

Doporučené diagnostické a terapeutické postupy
pro všeobecné praktické lékaře



LABORATORNÍ METODY

Autoři:

Za Českou společnost klinické biochemie ČLS JEP:

prof. MUDr. Tomáš Zima, Dr.Sc. MBA

doc. Ing. Drahomíra Springer, Ph.D

prof. MUDr. Libor Vítek, Ph.D., MBA

MUDr. Petr Kocna, CSc.

MUDr. Miluše Kreidlová

prof. MUDr. Jan Štěpán, Dr.Sc.

prof. MUDr. Marta Kalousová, Ph.D.

Ing. Lucie Vojtová, Ph.D.

MUDr. Helena Posová, CSc.

MUDr. Martin Špaček, Ph.D.

doc. MUDr. Helena Lahoda Brodská, Ph.D.

Mgr. Miroslava Slováčková

NOVELIZACE 2023



Centrum doporučených postupů pro praktické lékaře

Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP, Sokolská 31, Praha 2

Tisk podpořen firmou

AIDIAN

LABORATORNÍ METODY

Doporučený diagnostický a terapeutický postup pro všeobecné praktické lékaře 2023

Autoři:

Za Českou společnost klinické biochemie ČLS JEP:

prof. MUDr. Tomáš Zima, Dr.Sc. MBA

prof. MUDr. Libor Víték, Ph.D., MBA

MUDr. Miluše Kreidlová

prof. MUDr. Marta Kalousová, Ph.D.

MUDr. Helena Posová, CSc.

doc. MUDr. Helena Lahoda Brodská, Ph.D.

doc. Ing. Drahomíra Springer, Ph.D

MUDr. Petr Kocna, CSc.

prof. MUDr. Jan Štěpán, Dr.Sc.

Ing. Lucie Vojtová, Ph.D.

MUDr. Martin Špaček, Ph.D.

Mgr. Miroslava Slováčková

Za společnost všeobecného lékařství ČLS JEP:

Garant:

doc. MUDr. Bohumil Seifert, Ph.D.

Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP

Oponenti:

MUDr. Dana Moravčíková

Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP

prof. MUDr. Richard Průša, CSc.

Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP

OBSAH

1. OBECNÁ ČÁST	3
1.1. Biochemická vyšetření, indikace a jejich význam	3
1.2. Referenční hodnoty	3
1.3. Laboratorní vyšetření	4
1.4. Preanalytická fáze laboratorního vyšetření	4
1.4.1. Biologické vlivy	4
1.4.2. Odběr biologického materiálu	6
1.4.3. Separace a transport materiálu	7
1.4.4. Skladování materiálu	8
1.5. Analytická fáze	8
1.6. Postanalytická fáze	8
1.7. Systémy kvality v laboratoři	8
2. SPECIÁLNÍ ČÁST	9
2.1. Poruchy jater a slinivky břišní	9
2.2. Celiakie	10
2.3. Poruchy funkce ledvin	10
2.4. Vnitřní prostředí	11
2.5. Výživa	12
2.6. Vitaminy	12
2.7. Poškození myokardu	14
2.7.1. Ukazatele poškození kardiomyocytů	14
2.7.2. Ukazatele poruchy funkce myokardu	14
2.8. Lipidový metabolismus	14
2.9. Glykémie a glykovaný hemoglobin	15
2.10. Tyreopatie	17
2.11. Poruchy kostního metabolismu	17
2.12. Nádorové markery	18
2.13. Laboratorní ukazatele zánětu	21
2.14. Infekce <i>Helicobacter pylori</i>	21
2.15. HSV infekce	22
2.16. CMV infekce	22
2.17. EBV infekce	23
2.18. Lymeská borelióza	23
2.19. Sexuálně přenosné choroby	24
2.20. Vyšetření krevního obrazu	24
2.21. Základní imunologická a alergologická vyšetření	26
2.22. Vyšetření lékových hladin a etanolu	27
3. Literatura	28

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. Zahrnuje obecné zásady laboratorních vyšetření a jejich tří fází: preanalytické, analytické a postanalytické. Ve své speciální části popisuje přehled současných biochemických, hematologických a imunologických metod, pravidla jejich indikace a správné interpretace. 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, INDIKACE A JEJICH VÝZNAM

Laboratorní vyšetření nás informují o probíhajících procesech v lidském organismu a jejich změnách – jak fyziologických, tak patologických. Změny laboratorních hodnot se mohou v některých případech objevit ještě dříve, než se nemoc u pacienta projeví; určité parametry reflektují patologické změny v rozmezí několika minut (např. myoglobin u akutního infarktu myokardu). 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, monitoraci choroby, popř. změnu terapie)?

Při stanovování diagnózy je třeba snažit se volit metody, s jejichž pomocí lze diagnózu stanovit přesně a v poměrně krátkém čase.

Metody rozdělujeme dle dostupnosti na základní, speciální a vysoce specializované. Z hlediska rychlosti provedení vyšetření na rutinní, statimové a vitální indikace. Některé metody lze s výhodou provádět přímo na místě (např. v ordinaci praktického lékaře) – tzv. POCT (point of care testing) nebo NPT (near-patient testing), které zrychlují diagnostiku nejen v ambulanci, ale i v domácí péči.

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

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

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

Nejistota měření je parametr přidružený k výsledku, charakterizující rozptýlení hodnot, jež jsou na základě dostupných informací přiřazovány měřené veličině. Výsledek měření analytu určitou metodou je v laboratorní medicíně, stejně jako výsledek každého měřicího procesu, jen odhadem skutečné koncentrace (obsahu, množství). Tento výsledek měření tedy nemůže představovat **vlastní exaktní hodnotu** bez znalosti přidruženého údaje, kterým je nejistota měření.

1.2. REFERENČNÍ HODNOTY

Současné zdravotnictví chápe normálnost jako zdravý a diagnostický problém rozlišení stavu zdraví 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“. Referenční rozmezí v klinické biochemii jsou nejčastěji stanovena jako interval, ve kterém leží 95 % výsledků referenční populace (2,5 – 97,5 % per-centil). 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. V některých případech mohou být takto stanovené hodnoty zavádějící (např. v případě krevních lipidů). Používají se optimální hodnoty (optimální pro prevenci a léčbu), vydané na základě konsenzu odborných společností a publikované většinou ve formě doporučení.

Referenční rozmezí závisí na věku, pohlaví, etniku, případně trimestru gravidity, transgender identitě, a také na použité analytické metodě.

1.3. LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ

Laboratorní vyšetření rozdělujeme na 3 fáze:

- preanalytickou
- analytickou
- postanalytickou

1.4. PREANALYTICKÁ FÁZE LABORATORNÍHO VYŠETŘENÍ

Preanalytická fáze se významně podílí na správnosti laboratorního vyšetření – až 60–70 % chyb při laboratorním vyšetření vzniká právě v této fázi. Zahrnuje veškeré procesy před vlastním analytickým stanovením, tj. přípravu pacienta před odběrem, vlastní odběr biologického materiálu, jeho uchování a transport z místa odběru do laboratoře, přípravu vzorku před analýzou.

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

1.4.1. BIOLOGICKÉ VLVIVY

Biologické faktory rozdělujeme na:

- **neovlivnitelné** (etnikum, pohlaví, věk, biologické rytmy)
- **ovlivnitelné** (hmotnost organismu, životní styl, stravovací návyky, kouření, alkohol, léky a drogy, fyzická zátěž a tělesná aktivita, zevní prostředí, mechanické trauma a stres)

Etnikum – je někdy obtížné odlišit vliv etnika a socioekonomických a geografických rozdílů na změny analytů. Různá etnika 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, tvorba IgG se hodnotám u dospělých přiblíží kolem 4. roku věku. 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 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, hormonů (hladin tyroxinu ↑, ceruloplazminu ↑), hemodilucí (celková bílkovina, albumin), zvýšením tělesného objemu (zvýšení clearance kreatininu), relativním deficitem (snížení železa, ferritinu), zvýšením proteinů akutní fáze (nadhraniční hladiny CRP). Během gravidity je změněna reaktivita imunitního systému, což má za následek zvýšenou tvorbu protilátek a větší počet nespecifických reaktivit sérologických testů – častější jsou detekce hraničních/slabých IgM pozitivit, které většinou neznamenaají aktivitu infekce – takové nálezy je potřeba prověřit.

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 výchylkou 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).

Životní styl – tento faktor je nejvíce proměnný a může vést k mylné interpretaci nálezu při špatně provedené anamnéze. Nejznámějším faktorem je strava a její složení, dále pohybová aktivita, abúzus alkoholu, léků a kouření.

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 projevuje nejvíce na koncentraci glukózy, železa, lipidů, ALP. Jídlo bohaté na proteiny zvýší fosfáty, močovinu, kyselinu močovou, ale významně se zde uplatňuje intra-individuální 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. Příbalová informace a 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 trauma, stres – 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. Po digitálním vyšetření prostaty se zvyšují hodnoty PSA. Stres zvyšuje adrenalin, kortikotropin, katecholaminy, glukagon, somatotropin, renin, aldosteron, kortizol, prolaktin a další.

1.4.2. ODBĚR BIOLOGICKÉHO 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 (cirkadiánní 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. Nedodržení 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 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 vestoje je např. koncentrace vysokomolekulárních látek (bílkovin) o cca 10 % vyšší. Některé hormony (např. aldosteron, renin, adrenalin) mají až o 50 % vyšší koncentraci vestoje. Změna polohy vleže do stoje znamená asi 10% redukcí krevního volumu se vzestupem koncentrace proteinů. Alterace krevního volumu je úplná asi za 30 minut z polohy vestoje do lehu a asi za 10 minut z lehu do stoje. Změny jsou výraznější u hypertoniků a pacientů s nižší koncentrací proteinů a u starších osob. Hospitalizace a imobilizace vede k retenci tekutin a k poklesu albuminu a bílkoviny.

Po dezinfekci místa vpichu se přikládá **turniket**, jehož přiložení nemá být delší než 1 minuta a pacient nemá paži „pumpovat“. Při delším zaškrcení končetiny (cca 5 minut) 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 poté zkumavky s přísadami. Bezprostředně po naplnění je nutné krev promíchat opakovaným otáčením zkumavky minimálně 5× (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 minuty před vlastním odběrem. Krev se odebírá do kapilár nebo mikrozkumavek. 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.

V případě odběru z **katétru** je nutné nejprve odsát krev, která v katétru stagnuje nebo je promíšena s antikoagulačním činidlem, a pak teprve odebírat krev na laboratorní vyšetření. Jediným bezpečným způsobem je však odběr žilní krve z opačné končetiny nebo opačné strany, než kde je zaveden katétr s infuzí.

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).

Vzhledem k tomu, že pro dostatečné srážení krve, a tedy získání séra je nutný čas 15–30 minut, je pro rychlejší dostupnost výsledků vhodnější plazma. Srážení krve je vhodné provést v místě odběru, protože např. okamžitý transport potrubní poštou může vést k hemolýze vzorku a jeho znehodnocení.

Interference stanovení**Hemolýza**

Mírná **hemolýza** má malý efekt na laboratorní testy, avšak střední nebo masivní hemolýza ovlivní koncentraci a aktivitu řady analytů (zvyšuje se draslík, LD, AST, hořčík, ALT, HDL-cholesterol, CK, ACP a naopak snižuje 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 nebo náhodný vzorek. Pro podrobnější vyšetření je nutno vyšetřit vzorek sbírané moče za různé 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 zabírající pomnožení bakterií a změně chemického složení (např. thymol, azid sodný, kyselina chlorovodíková).

Pro vyšetření vzorků stolice se používají odběrové kazety, které jsou specifické pro každého výrobce. Je zcela zásadní dodržovat pokyny pro odběr vzorku stolice a jeho uchování, termín doručení k analýze u praktického lékaře nebo do laboratoře a většinou je vyžadována teplota pro uchování odebraného vzorku při teplotě 2–8 °C (lednice).

1.4.3. 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 chladicím 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. Laboratoře uvádějí tyto informace v Laboratorní příručce.

1.4.4. 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 hodin, 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 byl materiál 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.

1.5. ANALYTICKÁ FÁZE

Vlastní **analytická fáze je analýza daného analytu různými analytickými postupy** – fotometrie, chromatografie, nefelometrie, turbidimetrie ELISA a další. Jako nejpodstatnější je třeba uvést nutnost zavedení systému interní kontroly kvality, používání validovaných/verifikovaných vyšetřovacích postupů a zapojení laboratoře do systému externího hodnocení kvality. Tyto systémy výraznou měrou eliminují chyby analytického procesu.

1.6. POSTANALYTICKÁ FÁZE

Poslední část – **postanalytická fáze** – má interdisciplinární charakter spolupráce mezi laboratoří a indikujícím lékařem. Jedná se o interpretaci výsledků ve vztahu k fyziologickým hodnotám, k výsledkům dalších vyšetření laboratorního komplementu a ke klinickému stavu pacienta. Výsledky je třeba dávat do vztahu k referenčním hodnotám, k souboru provedených vyšetření, popř. sledovat dynamiku změn analytu v časovém úseku. 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.

1.7. 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 **externí kontroly 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.

Akreditace laboratoře znamená proces, při němž nezávislá instituce posuzuje činnost laboratoře – zdravotnického zařízení, popř. jeho části a ověřuje, do jaké míry tato činnost odpovídá stanoveným standardům zvyšování kvality péče. Jedná se tedy o oficiální uznání způsobilosti vykonávat určitou činnost na zaručené úrovni. Mezinárodně uznávané normy, podle kterých je posuzována činnost klinické laboratoře podle principu jednotného evropského akreditačního systému tvořeného národními akreditačními orgány, jsou **ČSN EN ISO 15189 – Zdravotnické laboratoře – Zvláštní požadavky na kvalitu a způsobilost**, jejíž 4. vydání vyšlo v prosinci 2022. Kromě uvedených ISO norem v ČR pro klinické laboratoře Národní autorizační středisko pro klinické laboratoře (NASKL) provádí edukační a poradenskou činnost a dále posouzení laboratoří.

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 žlučovodů – **ALT, AST** (tzv. aminotransferázy) ukazují na poškození hepatocytů, zvýšená aktivita ALP (alkalická fosfatáza) a GGT (gama-glutamyltransferáza) jsou typické pro cholestázu a abúzus alkoholu. Izolované zvýšení GGT může být způsobeno indukci mikrozomální izoformy GGT, nejčastěji při abúzu alkoholu, zvyšuje se ovšem i při nealkoholové tukové nemoci jater (NAFLD) v důsledku dysregulace metabolismu glutathionu,
- 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, koncentrace imunoglobulinů, specifické protilátky**.

Virové hepatitidy stále 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 (tabulka 1).

Tabulka 1: Screeningová vyšetření při podezření na virovou hepatitidu

Hepatitis A	Hepatitis B	Hepatitis C	Hepatitis E
anti-HAV total/IgG	HBsAg	anti-HCV total/IgG	anti-HEV total/IgG
anti-HAV IgM	anti-HBs	Combo HCV (anti + Ag)	anti-HEV IgM
	anti-HBc		

Postvaccinační kontrola u virové hepatitidy A: anti-HAV IgG (pozitivita znamená protektivitu), u hepatitidy B: anti-HBs (ochranná hladina od 10 mIU/ml).

Přehled souboru tzv. jaterních testů v tabulce 2.

Tabulka 2: Soubor jaterních testů

test	změna	pravděpodobná diagnóza	poznámka
ALT, AST	zvýšení cca 20×	aktivní virová hepatitis, polékové a toxické poškození, cirkulační šok	pokles hodnot může znamenat ústup onemocnění, ale i masivní nekrozu, výše hodnot odpovídá rozsahu poškození, ale nikoli prognóze
	zvýšení cca 10×	těžká biliární kolika	většinou do 72 hodin návrat do normy
	zvýšení cca 3×	jaterní steatosa, nealkoholová jaterní steatofibroza, chronická hepatitis	
	mírné zvýšení	kompensovaná jaterní cirhóza, cholestatické nemoci jater, neoplazie	
ALP	zvýšení 5× a více	onemocnění žlučových cest	
	zvýšení méně než 5×	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 cholangitis, akutní jaterní selhání, jaterní cirhoza	

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 diferenciálně diagnostický význam pro průkaz tzv. makroamylazémie tvořené komplexem amylázy a imunoglobulinů, která je v 8–12 % případů faktorem zvýšené aktivity 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 aktivity amylázy v séru při renálním selhání (snížená glomerulární filtrace). Další základní parametry změněné při akutní pankreatitidě je leukocytóza, vzestup močoviny, CRP, AST, pokles vápníku a změny vnitřního prostředí.

V diagnostice chronické insuficience pankreatu se uplatňují kromě stanovení sérových aktivit pankreatických enzymů také vyšetření elastázy ve stolici a některé funkční testy.

2.2. 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 třídy IgA a IgG ke tkáňové transglutamináze (atTG), protilátky k endomysiu (EmA) a protilátky k deamidovanému gliadinu (DGP).

2.3. PORUCHY FUNKCE LEDVIN

Pro posouzení ledvin vyšetřujeme **moč a krev**. Moč vyšetřujeme chemicky a morfologicky (vyšetření močového sedimentu). V případě pozitivní bílkoviny měříme kvantitativně albumin a protein. V krvi vyšetřujeme kreatinin a ureu (močovinu). Dále určujeme glomerulární filtraci, která je ukazatelem funkce ledvin. Význam mají také další parametry, např. kalium (CAVE hyperkalémie při anurii), glykémie (u diabetického postižení ledvin) či kyselina močová, kalcium a fosfáty (litiáza).

Základním vyšetřením je **chemické vyšetření moči a morfologické vyšetření močového sedimentu (tabulka 3)**. V ambulantních podmínkách je možné provést orientační vyšetření pomocí testačního proužku. V laboratoři je chemické vyšetření více objektivizováno, ale i tak semikvantitativní. Pozitivní nález bílkoviny je potřeba vždy ověřit **kvantitativním stanovením albuminurie a proteinurie (markery poškození ledvin)**. Preferován je náhodný vzorek nejlépe první ranní moči před sběrem moči a vyjádření výsledku v přepočtu na kreatinin (ACR – poměr albumin/kreatinin, resp. PCR – poměr protein/kreatinin). Vyšetření albuminurie kvantitativně (pozn. pojem mikroalbuminurie se již neuzívá) je důležité u nemocných s diabetem či hypertenzí, protože na rozdíl od proteinurie je hodnota zvýšená již při malém postižení ledvin. Proteinurie může být způsobena řadou příčin a v moči se mohou vyskytovat různé bílkoviny, např. myoglobin, hemoglobin, paraprotein – lehké řetězce imunoglobulinů, beta-2-mikroglobulin, IgG, IgM a další. Tyto bílkoviny se ale standardně nestanovují.

Kreatinin v krvi je základní vyšetření a poskytuje pouze hrubě orientační informaci o funkci ledvin, především pokud jsou jeho hodnoty v referenčním rozmezí. Souvisí s množstvím svalové hmoty a jeho vztah k funkci ledvin je hyperbolický, tzn. při významném snížení funkce ledvin může být hodnota kreatininu stále v referenčním rozmezí. Důležité je proto **určení glomerulární filtrace jako ukazatele funkce ledvin**. U zdravého člověka do 40 let je glomerulární filtrace v průměru 1,78 mL/s a s věkem klesá. Hraniční hodnotou pro chronické onemocnění ledvin je 1 mL/s/1,73 m² tělesného povrchu. Standardně se provádí určení glomerulární filtrace pomocí vzorců (eGFR – estimated glomerular filtration rate). Clearance kreatininu vyžadující sběr moči se vyšetřuje jen výjimečně (nepřesnosti). Základní doporučenou rovnicí je CKD-EPI pro kreatinin, která ovšem není vhodná pro děti (zde je doporučena rovnice podle Schwartz), těhotné či u akutního renálního selhání. Pro potvrzení chronického

onemocnění ledvin a ve specifických případech je využívána rovnice CKD-EPI pro cystatin, případně kombinovaná rovnice pro cystatin a kreatinin. U dětí se pro odhad GF z cystatinu C používá Grubbova rovnice. Důležité je sledovat změny v čase (dynamika změn). Odhad GF je potřeba pro úpravu dávkování léků.

Koncentrace **močoviny – urey** se také 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 (↑ urea při dehydrataci).

Tabulka 3: Základní vyšetření moči

Vyšetření moči	Patologie	Onemocnění
Chemické	Proteinurie	Diabetická nefropatie, glomerulonefritidy – nefrotický syndrom, akutní pyelonefritida, záněty močových cest <i>Pozn. malá citlivost testacích proužků na nízké koncentrace albuminu a na jiné bílkoviny než albumin (např. Bence-Jonesova bílkovina u myelomu, malé bílkoviny u tubulopatií) – falešná negativita</i> <i>Falešná pozitivita při močové infekci (pH > 8)</i>
	Hematurie	Infekce močových cest, urolitiáza, obstrukce, některé glomerulopatie, nádory ledvin a močových cest <i>Hematurii nutno ověřit vyšetřením sedimentu (erytrocyty)</i> <i>Pozn. menses u žen – falešně pozitivní výsledky</i>
	Glykosurie	Diabetes mellitus, tubulární poruchy (renální glykosurie) <i>Falešná negativita vlivem vitamínu C</i>
	Ketolátky	Diabetická ketoacidóza, negativní energetická bilance – hladovění, ketogenní dieta
	Urobilinogen	Hemolytický a hepatocelulární ikterus
	Bilirubin	Obstrukce žlučových cest, hepatocelulární ikterus
	Nitrity	Bakteriální zánět – G-bakterie <i>Falešná negativita při nedostatku dusičnanů ve stravě</i>
Mikroskopické	Erytrocyty	Glomerulonefritidy, záněty močových cest, nádory ledvin a močových cest, urolitiáza <i>Glomerulární vs. neglomerulární erythrocyturii lze rozlišit vyšetřením erythrocytů ve fázovém kontrastu</i>
	Leukocyty	Infekce, neinfekční intersticiální nefritidy
	Válce	Pyelonefritida, nefrotický syndrom, toxické poškození tubulů (i léky), chronická renální nedostatečnost, glomerulonefritidy
	Krystaly	Riziko urolitiázy

Pozn. vitamin C může způsobit falešnou negativitu více chemických testů – glukóza, hemoglobin, bilirubin, urobilinogen, nitrity, průkaz leukocytů.

Oxidační činidla (dezinfekce) mohou způsobit falešnou pozitivitu více chemických testů – bílkovina, hemoglobin, glukóza, průkaz leukocytů.

2.4. VNITŘNÍ PROSTŘEDÍ

Parametry vnitřního prostředí charakterizuje:

- pH, pCO₂, nadbytek/nedostatek bazí, pO₂, plazmatická hladina laktátu (možná laktátová acidóza)
- Na, K, Cl, Ca (Ca²⁺), Mg (Mg²⁺), P (sérum/moč), poměr Na a Cl (hyperchloremická metabolická acidóza/hypochloremická metabolická alkalóza)
- koncentrace bílkovin v krevní plazmě (hypoproteinemická metabolická alkalóza)
- osmolalita (sérum/moč)
- glykémie (při dekompenzaci DM možná metabolická ketoacidóza)
- stav orgánových funkcí při renálním selhání možná metabolická acidóza ze zvýšených nepočitatelných aniontů, při hepatorenálním selhání zhoršená metabolizace laktátu

Parametry vnitřního prostředí se mohou rychle měnit, proto je indikováno i jejich opakované vyšetření během 24 hodin. 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.

2.5. VÝŽIVA

Laboratorní parametry stavu výživy

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

Stresová malnutrice (proteinová nebo Kwashiorkor-like malnutrice). Pozor na sarkopenickou obezitu, BMI může být zvýšen.

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 dokresluje snížený body mass index a kožní řasa, jako projev snížených tukových zásob.

2.6. VITAMINY

Vitaminy patří mezi nízkomolekulární organické látky, které jsou v lidském organismu vyžadovány pro různé biochemické funkce ve velmi malých kvantech. Jsou to látky esenciální, neboť si je organismus nedokáže sám vyrobit vlastními prostředky, a je tedy nutné je přijímat z vnějších zdrojů (potravou). V lidském těle mají především funkci katalyzátorů biochemických reakcí, antioxidační funkci a významně se podílí na regulaci metabolismu bílkovin, tuků a cukrů. Nedostatek (**hypovitaminóza**) vede k různým onemocněním. Může nastat z několika příčin, ať už nedostatečným příjmem vitaminů v potravě, tak poruchou střevní absorpce nebo metabolismu provitaminů. Projevy rozlišujeme dle míry deficitu a druhu chybějícího vitamínu. Patologické stavy však mohou nastat i v důsledku nadbytku (**hypervitaminóza**) některých vitaminů zejména rozpustných v tucích, nejčastěji vitamínu A a D. Přebytečných vitaminů rozpustných ve vodě se organismus dokáže zbavit, nehrozí jejich předávkování ani při nadměrném příjmu.

Hydrofilní, ve vodě rozpustné vitaminy jsou součástí enzymů, především jako kofaktory, a vstřebávají se rychle ve dvanáctníku. Jedná se zejména o vitaminy řady B (B_1 , B_2 , B_6 , B_{12}) a vitamín C. Z hlediska diagnostiky je lepší stanovovat koncentraci aktivní formy vitamínu B_{12} (holotranskobalamin), jenž je lepším indikátorem nedostatku vitamínu B_{12} , neboť má kratší biologický poločas. Signifikantní úbytek hladiny celkového vitamínu B_{12} může trvat měsíce až roky, zatímco hodnoty aktivního vitamínu B_{12} reagují na deficit mnohem dříve (dny), lépe tak odráží klinický stav pacienta, navíc nejsou ovlivněny nedávným příjmem vitamínu.

Hydrofobní, v tucích rozpustné vitaminy se podílejí na řadě fyziologických funkcí (vidění, srážení krve, hospodaření s vápníkem a fosforem), působí jako antioxidanty (interakce mezi vitamínem C a vitamínem E). Vstřebávají se pomaleji, mají nepolární lipofilní charakter a v krvi jsou přenášeny pomocí lipoproteinů nebo specifických proteinů. Zástupci této skupiny jsou vitamín A, E, D a vitamín K. Vitamín D se stanovuje ve dvou formách, jako 25-hydroxyvitamín D nebo 1,25-dihydroxyvitamín D, který je dosud nejúčinnějším přirozeně se vyskytujícím metabolitem vitamínu D. Jeho tvorba je přesně řízena koncentracemi vápníku, fosforu a parathormonu v séru.

Některé vitaminy se vyskytují ve formě prekurzorových molekul – provitaminů, které nevykazují biologickou aktivitu, a je potřeba jejich přeměny na aktivní molekulu například štěpením (β -karoten, provitamin vitamínu A).

Vitaminy jsou díky svému organickému původu poměrně nestabilní látky. Za účelem vyšetření hladin vitaminů v krvi je důležité dodržet preanalytickou fázi již od odběru samotného vzorku, tedy chránit jej před světlem a teplem. Vyšetření u pacientů je vhodné zejména při neurologických problémech, malabsorpčním syndromu, poruchách příjmu potravy a celkovému neprospívání. Některé vitaminy mohou být sledovány také z hlediska terapeutických účinků při závažných dědičných onemocněních (vitamín B_6).

Tabulka 4: Přehled vyšetřovaných vitaminů

Druh vitamínu	Výskyt	Onemocnění	Laboratorní vyšetření
Vitaminy rozpustné ve vodě			
Vitamin B ₁ <i>Thiamin</i>	Obalové vrstvy obilovin, luštěniny, kvasnice, mléko vepřové maso	Hypovitaminóza Snížená tvorba žaludečních šťáv – trávicí problémy Neurologické a psychické choroby Beri-beri – porucha metabolismu sacharidů a aminokyselin	Biol. materiál: Plná krev Metoda HPLC Ref. meze: 28–85 µg/l
Vitamin B ₆ <i>Označení pro 3 pyridinové deriváty (pyridoxol, pyridoxal, pyridoxamin)</i>	Játra, maso (včetně ryb), ořechy, zelenina, celozrnné produkty, banány, avokádo	Hypovitaminóza Dermatitidy, záněty sliznic (dutina ústní), poruchy CNS	Biol. materiál: Sérum PLP (pyridoxal -5- fosfát) Metoda HPLC Ref. meze: 3,6–18 µg/l
Vitamin B ₁₂ Kobalamin	Vejce, mléko, sýry, maso a vnitřnosti	Hypovitaminóza Chudokrevnost (perniciózní anémie), hubnutí, zhoršování paměti, duševní výkonnosti, svalové koordinace, třes a „mravenčení“ v končetinách. Neprospívání, nechutenství u kojenců. Neurologické příznaky.	Biol. materiál: Sérum Metoda ECLIA Ref. meze: 145–569 pmol/l
Vitamin B ₁₂ aktivní <i>Holotranskobalamin</i>			Biol. materiál: Sérum Metoda CLIA Ref. meze: 25–165 pmol/l
Vitamin C <i>Kyselina askorbová</i>	Černý rybíz, šípek, citrusy, kapusta, květák, rajčata, brambory	Hypovitaminóza skorbut (kurděje) porucha syntézy kolagenu	Biol. materiál: Sérum Metoda HPLC Stabilní max. 3 h po odběru Ref. meze: 28–86 µmol/l
Vitaminy rozpustné v tucích			
Vitamin A Retinol	Rybí tuk, játra, dýně, mrkev, máslo, špenát, zelí, brokolice	Hypovitaminóza Šeroslepost Keratinizace epitelálních tkání Atrofie sliznic Hypervitaminóza Poškození jater, krvácivost, průjmy, vypadávání vlasů	Biol. materiál: Sérum Metoda HPLC Ref. meze: NO–6 T 0,1–0,3 mg/l 1–10 let 0,2–0,4 mg/l 10–18 let 0,3–0,8 mg/l 18–150 let 0,3–1,0 mg/l
Vitamin E <i>Tokoferol</i>	Slunečnicová semínka, mandle, lískové oříšky, máslo, mléko, sója	Hypovitaminóza Nadměrná tvorba kyslíkových radikálů, poškození membrán V těhotenství u novorozence nebezpečí anémie	Biol. materiál: Sérum Metoda HPLC Ref. meze: 1–12 let 3,0–9,0 mg/l 13–19 let 6,0–10,0 mg/l 20–110 let 5,0–18,0 mg/l
Vitamin D celkový (25-hydroxyvitamin D) <i>Kalciferol</i>	Tučné ryby (sleď, makrela, losos), tresčí játra (rybí tuk), vaječný žloutek Sluneční záření	Hypovitaminóza Poruchy mineralizace kostí: křivice (rachitis) – deformace lebky, páteře, hrudníku a dlouhých kostí dekalifikace – měknutí kostí Hypervitaminóza Zvracení, průjmy, svědění kůže	Biol. materiál: Sérum Metoda CLIA Ref. meze: deficit < 10 µg/l nedostatečnost 10–30 µg/l dostatek 30–80 µg/l toxicita > 80 µg/l
1,25-dihydroxyvitamin D			Hypovitaminóza Onemocnění ledvin Jeden z prvních příznaků předčasného selhání ledvin Diagnostika poruch štítné žlázy Hypervitaminóza Zvýšení hladiny parathyrinu Sarkoidóza Některé typy lymfomů (mohou produkovat 1,25-dihydroxyvitamin D i mimo ledviny)

2.7. POŠKOZENÍ MYOKARDU

2.7.1. UKAZATELE POŠKOZENÍ KARDIOMYOCYTŮ

A. Kardiální troponin I či T (cTnI, cTnT)

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.

Počátek vzestupu 1–4 hodiny po vzniku bolesti, vrchol za 2–3 dny, zvýšení přetrvává týden (cTnI) až 10 dní (cTnT). Existuje možnost stanovení cTn v režimu POCT. Současná doporučení Evropské i České kardiologické společnosti preferují používání tzv. vysoce senzitivních (high sensitivity) srdečních troponinů (hs-TnT nebo hs-TnI). Pro zpřesnění a urychlení diagnostiky akutního koronárního syndromu (AKS) byl navržen vedle již zavedeného tří- až šestihodinového protokolu jedno- nebo dvouhodinový algoritmus s výpočtem absolutní a relativní delty pro hs-cTnT (I).

Pro dlouhý biologický poločas se nehodí pro detekci reinfarktu; lépe je stanovit izoenzym CK-MB (hmotnostní koncentrace). Stanovuje-li se někde izoenzym CK-MB, akceptovatelná je jen hmotnostní koncentrace (CK-MB mass), i když tento izoenzym může pocházet z kosterních svalů.

Stanovení aktivity AST, LD či celkové CK je nespecifické; tyto metody jsou považovány pro průkaz infarktu myokardu za obsolentní.

B. Myoglobin

Časný marker svalového poškození. Počátek vzestupu 0,5–4 hodiny po vzniku bolesti, vrchol 8 hodin, za 12–24 hodin normalizace.

Stoupá u poškození kosterních svalů (fyzická námaha, dušnost, křeče, i.m. injekce aj.), u nemocných s renální insuficiencí (nemůže se filtrovat do moče).

Plazmatické hladiny myoglobinu v referenčních mezích po 2 hodinách po inzultu mají vysokou negativní predilekci AKS

2.7.2. UKAZATELE PORUCHY FUNKCE MYOKARDU

Natriuretický peptid typu B (BNP) či N-terminální štěp jeho prekurzoru (NT-pro BNP)

BNP i NT-pro BNP se vylučují ze svaloviny srdečních komor při objemovém přetížení a selhávání srdce. NT-pro BNP se zvyšuje s věkem nemocných, oba peptidy stoupají při selhání ledvin. Při normální koncentraci BNP či NT-pro BNP lze vyloučit kardiální původ dušnosti. Pro vyšetření BNP je nutná EDTA plazma.

Tabulka 5: Dynamika kardiomarkerů a markerů poškození svalu

Parametr	Počátek vzestupu hladiny (hodiny)	Maximum (hodiny)	normalizace hladin (dny)
cTnT	3–4	12–18 (2. vrchol 72–96)	7–10
cTnI	3–4	12–24	5–14
Hs cTn	1–2 (dle rozsahu poškození)	viz cTn	viz cTn
CK MB mass	3	12–24	2–3
myoglobin	0,5–2	4–10	do 1 dne (stav ledvin)
CK	3–4	16–36	2–3
AST	4–8	16–48	3–6
LD	6–12	24–60	7–15

2.8. LIPIDOVÝ METABOLISMUS

Pro základní klasifikaci dyslipidemí a určení rizika je dostačující stanovit: celkový cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triacylglyceroly. Pro zjištění míry rizika vzniku KV komplikací posuzujeme nejen hladinu **celkového cholesterolu**, ale zejména **hladinu LDL-C**, která je krom ukazatele rizikovosti též screeningovým markerem a její definované koncentrace hlavním léčebným cílem. Další hodnocené parametry jsou **apolipoprotein B (Apo-B)** – pro diagnostiku a screening lze použít jako alternativu při nízkých hladinách LDL cholesterolu, hypertriglyceridémii, při DM a metabolickém syndromu, HDL-C, jehož snížené hladiny zvyšují riziko KV a **non HDL-C** – zjišťujeme výpočtem a též lze použít pro odhad KV rizika, stejně tak **lipoprotein a (Lpa)**, jehož definované zvýšení (> 180 mg/dl, 0,430 mmol/l) je markerem míry celoživotního rizika. Rozmezí normálních hodnot a cílové hodnoty při léčbě jsou uvedeny v příslušném doporučeném postupu. Základním léčebným cílem je definovaná

hodnota LDL-C, druhotné cíle jsou definované hladiny apoB a non-HDL-C (u osob s triglyceridemií). Odběr krve je nutné provést po standardní době lačnění (12–14 hodin). 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, glykemii, jaterní a renální funkce.

2.9. GLYKÉMIE A GLYKOVANÝ HEMOGLOBIN

Stanovení glukózy

Plazmatická koncentrace glukózy v žilní krvi nalačno (FPG) je vhodná pro určení diagnózy diabetu mellitu (DM) nebo vyhledávání osob se zvýšeným rizikem DM.

Diagnostická kritéria diabetu

- Koncentrace glukózy v plazmě žilní krve kdykoliv během dne $\geq 11,1$ mmol/L.
- Koncentrace glukózy v plazmě žilní krve nalačno $\geq 7,0$ mmol/L.
- Koncentrace glukózy v plazmě při orálním glukózovém tolerančním testu $\geq 11,1$ mmol/L.

K učinění závěru o diagnóze diabetu je nezbytné potvrdit výsledek opakovaným měřením z dalšího odběru v některém z příštích dnů nebo přítomnost typických klinických příznaků.

Porucha glukózové homeostázy (prediabetes)

Zvýšené riziko diabetu označované jako Impaired Fasting Glucose (IFG), zvýšená koncentrace glukózy nalačno, případně jako prediabetes, je charakterizováno hodnotami FPG v intervalu hodnot $\geq 5,6 - 6,9$ mmol/L nebo stanovením glykovaného hemoglobinu (HbA1c) v laboratoři ≥ 39 mmol/mol.

Rozhodovací meze

FPG [mmol/L]	Interpretace
< 5,6	Vyloučení diabetu mellitu
5,6 až 6,9	Zvýšená koncentrace glukózy nalačno
$\geq 7,0$	Diabetes mellitus (nutno potvrdit opakovaným měřením)

Diagnostický závěr je nezbytné provést na podkladě alespoň dvou výsledků nezávislých měření. Vyšetření u pacientů s hodnotami FPG 5,6 mmol/L a vyšší by měla být vždy opakována pro podezření z možného potvrzení diagnózy diabetu mellitu, zejména u pacientů s kardiometabolickým rizikem. Pacienti s takovými hodnotami by měli být vyšetřováni s vyšší frekvencí, event. by měl být proveden oGTT.

Hypoglykémie je definována hodnotou FPG $\leq 3,0$ mmol/L, hodnota FPG 3,1–3,9 mmol/L je považována za varovnou mez hypoglykémie.

Zásadním předpokladem kvality diagnózy diabetu a prediabetu měřením plazmatické lačné glukózy je minimalizace glykolýzy ve vzorku odebrané krve. Maximální možná doba mezi odběrem a oddělením plazmy od krevních elementů je 30 minut. Pokud není možné tuto dobu dodržet, je nutné použít odběrovou zkumavku s antiglykolytickou směsí fluoridu sodného (NaF), EDTA a citrátu sodného. Při použití odběrových zkumavek s obsahem NaF a EDTA bez citrátu sodného není inhibice glykolýzy dostatečná.

Glukózový toleranční test (oGTT)

Podle doporučení WHO lze oGTT doporučit jako doplňující diagnostickou zkoušku v případech, kdy se hodnota FPG pohybuje v intervalu 5,6 až 6,9 mmol/L. oGTT se však doporučuje k potvrzení diagnózy prediabetu a slouží k diagnóze gestačního diabetu.

Koncentrace plazmatické glukózy v plazmě žilní krve po 2 hodinách po zátěži 75 g glukózy.

Glukóza [mmol/L]	Interpretace
< 7,8	Vyloučení diabetu mellitu
7,8 až 11	Porušená glukózová tolerance
$\geq 11,1$	Diabetes mellitus

Gestační diabetes mellitus (GDM)

Gestační diabetes mellitus (GDM) je porucha metabolismu glukózy různého stupně, která se objeví v těhotenství a spontánně odezní v průběhu šestinedělí. Incidence GDM je až 17 % těhotných žen.

Screening GDM postupují všechny těhotné ženy, kromě těch, které se s diabetem již léčí (DM 1. typu, DM 2. typu apod.).

Screening GDM má dvě fáze:

1. fáze screeningu probíhá na začátku těhotenství (do 14. týdne těhotenství) – stanovení glykémie nalačno v žilní plazmě (norma < 5,1 mmol/L),
2. fáze screeningu probíhá mezi 24.–28. týdnem těhotenství – tříbodový 75 g oGTT (norma: glykémie nalačno < 5,1 mmol/L, za 1 hodinu po zátěži < 10,0 mmol/L a za 2 hodiny po zátěži < 8,5 mmol/L).

Glykovaný hemoglobin HbA_{1c}

Koncentrace HbA_{1c} v krvi je považována za rutinní a efektivní nástroj sledování průběhu DM. Hodnotu glykovaného hemoglobinu je možno použít v rámci screeningu poruch glukózové homeostázy, zejména ve vztahu k prediabetu. Představuje vhodný způsob kontroly koncentrací glukózy u diabetiků, neboť je považována za její vážený dlouhodobý průměr.

V diagnostickém procesu se výsledky diskriminují podle hodnot cut off.

HbA _{1c} [mmol/mol]	Interpretace
< 38	diabetes nepřítomen
38 až 48	hraniční hodnoty
> 48	diagnóza diabetu

Sledování stavu diabetiků

Při sledování stavu choroby se výsledky posuzují podle následující tabulky. Interpretace s ohledem na věk diabetiků, jejich biologickou zdatnost a délku trvání diabetu je podrobněji popsána v DP Diabetes mellitus.

HbA _{1c} [mmol/mol]	Interpretace
20 až 42	referenční interval (dospělí, negravidní)
43 až 53	kompensovaný diabetes (dospělí, negravidní)
> 53	dekompenzovaný diabetes; signál k změně terapie a režimu
< 59	kompensovaný DM v dětském věku

Použití glukometrů

Koncentrace glukózy v kapilární krvi, stanovená pomocí osobního glukometru, je nástrojem sledování stavu u diabetu 1. typu a u pacientů s diabetem 2. typu, léčených inzulinem.

Používání glukometrů korigujících automaticky výsledek měření plné krve na výsledek odpovídající koncentraci glukózy v krevním séru a plazmě.

Kontinuální monitorování glukózy

Používání systémů pro kontinuální monitorování koncentrace glukózy umožňuje bezpečnější dosažení lepší kompenzace diabetu a je využíváno především u pacientů s DM1. Systém měří koncentraci glukózy v reálném čase po 24 hodin denně a spouští alarm při nízkých a vysokých hodnotách.

Ostatní významné biomarkery diabetu

Měření koncentrace albuminu v moči diabetiků vykazuje významnou schopnost včasné predikce diabetického onemocnění ledvin a stanovení kardiovaskulárního rizika (parametr endotelové dysfunkce). Pacienti s diabetem by měli být testováni na přítomnost diabetického onemocnění ledvin jednou ročně.

2.10. TYREOPATIE

Štítná žláza je nejčastěji postižena hyperfunkcí, hypofunkcí nebo zánětem. Častěji bývají postiženy ženy než muži, jde o poměr asi 8:1. 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 thyroxinu se v moderní diagnostice již neuvádí. Více informací poskytne stanovení jeho volné frakce (FT4). Vyšetření trijodtyroninu (TT3 a FT3) by mělo být vyhrazeno jen nejasným stavům a podezření na subklinickou hyperfunkci, při dysproteinémiích a dysalbuminémiích.

Hypertyreóza je onemocnění, které je způsobeno nadprodukcí hormonů štítné žlázy a jde o stav hypermetabolizmu, který může vést až k naprostému vyčerpání organismu. Tento stav je ale poměrně dobře rozpoznatelný.

Hypotyreóza je relativně častá u starších žen a je vhodné na ni pomýšlet při běžném vyšetření, protože je sama o sobě špatně rozlišitelná pouze podle příznaků. Onemocnění může vést až k úplnému utlumení organismu, případně myxedémovému kómatu.

Obě tyto poruchy lze jednoduše odhalit laboratorním vyšetřením TSH.

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).

Vyšetření funkce štítné žlázy se od roku 2024 provádí formou screeningu na počátku gravidity u všech těhotných žen, a to vyšetřením tyreostimulačního hormonu (TSH), v případě výsledku mimo referenční interval i volného thyroxinu (FT4) a protilátek proti tyreoidální peroxidáze (anti TPO). Vzhledem k tomu, že v případě nedostatečné hladiny FT4 je nezbytné nasadit léčbu okamžitě, je možné, aby těhotná byla zaléčena ještě před návštěvou endokrinologa z indikace ošetřujícím gynekologem.

2.11. PORUCHY KOSTNÍHO METABOLISMU

V klinické praxi je naprostá většina kostních onemocnění asociována se snížením množství a kvality kostní hmoty a v důsledku vyšším rizikem nízkotraumatických zlomenin. Nejčastějším kostním onemocněním je osteoporóza. Při osteodenzitometrii jsou v kategorii osteoporóza užity hodnoty denzity kostního minerálu (BMD) v kyčli nebo páteři $\leq -2,5T$ skóre (tj. 2,5 směrodatné odchylky pod průměrnou hodnotou mladých dospělých osob). V této kategorii ale mohou být hodnoty BMD nebo zlomeniny při řadě jiných kostních onemocnění, z nichž každé vyžaduje kauzální terapii. Proto je také antiosteoporotická terapie volena, až když jsou vyloučena jiná metabolická onemocnění skeletu a když je prokázána klinická diagnóza osteoporózy. Laboratorní vyšetření (tabulka 6) jsou nezbytná pro diferenciální diagnostiku, ale sama o sobě nestanovují diagnózu.

Tabulka 6: Základní a doplňující laboratorní vyšetření při kostních onemocněních

Základní: Krevní obraz a diferenciální rozpočet leukocytů, FW, hsCRP, fS: ionty, kreatinin, kyselina močová, glykémie, albumin, AST, ALT, GGT, ALP, TSH, FT4, PTH, 25-hydroxyvitamín D, β CTX-I, PINP, elektroforéza bílkovin, protilátky ke tkáňové transglutaminase. Moč: chemické vyšetření, sediment, dU-Ca.

Doplňující: fS-Ca²⁺, bALP, osteokalcin, TRACP-5 b, 1,25-dihydroxyvitamín D, CTX-MMP, dU-volný kortison, u mužů testosteron, SHBG, LH, PSA, u žen po menopauze FSH. fU-renální tubulární práh pro fosfáty.

f – nalačno (fasting), S – sérum, U – moč, d – za 24 hodin, ALP – celková alkalická fosfatasa, bALP – kostní alkalická fosfatasa, PINP – aminoterminální propeptid prokolagenu typu I, β CTX – karboxyl-terminální telopeptid kolagenu typu I (beta forma), TRACP 5 b – kyselá fosfatasa typ 5 b (osteoklastická)

Orientačním diferenciálně diagnostickým kritériem mohou být v klinické praxi sérové hodnoty vápníku, fosforu a celkové ALP (pokud je hodnota GGT v referenčních mezích) (tabulka 7).

Tabulka 7: Diferenciálně diagnostická výpověď sérových hodnot kalcia, fosforu a ALP při onemocněních skeletu

	S-kalcium	S-fosfor	S-ALP
Osteoporóza	N	N	N
Osteomalacie	L (N)	L	H (N)
Hyperparathyreóza prim.	H	L	H
Pagetova kostní choroba	N	N	H
Metastatické postižení skeletu	N	N	H
Hypofosfatasemie	N	N	L

Hodnoty v referenčních mezích (N), snížené (L), zvýšené (H)

Pro posouzení kostní remodelace slouží biomarkery remodelace kosti (BMT). O stupni syntézy kostního kolagenu osteoblasty vypovídají N-koncové a C-koncové propeptidy prokolagenu (PINP a PICP). Tyto štěpné produkty vznikají během sekrece molekul kolagenu, který tvoří základ struktury kostní matrix. Metabolické produkty

kolagenu typu 1 z nekosterních tkání (kůže) nepřispívají významně ke koncentraci BTM v krvi. Koncentrace kostní alkalické fosfatázy (BALP) vypovídají o novotvorbě kostní hmoty. Hodnoty kostní ALP (BALP) jsou doporučeným markerem kostní novotvorby při chronickém onemocnění ledvin (CKD-MBD). U zdravých dospělých přispívá BALP z osteoblastů k sérovým hodnotám celkové ALP obdobně jako játra. O stupni osteoklastické osteoresorpce vypovídá C-terminální telopeptid kolagenu typu I (β CTX), který se během degradace molekul kostního kolagenu uvolňuje do oběhu a vylučuje močí. Krev pro stanovení β CTX je třeba odebrat ráno mezi 7:30 a 10:00, vždy nalačno. Stabilita markeru je vyšší v EDTA plazmě než v séru. V osteoklastech je tvořena izoforma kyselých fosfatáz (TRACP-5 b), která je specifická pro kosti a v krvi vypovídá o množství osteoklastů. Hodnoty TRACP-5 b nemají diurnální variabilitu, nejsou ovlivněny dietou a jsou vhodným markerem osteoresorpce při chronickém onemocnění ledvin (CKD-MBD). PINP a β -CTX byly doporučeny jako referenční markery tvorby kostí a osteoresorpce při osteoporóze. Hodnoty BMT se porovnávají s referenčními hodnotami dané laboratoře u reprezentativního souboru zdravých žen před menopauzou.

Primární osteoporóza (involuční, idiopatická, postmenopauzální). Při primární osteoporóze jsou sérové hodnoty vápníku, fosfátů v referenčních mezích. Katalytická aktivita celkové ALP (pokud není vyšší podíl jaterního izoenzymu) je zpravidla v referenčních mezích. Hodnoty BMT jsou asociovány s rychlostí úbytku kostní hmoty, ale u jednotlivých osob není jejich prediktivní výpověď spolehlivá. Po dobu až jednoho roku po zlomenině může být zvýšení BMT výrazem zvýšené remodelace kosti při hojení fraktury. Stanovení BMT je vhodné k monitorování efektu léčby kostních onemocnění. Účinnost anti-resorpční léčby je potvrzována úpravou zvýšených koncentrací markerů do referenčního rozmezí, přetrvávání zvýšených hodnot BMT při této léčbě je důvodem pro přehodnocení léčby. Průkazné zvýšení S-PINP při osteoanabolické léčbě potvrzuje její dlouhodobou účinnost.

Sekundární osteoporóza (snížení pevnosti kostí spojené se zvýšeným rizikem zlomenin, navozené onemocněním nebo medikací). Sekundární příčiny je třeba hledat zejména u pacientů s velmi nízkou hodnotou BMD (Z-skóre <2) a u pacientů se zlomeninami, ale bez tradičně uváděných rizikových faktorů zlomenin. Klinicky manifestní sekundární příčiny úbytku kostní hmoty se zjišťují u třetiny žen po menopauze a u 50x80 % mužů s osteoporózou. Kauzálním opatřením je léčba základního onemocnění. Vodítkem pro zvážení sekundární osteoporózy jsou cílená laboratorní vyšetření (tabulka 6), zejména při chronických zánětlivých onemocněních (revmatoidní artritida, lupus erythematosus, ankylozující spondylitida, zánětlivá střevní onemocnění), endokrinopatiích (hypertyreóza, hyperparatyreóza, akromegalie, hyperkortisolemie, diabetes mellitus), malabsorpci, celiakální sprue, stavech po bariatrické operaci, při hematologických onemocněních (myeloproliferativní syndrom, mnohočetný myelom, MGUS, systémová mastocytóza), hemochromatóze, při onemocněních ledvin (idiopatická hyperkalciurie, renální tubulární acidóza), malignitách, stavech po transplantaci orgánů, roztroušené skleróze, ale také kostních změnách při léčbě glukokortikoidy, thiazolidindiony, některými antidepresivy, antikonvulzivy, antikoagulancii, inhibitory protonové pumpy. Hodnoty BTM více než 1,5x nad horní referenční hranicí by měly budít podezření na přítomnost sekundární příčiny osteoporózy. Koncentrace BMT pod dolní hranicí referenčních hodnot svědčí pro nadměrně utlumenou aktivitu kostních buněk. – typicky nízké jsou koncentrace osteokalcinu nebo PINP při hyperkortizolismu. Při zjištění koncentrací sérového kalcia, fosfátů, PTH, TSH a T4 mimo referenční hodnoty, při zjištění paraproteinu nebo protilátek ke tkáňové transglutaminase a při podezření na Pagetovu kostní chorobu nebo malignitu nemá být bez dalšího vyšetření a případně konzultace se specialistou zahajována antiosteoporotická léčba.

2.12. NÁDOROVÉ MARKERY

Nádorové markery (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 je možné měřit kvalitativně nebo kvantitativně metodami chemickými, imunologickými nebo metodami molekulární biologie.

Vzhledem k širokému biologickému spektru nádorových onemocnění neexistuje univerzální nádorový marker. Obdobně senzitivita (správný záchyt nemocných) při dostatečné specificitě (správná negativita u lidí bez nádorového onemocnění) nedosahuje u žádného z nádorových markerů ideálních 100 %. Nezvýšená koncentrace nádorového markeru není tedy ještě důkazem nepřítomnosti maligního onemocnění, naopak pozitivní výsledek nemusí nutně znamenat přítomnost zhoubného nádoru.

Limitace využití nádorových markerů

Je třeba vnímat skutečnost, že s rozvojem diagnostických zobrazovacích technik v onkologii došlo k posunu ve využití solubilních cirkulujících nádorových markerů. Vyšetření PET/CT a PET/MRI jsou ze své podstaty dynamickými vyšetřeními biochemických procesů spojených s nádory fúzaných s morfologickým kontextem nádorových lézí. Solubilní cirkulující nádorové markery umožňují indikovat u asymptomatických pacientů zobrazovací techniky a pomáhají i v interpretaci výsledků zobrazovacích technik.

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 rozhoduje na základě klinického a histologického nálezu. Nádorové markery se hodnotí spíše individuálně na základě dynamiky změn a využíváme je zejména při stanovení prognózy nebo při monitorování průběhu léčby. Pozitivní či negativní nález nádorových markerů může být v některých případech i součástí klasifikace nádoru.

Frekvence vyšetření

Minimální odstup mezi dvěma stanoveními nádorových markerů u jednoho pacienta je 14 dní. Pro frekvenci vyšetřování platí kritéria doporučená WHO a podle zkušeností kliniků i statistiků hodnotících dynamiku změn nádorových markerů ve vztahu ke klinickému průběhu choroby je vhodné dodržovat doporučenou frekvenci vyšetření. 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.

Screening

Vzhledem k poměrně nízké diagnostické senzitivitě a specificitě není většina nádorových markerů vhodná k tomuto účelu u asymptomatických vyšetřovaných. Screening karcinomu prostaty bude v ČR zaveden od roku 2024 a bude prováděn praktickými lékaři s návazností na další odbornosti dle metodického pokynu MZ ČR.

Screening kolorektálního karcinomu pomocí vyšetření okultního krvácení, tj. pomocí volného hemoglobinu přítomného ve stolici, se v současnosti doporučuje pouze za použití imunoanalytických postupů. Mamografický screening karcinomu prsu a cytologický screening karcinomu čípku děložního patří mezi významné nástroje záchytu onemocnění v časném stádiu, ale jeho provádění nesouvisí s vyšetřováním solubilních biologických markerů.

U symptomatických nemocných nebo u skupin jedinců s vysokým rizikem vývoje nádorového onemocnění lze použít vyšetření některých nádorových markerů k potvrzení choroby. Například screeningové vyšetřování kalcitoninu v rodinách s výskytem medulárního karcinomu štítné žlázy nebo vyšetření CA 15-3 spolu se zobrazovacími metodami v rodinách s mutacemi v genech BRCA1 a BRCA2.

Jako signifikantní bývají posuzovány tyto změny hladin nádorových markerů:

- a) bez terapie (v klinické remisi): stoupající trend koncentrace ve třech po sobě následujících odběrech i v hladinách do hodnoty cut-off značí obvykle recidivu, resp. progresi.
- b) během terapie: nárůst o více než 25 % značí progresi onemocnění, pokles o více než 50 % parciální remisi. Kompletní remise však nemůže být hodnocena pouze pomocí změn v hladinách markerů a je ji třeba vždy hodnotit s ohledem na výsledky přešetření zobrazovacími metodami.

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 (tabulka 8).

Tabulka 8: Solubilní nádorové markery vhodné pro monitorování průběhu choroby a účinnosti terapie

Nádor – lokalizace		Markery základní	Markery doplňkové
Žaludek		CA 72-4, CEA	
Střevo		CEA, CA 19-9, CYFRA 21-1	TPA/S
Rectum		CEA, CYFRA 21-1	TPA/S
Jícen*	Horní třetina	SCCA	CYFRA 21-1
	Dolní třetina	CA 72-4, CEA	
Pankreas*		CA 19-9, CEA	
Játra		AFP, PIVKA-II, CEA	TPA/S
	Cholangiocelulární	CA 19-9	TPA/S
	Metastázy	CEA, TPA/S	
Mléčná žláza		CA 15-3, CEA, CYFRA 21-1	TPA/S
Ovarium	Nemucinózní	CA 125, HE4	TPA/S
	Mucinózní	CA 19-9, CA 72-4,	CEA
	Germinativní	AFP, hCG	TK
Cervix	Epidermoidní	SCCA	CYFRA 21-1, CEA
	Adenokarcinomy	CEA	
Corpus uteri		CA 125	CEA
Vulva		SCCA	
Placenta (chorioepiteliom)		hCG, TK	
Ledviny		TPA/S, CEA, FW	NSE
Močový měchýř		TPA/S	CYFRA 21-1
Prostata		PSA, fPSA, -2proPSA, vypočítané parametry: %fPSA, PHI	CgA
Testes	Seminomy	hCG, AFP	NSE
	Neseminomy	hCG, AFP	TK
Karcinoid		NSE, CgA	
Štítná žláza	Medulární	CT, CEA	NSE
	Anaplastické	TPA/S, TK	
Melanom		NSE, S100beta	TK
Plíce	SCLC	CEA, NSE, proGRP	TPA/S, ACTH, CgA
	NSCLC	CYFRA 21-1, CEA	SCC
Hlava, krk		SCCA	CYFRA 21-1
CNS	Neuroblastomy	NSE	
	gliomy	CEA	
	astrocytomy	TK	
Leukémie		TK, FER, LD	
Lymfom	Hodgkinský	B2M, FER, LD	
	Non-hodgkinský	TK, B2M, LD	
Mnohočetný myelom		B2M, paraproteiny	

* Většina autorů sledování TM v těchto případech nedoporučuje, jejich přínos je sporný.

Zkratky:

Sedimentace (FW), adrenokortikotropin (ACTH), alfa 1-fetoprotein (AFP), lidský choriový gonadotropin (hCG), karcinoembryonální antigen (CEA), prostatický specifický antigen (PSA) a jeho volná frakce (fPSA), „prekursorová forma“ PSA ([-2]proPSA), Prostate Health Index, tj. index zdravé prostaty (PHI), neuron specifická enoláza (NSE), antigen karcinomů ze skvamózních buněk (SCC), b 2-mikroglobulin (b2-M), Human Epididymal Protein 4 (HE4), chromogranin A (CgA), tkáňový polypeptidový antigen (TPA), TPA-specifický (TPS), rozpustný fragment cytokeratinu 21-1 (CYFRA 21-1), feritin (FER), laktát dehydrogenáza (LD), Pro-Gastrin-Releasing Peptid (ProGRP), thymidinkináza (TK) „carbohydrate antigen“ glykoproteinové antigeny (CA)

Upozornění: 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.

2.13. LABORATORNÍ UKAZATELE ZÁNĚTU

- Leukocytóza** ($> 10 \times 10^9/l$) – nespecifický marker, pozor na modifikace při imunopresi či imunomodulaci (systémové podání kortikoidů); neutrofilie u bakteriální infekce, lymfocytóza u virových infekcí. Poměr neutrofilů a lymfocytů **NLR** – prognostický marker, počet tyčí, % imaturovaných granulocytů (aktivita zánětu).
 - Sedimentace erytrocytů** (SE, ESR, FW) – způsobena změnou povrchového náboje erytrocytů a zejména zvýšením koncentrace fibrinogenu. Mění se s věkem, těhotenstvím, malignitou. Diagnostika a monitorace chronických zánětlivých stavů a monoklonálních gamapatií. Přetrvávání zvýšené sedimentace, často jako jediného markeru, může upozornit na pokračující subakutně probíhající onemocnění – typické pro intracelulární infekce (chlamydie, mykoplasmata, rickettsie).
 - Prozánětlivé cytokiny** – vznikají v leukocytech aktivovaných při zánětu; stoupají nejdříve do 1 hodiny po začátku zánětu, rychlá dynamika, nespecifické pro infekci. Rutinní stanovení jen interleukin 6 (IL-6), monitorace rozsahu zánětlivé odpovědi organismu – cytokinová bouře.
 - Prokalcitonin (PCT)** – nejčastější marker sepse, má vysokou specifitu i senzitivitu pro systémový infekci, pro rychlou dynamiku se používá při řízení ATB terapie (ATB stewardship). Nestoupá při virových afekcích. Pozor na neinfekční elevace (rozpad buněk, tumory).
 - Presepsin (PRES)** – rychlý marker systémového infekčního zánětu, podobné parametry jako PCT, limitace při renálním selhání (je zvýšený). Možnost stanovení POCT.
 - C-reaktivní protein (CRP)** – patří mezi proteiny akutní fáze, vzniká v játrech po stimulaci zánětlivými cytokiny (zejména IL-6), 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, kolagenózy aj. U CRP možnost stanovení POCT.
- Pozor na snížení hladin CRP při biologické léčbě (blokace cytokinů) a při jaterním poškození (snížená proteosyntéza).

Tabulka 9: Markery zánětu

Marker	Vzestup (hod)	Maximum (hod)	Biologický poločas (hod)	Řízení ATB terapie	Poznámka	Rozlišení bakterie x vir
Leukocyty	Do 1		Neu v periferní krvi 6–8 hod, ve tkáni 24–48 hod	Ne	Vysoká nespecifita	NE, omezeně NLR
CRP	4–6	36–48	19	ANO zahájení v primární péči	Snížení preskripce ATB	ANO
PCT	2–3	8–24	22–26	ANO (změna ukončení)	Snížení preskripce, nižší počet ATB dnů	ANO rozliší i G+ a G- agens
PRES	Do 1	3	4–5	NE	Chybí data	Spíš NE
IL-6	0,5–1	2–5	2–6	NE	Chybí data	Chybí data
FW	20	120		NE	Ne	Ne

2.14. INFEKCE HELICOBACTER PYLORI

V rozvinutých zemích *Helicobacter pylori* (Hp) kolonizuje žaludeční sliznici kolem 50 % dospělých. Akutní infekce může proběhnout pod obrazem akutní gastritidy, dlouhodobá přítomnost Hp u **části infikovaných** způsobuje gastritidu chronickou s možnými následnými hyperplastickými nebo naopak atrofickými změnami sliznice. Infekce *H. pylori* má přímou souvislost s peptickým vředem a adenokarcinomem žaludku, je spojována s MALT lymfomem. Většina infikovaných Hp ale žádnou z těchto chorob nevnemocní.

Hlavní faktor patogenity je **produkce ureázy**, která rozkládá močovinu na amoniak (neutralizující žaludeční kyselinu) a oxid uhličitý.

Diagnostika zahrnuje vyšetření vzorků získaných **invazivně (biopticky)** při endoskopii (testy fokální) a testy **neinvazivní** (globální).

Fokální testy (rychlý ureázový test, histologie, kultivace) mohou být (pro nerovnoměrnou kolonizaci žaludeční sliznice) falešně negativní. **Rychlý ureázový test** – bioptická tkáň se vloží do polotuhé půdy s močovinou a indikátorem pH – přítomnost mikroba způsobí změnu barvy média. Lze ho provést přímo na endoskopickém pracovišti. Požadavek na **kultivační vyšetření** je – z důvodu potřeby speciálních půd i přístupu – potřeba laboratoří nahlásit předem. Bývá indikováno (po selhání eradikačních pokusů) k vyšetření citlivosti mikroba na antibiotika. PCR diagnostika není běžně dostupná.

Globální (neinvazivní) testy jsou **dechový test, stanovení antigenu Hp ve stolici, sérologie**. Stabilním izotopem ^{13}C značená močovina podaná při dechovém testu (UBT, urea breath test) je za přítomnosti helicobacteria v žaludku rozložena jeho ureázou a vznikající značený oxid uhličitý je pak prokazován ve vydechovaném vzduchu. Vyšetření mohou podstoupit i děti a těhotné, ani jeho opakování není zátěž. Imunochromatografické (případně ELISA) **stanovení antigenu ve stolici (HpSA, Helicobacter pylori stool antigen) je alternativou** k UBT. Může být falešně negativní v důsledku nedávného užívání antibiotik, inhibitorů protonové pumpy či léků obsahujících bismut. ATB by měla být vysazena 4 týdny a PPI 2 týdny před testováním. Hladiny specifických anti-*H.pylori* protilátek (**IgG, IgA**, event. IgM) v krvi ne zcela přílehavě korelují s aktivitou infekce (negativita nevylučuje akutní infekci, po eradikaci infekce vyklesávají pomalu a ne vždy, vyhodnocení nálezu ztěžuje promořenost populace) – **sérologie není vhodným testem** pro zjištění akutní/aktivní infekce, ani k ověření efektu eradikační léčby.

Pro diagnostiku infekce Hp je vhodné použít dva testy, nejlépe jeden fokální a jeden globální.

Ověření úspěšnosti eradikační léčby se provádí nejdříve za 4 týdny po jejím ukončení. Nejvhodnější je **dechový test**, alternativou je **stanovení antigenu Hp ve stolici**. Je-li pacient po 4 a více týdnech po terapii endoskopován, je správné vyšetřit bioptické vzorky.

Ne vždy je průkaz infekce *H. pylori* důvodem k zahájení eradikační léčby. Ideálně toto posouzení přísluší lékaři specialistovi – gastroenterologovi. Není doporučováno vyšetřovat osoby, u kterých není při zjištění positivity Hp uvažována eradikační terapie.

2.15. HSV INFEKCE

Viry herpes simplex typu 1 a 2 patří mezi lidské herpetické viry, pro něž je charakteristické, že **po primární infekci organismu v něm doživotně přežívají** (tzv. latentní fáze infekce). Při oslabení buněčné imunity se **mohou reaktivovat**. U zdravé populace jsou **vylučovány do tělních sekretů**, čímž dochází k jejich šíření. **Sérologie má význam hlavně v diagnostice primoinfekcí**.

U HSV primoinfekcí lze přibližně po týdnu onemocnění zaznamenat specifické **IgM** (pozitivita přetrvává několik týdnů) a **sérokonverzi** nebo **signifikantní vzestup IgG** v párových vzorcích (odběr po 4–6 týdnech). U **IgG** je běžné **rozlišení jejich typové specifity na HSV-1-IgG a HSV-2-IgG**. Při reaktivaci infekce se IgM mohou, ale nemusí (častěji), objevit znovu, **hladina IgG** bývá v důsledku latence a opakovaných atak infekce **dlouhodobě vysoká**, u některých osob ale může dojít i k jejich poklesu až vymizení.

Metodou PCR lze vyšetřit **materiál z puchýrků** susp. herpetických eflorescencí (kůže, oko), **stěry a výtěry** z různých lokalit (dutiny ústní, rohovky, spojivky, urogenitální výtěr), **krev** (při generalizované infekci nebo infekci novorozence). Při primární i reaktivované HSV infekci může být **poškozen centrální nervový systém** a HSV-DNA je hledána v **mozkomíšním moku**. Metody PCR spolehlivě rozliší HSV-1 a HSV-2. **Častěji reaktivuje HSV-2, HSV-1 encefalitidy se zdají být klinicky závažnější. Posun primoinfekcí HSV typu 1 z dětského do pozdějšího věku se odráží ve zvýšeném podílu HSV-1 na herpes genitalis.** HSV typu 2 může infikovat dutinu ústní při orogenitální sexuální aktivitě.

2.16. CMV INFEKCE

CMV **primoinfekce** může proběhnout pod obrazem **infekční mononukleózy**, v dospělosti také jako **horečnaté onemocnění** spojené s **výraznou únavou** a pocením. Po nákaze je virus **dlouhodobě vylučován močí a slinami**. Cytomegalovirus v hostitelském organismu dlouhodobě **latentně přežívá**, u infikovaných **imunodeficientních jedinců** se chová jako oportunní patogen (**hrozí generalizace infekce** a orgánová poškození – cytomegalovirová pneumonie).

V rozvinutých zemích je zřejmý **posun primární CMV infekce z dětství do dospělosti**. **Primoinfekce v těhotenství** je spojena s **rizikem pro plod** (novorozenci CMV séronegativních matek nejsou chráněni mateřskými protilátkami). Pro rozlišení primární a aktivované cytomegalovirové infekce lze využít stanovení **avidity** (vazebné schopnosti) **IgG protilátek**.

Tabulka 10. Stanovení protilátek při CMV infekci

	CMV-IgG	CMV-IgM	Avidita IgG
Primoinfekce	- → +	+	nízká
Latence	+	-	vysoká
Aktivace	+	+/-	vysoká

PCR diagnostika je vhodná pro časný záchyt aktivace viru u **imunodeficientních** pacientů, kdy sérologická diagnostika není spolehlivá – tvorba protilátek může být zcela utlumena. **Moč** je nejvhodnějším materiálem **pro PCR diagnostiku kongenitální CMV infekce** u novorozence.

2.17. EBV INFEKCE

Infekce EBV (virus Epsteina-Barrové) souvisí s onemocněními: **infekční mononukleóza**, Burkittův a Hodgkinův lymfom, nasofaryngeální karcinom. EBV infikuje B-lymfocyty a latentně v nich perzistuje. Atypické mononukleáry jsou T-lymfocyty likvidující infikované B-buňky. Průkaz EBV infekce je detekcí protilátek uvedených v tabulce 11.

Tabulka 11. Stanovení protilátek při 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

2.18. LYMESKÁ BORELIÓZA

Sérologická diagnostika je **dvoufázová**: stanovení specifických **IgM a IgG screeningovými metodami** (ELISA, CLIA) **následované imunoblotem** (Western blot, LIA) konfirmujícím pozitivní a hraniční nálezy. Kromě krve lze na přítomnost protilátek vyšetřovat také mozkomíšni mok a synoviální tekutinu.

IgM jsou v krvi prokazatelné v prvních týdnech nákazy, IgG se objevují o další 2–4 týdny později. Časté jsou atypické sérologické nálezy: detekovány pouze IgG, absence vystřídání tvorby IgM třídou IgG, protilátky mohou být vyvázané v imunokomplexech, a tedy neprokazatelné. Protilátkovou tvorbu může tlumit časná ATB terapie, jindy jejich pozitivita přetrvává i několik měsíců po léčbě. Při opakovaném testování protilátek je doporučovaný odstup mezi odběry 4–6 týdnů. **Množství a přetrvávání protilátek není parametrem pro hodnocení léčby.**

U erythema migrans (event. boreliového lymfocytomu) **nemusí být protilátky** detekovatelné **vůbec. Při klinice** odpovídající pozdějším stádiím infekce pro podporu její boreliové etiologie **stačí pozitivita specifických IgG**. Při podezření na **neuroboreliózu** a přítomnosti specifických protilátek v krvi i likvoru se stanovuje **tzv. protilátkový index** (AI, antibody index) k odlišení aktivní intratekální protilátkové syntézy od pasivní difuze protilátek z krve do mozkomíšního moku.

Nález specifických boreliových protilátek bez přítomnosti relevantních klinických příznaků by neměl být (pro jejich relativně vysokou prevalenci v populaci) **důvodem k ATB terapii.**

Pro detekci boreliové nukleové kyseliny metodou PCR jsou vhodnými materiály kloubní tekutina, mozkomíšni mok, tkáňová biopsie. **Nejvyšší klinická senzitivita PCR metod je při vyšetření kloubní tekutiny u lymeské artritidy.**

2.19. SEXUÁLNĚ PŘENOSNÉ CHOROBY

Tabulka 12: Laboratorní vyšetření sexuálně přenosných chorob

Onemocnění / Původce	Vyšetřovaný materiál	Detekce - metoda	Poznámka
Kapavka / <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	výtěr (speciální odběrová souprava), moč (první ranní proud), výpotek, sperma, aj.	kultivace + mikroskopie selektivní kultivační půda, v případě pozitivitu možnost stanovení citlivosti na ATB	Sérologické testy (nepřímý průkaz infekce) se nepoužívají. V případě pozitivního nálezu hlášení orgánu ochrany veřejného zdraví.
		průkaz DNA metodou PCR	
Syfilis / <i>Treponema pallidum</i>	srážlivá krev (5 ml) likvor (2 ml)	protilátkové testy a) nespecifické (netreponemové) protilátky proti kardiolipinu VDRL Veneral Diseases Laboratory test, RRR / RPR (rychlá reaginová reakce) b) specifické (treponemové) TPHA (<i>Treponema pallidum</i> hemaglutinační test) EIA (Ezyme Immunoassay)	Specializovaná pracoviště provádějí přímý průkaz patogena ze susp. lézí (tvrdý vřed) metodou PCR či mikroskopickým vyšetřením v zástinu. protilátkový screening = 1 specifický + 1 nespecifický test Vyhláška č. 306/2012 Sb. o podmínkách předcházení vzniku a šíření inf. onemoc.
<i>Chlamydia trachomatis</i>	výtěr (speciální odběrová souprava), moč (první ranní proud), výpotek, sperma, aj.	průkaz DNA metodou PCR	V případě pozitivního nálezu hlášení orgánu ochrany veřejného zdraví.
	srážlivá krev (2 ml)	protilátkové testy a) rodově specifické b) druhově specifické	Negativní protilátkový nálezn nevyklučuje probíhající infekci.

2.20. VYŠETŘENÍ KREVŇÍHO OBRAZU

Krevní obraz (KO), případně krevní obraz s diferenciálním počtem leukocytů (KO+diff), patří mezi základní vyšetření krve, které může poskytnout klinicky podstatnou informaci. Rutinně je indikován v rámci předoperačních vyšetření, při preventivních prohlídkách, při podezření na anémii, infekci, při krvácivých projevech apod. V prvé řadě vždy hodnotíme hlavní tři parametry, tj. počet leukocytů, koncentraci hemoglobinu (obecně důležitější, než počet erytrocytů) a počet trombocytů. V případě nálezu mimo referenční meze potom hodnotíme podrobněji i zbývající parametry. Pokud je přítomna leukocytóza či leukopenie, je vhodné doplnit diferenciální počet leukocytů, pokud nebyl vyšetřen.

Základním parametrem červené krevní řady je koncentrace **hemoglobinu**, hodnota pod referenční rozmezí definuje anémii (fyziologické hodnoty se významně mění dle věku a pohlaví). K rozlišení mikrocytárních, makrocytárních a normocytárních anémií slouží střední objem erytrocytu – MCV (tab. 13), podle středního množství hemoglobinu v erytrocytu (MCH) rozlišujeme anémie normochromní a hypochromní. Šíře distribuce erytrocytů (RDW) odpovídá míře anizocytózy, tj. variaci ve velikosti erytrocytů, např. nález vysoké hodnoty RDW a – MCV je typický pro sideropenickou anémii. Současné analyzátoři umožňují v rámci měření KO zpravidla stanovit i počet **normoblastů**, tj. nezralých forem červené řady (erytroblasty), které bývají vyplavovány do periferní krve u některých patologických stavů (např. hemolytické anémie). Krevní obraz lze doplnit o vyšetření **retikulocytů**, jejichž množství odráží erythropoetickou aktivitu kostní dřeně. Jedná se o důležité vyšetření v diferenciální diagnostice anémií, nízké hodnoty svědčí pro útlum krvetvorby.

Dalším základním parametrem KO je **počet trombocytů**, jejich pokles pod $150 \times 10^9/l$ definuje trombocytopenii, nicméně klinicky významný je až pokles cca pod $80 \times 10^9/l$, kdy již začíná narůstat četnost krvácivých projevů. Novější krevní analyzátoři umožňují měřit i nezralou frakci trombocytů (IPF), vyšší hodnoty odpovídají zvýšené trombopoeze a typicky bývají např. u imunitní trombocytopenie.

KO lze rozšířit o strojový **diferenciální počet leukocytů**, který bývá zpravidla pětipopulační (neutrofilů, lymfocytů, monocytů, eozinofilů, bazofilů). Zásadní je vždy hodnotit absolutní počty subpopulací, nikoli jen relativní (%); příklady změn v diferenciálu jsou v tabulce 14. Některé analyzátoři stanovují jako součást diferenciálu i nezralé granulocyty (IG), které bývají výrazně zvýšené u infekce (sepsy) či některých hematologických chorob (myeloproliferace).

Pokud analyzátoř naměří významně patologické hodnoty KO, nebo je podezření na krevní onemocnění, potom je nutné provést nátěr periferní krve s mikroskopickým hodnocením (manuálně nebo s pomocí nátěrového a barvicího automatu ve spojení s digitálním morfologickým analyzátořem). Mikroskopická analýza poskytne nejen podrobný diferenciální počet leukocytů včetně event. patologických buněk (např. blastů), ale i popis všech krevních elementů a případných dalších patologií (přítomnost parazitů apod.). Příklady abnormálních nálezů v nátěru periferní krve jsou uvedeny v tabulce 15.

Tabulka 13: Využití středního objemu erytrocytu (MCV) v iniciálním hodnocení anémie

↓ MCV	Anémie z nedostatku železa
	Talasémie
Normální MCV	Anémie chronických chorob
	Recentní krvácení
↑ MCV	Deficit vitamínu B12 a/nebo kyseliny listové
	Hemolytická anémie
	Myelodysplázie
	Jaterní choroby

Tabulka 14: Změny v diferenciálním počtu leukocytů

Nález	Příklady možných příčin
Neutrofilie	Akutní infekce, terapie kortikosteroidy, pooperačně, infarkt myokardu
Neutropenie	Post-infekční (zejm. po virózách), poléková, autoimunitní
Lymfocytóza	Některé virové či chronické infekce (EBV, CMV, TBC), chronická lymfocytární leukemie
Lymfopenie	Akutní infekce, srdeční selhání, jaterní či renální selhání, TBC
Eozinofilie	Poléková, alergie, parazitární infekce
Bazofilie	Myeloproliferativní choroby, zánětlivé choroby
Zvýšené nezralé granulocyty (IG)	Zejména časný marker bakteriální infekce (sepsy)

Tabulka 15: Příklady abnormálních nálezů při hodnocení nátěru periferní krve

Nález	Etiologie
Schistocyty	Fragmentované erytrocyty, např. u mikroangiopatické hemolytické anémie (trombotická trombocytopenická purpura), DIC, umělé srdeční chlopně
Shluky trombocytů	Pseudotrombocytopenie (artefakt daný tvorbou agregátů trombocytů v přítomnosti EDTA)
Rouleaux	Agregáty erytrocytů v přítomnosti paraproteinu
Toxická granulace neutrofilů	Těžké infekce, pooperačně apod.
Jaderné stíny (Gumprechtovy)	Zbytky rozpadlých zpravidla maligních leukocytů (arteficiální vznik při nátěru), typický nález u chronické lymfocytární leukemie

2.21. ZÁKLADNÍ IMUNOLOGICKÁ A ALERGOLOGICKÁ VYŠETŘENÍ

Základní imunologické vyšetření je velmi důležité pro diferenciálně diagnostickou rozvahu při podezření na systémové autoimunitní onemocnění (tabulka 16).

Tabulka 16: 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 erythematoses
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.	
Suspektní orgánově specifická autoimunitní onemocnění – výběr	Protilátky proti tkáňové transglutamináze IgA	celiakie
	ANCAb	glomerulonefritidy
	Antifosfolipidové protilátky	trombofilní stavy

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

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.

K posouzení celkové schopnosti reakce imunitního systému na různé patogeny využíváme vyšetření specifických protilátek v izotypech IgG (anamnestická odpověď) a IgM nebo u slizničních patogenů IgA (akutní infekce). Tato vyšetření potvrzují prodělání infekce nebo proběhlou vakcinaci. V případě **vakcinace** jsou také důležitá pro indikace posilujících dávek v případě, že **anamnestické protilátky** významně klesnou nebo jsou negativní. Jasná doporučení pro přeočkování konkrétního pacienta podle hladiny protilátek (mělo by být součástí výsledku) jsou ale, bohužel, stanovena pouze pro protilátky proti tetanu. V ostatních případech se řídíme obecným doporučením o nutnosti přeočkování ve stanovených intervalech mezi jednotlivými dávkami a odhadem postvakcinační imunity podle titru protilátek. Velmi důležité je stanovení protilátek jako důkazu dostatečné postvakcinační imunity proti opouzdřeným bakteriím (pneumokok, haemofilus, meningokok) u pacientů po splenektomii, kteří jsou ohroženi závažným průběhem infekce těmito patogeny

Vyšetření při podezření na **alergie** vychází z anamnézy pacienta – orgánové projevy, spouštěče potíží, sezónnost potíží a také jejich závažnosti (anafylaktický šok). Dle anamnézy volíme vhodné testy in vivo (kožní testy) nebo laboratorní vyšetření (tabulka 17).

Tabulka 17: Základní alergologická vyšetření

Indikace	Metoda	Onemocnění
Dechové potíže, rýma, slzení, kašel, kožní projevy	Celkové IgE Krevní obraz – eozinofilie	Astma, alergická rhinokonjunktivitida, potravinová alergie, ekzém, kopřivka
Suspektní reakce na určitý alergen	Specifické IgE – jednotlivé, směsi alergenů	Alergie na určitý alergen s různými projevy
Akutní alergické potíže	Eosinofilní kationický protein (ECP)	Akutní astma, alergická rhinokonjunktivitida, potravinová alergie, ekzém, kopřivka

2.22. VYŠETŘENÍ LÉKOVÝCH HLADIN A ETANOLU

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 antidepresiva. Nabídku monitorace léků má k dispozici spolupracující laboratoř, ne všechny mají k dispozici všechna diagnostika. Pro výpočet vhodné další dávky léků se používají často softwarová řešení, která jsou schopná zahrnout i věk, stav jater a ledvin a další údaje.

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 záměrné 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 odebírat 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.

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.

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. Zároveň je ale také důležité vždy přesně znát medikaci, kterou předepsal pacientovi jiný lékař, aby nedocházelo k neúmyslnému předávkování účinnou látkou, komerční názvy léků se mohou lišit.

Přítomnost alkoholu – etanolu v organismu je možné prokázat v krvi nebo moči plynovou chromatografií nebo enzymaticky či orientačně ve vydechaném vzduchu.

Jako průkaz abúzu alkoholu se nejčastěji používá CDT – karbohydrát deficientní transferin, který je specifický a stanovuje se v krvi, jeho poločas je přibližně 2 týdny. Je změněn při nedostatku železa, v graviditě, a při používání některých léků. Stanovuje se také přímý metabolit ethanolu – ethyl glukuronid (EtG) v moči a odráží konzumaci etanolu v posledním cca týdnu. Pro vyšetření abúzu etanolu se často užívá kombinace vyšetření GGT a CDT, kdy se zvyšuje senzitivita diagnostiky excesivní konzumace alkoholu nebo stanovení CDT a EtG jako parametrů chronického abúzu. V primární péči je velmi vhodným markerem alkoholového abúzu % CDT.

3. LITERATURA

- Lahoda Brodská H, Kohout P. Laboratorní vyšetření v klinické praxi. Grada Publishing, Praha, 2022. ISBN 978-80-271-3243-0
- Racek J, Rajdl D. Klinická biochemie. Třetí, přepracované a rozšířené vydání. Galén, Praha, 2021. ISBN 978-80-7492-545-0.
- Zima T et al. Laboratorní diagnostika, třetí doplněné a přepracované vydání. Galén, Praha, 2013. ISBN 978-80-7492-062-2
- Zima T, Racek J, Ryšavá R a kol. Doporučení k diagnostice chronického onemocnění ledvin (odhad glomerulární filtrace a vyšetřování proteinurie). Klin. Biochem, Metab. 29 (50), 2021, 2, 94-103.
- Lewiecki EM. Evaluating Patients for Secondary Causes of Osteoporosis. Curr Osteoporos Rep. 2022;20(1):1-12
- Brown JP, Don-Wauchope A, Douville P, Albert C, Vasikaran SD. Current use of bone turnover markers in the management of osteoporosis. Clin Biochem. 2022;109-110:1-10.
- Špičák V, Panzner P. Alergologie. Praha, Galén, 2011. ISBN 978-80-7262-265-8
- Chapel H. Základy klinické imunologie: 1. vydání překladu 6. vydání orig. Triton, Praha, 2018. ISBN 978-80-755-3396-8
- Guder WG, Narayanan S, Eds. Pre-Examination procedures in Laboratory diagnostics. 1. vydání De Gruyter 2015, 410 s. ISBN 978-31-103-3404-3
- Rifai, N (Eds). Tietz textbook of laboratory medicine. 7. vydání Elsevier, 2022. ISBN 978-03-237-7572-4
- Proven D, et al. Oxford handbook of clinical haematology. Oxford University Press, 2015. ISBN 978-01-996-8330-7
- Bartůněk P, et al.: Lymeská borelióza, 4. přeprac. a dopl. vyd. Grada Publishing, Praha, 2013. ISBN 978-80-247-4355-4
- Kolářová L, et al.: Obecná a klinická mikrobiologie. Galén, Praha, 2020. ISBN 978-80-7492-477-4
- Martínek J, Trunečka P. Gastroenterologie a hepatologie v algoritmech. Maxdorf Jessenius, Praha, 2021. ISBN 978-80-7345-684-9
- Urbánek P, Brůha R (ed) Hepatologie, 4. vydání. Grada Publishing, 2022. ISBN 978-80-271-1693-5
- Karen I, Prázný M. Diabetes mellitus. Léčba u starších pacientů. Doporučený postup pro všeobecné praktické lékaře, SVL. ČLS JEP 2023, ISBN 978-80-88280-42-

Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP
Centrum doporučených postupů pro praktické lékaře

Sokolská 31, 120 00 Praha 2

e-mail: svl@cls.cz

<http://www.svl.cz>

ISBN 978-80-88280-47-7



© 2023, Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP