

# Představujeme: Centrální laboratoře



*Budova Centrálních laboratoří / Foto: redakce*

## Laboratorní medicína

Dlouho jsem přemýšlel, jak laboratorní medicínu, se kterou jsem profesionálně spjat více jak tři desítky let, představit veřejnosti tak, aby to alespoň částečně pomohlo čtenáři se orientovat ve velmi komplikované, běžnému smrtelníkovi dobře ukryté problematice. Několikrát jsem začal psát článek, ale vždy jsem po přečtení zjistil, že zabíhám do obtížně srozumitelných detailů nebo vývojové faktografie.

Rád bych čtenáři přiblížil problematiku očima lékaře, který v minulosti obtížně hledal odpovědi na otázky z každodenní lékařské praxe v literatuře a u zkušených klinických kolegů. Díky doporučení velmi erudovaného kolegy jsem je někdy nacházel až při konzultacích s hloubavými laboratorními odborníky.

Množství lékařských oborů a rozsah poznání přirozeně omezuje možný časový prostor pro výuku biologie

a chemie na lékařské fakultě. Všechny lékařské obory nelze plně uspokojit v časových požadavcích pro výuku ani při šestiletém studiu. Student je odkázán na dovednosti svých učitelů nasměrovat pozornost správně na pochopení podstaty problémů. K získání odbornosti vede především vlastní aktivita, individuální studium a samozřejmě kvalitně vedená praxe.

Je úctyhodné, že primáři některých oddělení považují za vhodné, aby si „budoucí atestovaný lékař“ v době své přípravy těž rádně prošel klinické laboratoře a snažil se poznat, čím mohou laboratoře lékaři pomoci a co reálného lze od laboratoří očekávat. Někteří kolegové považují seznamovací pobyt za zbytečnou ztrátu času s přesvědčením, že vše potřebné je ve výsledkovém listu a že mohou hned na první pohled vidět graficky

nálezy mimo referenční meze. To se jim jeví plně dostačující pro praxi.

Moderní medicínská praxe je do značné míry závislá na dobré práci komplementárních oborů (laboratorních a zobrazovacích metod). Na druhé straně pro kvalitní interpretační činnost jsou tyto obory velmi závislé na informacích a správně položených otázkách z klinických pracovišť.

Z vlastní zkušenosti vím, že přechod z klinické praxe do laboratorních provozů mění úhel pohledu na medicínu a její diagnostické možnosti. Je to především výzva k dialogu, dalšímu hledání a nacházení cest a cestíček, jak pochopit a nejlépe používat diagnostické nástroje, které jsou vhodné pro klinickou praxi. Práce v laboratořích je zároveň výzva ke studiu a doplňování znalostí ve fyziologii a patofyziologii, biochemii

a patobiochemii, buněčné biologii a mnoha dalších oborech včetně funkční diagnostiky, mnohdy ve vazbě na výstupy zobrazovacích vyšetření.

Za posledních 40 let došlo k neuvěřitelnému rozvoji laboratorních metod a jednotlivých laboratorních oborů. V 80. letech minulého století nastupovala v laboratořích „vědecko-technická revoluce“ ve formě počítačů, automatických analyzátorů a překotným nárůstu vědeckých poznatků především molekulární genetiky! Fascinující! Velmi brzo jsem pochopil, že to nejcennější v laboratořích jsou opravdoví laboratorní nadšenci, věnující se s pokorou a naplno své

výměnu informací a znalostí. Nesmíme zapomenout na práci sester. Správně provedená příprava pacienta a správně provedený odběr biologického materiálu, včetně dodržení podmínek pro transport, jsou nezbytné pro kvalitní laboratorní diagnostiku a komplexní péči.

Tak jako se nám neustále rozšiřuje s vývojem techniky pohled do našeho makro vesmíru, tak v obráceném gardu se ponořujeme do objevování mikrosvěta, od úrovně buňky a mikroorganismů po molekulární až subatomární struktury. S tímto trendem je spojen i rozvoj laboratorních oborů v naší nemocnici

Laboratorní vyšetření má směřovat k podpoře diagnostiky nemocí, ideálně k jejich prevenci, posouzení stádia a aktivity choroby a samozřejmě ke sledování účinnosti a záchytu komplikací léčby, případně též k výzkumným účelům. Důvodů k požadování laboratorních vyšetření může být tedy celá řada. To základní, co by si měl lékař uvědomit ještě před tím, než začne vyplňovat žádanku je: zda požadované laboratorní vyšetření je schopno prospět diferenciální diagnostickým úvahám, zda může ovlivnit léčebný postup, zda jsme podle něj schopni odhadnout pacientovu prognózu a tím ovlivnit sekundární preventivní opatření formou volby léčebného postupu. Pro pacienta jsou rozhodující správně volená a správně provedená vyšetření s kvalifikovanou interpretací. Laboratorní specialista může efektivně pomoci v případech doplňkových dotazů a při pochybnostech.

Práce v laboratoři, pokud ji bereme poctivě, je velmi tvrdé procesní řízení. Je nezbytné vědět pro koho děláme a co děláme. Tyto požadavky převádíme do analytiky, informatiky a logistiky provozu ve formě definovaných standardních postupů. Jako akreditovaná laboratoř jsme povinni nastavit několikastupňové kontrolní mechanismy a pravidelně je prověřovat s důrazem na kritické procesy. Zkráceně to znamená důsledná příprava a kontrola laboratorních postupů ještě před zavedením do zkušebního testování, tedy česky řečeno uznání vhodnosti pro dané užití a následné ověření, že to pro praxi opravdu funguje. Samozřejmostí je každodenní kontrola analytických systémů a důsledné kontroly všech výsledků, většinou na více stupních. Každá laboratoř má svůj systém kontroly kvality a provádí pravidelně revize všech postupů. Je to cyklická, nikdy nekončící práce, jejímž cílem by mělo být úsilí ke zvyšování kvality a též snaha o optimalizaci nákladů, nejlépe jejich snižování.



Ředitel úseku centrálních laboratoří MUDr. Miroslav Verner, EuSpecLM / Foto: Jan Luxík

profesi. Laboratorní technika je pouhý nástroj. To důležité je, jak tento nástroj používáme. Smyslem laboratoří není chrlit data. Nejpodstatnější pro reálnou medicínskou praxi je dokázat využít správná laboratorní a klinická data pro tvorbu užitečné informace pro rozhodování ošetřujícího lékaře za účelem prospěchu pacienta. (interakce lékař – laboratoř – lékař; otázka – tvorba informace – nabídnutí odpovědi). Na tom je potřeba založit výchovu klinických a laboratorních pracovníků a vzájemnou

(stručný pohled na historii předkládám v jiném článku). V posledních desetiletích jsme schopni analyzovat genetickou informaci nejen humánní, ale i extrahumánní, a konfrontovat ji s klinickými projevy. Můžeme hledat molekuly, sledovat přeměnu látkovou a funkci jednotlivých orgánů a systémů, včetně regulačních mechanismů na různých úrovních. Laboratorní medicína je tímto schopna dodávat zcela zásadní informace pro klinické rozhodování.



*Kolektiv lékařských konzultantů Centrálních laboratoří / Foto: Jan Luxík*

*zleva: MUDr. Nada Mallátová, MUDr. Pavel Žampach, MUDr. Dana Teislerová, MUDr. Marie Mikolášová, MUDr. Magdalena Horníková, MUDr. Michal Pařha, MUDr. Magda Balejová, MUDr. Jan Vojtíšek, MUDr. David Šůs, MUDr. Petra Dovinová, MUDr. Eva Kantorová, MUDr. Michal Sýkora, MUDr. Miroslav Verner*

S rozvojem technologií dochází pravidelně i k restrukturalizacím provozů. Pro dobrou týmovou spolupráci mezi klinickými obory a různými laboratorními provozy je vhodné sjednocení laboratoří prostorově, logisticky a odborně. Organizační vedení Centrálních laboratoří (CL) tvoří vedoucí jednotlivých laboratoří, kteří řídí ve své struktuře jednotlivá pracoviště. V CL jde o LKCHI (laboratoře klinické chemie, hematologie, imunologie), kterou vede Ing. Marie Kašparová, která je zároveň vedoucí bioanalytik, koordinátor logistiky a manažer kvality CL. Dále LKMB (laboratoře klinické mikrobiologie: - bakteriologie, parazitologie a mykologie, virologie), kterou vede MUDr. Magda Balejová, a LMBG (laboratoř molekulární biologie a genetiky) pod vedením Mgr. Ondřeje Scheinosta. Jmenovaným patří mé velké poděkování za kooperaci při řešení rozvojových a běžných provozních problémů! Extrémně si to „užili“ v „Covidové době“. Stejně tak patří díky všem pracovníkům CL, kteří se aktivně podílejí na naší společné práci.

Pro fungování CL je důležité dobře definovat problém či požadavek, vytvořit si systémový pohled a připravit

plán pro jeho řešení. Některé vyšetřovací metody je vhodné umístit k lůžku pacienta, jiné do nepřetržitého společného provozu, ostatní do příslušných oborových pracovišť.

Čas a pokrok běží neúprosně. V blízké budoucnosti je naprosto nezbytné pro udržení kvality zajistit kontinuální výchovu, případně získání kvalifikovaných, odborně motivovaných pracovníků nejen pro přirozenou generační obměnu, ale i rozvoj laboratorní diagnostiky. Zvyšující se nároky na rychlost provedení a nárůst množství požadavků (700.000 žádanek za rok 2021) nás vede k nezbytné nové modernizaci a restrukturalizaci provozů. Abychom správně využili technologické možnosti, budeme nuceni rozvíjet též informační technologie a zavádění prvků umělé inteligence, které nám umožní podpořit expertní činnosti s přenosem informací a znalostí z a do klinické praxe.

Pevně věřím, že úsilí všech pracovníků CL přispěje i nadále k vysokému standardu poskytované zdravotní péče a udržení vysokého hodnocení naší nemocnice v rámci nemocnic v ČR.

■ **MUDr. Miroslav Verner, EuSpecLM**  
*ředitel úseku centrálních laboratoří*

## **PS.**

Vzpomínám na slova svého školitele MUDr. Josefa Stárka: „Kolego, nejlepší učebnici je poctivě dělaná medicína podpořená soustavným studiem a konzultacemi při hledání odpovědí na otázky, které se Vám denně vynoří v mysli v souvislostech s vaší prací. Je na vás, zda budete na otázky hledat odpovědi, či je jen pomínete a zůstanete u škatulek. Škatulky pro začátek a orientaci vůbec nejsou špatné, ale pokud chcete s něčím pracovat, tak to většinou musíte z té škatulky vyndat. Možná, že to po pečlivém prozkoumání zařadíte zpět na původní či jiné místo. Také možná pořídíte škatulku zcela novou či přestanete se škatulkováním za každou cenu. Chci Vám připomenout to, co znali i naši předci, např. Thomas S. Eliot: „Neměli bychom přestávat zkoumat. Na konci všech bádání se dostaneme na začátek a konečně ho pochopíme“. Je to o filozofii medicíny. Nechtějte pochopit všechno dopředu, ale pečlivě zkoumejte podstatu toho, co řešíte. Zpočátku si kladte ty jednoduché otázky a pokuste si je sám před sebou poctivě zodpovědět. Teprve poté by měly následovat ty složitější“. Dobrému zdravotnickému pracovníkovi nestačí jen prosté studium knih, potřebuje praxi a naučit se práci v týmu!!!

# Historie laboratorní medicíny a vznik centrálních laboratoří

Laboratorní medicína je jednou z nejlépe utajených oblastí moderní medicíny. Počátky rozvoje různých laboratorních zkoumání v Česku se datují do druhé poloviny 19. století, kdy se objevovaly zárodky prvních oborů, konkrétně lékařské chemie, mikrobiologie a hematologie. Většinou to záviselo na věhlasných univerzitách a na osobnostech, které stály u jejich zrodu. Historie medicíny je též obsáhlý obor, proto se zaměřím v základních a zjednodušených rysech na novodobou historii z přelomu 20. a 21. století.

Na začátku 20. století byly laboratoře v českobudějovické nemocnici součástí prosektury. Primariát Centrálních laboratoří byl zřízen v únoru 1936, prvním primářem byl MUDr. František Barták. Po druhé světové válce se začaly diferencovat různé laboratorní obory a vznikaly samostatné primariáty lékařské chemie, hematologie, imunologie, mikrobiologie s dalším oborovým dělením na bakteriologii, parazitologii, mykologii a virologii. Později vznikly laboratoře nukleární medicíny a na konci 80. let laboratoře cytogenetiky. Laboratoře byly vybudovány také při patologii, soudním lékařství, klinické farmakologii a nesmíme zapomenout na laboratorní část transfúzního lékařství. S omluvou všem vynechám v tomto příspěvku výčet důležitých osobností, zmíním pouze prof. MUDr. Vladislava Potužníka, Dr.Sc., vlivného mikrobiologa, který po sobě zanechal celou řadu významných žáků. Nedávná historie se díky snaze o organizační sjednocení laboratorní medicíny svým způsobem vrací ke kořenům ze začátku 20. století. Rozvoj jednotlivých laboratorních



Zleva: generální ředitel MUDr. Břetislav Šhon, hejtman Jihočeského kraje RNDr. Jan Zahradník a Ing. Miroslav Kalousek při slavnostním zahájení provozu Centrálních laboratoří v nových prostorách, rok 2005, Foto: archiv Centrálních laboratoří

oborů a nárůst počtu prováděných vyšetření, někdy stejných na různých místech, vedl k celkové nepřehlednosti a někdy i k jisté míře rivality mezi jednotlivými laboratorními provozy. V roce 1996 byly laboratoře v Nemocnici České Budějovice, a.s. na celkem 14 místech. Vedení nemocnice dospělo v témže roce k plánu vytvořit projekt moderních centrálních laboratoří. Ideový záměr byl zpracován v roce 1998. Cílem projektu bylo sjednotit většinu laboratorních provozů do jedné budovy s jednotným příjmem biologického materiálu. Nepřetržitý provoz klinické chemie a hematologie podpořit vysokou mírou automatizace. Zajistit správnou distribuci biologického materiálu na specializovaná pracoviště a minimalizovat zbytečná duplicitní technologická řešení. Aby vše řádně fungovalo podpořit projekt informačními systémy.

V roce 2002 byl dokončen finální projekt přestavby dnešní budovy L, bývalé psychiatrie. Přestavba budovy byla dokončena v roce 2005

s nákladem 130 milionů korun. Po přestěhování do budovy docházelo k reorganizaci provozů a v roce 2007 i k sjednocení informačního systému v CL. Poté bylo zahájeno projektování modernizace technologického vybavení a v roce 2010 proběhla i samotná modernizace přístrojového vybavení CL v rámci regionálního operačního programu s náklady převyšujícími 100 milionů korun. V roce 2012 následovala technologická modernizace části laboratoří lékařské mikrobiologie. Již od roku 2015 jsme díky rozvoji technologií a opotřeбенí některých systémů zahájili postupné doplňování a obměnu dosluhujících přístrojů.

Centrální laboratoře Nemocnice České Budějovice patří svou strukturou a vybavením ke špičce české a evropské laboratorní medicíny. V současnosti zaměstnávají 40 lékařů a bioanalytiků, 100 laborantů a 17 ostatních pracovníků.

■ **MUDr. Miroslav Verner, EuSpecLM**  
ředitel úseku centrálních laboratoří

# Laboratoř klinické chemie, hematologie a imunologie

**Laboratoř klinické chemie, hematologie a imunologie (LKCHI) je multioborovou laboratoř, která zahrnuje tři oborová pracoviště: Pracoviště klinické chemie, Pracoviště hematologie a Pracoviště imunologie.**

## Pracoviště klinické chemie

Počátky vzniku Pracoviště klinické chemie, dříve pod názvem Laboratoř biochemie, lze datovat v naší nemocnici do poloviny padesátých let minulého století. Již tehdy byla biochemická laboratoř spojená s hematologickou laboratoř pod názvem Centrální laboratoř. Biologické vzorky se z nemocnice donášely na „Centráлку“, tenkrát používaný název spojené laboratoře. Laboratoř byla umístěná v suterénu tehdejšího chirurgického pavilónu a její provoz byl nepřetržitý. Časem došlo k osamostatnění jednotlivých laboratoř. Primářem biochemické laboratoře byl tehdy MUDr. Jan Vyhnálek, uznávaný odborník v oboru klinická biochemie a zároveň výborný chemik, což bylo velkou výhodou pro zavádění nových vyšetřovacích metod, kdy se přímo v laboratoři připravovaly potřebné chemické roztoky z tzv. „kuchařky“, kde byly rukou psané postupy přípravy pracovních roztoků. Krev se odebírala do skleněných zkumavek, které se v laboratoři po použití myly a vracely zpět na oddělení pro potřeby dalších odběrů. Mezi základní biochemická vyšetření patřilo chemické a mikroskopické vyšetření moče, stanovení jaterních enzymů, srdečních enzymů, minerálů, vyšetření funkčnosti ledvin, glukózy, a dokonce se již stanovoval velmi složitou metodou ethanol v krvi. Bez znalosti klasické analytické chemie byl v té době téměř nemožný rozvoj laboratoře, o možnosti nákupu diagnostických souprav ze zahraničí se nedalo vůbec



*Laboratoř základního vyšetření moče v roce 1986, vpravo laborantka Věra Sauerová / Foto: archiv laboratoře*

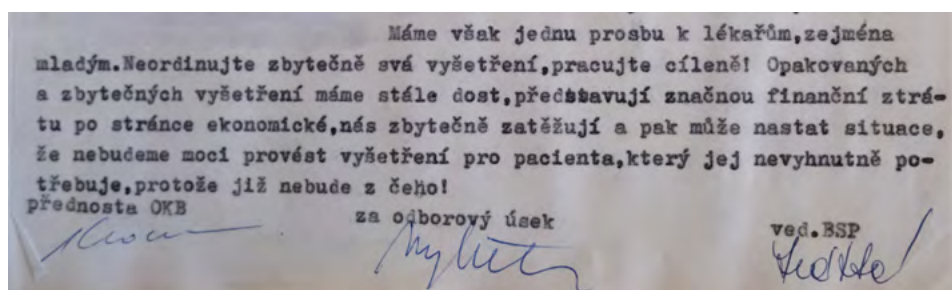
uvažovat, komerční výroba v tehdejší Československu byla v počátcích. V roce 1970 se biochemická laboratoř přesunula ze stísněných prostor do nově upravené laboratoře opět v suterénu Chirurgického oddělení. V té době pracovalo v laboratoři deset laborantek a jedna vrchní laborantka, tehdy paní Věra Voříšková. Zároveň zde začal pracovat na částečný úvazek další lékař MUDr. Miroslav Klouda, který se později stal v roce 1980 primářem biochemické laboratoře. Postupně se rozšiřovalo portfolio nabízených biochemických vyšetření. Standardně se začalo vyšetřovat tzv. okultní (skryté) krvácení ve stolici k včasnému zachytu nádorového onemocnění tlustého střeva; toto vyšetření je modernějšími vyšetřovacími metodami prováděné do dneška a má stále velký význam. Mezi další vyšetřovací metody patřilo například stanovení novorozeneckého bilirubinu k odhalení novorozenecké žloutenky, která může mít vliv, kromě

jiného, na závažné poškození centrální nervové soustavy novorozence. Vzdělával počet pracovníků laboratoře, v roce 1974 jich bylo už 24 a postupně zde uplatnili své odborné znalosti bioanalytici, absolventi vysokých škol se zaměřením na chemii a přírodní vědy. Ti převzali odpovědnost za zavádění a „vývoj“ nových metod. K dispozici byla dokonce dnes často používaná metoda stanovení glykovaného hemoglobinu k určení kompenzace diabetu mellitu (cukrovky). Není bez zajímavosti, že v té době speciální odběry krve u lůžka pacientů prováděly laborantky (odběr na vyšetření krevních plynů pro potřeby intenzivní péče). V roce 1986 přišlo další stěhování do přízemí Psychiatrického oddělení, které přineslo na tehdejší dobu moderně vybavené prostory. Postupně se rozšiřovala paleta vyšetřovacích metod, jako například podrobnější vyšetřování mozkomíšního moku, toxikologická vyšetření, rozvíjela se spolupráce

s hemodialyzačním střediskem, jednotkami intenzivní péče a postupně s technickým dovybavováním také vzrůstal počet prováděných vyšetření. Do té doby převážně manuální práce byla nahrazována prvky automatizace. Postupně byly pořízovány moderní analyzátoři většinou tzv. západní provenience (vůbec první se jmenoval EPOS) a první komerční diagnostické vyšetřovací soupravy, některé i zahraniční. K dispozici byly již možnosti nákupu reagentů domácí výroby, tenkrát nejznámějším výrobcem byla Lachema. Postupně se zlepšoval i systém řízení kvality laboratorních vyšetření díky

možnosti nákupu kvalitních nezávislých kontrolních materiálů a možnosti mezilaboratorního porovnání výsledků, které zajišťovalo shodu výsledků ve všech laboratořích v republice. Postupně se přecházelo k pořízování počítačů, a tudíž z ručně psaných výsledků na výsledky tištěné. V roce 1989 byla dokončena výstavba nového pavilonu Laboratoře klinické biochemie a na podzim proběhlo stěhování do zbrusu nově vybavených prostor. V té době byly v laboratoři již automatické analyzátoři, které eliminovaly část ruční práce, laborantky se mohly více věnovat odborné části práce, dále

docházelo k postupnému rozšiřování spektra vyšetření včetně speciálních vyšetření, např. stanovování některých hormonů či hladin léků, a snižování doby odezvy vyšetření, tj. většina výsledků vyšetření byla k dispozici ještě v den odběru vzorku. Postupně díky „otevření oken do světa“ po roce 1989 došlo v laboratoři k technologickému boomeru zaváděním moderních analytických technologií a přístupů. Bez počítačů a odpovídajícího softwarového vybavení by již nebylo možné zajistit vyšetření několika set vzorků denně. Dále bylo nutné dodržovat pravidla vykazování laboratorních výkonů zdravotním pojišťovám. Postupně, jak šel čas, docházelo v naší nemocnici k optimalizaci vnitřní laboratorní sítě. Průběžně probíhající modernizace laboratorního vybavení nabízela rozšiřování i specializovaných metod, takže na základě těchto možností docházelo ke slučování laboratoře klinické biochemie s dalšími samostatnými laboratořemi nemocnice. Na začátku devadesátých let minulého století došlo k přistěhování laboratoře klinické farmakologie. Touto konsolidací bylo dosaženo optimálního využívání přístrojové techniky, výsledky stanovování hladin některých léčiv byly dostupnější, rozvíjela se toxikologická problematika, zejména v oblasti intoxikace léčivy. Začaly se stanovovat kromě jiného i hladiny imunosupresiv, tj. léků, které jsou nedílnou součástí léčby pacientů po transplantacích. V roce 1997 se součástí biochemické laboratoře stala laboratoř klinické biochemie z bývalé okresní (vojenské) nemocnice. V roce 2000 pak proběhlo přistěhování laboratoře nukleární medicíny, která se specializovala zejména na stanovení hormonů a některých nádorových markerů. Pro vyšetřovací metody však byly používány radioaktivní látky, které byly nebezpečné jak pro pracovníky laboratoře, tak pro životní prostředí. Tyto metodiky byly postupně nahrazeny stejně kvalitními „neradioizotopovými metodami“, které jsou ve většině případů používány do dnešní doby a nepotřebují speciální zacházení z hlediska bezpečnosti práce.



Poselství z roku 1988 vyslané lékařům, záznam z kroniky ze zprávy z činnosti pracovníků na Oddělení klinické biochemie / Foto: archiv laboratoře



prim. MUDr. Miroslav Klouda u prvního biochemického analyzátoru / Foto: archiv laboratoře



předpokládá, že vyšetření bude spolehlivé. Naopak laboratoř po provedení vyšetření a jejich přenosu klinikovi předpokládá, že výsledky budou správně interpretovány a povedou k volbě adekvátní diagnosticko-léčebné strategie.

Všechny biologické vzorky, které jsou dodávány do Centrálních laboratoří, jsou přijímány na centrálním příjmu. To je místo, kterým každý den projde více než 3000 vzorků krve, moče a dalších. Pracovníci centrálního příjmu musí vzorky roztrždit a co nejrychleji rozeslat do jednotlivých laboratoří a pracovišť Centrálních laboratoří. Vzorky, které přicházejí s požadavkem urgentního (co nejrychlejšího) zpracování, mají vždy přednost z důvodu kritického zdravotního stavu pacienta.

## A jak vypadá dnešní Pracoviště klinické chemie?

Pracoviště klinické chemie (PKCH) provádí v nepřetržitém provozu komplex laboratorních diagnostických vyšetření, od základních biochemických testů až po vysoce specializované analýzy. PKCH se vnitřně dělí na čtyři pracoviště.

*Ing. Marie Kašparová, vedoucí Laboratoře klinické chemie, hematologie a imunologie, zástupce ředitele úseku centrálních laboratoří / Foto: redakce*

V roce 2006 se součástí laboratoře stala toxikologická laboratoř Oddělení soudního lékařství. V témže roce došlo k integraci hematologické laboratoře. Díky výše popsané konsolidaci a optimalizaci jednotlivých laboratorních provozů v souladu se světovými trendy zejména v možnostech zavádění a používání moderní přístrojové techniky už laboratoře nového typu nezaujímají z hlediska jednotlivých laboratorních odborností pouze jednu odbornost, ale z důvodu multioborové koncepce se setkáváme s názvem používaným i v zahraniční literatuře – místo laboratoř klinické biochemie se říká laboratoř klinické chemie.

Jak tedy dnes pohlížíme na laboratoře, tudíž i na laboratoř (pracoviště) klinické chemie? Co se od nás očekává a co se snažíme naplňovat? Moderní medicína se stále více opírá o výsledky laboratorních a pomocných vyšetření. Paralelně s tímto trendem rostou požadavky na profesionalitu zdravotnických pracovníků a jejich činnost v souladu s pravidly etiky. Správná indikace vyšetření, odběr,

identifikace, zpracování, uchovávání a transport vzorků do laboratoře, kde je vzorek přijat a připraven k analýze, hrají významnou roli v poskytování kvalitní lékařské péče. Lékař odesílající materiál



*Kolektiv Pracoviště klinické chemie / Foto: redakce*

Jádrem PKCH je vysoce automatizované pracoviště CORE. Je vybavené plně automatickou linkou s kapacitou zpracování několika set vzorků denně. Nabízí vyšetření běžných biochemických parametrů, jako jsou např. vyšetření sloužící k posouzení funkčnosti ledvin, stanovení hladin krevních lipidů, všeobecně známé stanovení cholesterolu a jeho frakcí, tzv. hodného cholesterolu HDL a zlého cholesterolu LDL, vyšetření jaterních enzymů, srdečních enzymů, glukózy a minerálů, jako je např. vápník, sodík, draslík a hořčík. Dále jsou v tomto sofistikovaném analytickém systému prováděny i speciální analýzy, např. vyšetření hormonů štítné žlázy, pohlavních hormonů, těhotenského hormonu (hCG), vyšetření k diagnostice a monitorování srdečních onemocnění, jako je např. infarkt myokardu (troponin). Nedílnou a velmi významnou součástí nabízeného spektra vyšetření je vyšetření umožňující záchyt a následné monitorování vývoje nádorových onemocnění. Mezi nově zavedené metody patří stanovení PHI (index zdraví prostaty). Jedná se o stanovení hodnot, které slouží k určení rizika výskytu karcinomu prostaty a velmi výrazně zlepšuje diagnostiku karcinomu



Automatická linka v laboratoři CORE I (biochemické analyzátoři dnes) / Foto: Jan Luxík

prostaty; toto vyšetření provádíme spádově pro urology v celém Jihočeském kraji. Pomocí speciálních laboratorních vyšetření lze odhalit těhotenské gestózy, které mohou na životě ohrozit jak matku, tak plod. Tato diagnostika může nepříznivý stav včas odhalit a přispět tak k zahájení adekvátní léčby. 24 hodin denně je k dispozici stanovování hladin antibiotik k optimalizaci léčby. Velmi časté je

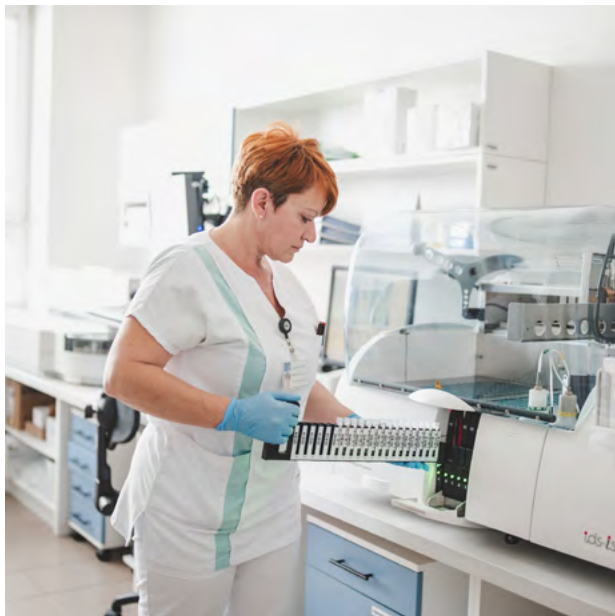
v současné době vyšetřování vitamínu D, v nabídce pracoviště jsou i další vitamíny, zejména řady B. V popředí zájmu je odbornou veřejností neustále diskutovaná včasná laboratorní diagnostika sepsí a jejich monitorování pomocí stanovení prokalcitoninu, C-reaktivního proteinu a v případě novorozenců i často používané stanovení interleukinu 6 i v pupečnickové krvi. Poskytujeme kompletní vyšetření týkající se kostního metabolismu, tj. záchyt a účinnost léčby osteoporózy.



Mezi specializovaná vyšetření patří komplexní vyšetření mozkomíšního moku. Mozkomíšní mok, který je z laboratorního hlediska chápán jako „vzácná“ tekutina, je vyšetřován z hlediska zastoupení jednotlivých látek, jako je např. bílkovina, glukóza, laktát aj., a dále je prováděno kvalitativní zhodnocení a určení morfologie buněk. Vyšetření může pomoci při onemocněních centrální nervové soustavy, tedy mozku a míchy. Pomáhá odlišit zánětlivá onemocnění buď hnisavá, nebo nehnisavá. Může odhalit krvácení do mozkomíšních cest. Následně pak odlišit čerstvé či již proběhlé krvácení anebo odhalit krvácení pokračující. V neposlední řadě má pak nezastupitelný význam

Bioanalytici a technik Pracoviště klinické chemie, zleva Ing. Jana Pinlová, Ing. Vít Benda, Mgr. Petra Oušková, Bc. Jaromír Hrůza, Ing. Josef Gottwald / Foto: Jan Luxík





Laborantka Zuzana Zikmundová u analyzátoru na vyšetřování speciálních hormonů / Foto: Jan Luxík



Kolektiv Toxikologické laboratoře / Foto: Jan Luxík

při záchytu nádorových buněk, a to často i dříve, než je toto zjistitelné jiným způsobem. Někdy je jedinou metodou, která dokáže onemocnění odhalit. Hodnocení cytologických preparátů provádí klinický neurolog. Jedná se o komplexní hodnocení likvoru naším lékařem neurologem specialistou MUDr. Rostislavem Srkalem, a to s ohledem na klinický obraz. Důležitá je i multioborová spolupráce s jednotlivými dalšími odbornostmi, zejména s Infekčním, Neurologickým a Neurochirurgickým oddělením.

Další významné biologické materiály, které lze získat neinvazivně (tj. odběr není pro pacienta náročný), mohou laboratorními vyšetřeními přinést nepřeberné množství informací o zdravotním stavu pacienta. Jedním z takových materiálů je moč. Mezi všeobecně známé vyšetření patří tzv. chemické, kdy na základě jednotlivých chemických zkoušek určujeme např. bílkovinu v moči, glukózu a další. Při mikroskopickém vyšetření moče laboratoř pátrá např. po výskytu erytrocytů a leukocytů v moči a dalších nežádoucích elementech, jejichž nálezy může svědčit pro přítomnost zánětu. Zachyceny mohou být i nádorové buňky. Vyšetření stolice

se zaměřuje na zachycení tří hlavních patologických procesů. Krvácení, které může signalizovat závažné nádorové onemocnění; toto vyšetření je doporučeno provádět u všech osob nad padesát let věku pravidelně každý rok. Záněť, kdy se jedná o stanovení kalprotektinu, jehož výše odpovídá tíži střevního zánětu. Pomocí stanovení hladin kalprotektinu lze monitorovat

např. úspěšnost biologické léčby střevních onemocnění. Mikroskopickým vyšetřením vzorků stolice lze odhalit poruchy procesu trávení projevující se přítomností např. škrobů, tuků, svalových vláken ve stolici.

Pracoviště speciálních metod provádí biochemická vyšetření s použitím elektroforetických a chromatografických



Laboratoř vyšetření hladin alkoholu v krvi – Kamila Tomková, Ing. Josef Gottwald / Foto: Jan Luxík



*Vzorky pro průkaz těkavých látek v krvi metodou plynové chromatografie / Foto: Jan Luxík*

technik zaměřených na analýzu proteinů. Významným vyšetřením krve je stanovení glykovaného hemoglobinu, které vypovídá o dlouhodobém stavu hladin glukózy (tři měsíce) pacientů s cukrovkou. Podrobné vyšetření skladby bílkovin krve elektroforetickými metodami umožňuje zachytit atypické proteiny, které mohou svědčit o onemocnění, např. mnohočetném myelomu. V této oblasti, při záchytu i monitorování léčby, velmi úzce spolupracujeme s hematologickou ambulancí nemocnice a nefrologií. Chromatografické analýzy jsou využívány hlavně v oblasti terapeutického monitorování léčiv, jako je např. stanovení hladin antiepileptik, sledování léčby u epilepsie. Dále stanovení různých imunosupresiv (léčba pacientů po transplantaci) pro optimalizaci léčby pacientů.

Pracoviště klinické a soudní toxikologie pod vedením Ing. Josefa Gottwalda velmi úzce spolupracuje s lékaři Soudnělékařského oddělení v oblasti toxikologických analýz biologického materiálu získaného v rámci provádění zdravotních a soudních pitev.

Zároveň se podílí na vypracovávání soudněznaleckých expertíz. Dále se zaměřuje na soudnětoxikologickou analýzu biologických vzorků na žádost Policie ČR a dalších subjektů, zejména v oblasti analýzy návykových látek v dopravě. Veškerá vyšetření jsou

prováděna pro potřeby celého jihočeského regionu. Co se týká klinické toxikologie, ta je zaměřená především na diagnostiku akutních a chronických intoxikací léčiv a sledování abstinence včetně kontroly zneužívání návykových látek (drog jako marihuana, pervitin, kokain, zneužívané léky a další).

PKCH rovněž zajišťuje provádění různých zátěžových testů včetně jejich hodnocení. Jedná se např. o realizaci a vyhodnocování glukózového tolerančního testu u těhotných pro včasný záchyt gestačního diabetu (těhotenské cukrovky).

Vybraní pracovníci PKCH odebírají žilní krev u dětí nad deset let a dospělých v odběrovém traktu CL. Odběr žilní krve se provádí u pacientů s požadavky na laboratorní vyšetření prováděná v CL. Vybraní odborní pracovníci PKCH úzce spolupracují s ostatními odděleními nemocnice v oblasti poradenství a podpory v rámci programu laboratorního vyšetřování v místě péče o pacienta (POCT, Point of care testing). Týká se to zejména oblasti intenzivní péče a urgentního příjmu nemocnice, kde tento způsob vyšetření může vést k usnadnění diagnostiky z hlediska místa a času.



*Vedoucí laborantky Pracoviště klinické chemie a Pracoviště hematologie zleva: Petra Šandová, DiS., Bc. Hana Votrubová / Foto: Jan Luxík*

PKCH poskytuje, mimo vlastních analýz, také služby v oblasti indikace a interpretace vyšetření. Důležitá je i multioborová spolupráce s jednotlivými dalšími laboratorními i klinickými odbornostmi v rámci kraje, a i celé republiky včetně fakultních pracovišť.

V PKCH pracuje osm vysokoškolsky vzdělaných pracovníků se specializovanou způsobilostí a 33 laborantek, z nichž většina má specializaci v oboru klinická biochemie.

■ **Ing. Marie Kašparová**

### Pracoviště hematologie

Oddělení klinické hematologie jako samostatné vzniklo v šedesátých letech minulého století jakožto jednotka zaměřující se na nemoci krve a krevního srážení. Součástí tohoto oddělení byla hematologická ambulance a laboratoř hematologie. Obě části prošly od svého vzniku bouřlivým vývojem. Počátky hematologické laboratoře jsou charakterizovány převážně ručním zpracováním vzorků náročným na čas, prostor i personál. Od roku 1975 začala do hematologické laboratoře ve větší míře pronikat technika – hematologické a koagulační analyzátoři – a tento vývoj akceleroval počátkem devadesátých let zaváděním výpočetní techniky. Tento technický vývoj umožnil zvýšit počet prováděných vyšetření minimálně 30x, přičemž se až neuvěřitelně zlepšila rychlost, přesnost a spolehlivost měření. Zároveň klesly personální a prostorové nároky. Počet laborantek klesl proti sedmdesátým letům přibližně na polovinu, ale vědecký i technologický vývoj výrazně zvýšil požadavky na jejich celoživotní vzdělávání. Za stejnou dobu se zmenšil prostor potřebný pro provádění vyšetření přibližně na jednu čtvrtinu. Bouřlivý vývoj klinické i laboratorní části hematologie nutně vedl ke zvýšeným nárokům na úzkou specializaci. Z toho důvodu byla laboratorní část při vzniku Centrálních laboratoř pod názvem Pracoviště hematologie vyjmuta

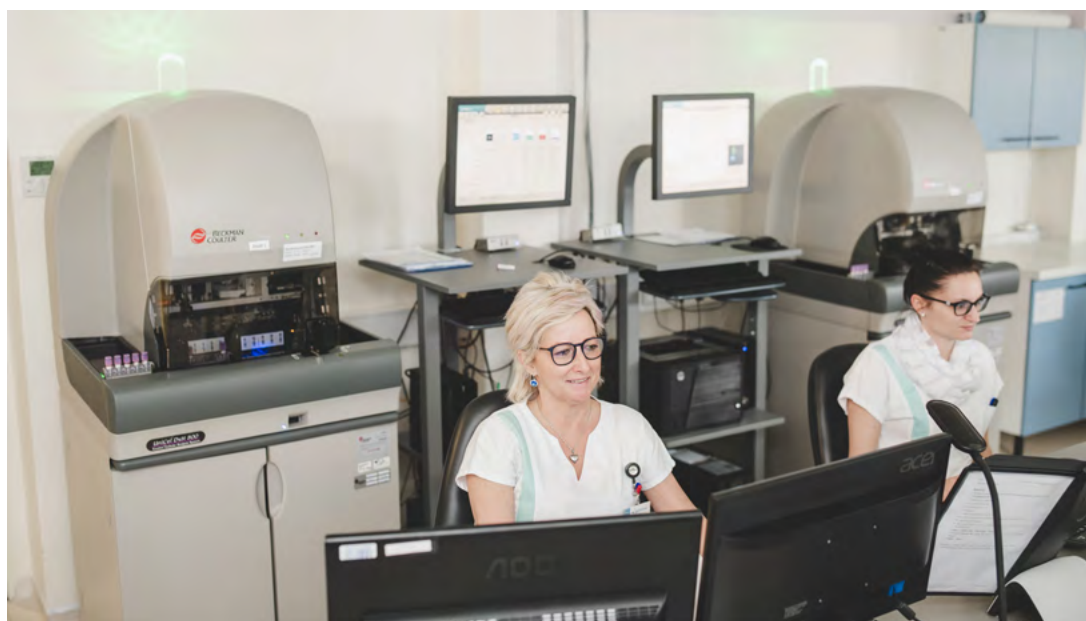


*Vedoucí Pracoviště hematologie Mgr. Naďa Roučková / Foto: Jan Luxík*

z Oddělení klinické hematologie a zařazena do Centrálních laboratoř.

V současné době je Pracoviště hematologie součástí Laboratoře klinické chemie, hematologie a imunologie, které spolu s dalšími laboratořemi tvoří celek Centrálních laboratoř. Provádíme postupy

akreditované Českým institutem pro akreditaci podle normy ISO 15189:2013. Spolu s Pracovištěm klinické chemie poskytujeme nepřetržitý příjem biologického materiálu pro všechna pracoviště Centrálních laboratoř. Provoz na pracovišti běží 24 hodin denně. Používáme nejmodernější technologické postupy a velká část



*Laborantky Martina Netočná (vlevo) a Bc. Veronika Netrefová vyhodnocují výsledky z přístrojů pro vyšetření počtu krevních buněk - Beckman Coulter UniCel DxH800 (za nimi) / Foto: Jan Luxík*



Kolektiv Pracoviště hematologie / Foto: Jan Luxík



Digitální zobrazení krevních buněk na přístroji Sysmex DI-60 / Foto: Jan Luxík

procesů je plně automatizovaná. Součástí našeho týmu jsou tři lékaři, dvě bioanalytičky a čtrnáct laborantek.

Zpracováváme vzorky plné krve a kostní dřeně pro základní a speciální hematologická vyšetření. Jedná

se o vyšetření počtů a velikostí krevních buněk a jejich rozlišení podle morfologie nejen běžným vyšetřením, ale i speciálními metodami, které vyžadují speciálně zaškolené pracovníky. Při diagnostice hematologických onemocnění úzce spolupracujeme

s dalšími pracovišti Nemocnice České Budějovice, a.s. jako např. Pracovištěm imunologie, Laboratoří molekulární biologie a genetiky, Patologickým oddělením. Pro potřeby ortopedů vyšetřujeme počty krevních buněk v kloubním punktátu.



Vedoucí laborantka Bc. Hana Votrubová zpracovává vzorky pro vyšetření srážlivosti krve / Foto: Jan Luxík

Provádíme vyšetření srážlivosti krve. Stanovujeme hladiny koagulačních faktorů, jejichž nedostatek může vést ke zvýšenému krvácení. Vyšetřujeme parametry rizika vzniku trombózy vedoucí k závažným klinickým stavům. Monitorujeme léčbu warfarinem. Určujeme hladiny různých typů léků používaných při antikoagulační léčbě (např. Clexane). Vyšetřujeme základní funkce krevních destiček, které hrají zásadní a důležitou roli při procesu krevního srážení.

Spolupracujeme s hematology z celých jižních Čech a dalšími hematologicky zaměřenými pracovišti v rámci České republiky, jako především s Ústavem hematologie a krevní transfuze v Praze, Fakultní nemocnicí Plzeň a dalšími.

■ **Mgr. Naděa Roučková**



*Kolektiv Pracoviště imunologie /  
Foto: Jan Luxík*

## Pracoviště imunologie

Historie laboratorního vyšetřování v imunologii se začala psát v osmdesátých letech minulého století, kdy vznikla v rámci Odboru mikrobiologie při KHS (Krajské hygienické stanici) laboratoř sérologie. Ta se zpočátku věnovala pouze průkazu protilátek pro diagnostiku infekčních onemocnění, postupně se přidávala další vyšetření imunitního systému, která už s infekčními chorobami neměla mnoho společného. Z laboratoře v rámci mikrobiologie se postupně stal samostatný odbor a po přechodu mikrobiologických oborů z KHS pod Nemocnici České Budějovice, a.s. v roce 1991 i samostatný primariát pod vedením MUDr. Petra Rocha, CSc. Následovalo stěhování do budovy Centrálních laboratoří v roce 2005, organizační začlenění do nově vzniklé struktury laboratorních oborů a vedení převzal MUDr. Pavel Žampach. Tolik k historii laboratorní imunologie.

Odborná stránka práce se vyvíjela poměrně razantně. Od jednoduchých



*Vedoucí Pracoviště imunologie MUDr. Pavel Žampach s kolektivem bionalytiků – zleva: Ing. Lenka Chaloupková, Mgr. Veronika Maierová, RNDr. Zdeňka Vrajevá, RNDr. Pavlína Tinavská, Ph.D. / Foto: Jan Luxík*

klasických metod, které se daly dělat doslova „na koleně“ (ostatně v oněch dobách nic jiného nezbývalo), se postupně přecházelo k modernímu přístrojovému vybavení.

Výraznou změnou bylo vyšetření buněk imunitního systému metodou průtokové cytometrie, která

nahradila dosavadní ruční počítání ve fluorescenčním mikroskopu. Dalším důležitým pokrokem bylo zavedení nefelometrie místo radiální imunodifúze pro stanovení imunitně důležitých proteinů a další a další moderní metody. Nejrychlejší rozvoj byl v devadesátých letech, ale pochopitelně, byť už ne tak

rychle, pokračuje stále. Posledním větším impulzem bylo ustanovení Oddělení klinické imunologie, kdy byly pro potřeby tohoto pracoviště zavedeny nové metody.

V současné době Pracoviště imunologie poskytuje standardní paletu vyšetření potřebnou pro diagnostiku onemocnění imunitního systému a některá vyšetření pro diagnostiku infekčních chorob.

Diagnostika tzv. autoimunitních onemocnění (tj. onemocnění, kdy imunitní systém pacienta poškozuje jeho vlastní tkáně) je jedním z pilířů práce laboratoře. Těchto onemocnění postupně přibývá a v posledních letech je možné je i částečně léčit tzv. biologickou léčbou, proto jsou diagnostika i sledování léčby pro klinické lékaře velmi důležité.

Dalším pilířem je vyšetření průtokovou cytometrií, která umožňuje vyšetřovat přímo buňky imunitního systému. To skýtá v současné době asi nejucelenější pohled na imunitní systém pacienta a poskytne důležité vodítko pro stanovení diagnózy. Tato metoda je také velice cenná u chorob zhoubného bujení krevních buněk (leukemií), kde umožní přesné stanovení typu poruchy a je základem pro účinnou léčbu těchto chorob.

Kromě toho provádíme stanovení protilátek pro diagnostiku alergií (tzv. specifické IgE protilátky), které je v současné době vzestupu různých alergických onemocnění velmi časté a opět pomáhá lékařům s určením toho, na co je pacient alergický, čemu se má vyhnout a kdy a jak léčit.

Stanovení protilátek pro diagnostiku některých infekčních onemocnění (např. syfilis či černý kašel) není sice v centru naší pozornosti, ale je důležitým doplňkem práce mikrobiologické laboratoře a pro stanovení těchto nemocí může být rozhodující.

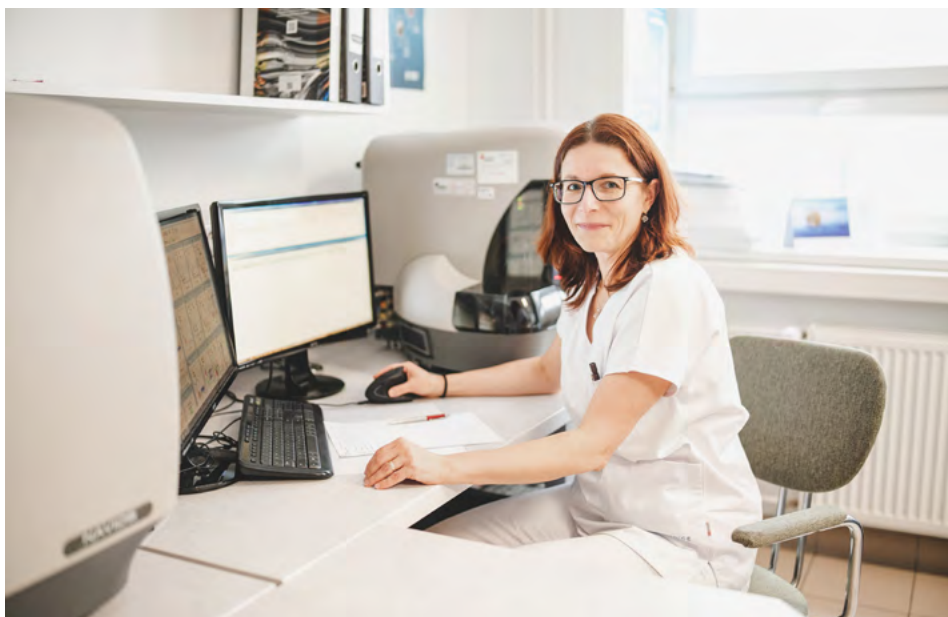
Zvláštní kapitolou je výroba tzv. autogenních vakcín, což jsou

perorálně či podkožně aplikované vakcíny, vyrobené přímo z vlastních kmenů bakterií izolovaných od pacienta. Na tuto výrobu se vztahují přísné předpisy Státního ústavu pro kontrolu léčiv, a proto došlo v roce 2020 k zásadní přestavbě příslušných prostor, které nyní vyhovují novým požadavkům.

Laboratorní analyzátoři, přístroje

a vyšetřovací soupravy jsou ale jen mrtvou hmotou, která k oživení potřebuje vysoce kvalifikovaný personál. V současné době Pracoviště imunologie zahrnuje pět vysokoškolsky vzdělaných pracovníků, dvanáct laborantek a pomocný personál vesměs s nejvyšší možnou kvalifikací.

■ **MUDr. Pavel Žampach**



RNDr. Pavlína Tinavská, Ph.D. u průtokového cytometru / Foto: Jan Luxík



Laboratoř přípravy autogenních vakcín / Foto: Jan Luxík

# Laboratoř klinické mikrobiologie

## Historie českobudějovické mikrobiologie

Mikrobiologická laboratoř byla původně součástí patologického oddělení Krajské nemocnice v Českých Budějovicích. V padesátých letech přesídlila do areálu Vojenské nemocnice, kde bylo vybudováno biochemické a mikrobiologické oddělení. Mikrobiologické oddělení zde tehdy založil a vedl prof. MUDr. Vladislav Potužník, DrSc., v té době ještě podplukovník Československé armády. V roce 1956 tam přešla i část zaměstnanců z tehdejší Krajské hygienické stanice (KHS), včetně nových lékařů, manželů MUDr. Oldřicha a MUDr. Svatavy Hausnerových, čerstvých absolventů Lékařské fakulty hygienické. Laboratoř pracovala pro Krajskou i Vojenskou nemocnici, lékaře v terénu i vojenské útvary.

V roce 1963 byla dostavěna budova Krajské hygienické stanice (KHS) ve Schneiderově ulici. Profesor Vladislav Potužník, který byl v té době již zaměstnancem hygienické služby, zde založil mikrobiologickou laboratoř v rámci KHS. Vrátila se sem civilní



prof. MUDr. Vladislav Potužník, DrSc. /  
Foto: archiv Společnosti pro  
lékařskou mikrobiologii ČLS JEP.

část zaměstnanců mikrobiologické laboratoře z Vojenské nemocnice. Byla zřízena oddělení bakteriologie, parazitologie, virologie a imunologie. Profesor Potužník rovněž ovlivnil vznik a vývoj dalších mikrobiologických pracovišť v rámci Jihočeského kraje a v sedmdesátých letech také ve FN Motol v Praze.

Profesor Potužník byl autorem desítek domácích i zahraničních publikací. V roce 1962 získal hodnost kandidáta věd, v roce 1964 se stal docentem pro obor mikrobiologie a v roce 1977 profesorem. V roce 1981 získal obhajobou doktorské disertační práce „Klinická mikrobiologie sepse“ titul doktora věd. Od roku 1963 působil jako externí učitel a od roku 1981 do roku 1991 jako přednosta Ústavu lékařské mikrobiologie Fakulty dětského lékařství UK v Praze. Podařilo se mu prosadit pozici lékařské mikrobiologie jako samostatného oboru. Byl rovněž zakladatelem tzv. klinické mikrobiologie – oboru nejen laboratorního, ale i interpretačního, s cílem přesné klinické a mikrobiologické diagnostiky vedoucí k racionální antibiotické léčbě.

Díky kontaktům profesora Potužníka s centrálními odbornými ústavy v Československu i s pracovišti v zahraničí se dařilo pro českobudějovickou mikrobiologii získávat odbornou literaturu i kvalitní laboratorní a technické vybavení. To podporovalo tehdy nadstandardní možnosti i úroveň českobudějovické mikrobiologie. Pracovníci se aktivně účastnili tuzemských i zahraničních seminářů a kongresů, spolupracovali s centrálními ústavami na přípravě laboratorních metodik s celostátní platností. Profesor Potužník se zasloužil v tehdejší Československu i o ustanovení antibiotických středisek.

První antibiotické středisko vzniklo právě v mikrobiologické laboratoři v Českých Budějovicích. Jeho spoluzakladatelkou a první vedoucí se stala MUDr. Svatava Hausnerová, která se kromě běžných laboratorních činností věnovala metodice stanovení baktericidie séra u infekčních endokarditid a především problematice bakteriální rezistence.



MUDr. Svatava Hausnerová /  
Foto: Zprávy CEM ročník 28, 2019/01



MUDr. Oldřich Hausner /  
Foto: archiv laboratoře

MUDr. Oldřich Hausner byl skvělým bakteriologem a skutečným expertem v diagnostice gramnegativních střevních tyčků. Dokonce objevil novou bakterii, kterou se ve spolupráci se Státním zdravotním ústavem v Praze podařilo identifikovat jako nový bakteriální rod. Bakterie se původně měla jmenovat *Bacteria hausneri*, ale to pan doktor, ve své vrozené skromnosti, nechtěl, takže dnes nese název ***Budvicia aquatica***.

Oba manželé Hausnerovi prosazovali a naplňovali ideu tzv. klinické mikrobiologie profesora Potužníka. Byli velmi oddaní své práci, pracovali s velkým zanícením a odpovědností vůči pacientům a oboru a v tomto směru vedli i nás, své žáky. A my jsme měli velké štěstí a moc si vážíme toho, že jsme měli skvělé učitele, kteří byli navíc i přívětiví, skromní, s nadhledem a smyslem pro humor, a to i přes vlastní nelehký životní osud.

V červnu 1991 došlo k organizačnímu vyčlenění mikrobiologických laboratoří i imunologie z KHS a k jejich přechodu pod Nemocnici České Budějovice, a.s. (NCB).

Bakteriologii vedl do roku 1997 MUDr. Oldřich Hausner. Vedoucím virologie byl MUDr. Radim Kramář. Po něm se stala vedoucí virologie MUDr. Eva Žampachová, která byla později i vedoucí bakteriologie. Společně s manželem imunologem MUDr. Pavlem Žampachem a tehdejším primářem Infekčního oddělení MUDr. Václavem Chmelíkem začali v roce 1993 pořádat Mezioborové semináře v Třeboni, které dnes již mají velkou tradici. V roce 2006 se vedoucí laboratoře bakteriologie stala MUDr. Magda Balejová. Pracoviště parazitologie a mykologie již vedla MUDr. Naděžda Mallátová, která navázala na dlouholetou práci RNDr. Květoslava Kadlíka. Ten pracoval na částečný úvazek i v Parazitologickém ústavu Akademie věd. Tím položil základy dlouholeté spolupráce těchto pracovišť.



Kolektiv Laboratoře klinické mikrobiologie / Foto: Jan Luxík

### Laboratoř klinické mikrobiologie (LKMB) – současnost

1. 1. 2006 vznikl v NCB úsek Centrálních laboratoří s centrálním příjmem vzorků a laboratoře se přestěhovaly do nově zrekonstruované budovy bývalé psychiatrie přestavěné pro laboratorní provoz. Od roku 2012 pak platí současná organizační struktura Laboratoře klinické mikrobiologie (LKMB) s třemi pracovišti. Vedoucí LKMB i Pracoviště bakteriologie (PBAK) je MUDr. Magda Balejová, vedoucí Pracoviště parazitologie a mykologie je MUDr. Naděžda Mallátová a vedoucí Pracoviště virologie je MUDr. Dana Teislerová. Součástí Pracoviště bakteriologie je i Antibiotické středisko, jehož vedoucím a zároveň i vedoucím ATB týmu NCB je od roku 2021 MUDr. David Šuš, který navázal na předchozí činnost MUDr. Magdaleny Horníkové. Vedoucí laboratoře tuberkulózy v rámci PBAK je MUDr. Marie Mikulášová.

V LKMB pracuje v současné době celkem 50 pracovníků. Mezi nimi je 9 lékařů, 2 bioanalytici, 32 laborantů, 6 sanitářek a 1 administrativní pracovnice.

### Pracoviště bakteriologie

Pracoviště bakteriologie je provozně i personálně nejobsáhlejší částí LKMB. Jeho činnost je zajišťována celkem 34 pracovníky. Předmětem činnosti je zpracování biologických vzorků od pacientů (stěry a výtěry z různých částí těla dle postižení, stolice, tekuté vzorky, jako jsou punkáty, hemokultury, sputum a další). Ročně je zde zpracováno a vyšetřeno cca 90 000 vzorků a provedeno cca 9 000 konzultací k antibiotické terapii. Součástí Pracoviště bakteriologie je i Antibiotické středisko a Laboratoř pro diagnostiku tuberkulózy a jiných mykobakterií.

Základem zpracování klinického vzorku v bakteriologii je **mikroskopické a kultivační vyšetření**. Vzhledem k infekční povaze jsou vzorky zpracovávány v biohazardech. Ty slouží k ochraně pracovníků před infekcí a k ochraně vzorků před vnější kontaminací. Vše se provádí za přísně sterilních podmínek.

Mikroskopické vyšetření slouží k posouzení přítomnosti leukocytů (bílých krvinek) jakožto příznaku probíhajícího zánětu a dále k posouzení přítomnosti a morfologie bakterií.





*Kolektiv Pracoviště bakteriologie Laboratoře klinické mikrobiologie / Foto: Jan Luxík*

*Zleva: vedoucí laborantka LKMB Bc. Irena Čapková, vedoucí LKMB a PBAK MUDr. Magda Balejová, RNDr. Jana Wagnerová, Anna Matějková, MUDr. Marie Mikulášová, Jana Marešová, Dana Chýnová, Eva Chaloupková, Běta Jakešová, Romana Prokešová, Blanka Mrvová, Ilona Heldová, Bc. Barbora Petříková, Martina Rybová, Bc. Martina Velková, Libuše Lagronová, MUDr. Magdalena Horníková, MUDr. Michal Pařha, Jana Drábová, MUDr. David Šůs, MUDr. Petra Dovinová*

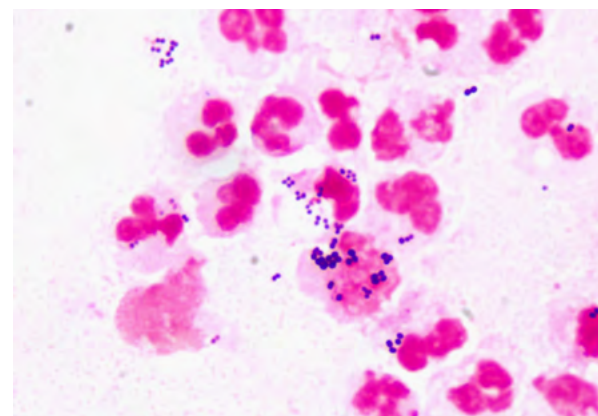
Preparáty jsou barveny dle Grama. Výsledek mikroskopického vyšetření je k dispozici velmi rychle po příjmu vzorku do laboratoře a umožňuje, v případě závažných vzorků a stavů, někdy velmi rychle zacílit poměrně správnou, předběžnou, antimikrobiální léčbu.

Kultivace znamená pěstování a množení bakterií za vhodných výživových a teplotních podmínek. Používají se k tomu různá kultivační média (dle typu vzorku) pevná i tekutá – pomnožovací. Kultivace je, vzhledem k růstové rychlosti bakterií, k dispozici nejdříve následující den. V případě přítomnosti

suspektního patogenu ve výsledku kultivačního vyšetření je zhotoven test citlivosti k antimikrobiálním látkám. Ten pak umožní použít již cílenou antimikrobiální léčbu.



*Laborantka Romana Prokešová zpracovává v biohazardu vzorky pro mikroskopické a kultivační vyšetření / Foto: Jan Luxík*



*Mikroskopický preparát z punktátu kloubu – leukocyty s fagocytovanými hloučky grampozitivních koků (velmi pravděpodobně stafylokoků) / Foto: archiv laboratoře*



*Kultura Staphylococcus aureus na pevné kultivační půdě – krevním agaru. Kolonie jsou obklopeny hemolýzou způsobenou toxiny kmene S. aureus / Foto: archiv laboratoře*

K rychlému průkazu přítomnosti některých bakterií ve vzorku (pneumokoky, legionelly – původci závažných zánětů plic, *Clostridium difficile* – původce závažných průjmů až zánětů tlustého střeva) využíváme i **průkaz antigenů**, tedy pouze částí bakterií, **pomocí rychlých testů v řádu minut**. Testem na obdobném principu jsme schopni stanovit z izolované kultury *Staphylococcus aureus* i jeho rezistenci k oxacilinu během 5 minut, tedy průkaz MRSA (methicilin rezistentní *S. aureus*). To je velmi důležité pro rychlou, správnou a cílenou léčbu mnohdy závažných, až život ohrožujících infekcí způsobených touto bakterií, i z epidemiologických důvodů.

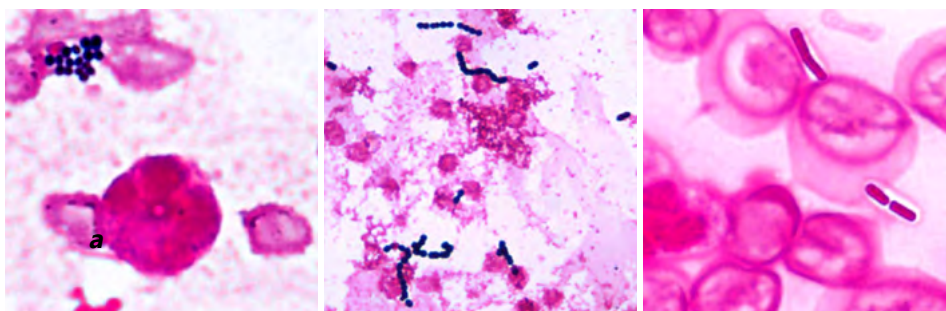
Dříve se v mikrobiologii, kromě termostatů, nepoužívaly téměř žádné přístroje. Veškerá zpracování vzorků a identifikace izolovaných kultur se prováděla manuálně. Výsledky biochemických identifikací nebyly vždy úspěšné. Navíc vyšetření trvala dlouho. Pro urychlení práce jsme si museli pamatovat celé řady biochemických testů jednotlivých bakteriálních druhů a jejich správné výsledky. Pro testy citlivosti k antibiotikům neexistovaly hraniční hodnoty pro rezistenci. Citlivost se odečítala podle vcelku individuálního posouzení velikosti inhibiční zóny, tj. průměru inhibice (zábrany) růstu kolem disku napuštěného příslušnou koncentrací daného antibiotika.

V posledních desetiletích se mikrobiologie rozvíjí závratným tempem. Přístroje pomáhají urychlovat naši práci a získávat rychlé a přesné výsledky. Zároveň nám umožňují věnovat více času posouzení klinického významu výsledků vyšetření a konzultační činnosti k léčbě pacientů.

Pro **hemokultivaci** (kultivaci krve) u febrilních pacientů nebo pacientů v septickém stavu používáme k průkazu bakterií v krvi automatické analyzátoři. V současnosti máme k dispozici **nejmodernější automatický hemokultivační analyzátor** na trhu.



Vedoucí laborantka LKMB Bc. Irena Mikešová vkládá lahvičku s odebranou krví do automatického hemokultivačního přístroje VIRTUO / Foto: Jan Luxík



Mikroskopický preparát z pozitivní hemokultury.

**a** – grampozitivní koky v hloučcích (stafylokoky),  
**b** - grampozitivní koky v řetězcích (streptokoky nebo enterokoky),  
**c** - gramnegativní tyčky (např. *Escherichia coli* – nejčastější původce močových infekcí) / Foto: archiv laboratoře

Po vložení hemokultivačních lahviček s odebranou pacientovou krví přístroj lahvičky kontinuálně monitoruje a automaticky signalizuje růst bakterií v médiu lahvičky. Hemokultivační lahvičky, vyhodnocené přístrojem jako pozitivní, jsou ihned vyočkovány – jejich médium obsahující bakterie je nanášeno na vhodné kulturační půdy a zhotoven je mikroskopický preparát. Podle nálezu morfologie bakterií v mikroskopickém preparátu (grampozitivní koky v hloučcích, řetězcích nebo gramnegativní tyčky), lze pak ihned doporučit antibiotickou léčbu pro

pacienta vzhledem k jeho onemocnění a celkovému stavu. Tento předběžný výsledek může tedy být k dispozici již během 30 minut po vyjmutí pozitivní lahvičky z přístroje.

Obrovský posun v naší práci nastal v roce 2010, kdy jsme, díky tehdejšímu vedení NCB v čele s generálním ředitelem MUDr. Břetislavem Shonem, získali, a to jako druhá laboratoř v republice, **hmotnostní spektrometr technologie MALDI-TOF** (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight) pro identifikaci bakterií,



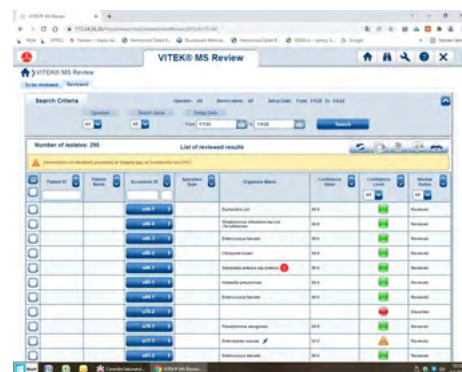
Příprava vzorku pro identifikaci ve hmotnostním spektrometru MALDI-TOF - VITEK MS - nanášení narostlých kolonií bakterií z kultivačního agarového média na destičku / Foto: Jan Luxík

pozitivních hemokultur, vzhledem k tomu, že jde o vyšetření u život ohrožujících stavů s nutností co nejrychlejší správné a cílené terapie, se snažíme identifikaci provést ze sotva patrného nárůstu na kultivační půdě již po 3-4 hodinách. Běžná doba kultivace je přitom 18-24 hodin. Cílem je sdělit důležitý výsledek ošetřujícímu lékaři co nejdříve. Při signalizaci pozitivní hemokultury přístrojem můžeme tedy určit již po 4 hodinách, že mikroskopický nálezn např. gram pozitivních koků v hloučcích odpovídá kultivačnímu záchytu *S. aureus* a během 5 minut zjistíme, zda jde o kmen citlivý k oxacillinu nebo MRSA.

kvasinek a plísní. Narostlé kolonie bakterií nebo kvasinek a plísní jsou nanášeny na identifikační destičku. Destička je vložena do přístroje. Ve vakuu v přístroji dochází účinkem laseru k vytvoření spekter na základě molekulové hmotnosti proteinů bakterie. Tato spektra jsou porovnána se spektry známých bakterií

v internetové databázi. Výsledek – identifikace bakteriální kultury, že se jedná např. o *Escherichia coli*, je znám během 30 minut.

Použití této technologie urychlí výsledek identifikace o jeden den i více oproti dříve používaným biochemickým testům. V případě



Výsledky identifikací bakterií získaných porovnáním změřených spekter se spektry bakterií v internetové databázi. Zelené – identifikace na 99,9%. Červený vykřičník upozorňuje na střevního patogena (*salmonela*) / Foto: archiv laboratoře



Laborantka Martina Rybová vkládá destičku s kulturami bakteriálních kmenů k identifikaci do přístroje VITEK MS / Foto: Jan Luxík

Identifikace pomocí hmotnostní spektrometrie je velmi přesná a mnohdy nás seznamuje s bakteriálními druhy, které jsme dříve byli schopni pomocí biochemických testů určit jen orientačně nebo vůbec. **Správná identifikace je přitom nesmírně důležitá pro správnou interpretaci výsledků citlivosti**, vzhledem k tomu, že některé bakteriální druhy jsou k některým antibiotikům primárně rezistentní.

**Ke stanovení citlivosti k antibiotikům rovněž využíváme moderní přístroje.** Stanovení je velmi přesné a v případě rychleji rostoucích bakterií jsou výsledky

k dispozici již za několik hodin. Přístroje detekují a interpretují i různé mechanismy rezistence bakterií k antimikrobiálním látkám. Vzhledem k tomu, že citlivost na antibiotika je vždy vztažena ke konkrétnímu bakteriálnímu druhu, je rychlá identifikace společně s rychlým stanovením citlivosti zcela zásadní pro rychlou a cílenou léčbu pacienta.

V diagnostice močových infekcí používáme **přístroj ke stanovení kvantitativní bakteriurie**. Tento přístroj umí vyhodnotit množství bakterií v 1 ml vzorku moči. Za pozitivní se považuje množství bakterií  $10^5/1$  ml s určitými výjimkami. Určená kvantita, společně s nálezem v mikroskopickém preparátu ze vzorku moče, je důležitá pro interpretaci výsledku vyšetření. Ten může znamenat buď skutečnou infekci, nebo třeba jen kontaminaci způsobenou nevhodným odběrem moči nebo nevhodným skladováním během transportu vzorku do laboratoře. Doba vyšetření je pouze 4 hodiny, v případě pozitivního výsledku i méně. Je tedy možné již v průběhu několika hodin po odběru moči cílit antibiotickou terapii. V přístroji lze také přímo zhotovit standardní inokulum pro provedení testu citlivosti k antibiotikům. Kompletní výsledek vyšetření moče je pak dostupný za 24 hodin, oproti dřívějším 48 hodinám. To je velmi důležité pro rychlou a správnou léčbu močových infekcí. Vzhledem k tomu, že až třetina těžkých stavů s přítomností bakterií v krvi má zdroj v infekci močových cest, je tato rychlá diagnostika velmi důležitá.

K barvení mikroskopických preparátů ze zaslaných vzorků i narostlých bakteriálních kultur, které se dříve provádělo manuálně, používáme dnes **barvicí automaty**. Ty velmi urychlují naši práci a standardizují výsledky barvení. Mikroskopické preparáty pak hodnotíme pomocí **kvalitních mikroskopů**.

■ **MUDr. Magda Balejová**  
vedoucí Laboratoře klinické mikrobiologie a Pracoviště bakteriologie



Vkládání lahvíček se vzorky moče do analyzátoru Uroquatro ke stanovení kvantitativní bakteriurie / Foto: archiv laboratoře



Laborantka Ilona Heldová vyjímá stojánek s obarvenými preparáty z barvicího automatu / Foto: Jan Luxík

## Antibiotické středisko

Nedílnou součástí Pracoviště bakteriologie je i Antibiotické středisko. Provádí se zde stanovení rezistence vybraných bakteriálních agens k jednotlivým antibiotikům (ATB). Jsou využívány níže uvedené metody:

Disková difúzní metoda pro **stanovení kvalitativní citlivosti** k antibiotikům.

Poskytuje základní informaci, zda je bakteriální kmen k antibiotiku citlivý, tj. zda bude léčba účinná. Agarová půda je inokulována – přelitá suspenzí bakteriálního kmene o přesné koncentraci. Na agar je rozloženo 6 disků napuštěných různými antibiotiky. Během inkubace dochází k inhibici růstu citlivých bakterií a k vytvoření tzv. inhibiční zóny. Její průměr je porovnán s průměrem



*Laborantka Libuše Lagronová provádí měření výsledků kvalitativní citlivosti v systému Adagio / Foto: archiv laboratoře*

*Disková difuzní metoda pro stanovení kvalitativní citlivosti k antibiotikům. / Foto: archiv laboratoře*

stanoveným mezinárodní organizací EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). K antibiotiku s menším průměrem inhibiční zóny, než je stanoven EUCASTem, je bakteriální kmen rezistentní. Ke standardizovanému odečtu inhibičních zón používáme automatický odečet přístrojem Adagio™.

VITEK 2™ je automatizovaná testovací **metoda stanovující minimální inhibiční koncentraci** (MIC) ATB. MIC znamená nejnižší množství ATB v mg/l, které zastavuje množení a růst bakterií. Výsledek je tedy, na rozdíl od předchozí metody, vyjádřen **kvantitativně**. Metoda je užívána v případě závažného klinického stavu pacienta nebo v případě zvláště rezistentních bakteriálních kmenů. Ke stanovení se užívají tzv. karty obsahující 63 mikrojamek. V nich je kultivační médium a zpravidla pro každé ATB 4 vzestupné koncentrace ve 4 mikrojamkách. Karta je po inokulaci suspenzí bakteriálního kmene o přesné koncentraci automaticky vložena do inkubátoru přístroje. Ten monitoruje růst každé jamky. Po ukončení kultivace (v řádu hodin až maximálně 1 dne) dochází k vyhodnocení MIC pro každou

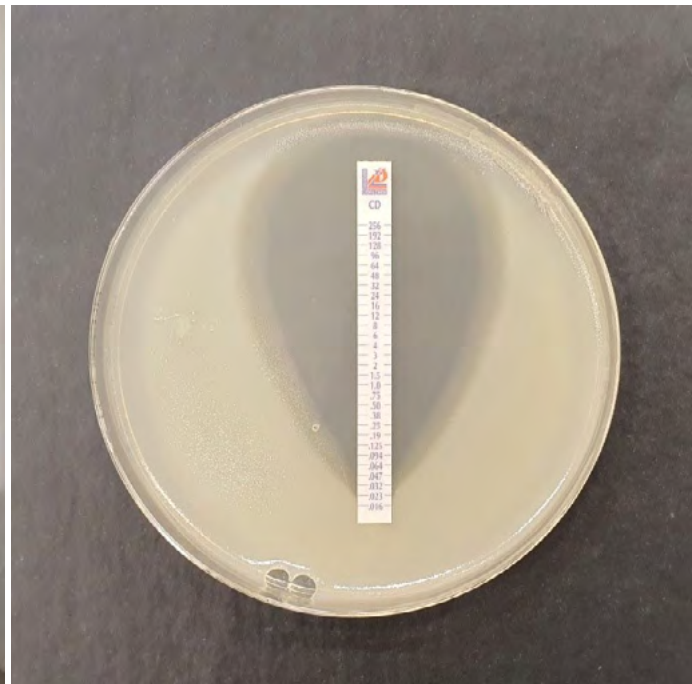


*Příprava suspenzí bakteriálních kmenů pro karty ke stanovení kvantitativní citlivosti (MIC) v přístroji VITEK 2 / Foto: Jan Luxík*

antimikrobiální látku obsaženou v příslušné kartě. Kapacita přístroje je 60 karet/den. Součástí výsledku citlivosti kmene jsou i mechanismy jeho rezistence.

Metoda E-test se používá k testování **kvantitativní citlivosti růstově náročných a anaerobních bakterií**. Proužek E-test (plastový nebo papírový) je napuštěn antimikrobiální látkou se stoupající koncentrací ATB od jednoho

konce proužku na druhý. Na proužku je vyznačena stupnice koncentrace antimikrobiální látky. Po položení proužku na agar s nanesenou suspenzí vyšetřovaného bakteriálního kmene dochází k difúzi antimikrobiální látky do agaru a vytvoření kapkovité zóny inhibice růstu. Minimální inhibiční koncentrace, tedy nejmenší množství ATB, které zabrání růstu bakterií, je v místě kontaktu zóny růstu kmene s E-testem.



Laborantka Bc. Barbora Petřiková vkládá karty se suspenzemi bakteriálních kmenů pro stanovení MIC do přístroje VITEK 2 / Foto: Jan Luxík

Stanovení kvantitativní citlivosti růstově náročných a anaerobních bakterií metodou E-test / Foto: Jan Luxík

Antibiotické středisko u vybraných bakteriálních agens zároveň provádí vyšetřování a hodnocení fenotypů (mechanismů) rezistence. Např. rezistenci k metilicinu (oxalidinu) u *Staphylococcus aureus* (MRSA) a rezistenci k vancomycinu u enterokoků (VRE). Dále také přítomnost betalaktamáz rozšířeného spektra (ESBL) nebo metallo-betalaktamáz (MBL) u gramnegativních bakterií. Následně hlásí pozitivní

případy vybraných fenotypů rezistence ošetřujícímu lékaři a Pracovišti epidemiologie. To je velmi důležité pro kontrolu šíření těchto multirezistentních kmenů v nemocničním prostředí.

Důležitou součástí činnosti Antibiotického střediska je poskytování konzultační činnosti k antibiotické léčbě pacientů jednotlivých oddělení Nemocnice České Budějovice, a.s., i lékařům z terénní praxe. Antibiotické středisko rovněž provádí kategorizaci antimikrobiálních přípravků a jejich schvalování k léčbě.

Antibiotické středisko spolupracuje s Národní referenční laboratoří pro antibiotika. Podílí se na programech a studiích, ve kterých se sleduje rezistence k antibiotikům v komunitě i v nemocničním prostředí, jako např. monitorování rezistence vybraných respiračních patogenů v rámci Pracovní skupiny pro monitorování rezistence (PSMR), studie EC 2021 (monitorování rezistence *Escherichia coli* jako původce komunitních infekcí močového ústrojí). Je také součástí projektu European Antimicrobial Surveillance Network

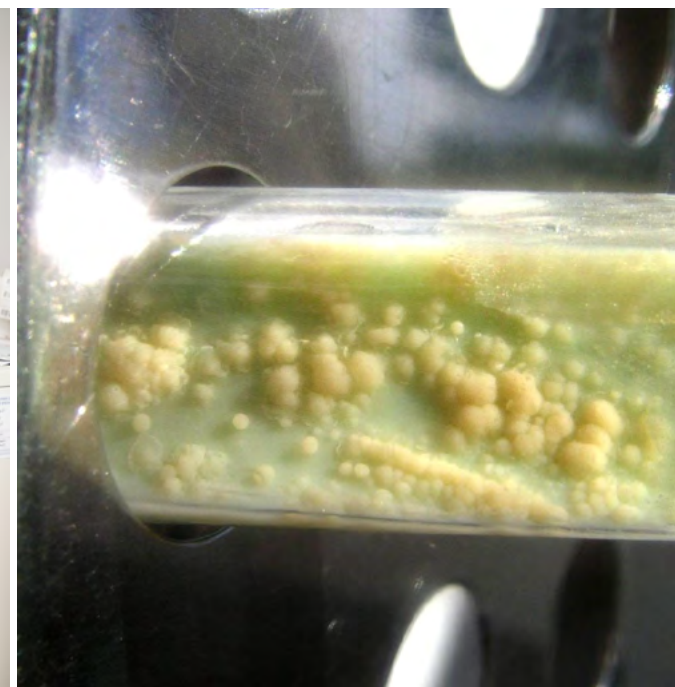
(EARS-Net), který je koordinován Evropským centrem pro prevenci a kontrolu infekcí (ECDC).

Ve spolupráci s ATB týmem NCB, jehož vedoucím je rovněž MUDr. David Šůs, se Antibiotické středisko podílí na ovlivňování a kontrole dodržování zásad správné antibiotické praxe v zájmu uvážlivého používání antibiotik v lůžkové i ambulantní péči. Sleduje a provádí analýzu spotřeby antibiotik v rámci NCB a vytváří doporučení týkající se některých speciálních oblastí používání antiinfektiv. Příkladem je chirurgická a ortopedická profylaxe a další doporučené postupy. Zajišťuje vzdělávání odborné veřejnosti ve správném používání antibiotik a principech prevence a kontroly antibiotické rezistence. V neposlední řadě zajišťuje vzdělávání a informování laické veřejnosti zaměřené na zvýšení její spoluzodpovědnosti za správné používání antibiotik.

**■ MUDr. David Šůs**  
vedoucí ATB střediska a ATB týmu  
Nemocnice České Budějovice, a.s.

Antibiotik	MIC	MIC <sub>90</sub>	MIC <sub>50</sub>	Antibiotik	MIC	MIC <sub>90</sub>	MIC <sub>50</sub>
Amoxicillin	42	8	4	Ceftriaxone	41	8	4
Ampicillin	42	8	4	Clindamycin	41	8	4
Amoxicillin/Clavulanate	42	8	4	Linezolid	42	8	4
Augmentin	42	8	4	Moxifloxacin	41.5	8	4
Clindamycin	41	8	4	Nitrofurantoin	40.8	8	4
Clindamycin/Linezolid	41	8	4	Ofloxacin	41.5	8	4
Colistin	48	8	4	Saxagliptin	41.5	8	4
Colistin/Linezolid	48	8	4	Saxagliptin/Linezolid	41.5	8	4
Colistin/Linezolid/Amoxicillin	48	8	4	Vancomycin	42	8	4
Colistin/Linezolid/Amoxicillin/Clavulanate	48	8	4				
Colistin/Linezolid/Vancomycin	48	8	4				
Colistin/Vancomycin	48	8	4				
Linezolid	41	8	4				
Linezolid/Vancomycin	41	8	4				
Linezolid/Vancomycin/Colistin	41	8	4				
Linezolid/Vancomycin/Colistin/Amoxicillin	41	8	4				
Linezolid/Vancomycin/Colistin/Amoxicillin/Clavulanate	41	8	4				
Linezolid/Vancomycin/Clindamycin	41	8	4				
Linezolid/Vancomycin/Clindamycin/Colistin	41	8	4				
Linezolid/Vancomycin/Clindamycin/Clavulanate	41	8	4				
Linezolid/Vancomycin/Clindamycin/Clavulanate/Colistin	41	8	4				
Linezolid/Vancomycin/Clindamycin/Clavulanate/Colistin/Amoxicillin	41	8	4				
Linezolid/Vancomycin/Clindamycin/Clavulanate/Colistin/Amoxicillin/Clavulanate	41	8	4				

Výsledky kvantitativní citlivosti kmene *Escherichia coli* v přístroji VITEK 2. / Foto: archiv laboratoře



Laborantka Bc. Martina Velková vkládá kultivační zkumavku se vzorkem na průkaz mykobakterií do automatického metabolického systému / Foto: Jan Luxík

Kultivační záchyt *Mycobacterium tuberculosis* na vaječné půdě – klasická kultivace / Foto: archiv laboratoře

## Laboratoř tuberkulózy

Laboratoř tuberkulózy je součástí Pracoviště bakteriologie. Provádí diagnostiku infekcí způsobených mykobakteriemi. Jde o pracoviště s celokrajskou působností.

*Mycobacterium tuberculosis* patří mezi riziková agens – biologické činitele třídy 3, proto je Laboratoř tuberkulózy stavebně oddělena od ostatního provozu.

*M. tuberculosis* bylo prvně popsáno Robertem Kochem v roce 1882, proto se nazývá také Kochův bacil. R. Koch za tento objev dostal v roce 1905 Nobelovu cenu za fyziologii a medicínu. *M. tuberculosis* způsobuje především plicní tuberkulózu, ale při pokročilém onemocnění může napadnout téměř každou část těla. Nejčastěji jsou tudíž zasílány na vyšetření vzorky z dýchacích cest, podle postiženého místa v těle.

Důležitou součástí zpracování vzorku po jeho příjmu do laboratoře je dekontaminace, tj. odstranění

nespecifické bakteriální flóry, která by mohla znehodnotit kultivaci. V případě primárně sterilních vzorků se dekontaminace neprovádí. Následuje homogenizace vzorku a jeho koncentrace centrifugací. Ze zpracovaných vzorků se provádí mikroskopický preparát a kultivační vyšetření.

Mikroskopické preparáty ze vzorku se barví metodou fluorescenčního barvení a jsou prohlíženy ve fluorescenčním mikroskopu.

Mykobakterie patří obecně k pomalu rostoucím bakteriím, což je spojeno s časově náročnou kultivací. Pro kultivaci používáme automatický metabolický systém. Zde probíhá růst mykobakterií v tekuté kultivační půdě. Dle doporučení Národní referenční laboratoře je prováděna paralelně i kultivace na dvou pevných vaječných půdách, tzv. klasická kultivace. Zatímco klasická kultivace umožňuje hodnocení nárůstu nejdříve většinou

až po 6 týdnech, kultivace v automatickém metabolickém systému umožňuje zjistit nárůst mykobakterií cca o 2–4 týdny dříve.

Izolované kmeny mykobakterií ověřujeme mikroskopickým vyšetřením preparátu z kultury barvené dle Ziehl-Nielsenova ve světelném mikroskopu.

Kmeny dále dourčujeme ve spolupráci s Laboratoří molekulární biologie a genetiky. V případě izolace *Mycobacterium tuberculosis* stanovujeme citlivost k základní řadě antituberkulotik (Streptomycin, Isoniazid, Rifampicin, Etambutol, Pyrazinamid). Jsou to antibiotika nebo jiné látky užívané k léčbě tuberkulózy. V případě, že je izolovaný kmen mykobakterie k některému z testovaných antituberkulotik základní řady rezistentní nebo je požadována citlivost na rozšířenou řadu antituberkulotik, zasíláme kmen do Národní referenční laboratoře pro mykobakterie.

Do Národní referenční laboratoře zasíláme ke stanovení citlivosti i netuberkulózní mykobakterie, které působí tzv. mykobakterií. Zatímco v případě *M. tuberculosis* dochází k nákaze především vdechnutím mykobakterií při kontaktu s nemocnou osobou, netuberkulózní mykobakterie se vyskytují v prostředí, především ve vodě a v půdě. K nákaze pak může docházet po kontaktu s vodou, aerosolem, půdou, prachem – vdechnutím, požitím nebo poraněnou kůží. Stejně jako *M. tuberculosis* mohou i netuberkulózní mykobakterie způsobit plicní onemocnění i onemocnění jiných orgánů lidského těla.

Pro průkaz mykobakterií ve vzorku je používána i metoda průkazu nukleové kyseliny mykobakterií metodou PCR v Laboratoři molekulární biologie a genetiky, se kterou úzce spolupracujeme. Tato metoda však detekuje i neživé mykobakterie. Proto je vždy nutné metodu doplnit i o kulturační průkaz mykobakterií, který umožňuje stanovení citlivosti na antituberkulotika. Součástí molekulárních metod může být i vyšetření na geny rezistence pro rychlou identifikaci multirezistentního *M. tuberculosis*.

Spolupracujeme také s Laboratoří imunologie, kde se, mimo jiné, provádí stanovení Quantiferonu. Tento test prokazuje z krve pacienta interferon  $\gamma$ , produkováný specifickými lymfocyty, pokud přišly do kontaktu s *M. tuberculosis*.

Diagnostika a léčba tuberkulózy je náročnou multidisciplinární záležitostí, na níž se vedle klinických oddělení podílejí i další obory. Jsou to zejména radiologická, patologická a laboratorní pracoviště.

■ **MUDr. Marie Mikulášová**  
vedoucí laboratoře TBC



*Kolektiv Pracoviště parazitologie a mykologie Laboratoře klinické mikrobiologie / Foto: Jan Luxík  
Zleva: Vedoucí laborantka pracoviště Jana Douchová, vedoucí pracoviště MUDr. Nadě Mallátová, laborantky Miroslava Klimtová, Aliona Scripnic, RNDr. Marie Fialová, laborantky Irena Vaněčková a Jaroslava Linhartová*

## Pracoviště parazitologie a mykologie

V současnosti personálně zajišťuje provoz Pracoviště parazitologie a mykologie 7 pracovníků.

**Diagnostika parazitóz** se opírá především o mikroskopické vyšetření materiálu, který je předem koncentrován, barven speciálními technikami nebo kultivován na půdách.

Nejčastěji vyšetřujeme vzorky stolice na přítomnost střevních parazitů. I když si na internetu často můžeme přečíst, jak je naše tělo zamořeno parazity, ročně zachytíme pouze několik případů nákazy roupem dětským, škrkavkou, tasemnicí, giardií nebo nepatogenními entamébami.

U pacientů po návratu z rizikových exotických oblastí vyšetřujeme kromě střevních parazitů i vzorky krve na přítomnost plasmodií – původců malárie.

V parazitologické laboratoři vyšetřujeme i další klinický materiál: vzorky tkání a punktátů cyst na přítomnost tkáňových helmintů a leishmanií, urogenitální stěry

na přítomnost sexuálně přenosné trichomonády, seškraby kůže na přítomnost zákožky svrabové.

Podařilo se nám potvrdit i akantamébovou keratitidu kulturačním vyšetřením seškrabu rohovky. Diagnostikujeme i objekty dodané pacientem s podezřením, že se jedná o parazita – štěnice, vši, škrkavky. Často je ale podezření pacientů mylné a jedná se o larvy volně žijícího hmyzu, nebo dokonce žížaly.

Pracoviště poskytuje i sérologickou diagnostiku protilátkové odpovědi u parazitárních onemocnění toxoplazmózy a toxokarózy a spíše z historických důvodů i leptospirózy a boreliózy. Ke stanovení sérologických markerů u boreliózy a toxoplazmózy jsou využívány automatizované systémy LIAISON XL a RoboBlot, což vede k výraznému zrychlení procesu.

**Zásadní rozvoj mykologie** nastal v době propojení klinických pracovníků především z oboru hematologie a laboratorních pracovišť. Vznikla pracovní skupina oportunních infekcí při České leukemické společnosti (CELL). Do činnosti této skupiny se naše laboratoř plně zapojila spolu





*Laborantka Irena Vaněčková zakládá séra ke stanovení protilátek u lymfické boreliózy do automatizovaného přístroje Roboblot / Foto: Jan Luxík*



*Laborantka Miroslava Klimtová při zpracování dermatomykologického materiálu / Foto: Jan Luxík*

s pracovištěm dětské hematologie naší nemocnice. V rámci této skupiny byly vytvořeny standardizované postupy pro diagnostiku a léčbu invazivních mykotických onemocnění. Dnešní výsledky této pracovní skupiny a aktivní databáze invazivních mykotických onemocnění vedená CELL jsou na evropské úrovni.

Pracoviště poskytuje komplexní diagnostiku v oboru lékařské mykologie. Z klinických vzorků mikroskopicky a kulturačně prokazujeme infekce vyvolané kvasinkami a vláknitými houbami. V současné době nám technika umožňuje naše nálezy i dobře zdokumentovat.

Identifikace kvasinek i vláknitých hub byla vždy založena na mikroskopických a biochemických vlastnostech jednotlivých druhů.

Výrazně se zpřesnila s příchodem spektrometrie a molekulárně genetických metod. Naše pracoviště jako jedno z prvních zavedlo i stanovení citlivosti jednotlivých druhů mikromycet k antimykotikům a podílelo se na standardizaci těchto metod i v rámci mezinárodních studií. Významný podíl v diagnostice invazivních aspergilových a kandidových infekcí hraje detekce houbových

antigenů (zvláště aspergilového antigenu galaktomanu) z tělních tekutin (sérum, BAL, mok). Naše laboratoř metodu zavedla jako jedna z prvních v republice. Stali jsme se i školicím pracovištěm v této diagnostice pro ostatní mykologické laboratoře v republice. Nově máme k dispozici toximetr k turbidimetrickému stanovení panfungálního antigenu, který může pracovat i ve statimovém režimu.

Velká část práce v mykologické laboratoři je spojena s průkazem kožních mykotických infekcí.

Již deset let spolupracujeme s Přírodovědeckou fakultou UK Praha na epidemiologické studii sledující výskyt dermatofytických hub v naší populaci. Tím jsme si zároveň ověřili, že nové technologie typu MALDI-TOF jsou přínosem i v poměrně složité identifikaci dermatofyt.

■ **MUDr. Naďa Mallátová**  
vedoucí Pracoviště parazitologie a mykologie



*Větvené hyfy Aspergillus sp. ve fluorescenčním mikroskopu. Vzorek prohlíží RNDr. Marie Fialová / Foto: Jan Luxík*

## Pracoviště virologie

Provoz pracoviště zajišťuje osm pracovníků. Pracoviště virologie provádí diagnostiku onemocnění způsobených viry, chlamydiemi a mykoplazmaty. K tomu využívá metody přímého a nepřímého průkazu.

### V případě přímého průkazu hledáme původce onemocnění nebo jenom jeho část (antigen).

Viry jsou malé nebuněčné částice, které ke svému životu potřebují živou buňku, jsou na ní plně závislé. Nemají vlastní metabolismus, nerostou, nedělí se. Pro jejich průkaz ve vyšetřovaném materiálu se dříve využívaly buněčné kultury, pro chřipkové viry i kuřecí embrya. Nevýhodou těchto metod je jejich časová i technická náročnost, výhodou je ovšem průkaz životaschopného původce onemocnění. Dnes jsou nahrazeny **molekulárně biologickými metodami**, které jsou rychlé a detekují i viry, které není možné kultivovat na buněčných kulturách nebo prokazovat jejich antigeny. V současnosti jsou na virologii buněčné kultury využívány pro kultivaci



*Kolektiv Pracoviště virologie Laboratoře klinické mikrobiologie u automatického analyzátoru Liaison XL. / Foto: Jan Luxík*

*Zleva: vedoucí pracoviště MUDr. Dana Teislerová, RNDr. Marie Fialová, vedoucí laborantka pracoviště Dana Pejšková, Marie Chadtová, Andrea Jurásková, Gabriela Šimková, Soňa Mašková*

urogenitálních chlamydií. Jsou to sice bakterie, ale stejně jako viry jsou plně závislé na hostitelské buňce. Patří do skupiny tzv. atypických bakterií. Řadí se k nim i mykoplazmata, nejmenší bakterie charakteristické tím, že nemají buněčnou stěnu. K jejich průkazu slouží komerční kultivační soupravy.

Další typ přímého průkazu, **průkaz virových antigenů**, je využíván v diagnostice virových gastroenteritid (průjmových onemocnění). Používají se testy pro rychlé stanovení antigenu ve stolici. Výhodou je dostupnost výsledku ve velmi krátkém čase po doručení materiálu do laboratoře. Antigeny jsou prokazovány i v krvi. Nově je zavedena metoda průkazu N-antigenu SARS-CoV-2 z krve.

Jeho stanovení umožňuje sledování průběhu infekce, slouží k posouzení její závažnosti a k ověření účinnosti léčby. Stanovení antigenů v krvi se využívá i v diagnostice virových hepatitid a HIV.

**Metodami nepřímého průkazu zjišťujeme, zda má pacient protilátky proti danému mikrobu.** Hodnotíme tedy reakci imunitního systému na infekci. Velký význam má správná interpretace výsledku. Pozitivita protilátek nemusí znamenat právě probíhající infekci a naopak negativní výsledek infekci nevylučuje. Někdy je nutné vyšetření opakovat z nového odběru, abychom posoudili dynamiku protilátkové odpovědi. V některých případech je doporučováno doplňující vyšetření, provedení odběru na přímý průkaz původce onemocnění.



*Kvantitativní stanovení N-antigenu SARS-COV-2 z krve. Měření výsledné hodnoty na testovacím proužku přístrojem / Foto: archiv laboratoře*



Laborantka Andrea Jurásková vkládá vzorky do automatického analyzátoru Liaison XL / Foto: Jan Luxík

Některé nálezy je nutné potvrdit (konfirmasi). Tato konfirmační vyšetření jsou prováděna na virologii nebo v příslušné referenční laboratoři. U vybraných infekcí je konfirmace povinná ze zákona. To platí například pro pozitivní nálezy, které by mohly svědčit pro HIV infekci.

Nejčastěji indikovaným vyšetřením ve virologické laboratoři je detekce protilátek proti nejrůznějším patogenům. **Vyšetření protilátek má význam zejména u infekcí, kde není přímý průkaz patogenu běžně dostupný.** Tak je tomu například u klíšťové encefalitidy,



Laborantka Gabriela Šimková při obsluze poloautomatického analyzátoru Chorus TRIO / Foto: Jan Luxík

kde má pro laboratorní diagnostiku stanovení specifických protilátek zásadní význam. Nejčastěji jsou prováděna vyšetření, která slouží k diagnostice virových hepatitid, infekce HIV, klíšťové encefalitidy, infekcí způsobených herpetickými viry, chlamydiemi a mykoplazmaty. Stanovení protilátek slouží také k posouzení stavu imunity, tedy zda pacient onemocnění prodělal v minulosti či nedávné době nebo zda adekvátně reaguje na očkování. U některých onemocnění, jako například u infekce virem hepatitidy B, je kombinace přímého a nepřímého průkazu, tedy stanovení antigenu i protilátek, zásadní pro monitorování průběhu a léčby onemocnění. Pracoviště virologie vyšetřuje také protilátky proti SARS-CoV-2. Toto vyšetření má význam pro rozhodnutí o podání monoklonálních protilátek v léčbě pacientů s covidem-19, pro diagnostiku postcovidových komplikací a pro diagnostiku v pozdější fázi infekce u osob s negativním výsledkem PCR.

Práci v laboratoři ulehčují analyzátoři, díky nimž se výrazně zkrátila doba od příjmu vzorku v laboratoři do získání výsledku. Do doby zavedení automatizace byla některá vyšetření prováděna jednou týdně. V současnosti jsou výsledky většiny vyšetření dostupné během několika hodin. Virologická diagnostika se neustále rozvíjí. Pracoviště virologie průběžně zavádí nové metody a rozšiřuje spektrum nabízených vyšetření. Díky spolupráci s klinikami je možné laboratorní nálezy lépe interpretovat a přispět tak ke stanovení diagnózy.

Prvním přístrojem je plně automatický analyzátor Liaison XL, ve kterém je možné měřit najednou 120 vzorků krve a 25 metod současně. S výhodou ho lze využít pro metody s vysokou frekvencí požadavků na vyšetření. Slouží k diagnostice virových hepatitid (A, B, C, E), HIV a dalších infekcí. Nově ho také využíváme pro stanovení protilátek proti SARS-CoV-2.

Druhým přístrojem je poloautomatizovaný analyzátor Chorus TRIO. Lze v něm měřit najednou 30 vzorků krve a všechny dostupné metody současně. Využívá se pro metody, které nejsou dostupné na analyzátoru Liaison XL, a pro metody s nízkou frekvencí požadavků na vyšetření. Slouží například k vyšetření protilátek proti viru klíšťové encefalitidy, spalniček, zarděnek, herpetickým virům a dalším.

■ **MUDr. Dana Teislerová**  
*vedoucí Pracoviště virologie*

Součástí činnosti odborných pracovníků Laboratoře klinické mikrobiologie (LKMB) je i pregraduální a postgraduální vzdělávání různých kategorií zdravotnických pracovníků (LKMB je akreditována pro výuku). LKMB rovněž spolupracuje při výuce

studentů Střední zdravotnické školy v Českých Budějovicích a studentů Zdravotně sociální fakulty Jihočeské univerzity. LKMB se aktivně účastní výzkumných úkolů a odborných studií. Pracovníci se účastní domácích i zahraničních seminářů a kongresů jak pasivně, tak aktivně, někteří rovněž prezentují své výsledky v rámci domácích i zahraničních publikací.

Všechna tři pracoviště Laboratoře klinické mikrobiologie se pravidelně úspěšně účastní programů Externího hodnocení kvality, které prokazují kvalitní odbornou práci laboratoře při zpracovávání a identifikaci vzorků. LKMB je také akreditována pro svou činnost dle normy ČSN EN ISO 15189 a úspěšně prochází všemi audity Českého institutu pro akreditaci.

Laboratoř klinické mikrobiologie (LKMB)

poskytuje své služby nemocničním i externím lékařům a pacientům. Snaží se poskytovat opravdu užitečné služby, proto je zajištěno zpracování vzorků v pracovních dnech až do 20 hodin a konzultační činnost k výsledkům a antibiotické léčbě do 18 hodin. O víkendech a svátcích pak tyto služby poskytujeme pro urgentní vzorky a stavy v dopoledních hodinách. Jinými slovy jsme k dispozici 365 dnů v roce.

Všem pracovníkům Laboratoře klinické mikrobiologie za jejich obětavou práci moc děkuji. Rovněž děkuji za skvělou spolupráci ostatním pracovníkům Centrálních laboratoří a kolegům z klinických pracovišť.

■ **MUDr. Magda Balejová**  
*vedoucí Laboratoře klinické mikrobiologie*

## Laboratoř molekulární biologie a genetiky

Vážené kolegyně, kolegové, milí návštěvníci Nemocnice České Budějovice, a.s., dovoluji mi seznámit vás s Laboratoří molekulární biologie a genetiky (LMBG), nejmladší součástí Centrálních laboratoří.

Genetika je jeden z nejmladších a také nejpobudnějších oborů moderní biologie. Její výjimečnost spočívá v univerzálním přístupu ke všem živým organismům, zkoumá je na úrovni jejich genetického kódu. Jedná se o velice efektivní strategii – genetický kód, tedy pořadí čtyř nukleotidů v DNA či RNA (kyselina deoxyribonukleová/ribonukleová), je přirozeným digitálním kódem živé přírody. A stejně jako digitalizace informací v posledním čtvrtstoletí, zcela mění naši společnost. Využívání tohoto biologického digitálního kódu přináší

dosud nevídané množství informací o živých organismech. LMBG je laboratoř specializovaná na diagnostiku nukleových kyselin napříč obory. Tento přístup umožňuje efektivní využití nejmodernějších molekulárně biologických metod pro všechna oddělení nemocnice.

### Historie

Diagnostika pomocí metod molekulární genetiky má velice krátkou historii. K objevu struktury DNA nebo stanovení správného počtu chromozómů došlo až v padesátých letech dvacátého století. První metody analýzy DNA byly představeny v letech sedmdesátých a k masivnímu rozvoji molekulární diagnostiky dochází až v devadesátých letech po objevu polymerázové řetězové reakce (PCR).

V Českých Budějovicích začala první genetická poradna pracovat v roce 1977 na poliklinice U Tří lvů pod vedením MUDr. Miloše Velemínského, po roce ambulanci převzal MUDr. Karel Čutka. V roce 1979 se začala budovat cytogenetická laboratoř, celé Oddělení lékařské genetiky se v roce 1985 přestěhovalo do Krajské nemocnice. Na konci roku 1996 byla jmenována primářkou MUDr. Eva Kantorová, v laboratoři dochází k rozvoji molekulárně biologických metod, oborově se základní diagnostika dědičných onemocnění rozšiřuje o hematologii a onkologii. V roce 2003 přechází do laboratoře diagnostika extrahumánního genomu (mikrobiologická vyšetření). Na konci roku 2005 vzniká Laboratoř molekulární biologie a genetiky jako součást Centrálních laboratoří.

## Současnost

V laboratoři pracuje v současnosti dvanáct bioanalytiků (specialistů s přírodovědným vzděláním) a osm laborantek. Za rok 2021 jsme vyšetřili 90 tisíc různých vzorků a provedli u nich více než 120 tisíc diagnostických testů. Provoz je rozdělen na tři pracoviště – **cytogenetickou diagnostiku, molekulárně biologickou diagnostiku humánního genomu a molekulárně biologickou diagnostiku extrahumánního genomu**. Přitom jsou tyto celky propojovány sdílenými technologiemi i jednotlivými specialisty.

## Cytogenetická diagnostika

Jak vyplývá z názvu, cytogenetickou diagnostiku lze zjednodušeně definovat jako diagnostiku „na úrovni buňky“. Jedná se o analýzu jednotlivých buněk (buněčných jader, mitotických chromozómů). Pomocí cytogenetických metod lze odhalit aberace (odchylky) velkých rozměrů – desetitisíce nukleotidů (písmenek genetického kódu) a více. Tato vyšetření většinou vyžadují kultivaci buněk, proto cytogenetická analýza trvá několik dnů až týdnů. Uplatňuje se při analýze vrozených vývojových vad a zejména genetických změn nádorových buněk. Tato vyšetření lze metodicky rozdělit do tří oblastí:

*Stanovení karyotypu* – po kultivaci buněk se analyzují dělicí se buňky, provádí se analýza změn chromozómů. Hodnotí se pomocí světelného mikroskopu s velkým zvětšením a s pomocí specializovaného softwaru.

*Fluorescenční hybridizace in situ (FISH)* – molekulárně cytogenetická metoda, pomocí které lze zviditelnit (rozsvítit) jednotlivé úseky lidského genomu, např. geny. Hodnotí se pomocí epifluorescenčního mikroskopu a s pomocí specializovaného softwaru.

*Komparativní genomová hybridizace na čipu (array CGH)* – srovnává dva genomy (veškerá genetická výbava



Kolektiv Laboratoře molekulární biologie a genetiky / Foto: Jan Luxík

### Personál Laboratoře molekulární biologie a genetiky

Vedoucí	<b>Mgr. Ondřej Scheinost</b>
Zástupce vedoucího	<b>Ing. Natalja Piskunova</b>
Vedoucí laborantka	<b>Petra Landová</b>
Bioanalytici	<b>Ing. Marie Lehnerová, Ing. Lenka Dušková, Ing. Petra Dušková, Mgr. Iveta Hronková, Mgr. Michaela Pokorná, Mgr. Pavel Trubač, Mgr. Anna Sattranová, Mgr. Linda Jandová, Mgr. Simona Glaserová, Mgr. Jitka Scheinostová</b>
Laborantky	<b>Bc. Lucie Chrtová, Eva Šimová, Hana Čermáková, Mgr. Anna Mikešová, Bc. Markéta Jakubcová, Bc. Erika Šimerová, Alena Bradnová</b>
Sanitářka	<b>Věra Hinterholzová</b>

jedince), genom zkoumaný a genom referenční, „zdravý“. Umožňuje kvantifikovat statisíce míst v genomu

najednou. K hodnocení je třeba laserový skener čipů a software komunikující s internetovými databázemi.



Analýza karyotypu / Foto: Jan Luxík

než devět řádů; stojí za obrovským rozšířením molekulární diagnostiky. Provádí se v zařízení, kterému se říká cycler [sajkler]. Některé modifikace PCR umí určit konkrétní mutaci (variantu), některé umí kvantifikovat množství molekul ve vzorku apod. Nejčastěji používanou modifikací je PCR v reálném čase (Real Time PCR).

**Sekvenování** – metoda, kdy určujeme pořadí nukleotidů v definovaném úseku DNA/RNA. Klasická (Sangerova) varianta sekvenování se provádí na přístroji pro kapilární elektroforézu. V jedné reakci lze určit pořadí několika set nukleotidů.

**Reverzní hybridizace** – specializovaná metoda umožňující detekci několika (desítek) mutací najednou. Principem je připojení částí DNA ze vzorku ke komplementárním úsekům vázaným na pevném nosiči.

Za poslední rok jsme provedli 550 stanovení karyotypu, 2000 vyšetření FISH a 170 array CGH.

### Molekulárně biologická diagnostika

Tato nejmladší a zároveň nejvíce se rozvíjející část diagnostiky detekuje změny genomu na úrovni jednotlivých nukleotidů („písmenek“ genetického kódu). Proces začíná izolací DNA nebo RNA ze vzorku a následuje analýza získané nukleové kyseliny. Ta je vždy zahájena polymerázovou řetězovou reakcí, po níž často následují další metody. Molekulární diagnostika udivuje svou přesností (specifitou) a citlivostí (senzitivitou), je schopna rozpoznat přítomnost několika molekul DNA/RNA ve vzorku. Jednoduchá vyšetření trvají několik hodin, komplexní analýzy pak několik týdnů.

#### Nejčastěji používané techniky v molekulárně biologické diagnostice:

**Polymerázová řetězová reakce** – metoda, která umožňuje specificky namnožit vybraný úsek DNA o více

Malý slovníček	
DNA	<b>Deoxyribonukleová kyselina, nositelka genetické informace u většiny organismů včetně člověka, je tvořena čtyřmi základními kameny – nukleotidy.</b>
RNA	<b>Ribonukleová kyselina, nositelka genetické informace u tzv. RNA-virů, u všech organismů řídí syntézu proteinů dle genetické informace v DNA/RNA.</b>
nukleotid	<b>Základní stavební jednotka DNA/RNA, nukleotidů jsou čtyři druhy – adenin, cytosin, guanin, tymin – u RNA uracil. Jádru jedné lidské buňky obsahuje přes 6 miliard nukleotidů.</b>
gen	<b>Úsek DNA, který má nějakou funkci – nejčastěji kóduje informaci pro syntézu proteinu. Gen je tvořen stovkami až miliony nukleotidů.</b>
genom	<b>Veškerá genetická výbava organismu, v užším smyslu genetická výbava buňky.</b>
PCR	<b>Polymerázová řetězová reakce. Proces, který umožňuje specificky namnožit vybraný úsek DNA o více než devět řádů; stojí za obrovským rozšířením molekulární diagnostiky.</b>
extrahumanní genom	<b>Nejčastěji se tak označuje genom mikroorganismů (bakterií, virů a hub).</b>
karyotyp	<b>Soubor všech chromozómů v jádře buňky.</b>
chromozóm	<b>Útvar v jádře buňky tvořený proteiny a jedním nepřerušným vláknem DNA. Lidské buňky mají 46 chromozómů.</b>

*MLPA (multiplexní amplifikace sondy závislá na ligaci) – specializovaná metoda pro multiplexní kvantifikaci různých míst v genomu.*

*Masivně paralelní sekvenování, také Sekvenování nové generace (MPS, NGS) – nejmodernější metoda vysokokapacitního sekvenování, která umožňuje v jedné reakci provést desítky milionů sekvenačních reakcí o délce několika set nukleotidů. Provádí se na přístroji NGS sekvenátoru, vyžaduje speciální informatickou podporu pro manipulaci s velkým objemem dat a software komunikující s internetovými databázemi.*



*Pracoviště Real Time PCR / Foto: Jan Luxík*

### **Molekulárně biologická diagnostika humánního genomu**

Tato diagnostika zahrnuje jednoduché PCR testy na známé a klinicky významné mutace různých genů, stejně jako sekvenování panelů mnoha genů pomocí NGS.

*Dědičné (vrozené) choroby – stanovují se známé patologické varianty u vybraných onemocnění, např. cystická fibróza, kongenitální adrenální hyperplazie, mikrodeleční syndromy a další.*

*Hematologie a onkohematologie – diagnostika trombofilních mutací a řady maligních onemocnění krvetvorby, např. specifické mutace u myeloproliferativních chorob, stanovení klonality T-lymfocytů a B-lymfocytů u leukémií a lymfomů a další.*

*Farmakogenetika – má za úkol najít varianty v genech, které ovlivňují rychlost zpracování cizorodých látek (zejména léků) v těle. Cílem je stanovit správnou (dostatečnou a přitom netoxickou) dávku léčiva pro každého jednotlivého pacienta, tzv. terapie šitá na míru; účinná dávka se přitom u různých zdravých jedinců může lišit několikanásobně.*

*Panelové sekvenování – velkokapacitní sekvenování u diagnóz, kdy nelze najít jednotlivé typické mutace způsobující konkrétní onemocnění, a zejména tam, kdy nemoc může být způsobena poruchou více genů. Provedení takových vyšetření trvá minimálně několik týdnů. Jedná se např. o panel genů způsobujících dědičná nádorová onemocnění (226 genů) nebo panel pro familiární hypercholesterolemii (6 genů).*

V případě analýzy vrozených onemocnění jsou pacienti před i po vyšetření geneticky konzultováni na Ambulanci lékařské genetiky. V LMBG jsou soudními znalci prováděny paternitní expertizy (testy otcovství).

Za poslední rok jsme na pracovišti molekulárně biologické diagnostiky humánního genomu vyšetřili více než 2,5 tisíce vzorků.



*Sekvenátor pro masivně paralelní sekvenování / Foto: Jan Luxík*

## Molekulárně biologická diagnostika extrahumánního genomu

Obrovskou výhodou molekulárních mikrobiologických vyšetření je rychlost (několik hodin, výjimečně méně než hodinu) a citlivost (několik molekul DNA/RNA). Úspěšnou diagnostiku bakteriálních infekcí neruší ani předchozí podání antibiotik. Diagnostiku provádíme z jakéhokoliv biologického vzorku. Nejčastěji jsou požadovány jednoduché testy odhalující přítomnost/absenci infekčního agens ve vzorku. Alternativou jsou multiplexní vyšetření více agens v jedné reakci. Samozřejmě nabízíme i řadu speciálních vyšetření.

*Diagnostika jednotlivých virů, bakterií, hub* – tyto testy umožňují rychlou diagnostiku (během několika hodin) přítomnosti infekčního původce nemoci. Lze zachytit jednotlivá agens u vzorků s kontaminací dalšími původci.

*Multiplexní vyšetření* – v jedné reakci lze detekovat několik (více než dvacet) infekčních agens. Využívá se u rychlé diagnostiky, kde chybí podezření na konkrétního původce. Příkladem jsou detekční panely respiračních virů, sexuálně přenosných nemocí a další.

*Kvantifikace virové nálože* – dovoluje stanovit množství viru ve vzorku a sledovat tak úspěšnost léčby. Provádí se např. u viru hepatitidy B a C, cytomegaloviru a dalších.

*Genotypování, citlivost na léčbu* – umožňuje rozlišit jednotlivé podtypy u konkrétního původce, kdy lze očekávat různou reakci na podané léčivo, či různou klinickou prognózu, např. virus hepatitidy C, lidské papilomaviry, Clostridium difficile, SARS-CoV-2 a další.

*Sekvenování 16S/18S ribozomální pojednotky* – speciální vyšetření části genomu mikroorganismů. Sekvenuje se variabilní část genomu, z výsledné sekvence lze určit konkrétní druh bakterií nebo hub.



Automatická izolace nukleových kyselin / Foto: Jan Luxík

*Masivně paralelní sekvenování* – je možné sekvenovat celý mikrobiální genom nebo přesně kvantifikovat zastoupení složek mikrobiomu v klinickém vzorku. Zúčastnili jsme se projektu výzkumu viru hepatitidy C a čekáme na další (vás?) projekt.

*Covid-19.* Tento článek vzniká na konci roku 2021. Před dvěma lety jsme zachytili první zprávy o nové respirační nemoci v Číně a o měsíc později jsme již prováděli první diagnostiku viru SARS-CoV-2 u čínských turistů na jihu Čech. V té době jsme si nikdo nedokázali představit, co bude následovat. Dnes jsme součástí páteřní sítě laboratoří pro covid-19, za rok jsme vyšetřili 75 tisíc odebraných vzorků. Genotypujeme jednotlivé varianty viru, a hlavně se snažíme zajistit co nejlepší diagnostický servis pro všechna oddělení v Nemocnici České Budějovice, a.s. Od března 2020 jsme v naší malé laboratoři nevynechali jediný den v práci včetně všech svátků. Dovolte mi upřímně poděkovat zejména všem kolegům z LMBG, ale také 24hodinové laboratoři Centrálních laboratoří (zajišťují noční statimová vyšetření); Laboratoři lékařské mikrobiologie, která nejvíce trpěla naší potřebou dalších prostorů; odběrovému místu a všem v nemocnici, kteří nám svou vstřícností pomáhají v tomto nelehkém období.

Za poslední rok jsme na pracoviště molekulárně biologické diagnostiky extrahumánního genomu přijali více než 87 tisíc vzorků, u kterých jsme provedli 107 tisíc vyšetření.

## Molekulární patologie

V roce 2015 vznikla na Patologickém oddělení (PAO) Laboratoř molekulární patologie s cílem propojit patologickou laboratorní diagnostiku s metodami molekulární biologie a nabídnout tak cílené vyšetření histologických vzorků pacientům Komplexního onkologického centra Nemocnice České Budějovice, a.s. LMBG tak vystupuje jako servisní (technologický) partner pro Patologické oddělení. Dvě kolegyně z tohoto oddělení v LMBG zpracovávají a hodnotí vzorky a samozřejmě se podílejí i na další molekulárně genetické diagnostice; prospěšnost z této spolupráce je vzájemná.

## Budoucnost

Nemám pochyby o tom, že rozvoj molekulárně biologické diagnostiky bude dál bouřlivě pokračovat. Jistě přibude rychlých statimových vyšetření, přijdou první automatické linky pro tyto typy testů. V současnosti jsme technologicky dobře vybaveni pro



sekvenování nejrůznějších genových panelů (např. kardiopanely), komplikací je přenos složitých laboratorních výsledků do klinicky srozumitelné podoby – budeme muset posílit tzv. translační medicínu. Během několika let se stane standardem sekvenování celého lidského genomu nebo jeho aktivní části a tyto trendy se jistě promítnou i do extrahumánního genomu např. v podobě stále populárnější diagnostiky mikrobiomu.

Vážené kolegyně, kolegové, Laboratoř molekulární biologie a genetiky je součástí laboratorního komplementu. Zajišťujeme laboratorní vyšetření dle vašich požadavků, zpracováváme odebrané vzorky a pacienty „vidíme“ jen prostřednictvím vás, zdravotníků z klinických oddělení. Velice si vaší spolupráce vážíme. Jsme dobře vybavená laboratoř, skvělý kolektiv



*Genetická rovnice:  $7x + y =$  Mgr. Ondřej Scheinost a 3 kolegyně / Foto: Jan Luxík*

lidí, kteří rozumí své práci – nabízíme pomoc a podporu ve vašich projektech. Neváhejte se na nás kdykoliv obrátit.

■ **Mgr. Ondřej Scheinost**  
vedoucí Laboratoře molekulární  
biologie a genetiky