezbytné histologické vyšetření sliznice tenkého střeva (biopsie). Pozitivní průkaz atTG protilátek je proto zásadní indikací odborného gastroenterologického vyšetření s biopsií sliznice tenkého střeva. Vyšetření protilátek ani histologické vyšetření biopsie nelze provést, pokud pacient dodržuje bezlepkovou dietu.

Pro dlouhodobé sledování nemocných s celiakií (nikoliv pro základní screening) je doporučena širší řada sérologických markerů - protilátky ke gliadinu třídy IgA a IgG (AGA, AGG), protilátky ke tkáňové transglutamináze (atTG) a protilátky k endomyziu (EmA).

2.5. Laboratorní ukazatele zánětu

1. **Leukocytóza** ($> 9 \times 10^9/l$); neutrofilie u bakteriální infekce, lymfocytóza u virových infekcí.
2. **Elektroforéza – zmnožení frakcí α_1 , α_2 , často i β_1 -globulinů** (dáno přítomností proteinů akutní fáze).
3. **Sedimentace erytrocytů** (SE, ESR, FW); způsobena změnou povrchového náboje erytrocytů a zejména zvýšením koncentrace fibrinogenu. Reakce je vysoce senzitivní ale také vysoce nespecifická, pomalu reaguje, řadu dní přetrvává i po odstranění vyvolávajícího noxy.
4. **Prozánětlivé cytokiny** – vznikají v leukocytech aktivovaných při zánětu; patří sem zejména interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6) a tumor nekrotizující faktor alfa (TNF- α). Stoupají nejdříve – hodiny po začátku zánětu.
5. **Prokalcitonin** – stoupá při sepsi a hrozící sepsi bakteriální či mykotické.

6. **Zvýšení koncentrace reaktantů (proteinů) akutní fáze (zánětu).** Vznikají v játrech po stimulaci zánětlivými cytokiny (zejména IL-6). Jejich zvýšení se projevuje za nestejně dlouhou dobu, nemusí stoupat všechny najednou, zvýšení koncentrace různě dlouho přetrvává (tab. 4). Nejcitlivější je **C-reaktivní protein (CRP)**; stoupá z hodnoty kolem 1 mg/l na hodnoty řádově desítky mg/l (virová onemocnění) až stovky mg/l (bakteriální onemocnění). Vzestup je i u „sterilních“ zánětů – např. po infarktu myokardu, u revmatoidní artritidy, kolagenóz aj.

Tabulka 4: Nejvýznamnější reaktanty (proteiny) akutní fáze zánětu

Protein	Zvýšení	Počátek vzestupu	Biologický poločas (T1/2)
Alfa1-antitrypsin (AAT)	2x	1 – 2 dny	4,5 dne
Orosomukoid (α 1-kyselý glykoprotein)	2 – 4x	1 – 2 dny	3 dny
Fibrinogen (pozn.: odběr do citrátu)	2 – 3x	1 – 2 dny	2,4 – 4,2 dne
C-reaktivní protein (CRP)	až 500x	< 8 hodin	19 hodin

Snížení koncentrace tzv. negativních reaktantů akutní fáze – proteiny tvořící se v hepatocytech, při zánětu je urychlený jejich katabolismus a přednostně se syntetizují pozitivní reaktanty akutní fáze (viz bod 4). Výrazně klesají při porušení jaterní proteosyntézy (jaterní cirhóza, proteinová malnutrice). U akutních stavů stanovujeme markery s nejkratším biologickým poločasem. Přehled je uveden v tabulce 5.

Tabulka 5: Charakteristika diagnostických specifických proteinů

Diagnostické specifické proteiny	Biologický poločas	Charakteristika	Interpretace hodnot
Albumin	19 dní	Nespecifický marker chronického proteinového deficitu. Stav provázené sníženou koncentrací albuminu: jaterní cirhóza, nefrotický syndrom, popáleniny, exsudativní enteropatie.	> 35 g/l normální nutriční stav < 25 g/l zvýšená morbidita a mortalita
Transferin	8-10 dnů	Kratší poločas působí rychlejší odezvu na proteinovou depleci než albumin.	> 2,0 g/l normální nutriční stav; < 1,0 g/l závažná deplece tělových bílkovin
Prealbumin	2 dny	Velmi krátký poločas a malý tělový pool působí jeho dynamickou odpověď na změny nutričního příjmu. Je vhodným ukazatelem dostatečnosti nutriční podpory (denní vzestup koncentrace o 0,01 g/l).	< 0,1 g/l svědčí pro nedostatečný přívod bílkovin

2.6. Poškození myokardu

2.6.1. Ukazatele poškození kardiomyocytů

2.6.1.1. Kardiální troponin I či T (cTnI, CTnT)

- Počátek vzestupu 3 – 6 hod. po vzniku bolesti, vrchol za 2 – 3 dny, zvýšení přetrvává týden (cTnI) až 10 dní (cTnT). Existuje možnost stanovení cTn v režimu POCT.

- Specifický marker poškození myokardu (kardiomyocytů), avšak nejen ischemického původu (např. při myokarditidě, kontuzi myokardu). U nemocných s bolestí na hrudi je každé zvýšení přesahující horní referenční mez třeba považovat za známku ischemie myokardu. I mírné zvýšení u asymptomatického nemocného je prognosticky nepříznivé.
- Pro dlouhý biologický poločas se nehodí pro detekci reinfarktu; lépe je stanovit myoglobin či izoenzym CK-MB (hmotnostní koncentrace).
- Stanovení aktivity AST, LD či celkové CK je nespecifické; tyto metody jsou považovány pro průkaz infarktu myokardu za obsolentní.
- Stanovuje-li se někde izoenzym CK-MB, akceptovatelná je jen hmotnostní koncentrace (CK-MB mass), i když tento izoenzym může pocházet z kosterních svalů.

2.6.1.2. Myoglobin

- Počátek vzestupu 2 – 4 h po vzniku bolesti, vrchol 8 h, za 12 – 24 h normalizace. Časný marker, ale nespecifický:
 - o stoupá u poškození kosterních svalů (fyzická námaha, dušnost, křeče, i.m. injekce aj.),
 - o stoupá u nemocných s renální insuficiencí (nemůže se filtrovat do moče).
- Má negativní predikční hodnotu (není-li zvýšen 4 h po vzniku bolesti, můžeme vyloučit infarkt myokardu).

2.6.2. Ukazatele poruchy funkce myokardu

2.6.2.1. Natriuretický peptid typu B (BNP) či N-terminální štěp jeho prekurzoru (NT-proBNP)

BNP i NT-proBNP se vylučují ze svaloviny srdečních komor při objemovém přetížení a selhávání srdce. NT-proBNP roste s věkem nemocných, oba peptidy stoupají při selhání ledvin. Při normální koncentraci BNP či NT-proBNP lze vyloučit kardiální původ dušnosti.

Poznámky k odběru krve a hodnocení:

Kardiální troponiny, BNP a NT-proBNP stanovujeme z EDTA plazmy, myoglobin ze séra (nesrážlivá krev).

2.7. Vnitřní prostředí a výživa

Parametry vnitřního prostředí charakterizuje:

pH, pCO₂, nadbytek/nedostatek bazí, pO₂

Na, K, Cl, Ca (Ca²⁺), Mg (Mg²⁺), P (sérum/moč)

Osmolalita (sérum/moč)

Glykémie

Parametry vnitřního prostředí se mohou rychle měnit, proto je indikováno i jejich opakované vyšetření během 24 hod. Umožňují rozlišení metabolických, respiračních a kombinovaných poruch v jejich akutních i chronických variantách. Podmínkou korektního výsledku měření acidobazických parametrů a krevních plynů je anaerobní odběr a zpracování do 30 minut po odběru krve. Pro stanovení pO₂ je vhodná pouze arteriální krev nebo arterializovaná kapilární krev z ušního lalůčku. Stanovení iontů je možné pouze v nehemolytickém vzorku séra nebo plazmy. Je nutné vyloučit možnost kontaminace odebraného vzorku krve současně podávanou léčbou (infuze) i kontaminaci při odběru krve následujícím po odběru krve na krevní obraz (EDTA-kalium). Pro stanovení odpadu iontů a bilanční výpočty je rozhodující dokonalý sběr moče s přesně změřeným objemem a časovým intervalem doby sběru moče.

Laboratorní parametry stavu výživy

Laboratorně lze odlišit dva typy malnutrice s rozdílnou etiologií i léčebnou intervencí.

Stresová malnutrice (proteinová nebo Kwashiorkor-like malnutrice).

Snížená koncentrace : albumin, prealbumin, transferin

Zvýšená koncentrace: CRP

Proteino-kalorická malnutrice (kachexie, marantická malnutrice).

Snížená koncentrace: prealbumin, transferin (albumin až později), cholesterol

CRP nezvýšen.

Klinický obraz dokreslují snížený body mass index a kožní řasa, jako projev snížených tukových zásob.

2.8. Lipidový metabolismus

- Pro základní klasifikaci dyslipidemií a určení rizika je dostačující stanovit: celkový cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triacylglyceroly. Rozmezí normálních hodnot a cílové hodnoty při léčbě jsou uvedeny v příslušném doporučeném postupu.
- Odběr krve je nutné provést po standardní době lačnění (12-14 hod). Konzumace alkoholu, zvláště destilátů může způsobit i několikadenní vzestup koncentrace triacylglycerolů. Stresové situace spojené se závažnými akutními chorobami snižují koncentraci cholesterolu. Nezkreslené výsledky získáme v odstupu 2-3 měsíců po závažném akutním onemocnění.
- K vyloučení sekundární dyslipidemie je třeba vyšetřit TSH, glykémii, jaterní a renální funkce.

2.9. EBV infekce

Infekce EBV (virus Epstein-Barr) souvisí s onemocněními: **infekční mononukleóza**, Burkittův lymfom, nasofaryngeální karcinom. Průkaz infekce je detekcí protilátek uvedených v tabulce 6.

Tabulka 6: Stanovení protilátek proti EBV infekci

VCA IgG	VCA IgM	EA IgG	EBNA IgG	Interpretace
+	+	+/-	-	primární infekce
+	-	-	+	latence
+	+/-	+/-	+	reaktivace

Vysvětlivky : VCA (capsid antigen), EA (early antigen), EBNA (nuclear antigen)...antigeny EBV

2.10. Sexuálně přenosné choroby

Tabulka 7: Laboratorní vyšetření sexuálně přenosných chorob

Onemocnění	Vyšetřovaný materiál	Detekce - metoda	Poznámka
Kapavka - Nesseria gonorrhoeae	výtěr (speciální medium), moč (první proud), sperma výpotek	kultivace (speciální medium), mikroskopie, PCR DNA (amplifikace + detekce nukleové kyseliny, HC DNA (detekce nukleové kyseliny hybridizací)	pozitivní průkaz DNA svědčí pro přítomnost infekčního agens
Syfilis (Treponema pallidum)	srážlivá krev (5 ml) likvor (2 ml)	a) nespecifické (netreponemové) průkaz protilátek proti kardiolipinu VDRL Veneral Diseases Laboratory test, RRR (rychlá reaginová reakce) b) specifické (treponemové) TPHA (Treponema pallidum hemaglutinační test) EIA (Ezyme Immunoassay)	doporučený screening, např. předoperační: 1 specifický test + 1 nespecifický test
Chlamydia trachomatis	výtěr (speciální medium), moč (první proud) , sperma, výpotek - přímý průkaz	PCR DNA (amplifikace+ detekce nukl. kyseliny) HC DNA (detekce nukl. kysel. hybridizací) EIA Ag (průkaz antigenu imunoenzymatickou metodou)	hodnocení pozitivní (přítomnost agens) / negativní nepřítomnost agens
	srážlivá krev - nepřímý průkaz	ELISA protilátky a) rodově specifické b) druhově specifické	IgG probíhající nebo proběhlá infekce (i před lety) IgA (IgM) akutní nebo nedávná infekce (i před lety), IgA i při reaktivaci CAVE negativní nález nevyklučuje probíhající infekci!

2.11. Lymeská borelióza

Běžně dostupný je průkaz specifických protilátek třídy IgM a IgG. screeningová metoda ELISA, následovaná metodou Western blot pro potvrzení pozitivních a hraničních nálezů.

Protilátková odpověď začíná již v prvních dnech po infekci tvorbou IgM, které mohou přetrvávat týdny až měsíce. Jsou prokazatelné běžnými laboratorními metodami ve 3.-5. týdnu po přisátí infikovaného klíštěte. IgG se objevují o 2-4 týdny později, než IgM protilátky. Sekrece IgG (vzácně i IgM) může přetrvávat dlouhodobě (roky) bez dalšího klinického vývoje onemocnění.

Časté jsou atypické sérologické nálezy (někdy detekovány pouze IgG, někdy chybí vystřídaní tvorby IgM protilátek třídou IgG). V některých případech jsou protilátky neprokazatelné (vyvázány v imunokomplexech, tvorba potlačena časnou ATB terapií). Jindy přetrvávají i několik měsíců po léčbě.

První náběr se provádí při podezření na infekci, další za 4-6- týdnů (možnost porovnání výsledků). Metoda PCR umožňuje průkaz boreliové DNA. Je citlivá a specifická. Pokud se podaří boreliovou DNA zachytit, pak toto vyšetření „řeší“ falešnou negativitu sérologického vyšetření způsobenou vyvázáním protilátek v imunokomplexech.

Materiálem je plná krev (EDTA) v akutní horečnaté fázi onemocnění, moč (střední proud) v chronické fázi, mozkomíšni mok (neuroforma), synoviální tekutina (kloubní postižení) nebo tkáň z kožní biopsie. Vzorky nemrazit, uchovávat při 4°C a co nejrychleji zajistit transport materiálu do laboratoře!

Metody kultivace a elektronové mikroskopie jsou dostupné pouze na specializovaných pracovištích (např. Národní referenční laboratoř pro lymeskou boreliózu, Státní zdravotní ústav v Praze).

2.12. Poruchy kostního metabolismu

V algoritmu diagnostiky postmenopauzální osteoporózy je základním vyšetřením měření denzity kostního minerálu (BMD). Při podezření na kostní onemocnění vycházíme z anamnézy a z výsledků klinického, osteodensitometrického, rtg, laboratorního a scintigrafického vyšetření, případně také histologického a histomorfometrického vyšetření vzorku kosti, získaného biopsií z lopaty kyčelní kosti.

Biochemická vyšetření upřesní stav homeostázy vápníku a fosforu a úroveň kostní remodelace a přispívají k diferenciální diagnostice osteopatií (Tab. 8). Biochemických markerů kostní remodelace nelze užít k diagnostice osteoporózy, ale jsou vhodné k monitorování efektu léčby. Koncentrace markerů vyšší než horní mez referenčních hodnot svědčí pro nadměrnou remodelaci skeletu a zvýšené riziko zlomenin. Přetrvávání zvýšených hodnot při léčbě je důvodem pro přehodnocení léčby. Úprava zvýšených koncentrací markerů při antiresorpční léčbě do referenčního rozmezí svědčí pro efekt terapie. Průkazné zvýšení S-PINP při osteoanaboličké léčbě potvrzuje její dlouhodobou účinnost. Koncentrace markerů pod dolní hranici referenčních hodnot svědčí pro nadměrně utlumenou aktivitu kostních buněk – typicky nízké jsou koncentrace S-OC nebo S-PINP při hyperkortizolismu. Nemocní s koncentracemi sérového kalcia a fosfátů mimo normální hodnoty, s celkovou aktivitou sérové ALP vyšší než 1,2-násobek horní hranice normy, koncentrací osteokalcinu pod dolní hranici normy, s hodnotami TSH mimo normální hodnoty a nemocní s nálezem paraproteinu nemají být bez dalšího vyšetření a případně konzultace se specialistou léčení pro osteoporózu.

Tabulka 8: Metody vyšetření při poruše kostního metabolismu

Základní vyšetření krve:	
Krevní obraz a diferenciální rozpočet leukocytů, sedimentace erytrocytů. fS: ionty, kreatinin, močovina, kyselina močová, glykémie, albumín, AST, ALT, GGT, ALP, TSH, u mužů testosteron, SHBG, LH a PSA, u žen po menopauze FSH, fS- elektroforéza bílkovin. Z kostních markerů: fS-OC a fS-CTX-I (nebo jiný marker osteoresorpce, jako fS-NTX-I fU-CTX-I, fU-NTX-I, fU-DPD, nebo fP- ACP 5b). Koncentrace markerů se porovnávají s referenčními hodnotami dané laboratoře u reprezentativního souboru žen před menopauzou.	
Základní vyšetření moče:	
Chemické vyšetření, sediment, dU-Ca	
Doplňující vyšetření:	
Hyperkalcemický a hypokalcemický syndrom, Pagetova kostní choroba	S-Ca ²⁺ , fS-PINP, fS-PTH, fS-25-hydroxyvitamín D. V indikovaných situacích fS-1,25-dihydroxyvitamín D, kostní izoenzym ALP, 2-hodinový test: fU-Ca, fU-PO ₄ , fU-kreatinin, renální tubulární práh pro fosfáty.
Mnohočetný myelom, nádory	Difer. diagnostika paraproteinemie, nádorové markery, fS-CTX-MMP
Hyperkortizolismus	dU-volný kortison
Hypertyreóza	fS-volný T3, volný T4
Hypogonadismus	fS-estradiol (supersensitivní), SHBG, u mužů fS- volný testosteron

f – nalačno (fasting), S - sérum, U - moč, d - za 24 hod, ALP - celková alkalická fosfatasa, OC – osteokalcin, PINP - aminoterminální propeptid prokolagenu typu I, CTX - karboxyl-terminální telopeptid kolagenu typu I (beta forma), NTX - amino-terminální telopeptid kolagenu typu I, DPD – deoxypyridinolin, ACP 5b - kyselá fosfatasa typ 5b (osteoklastická)

2.13. Základní imunologická vyšetření

Základní imunologické vyšetření je velmi důležité pro diferenciálně diagnostickou rozvahu při podezření na systémové autoimunitní onemocnění (Tabulka 9).

Tabulka 9: Základní imunologické vyšetřovací metody

Indikace	Metoda	Onemocnění
Nespecifické příznaky, susp. autoimunitní onemocnění vyšší FW	ANAb	Autoimunitní onemocnění, chronická onemocnění, někdy u zdravých
Susp. LE	Protilátky proti ds DNA	Lupus erythematodes
Systémové kloubní obtíže	anti CCP protilátky	Revmatoidní artritida
	Revmatoidní faktor (RF)	CAVE: seronegativní RA
Klinické projevy imunodeficience	hladina imunoglobulinů – IgG, IgM a IgA	Imunodeficience
	Vyšetření buněčné imunity – počet lymfocytů celkových a jejich základních subpopulací – T a B lymfocyty.	
Projevy alergie	IgE	Alergie
	Specifické IgE, kožní tesy (vyš. u specialisty)	Spec.alergeny

ANAb – antinukleární protilátky, anti CCP – protilátky proti cyklickému citrulin peptidu, RA – revmatoidní artritida

Interpretace imunologických výsledků je složitá, protože je třeba nahlížet komplexně na celé vyšetření a nelze je správně interpretovat bez znalosti klinických příznaků a eventuální terapie. Na druhé straně cílené imunologické vyšetření je velmi důležité pro odhalení nebo vyloučení řady onemocnění a pokud je racionálně využíváno v diferenciálně diagnostických rozvahách, může výrazně urychlit vyšetřování.

2.14. Nádorové markery

Nádorové markery, anglicky Tumor Markers (TM), jsou velmi různorodé látky, jejichž stanovení ve tkáni nádoru nebo v krevním séru či jiných biologických tekutinách pacienta s neoplastickým onemocněním nám poskytne informaci o vlastnostech a chování případného nádoru.

Nádorové markery obecně nejsou diagnostickou pomůckou, i když mohou poskytnout informaci, která může k diagnostickému postupu přispět. O výběru nádorových markerů před terapií a v průběhu léčby se zpravidla rozhodujeme na základě klinického a histologického nálezu. Nádorové markery se hodnotí spíše individuálně na základě dynamiky změn. Je si třeba uvědomit, že negativní nález neznamena nepřítomnost nádoru. Nádorové markery využíváme zejména při

stanovení prognózy a při monitorování pacientů v průběhu léčby. Pozitivní či negativní nález nádorových markerů může být v některých případech i součástí klasifikace nádoru.

Při sledování pacienta volíme zpočátku zpravidla intervaly kratší (1–2 měsíce), po dvou letech bez příznaků a při negativním nálezu tumor markerů může být interval 3–6 měsíců. Při pozitivním nálezu tumor markerů by mělo ihned následovat opětovné zkrácení intervalu na 2–4 týdny, aby bylo možno sledovat dynamiku změn jejich koncentrace. Vzestup koncentrace hodnotíme jako patognomonický, tj. oznamující přítomnost a růst nádorové tkáně. Naopak pokles nádorového markeru hodnotíme jako příznivý ukazatel redukce či vymizení nádoru. Výjimkou je přechodný vzestup nádorového markeru po intenzivním ozáření nebo chemoterapii, kdy dochází při rozpadu nádorových buněk k náhlému uvolnění většího množství nádorových markerů.

Na základě kritérií vydaných Evropskou pracovní skupinou pro nádorové markery (Kongres ISOBM Montreux 1997) je vhodné vyšetřovat pro každou lokalizaci nádorů jeden, maximálně dva doporučené markery dle následujícího schématu (tab. 10).

Tabulka 10: Laboratorní markery nádorových onemocnění

Lokalizace nádoru	Doporučené markery	Doplňkové markery
Nádory jícnu	SCC	CEA
Tračník a rektum	CEA	CA 19.9
Pankreas	CA 19-9	
Žaludek	CA 72-4	
Žlučové cesty	CA 19-9	
Játra	AFP	
Plíce (SCLC)	NSE	
Plíce (NSCLC)	CYFRA 21-1, TPA	CEA
Testes	AFP, HCG	NSE
Nádory germinálních buněk	AFP, HCG	
Epiteliální nádory ovaria	CA 125, CA 19.9	
Endometrium	CA 125	CEA
Hrdlo děložní	SCC	
Mamma	CA 15-3, CEA	TPS
Prostata	PSA, FPSA	
Nádory hlavy a krku	SCC	
Maligní lymfomy	β-2 M	
Karcinoid	Chromogranin A	

α1-fetoprotein (AFP), lidský choriový gonadotropin (hCG), karcinoembryonální antigen (CEA), prostatický specifický antigen (PSA) a jeho volná frakce (FPSA), neuron specifická enoláza (NSE), antigen karcinomů ze skvamózních buněk (SCC), β2-mikroglobulin (β-2-M), tkáňový polypeptidový antigen (TPA), TPA-specifický (TPS), rozpustný fragment cytokeratinu 21-1 (CYFRA 21-1), „carbohydrate antigen“ glykoproteinové antigeny (CA)

Pozn.

Vzorek krve ke stanovení NSE musí být transportován do laboratoře při 4°C nejpozději do 1 hodiny po odběru, je třeba zabránit hemolýze, která zvyšuje hladiny NSE.

Frekvence vyšetření:

- Minimální odstup mezi dvěma stanoveními nádorových markerů u jednoho pacienta je 14 dní.

- Jako screeningové (vyhledávací) vyšetření se provádí pouze stanovení PSA (event. PSA/FPSA) při podezření na karcinom prostaty u mužů mladších než 70 let (viz doporučený postup: Onemocnění prostaty – SVL 2005).

2.15. Vyšetření lékových hladin

Sledování a vyhodnocení hladiny léčiva – terapeutické monitorování (TDM – Therapeutic Drug Monitoring) je konziliární činnost, která umožní optimalizovat a individualizovat další dávky léku. Pro sledování hladin se hodí léčivo, které má lineární a reverzibilní vztah mezi koncentrací a účinkem, významnou toxicitu a úzké terapeutické rozmezí a zároveň existuje dostupná metoda pro jeho rychlé a přesné stanovení. Existují velké interindividuální rozdíly hladin po téže dávce, každý nemocný má vlastní terapeutické rozmezí, které se nemusí shodovat s běžně prezentovanými mezemi. Při závažných onemocněních umožňuje sledování lékových hladin zohlednit změněnou kinetiku léčiva a omezenou biotransformaci u nemocných nebo starých osob nebo naopak u nezralých novorozenců. V průběhu terapie může docházet ke změnám eliminační funkce organismu, a to i vlivem současně probíhajících dalších onemocnění.

Monitorovat hladiny léků je vhodné u látek, které mají úzké terapeutické rozmezí, tedy rozmezí koncentrací, kdy už je látka účinná, ale ještě nemá významné toxické účinky na organismus. Jedná se především o antiepileptika, antiarytmika, cytostatika nebo antidepressiva.

Hladinu antibiotik je důležité sledovat u pacientů, u kterých nemůžeme odhadnout, jak rychle je lék metabolizován, zda dosáhl terapeutické hladiny nebo naopak ji nepřesáhl (např. nebezpečí nefrotoxicity a ototoxicity gentamicinu). Pokud lék nevyvolá očekávaný účinek, pomůže stanovení jeho hladiny odlišit záměrně neužívání léku od snížené vnímavosti pacienta.

U léků s krátkým poločasem eliminace, u kterých se hladina rychle mění, se stanovuje koncentrace před podáním a po podání, kdy je dosaženo maximální koncentrace. U léků vytvářejících stabilní hladiny, tj. léků s dlouhodobým poločasem eliminace, je nejvhodnější odebrat krev před další dávkou (např. digoxin). Rovnovážný stav se u léků s delším poločasem eliminace ustanoví přibližně po době odpovídající pětinasobku poločasu. Tento stav ale neznamená stabilní hladinu, vždy se jedná o oscilaci v rámci určitého rozmezí hodnot. Při nesprávném nastavení dávek může docházet k poklesu do neúčinné nebo naopak nárůstu do toxické koncentrace léku.

Lékové interakce mohou ovlivnit vstřebávání, distribuci, eliminaci či aktivaci léku, nebo stimulaci či inhibici metabolického řetězce. Vzhledem k tomu, že riziko lékových interakcí je vysoké, je vhodné mít po ruce Kompendium lékových interakcí.

Je nezbytné spolu se vzorkem biologického materiálu poslat do laboratoře i základní informace o nemocném a jeho renálních funkcích, současně podávaných lécích a hlavně uvést velikost dávky léku s časem jeho podání, čas odběru vzorku a místo, kam podat zprávu. Výsledkem konziliárního vyšetření je vždy doporučení optimální velikosti dávky a dávkového intervalu léku u konkrétního nemocného, nikdy nestačí jen jedno samotné číslo. Výsledek má lékař obdržet nejpozději do doby nejbližší další dávky léku.

Nejčastěji monitorovaná léčiva:

Antiepileptika – karbamazepin, fenobarbital, fenytoin, primidon, kyselina valproová,

Antiarytmika – amiodaron

Antiastmatika – teofylin

Antibiotika – amikacin, gentamicin, vankomycin, ...

Kardiotonika - digoxin

Imunosupresiva – cyklosporin

Antiretrovirotika

Psychofarmaka – lithium, antidepressiva, neuroleptika

Cytostatika - methotrexát

2.16. POCT metody

Point of care testing- vyšetření v místě kontaktu s pacientem, někdy též „suchá“ chemie (Tab. 11).

- Cílem těchto metod je usnadnit a zkvalitnit diagnostickou rozvahu v rámci diferenciální diagnostiky, screeningu, monitorování průběhu nemoci a účinnosti léčby.
- Jedná se o analytické metody, které jsou určeny k provádění osobami bez laboratorní erudice s kategorickým požadavkem dodržení všech pokynů k provedení testu (skladování, expirace, údržba, kalibrace, interní a externí kontrola kvality).
- Každý test musí být hodnocen se znalostí jeho citlivosti a specifity i možných falešně pozitivních a falešně negativních výsledků.
- U testů používajících k vyhodnocení technické zařízení je nutné důkladné zaškolení v obsluze, údržbě, posouzení správné funkce a reakce na chybová hlášení.
- Nezbytné je provádění kalibračních a kontrolních činností přesně podle pokynů výrobce (zavedený a fungující systém vnitřní kontroly kvality) a účast v externím ověřování kvality, pokud je dostupné. Vhodné je i pravidelné porovnávací měření mezi POCT přístrojem a laboratorním pracovištěm.
- Pro každé používané zařízení je nutné vedení provozního deníku se seznamem zaškolených pracovníků, datem uvedení do provozu, záznamy o výsledcích kontrolních testů, provedené údržbě, případně popisem vzniklých závad.

Tabulka 11: Přehled POCT metod

Metoda	Poznámky	Cena
Stanovení glykémie glukometrem	princip barevné reakce měřené reflexní fotometrií nebo registrace změn elektrických veličin způsobenými produkty enzymové reakce.	Proplácen, kód: 01441 Hrazen plně (28b) Podmínky: přístroj Omezení: 0 Povolená frekvence: 1/den
Chemické vyšetření moče	Kvalitativní nebo semikvantitativní vyšetření, mono nebo multifunkční vizuální vyhodnocení nebo použití reflexní fotometrie	V rámci kapitace
Mikroalbuminurie	Kvantitativní vyšetření, přístrojové vyhodnocení Sledování u diabetiků a hypertoniků	Nehrazen
CRP (C-reaktivní protein)	Marker časně fáze bakteriálního zánětu, klinicky použitelný při koncentraci nad 10mg/l, nevhodný pro ultrasenzitivní měření (riziko srd. ischemie)	kód: 02230 Hrazen plně (100b) Podmínky: absolvování certifikovaného kursu, přístroj, zapojení do systému externí kontroly kvality Omezení: Pouze při rozhodování o nasazení antibiotické terapie v situaci diferenciální diagnostiky bakteriálního a virového infektu. Případná kontrola vyšetření do 48 hodin po zahájení antibiotické terapie. Povolená frekvence: 6/I čtvrtletí
Troponin	Vyšetření z plné krve, pozitivní výsledek svědčí pro přítomnost akutního srdečního infarktu.	Nehrazen
INR (koagulační čas)	monitorování optimálního nastavení antikoagulační léčby, přístrojové vyhodnocení	kód: 01443 Hrazen plně (172 b) Podmínky: proškolení v trombotickém centru, přístroj, zapojení do systému externího hodnocení kvality – kontroly 1xročně Omezení: pouze u sekundární prevence hluboké žilní trombózy a plicní embolie a prevence nitrosrdeční trombózy a jejích embolizačních komplikací ve velkém oběhu. Není určeno k self-monitoringu pacientů. Výkon nelze

		vykázat, pokud je současně odebírána venosní krev za účelem i jiného laboratorního vyšetření. Povolená frekvence: 8/3měsíce, 32/rok
TOKS: standardizovaný guajakový test	Screeningový test, nikoliv diagnostický, nespecifický (nejen lidský hemoglobin) nutná dietní opatření, vizuální vyhodnocení optimálně 48 hodin po odebrání posledního vzorku, odečtení 30-60 vteřin po nakapání testačního činidla	kód: 15120 pozit. nález 15121 negat. nález Hrazen plně (178b.) Podmínky: 0 Omezení: pouze preventivní vyš. u osob nad 50 let věku Povolená frekvence: 1x za 2roky
TOKS: imunochemický test	Řádově vyšší citlivost a specificita pro lidský hemoglobin, nezávislý na dietě a léčbě. Vyhodnocení přístrojové (např. Quik Read)	Nehrazen
Těhotenský test hCG	Kvalitativní imunochemický chromatografický test na přítomnost lidského choriogonadotropinu v séru nebo v moči pro časnou detekci gravidity. Test může být falešně negativní ve zředěné moči.	Nehrazen
Drogový screening v moči: Opiáty (morfin, heroin); marihuana (cannabis); kokain; amfetaminy; benzodiazepiny; barbituráty; metamfetamin(Pervitin); tricyklická antidepresiva; fencyklidin; methadon, extáze; bupremorfin (Subutex).	Kvalitativní imunochemické chromatografické testy - monofunkční proužky/kazety nebo polyfunkční soubory až 10 testů.	Nehrazen

Na český trh přicházejí další POCT metody: imunografické rychlotesty pro průkaz antigenů různých infekčních agens (Influenza A+B, adenoviry, streptokoky, Helicobacter pylori).

3. LITERATURA

1. Límanová, Z., Štítná žláza, Galén 2006
2. Racek, J., et al Klinická biochemie, Praha, Galén, Karolinum, 2006
3. Šedivý, J.: Terapeutické monitorování hladin léčiv. www.postgradmed.cz
4. Zima, T., et al. Laboratorní diagnostika, Praha, Galén, Karolinum , 2007

CDP-PL

Centrum doporučených postupů pro praktické lékaře , Společnost všeobecného lékařství, U Hranic 16, Praha 10