

A Laboratóriumi Medicina Intézet hírlevele

8. szám

Tisztelt Kollégák! Hírlevelünk aktuális számában mikrobiológiai és immunológiai vizsgálati módszerekről találnak információkat, illetve arról, mikor érdemes (és mikor nem) D-dimer szint meghatározást kérniük.

dr Papp Enikő szerkesztő

Szerző: dr. Szabó Tamás

Szaklektor: dr. Kristóf Katalin részlegvezető

Mikrobiológiai gyorsdiagnosztikai vizsgálati lehetőségek és alkalmazhatóságuk

A korrekt mikrobiológiai diagnózis felállításához az esetek jelentős részében elengedhetetlen a bakteriológiai tenyésztés, de ennek időigényessége miatt nincs minden esetben lehetőség a végleges eredmény megvárására; és bizonyos kórképek gyanúja esetén a kezelést azonnal meg kell kezdeni. Az ilyen gyors döntések meghozatalában lehetnek segítségünkre a gyorsdiagnosztikai tesztek, melyek eredménye akár fél óra alatt elkészül. Ezáltal gyorsan leszűkíthető a lehetséges kórokozók köre és sokkal célzottabban lehet az első antibiotikumot megválasztani.

A liquor vizsgálata során kiemelten fontos szempont, hogy annak mikrobiológiai vizsgálatát igénylő kórképek esetén az antibiotikum terápia megkezdése igen sürgető lehet. Bakteriális agyhártyagyulladás gyanúja esetén tehát rendkívül értékes segítséget nyújthat az agglutinációs tesztek eredménye. A leggyakrabban ilyen módszerrel vizsgált kórokozók a *Neisseria meningitidis* (A, B, C, Y, W135), az *Escherichia coli* (K1), a *Haemophilus influenzae b*, a *Streptococcus agalactiae* és a *Streptococcus pneumoniae*. A laboratóriumunkban rendelkezésre álló kombinált teszt képes ezen kórokozók antigénjeinek gyors kimutatására.

Pneumoniák esetén a vizeletből van lehetőség kórokozók antigénjeinek kimutatására. A tüdőgyulladást okozó baktérium antigén részletei ugyanis bekerülnek a vérbe és onnan a vesén keresztül kiválasztódva a vizelettel ürülnek. A területen szerzett tüdőgyulladás egyik leggyakoribb kórokozója a *Streptococcus pneumoniae*, melynek antigénjei vizeletből kimutathatóak. Emellett az atípusos tüdőgyulladás egyik fontos kórokozója, a *Legionella pneumophila* jelenlétét is lehet vizelet gyorstesztel vizsgálni.

Természetesen a végleges diagnózist a tenyésztés eredménye fogja meghatározni és negatív gyorsteszt eredmény sem zárja ki az adott kórokozó jelenlétét. Egy pozitív teszteredmény viszont sokat segíthet a megfelelő kezdeti terápia kiválasztásában. Negatív eredmény esetén, ha a tünetek alapján mégis az adott kórokozó valószínűsíthető, érdemes lehet néhány nap elteltével újra elvégezni a vizsgálatot. A *L. pneumophila* gyorsteszt például a betegség első öt napján még ritkán mutat pozitív eredményt, míg később (akár adekvát terápia mellett is) hetekig megmaradhat a pozitivitás. Nem javasolt azonban a *S. pneumoniae* gyorsteszt használata ötévesnél fiatalabb kisgyermek esetén, vagy néhány nappal vakcinálás után.

Hasmenéssel járó kórképek etiológiájának tisztázásában is segítséget jelenthet a gyorstesztok használata. Hazánkban is megnőtt a *Clostridium difficile* okozta hasmenések száma. A baktérium jelenléte önmagában nem, de az A és B toxinok termelése megerősíti a diagnózist. A lateral flow elven működő gyorsteszt képes kimutatni magának a baktériumnak a jelenlétét annak glutamát-dehidrogenáz (GDH) enzime révén (mellyel a toxintermelő és a toxint nem termelő törzsek is rendelkeznek) és egyidejűleg a toxinok jelenlétéről is felvilágosítást adni. Ha GDH és a toxin is pozitív, az megfelelő biztonsággal alátámasztja, hogy a hasmenés hátterében *C. difficile* állhat, míg egybehangzó negatív eredmények ugyanilyen biztonsággal elvethetik a diagnózist. Ha viszont csak a GDH válik pozitívvá, akkor a toxin jelenlétét vagy hiányát más módszerrel kell megerősíteni.

A hasmenések egy része hátterében nem bakteriális, hanem virális kórokozó áll. Ezek között a leggyakoribbak a Rota- és Adeno vírusok által okozott megbetegedések. A fertőző ágens kimutatására ilyenkor lehetőség van székletmintából egy kombinált gyorsteszt segítségével.

További információ:

http://www.biorad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/hu/Literature/inserts/61607881019_HU.pdf

<http://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/83150>

<http://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/81268>

Szerző: dr. Papp Enikő

Szaklektor: Biró Edina részlegvezető

Immunfixációs vizsgálat eredményének kiértékelése és jelentősége

Az immunfixációs eredmények kiértékelése összetett feladat. Előzetesen tájékozódni kell a beteg feltételezett vagy érvényes diagnózisáról, az ehhez társuló laboratóriumi meghatározásokról, különösképpen a szérum összfehérje szintjéről és az immunglobulin osztályok mennyiségéről. Ez utóbbi azért is szükséges, hogy a megfelelő antigén-antitest arányt biztosítsuk a vizsgálat kivitelezése során, esetleges hígítással.

Az első lépésként elvégzett szérum fehérje elektroforézis eredményét a gélen, a denzitometriás görbén, valamint a megvilágított sávképen vizsgálva megfigyelhetjük a homogén monoklonális sáv megjelenését, a görbén a kóros fehérjefrakció oszlopát vagy éppen a görbe megtöretését. Az immunfixációval megerősíthetjük, pontosíthatjuk a diagnózist vagy kizárhatjuk a monoklonális komponens jelenlétét.

Az immunfixáció során 6 antiszérumot alkalmazunk: polivalens immunglobulinok, IgG, IgA, IgM, Kappa és Lambda könnyűlánc elleni antitestekkel kezeljük a mintát. Az antigén-antitest reakció precipitációt eredményez, mely vizuálisan vizsgálható. A szérumfehérje oszlopon észlelt denz sávval egyező magasságban megjelenő gamma, alfa vagy mu nehézlánc és az ezzel egy szintben látható Kappa vagy Lambda könnyűlánc IgG, IgA vagy IgM komplett immunglobulint jelent Kappa vagy Lambda könnyűláncal.

Előfordul, hogy a könnyűláncok sávjában látható denz sáv mellett nem jelenik meg IgG, IgA, IgM nehézlánc, akkor igen ritkán IgD illetve IgE gammopátiáról lehet szó.

Amennyiben ezekkel az antiszérumokkal sem jelenik meg a nehézlánc sáv, akkor könnyűlánc jelenlétéről beszélünk nehézlánc nélkül. A vesén át ürülő szabad könnyűláncok minőségi meghatározása (FLC) a beteg vizeletének immunfixációs vizsgálatával detektálhatók, míg mennyiségi meghatározása nefelometriás metodikával történik.

Ritkán biklonális vagy oligoklonális jellegű az immunglobulin képzés, ilyenkor egyidejűleg két vagy több klón azonosítható, akár különböző osztályba tartozóként is és a vizsgált minta oszlopában két vagy több denz sáv látható. A poliklonális immunglobulinok enyhe diffúz festést mutatnak.

Az immunfixáció jelentősége elsősorban a monoklonális gammopathiák diagnosztikájában van. Ebbe a csoportba több különböző betegség tartozik. A nem meghatározható jelentőségű monoklonális gammopátia (MGUS) általában kis mennyiségű, stabil paraprotein szinttel jár. (Leggyakrabban IgG, ritkán IgM vagy IgA detektálható.) A smoldering myeloma (SMM), illetve a myeloma multiplex (MM) leggyakrabban IgG (>50%), IgA (kb. 20%), igen ritkán fokozott IgD, IgM vagy IgE termeléssel jár. Az esetek kb. 25%-ában szabad könnyűláncot detektálhatunk nehézlánc nélkül. (Bence-Jones protein). Nonszekretoros myelomában a plazmasejtek nem termelnek immunglobulint, de a többi klinikai tünet és laboratóriumi lelet megtalálható a kórképben. Szoliter csontvelői plazmacytomában vagy extraosszeális plazmacytomában szintén van paraprotein szekréció. Ide sorolható még a plazmasejtes leukémia is. Waldenström-féle makroglobulinémiában a paraprotein minden esetben IgM típusú. Primer amiloidózisban a kórosan polimerizálódó immunglobulinok béta szalag strukturát formálva lerakódnak a kötőszövetben amyloidot képezve. Az amyloid A komponense az immunglobulin könnyű lánc származéka. Ebben az esetben könnyűlánc (AL) amiloidózisról beszélünk és szérumban szintén kimutatható a szabad könnyűlánc.

Különböző limfoproliferatív betegségek (pl. CLL, MALT lymphoma) járhatnak izolált nehézlánc szekrécióval. Ezekben a nehézlánc betegségekben könnyűlánc nélküli gamma, alfa vagy mü nehézlánc mutatható ki a szérumban.

Krónikus gyulladáshoz kapcsolódó betegségek, autoimmun betegségek, fertőzések, malignus tumorer általában poliklonális immunglobulin szaporulattal járnak, de ritkán detektálható átmenetileg monoklonális csúcs a fehérjefrakciók vizsgálatánál.

Prof. Vásárhelyi Barna

D-dimer szint mérés jelentősége

(www.medicalonline.hu)

A véralvadás és fibrinolízis egyidejűleg zajló folyamatok: a kialakult fibrinszálakat a jelen levő proteázok bontják. Minél több a fibrin, annál nagyobb mértékben jelennek meg a fibrin bontási termékek. Ezek egyik típusát a laboratórium rutinszerűen méri. Ez a D-dimer.

A 180 kD méretű D-dimer molekulák a fibrin monomerek és polimerek plazmin-mediált bontásakor képződnek; két azonos alegységet tartalmaznak, melyek két fibrin molekulából származnak. Az egészséges szervezetben is kimutathatóak (a plazma fibrinogén 2-3%-a fiziológiásan konvertálódik fibrinné, majd lebomlik). A plazmából a D-dimer a retikulo-endoteliális rendszeren, illetve a vesén keresztül eliminálódik. Felezési ideje 8 óra körüli.

A laboratóriumban a D-dimerszint meghatározás az alvadási tesztekhez használt citrátos vérből (kék kupakos csőből) történik. A mintaküldés nem igényel speciális körülményeket, a többi mintával együtt kell a laborba juttatni. Szérum, EDTA-s minta NEM alkalmas a vizsgálatra. (Léteznek betegágy közeli D-dimer tesztek, melyek teljes vérből történnek; ezek pontossága egyelőre elmarad a laborban végzettekétől, illetve ezekkel kevés a tapasztalat is.)

A D-dimer szintet immunoassay-vel mérik. Ezek a D-dimer epitópok ellen termelt monoklonális ellenanyagokat használnak. Az arany standard a microplate-es ELISA teszt, a D-dimerrel kapcsolatos klinikai vizsgálatok túlnyomó részét ezzel végezték. Ez azonban csak összegyűjtött minták vizsgálatára alkalmas, sürgősségi tesztként nem használható. A kereskedelmi forgalomban, akár beteg közeli meghatározás céljára kapható tesztek fél órán belül eredményt tudnak adni. Ezek más típusú ellenanyagokat és az immunoassay során más jelöléseket használnak a D-dimer szint kimutatására. Ezért a tesztek különböző mértékben érzékenyek a D-dimertől eltérő fibrin degradációs termékekre, így ugyanabból a mintából eltérő tesztek eltérő eredményt adhatnak. Nem mindegyik teszt esetében bizonyították azt, hogy alkalmasak lennének a trombózisos betegek vizsgálatára.

A D-dimer szint olyan kórképekben lehet informatív, amelyek kialakulásában vagy a fokozott fibrinolízisnek, vagy a kialakult nagyméretű trombusnak van szerepe. Ez lényegében két kórképet jelent: a disszeminált intravaszkuláris koagulációt (DIC), illetve a mélyvénás trombózis/ pulmonális embóliát (DVT/PE). Ezekben az állapotokban a D-dimer szint többszörösére nő.

A D-dimer a DIC gyanúja esetén végzendő hemosztázis-vizsgálati panel integráns része (lásd 1. táblázat). A háziorvosi gyakorlatban a D-dimer szint meghatározása elsősorban a DVT/PE kizárása céljából történik.

A D-dimer szint egészségeseknél mért referencia értéke legtöbb teszt esetében $<500 \mu\text{g/l}$. A D-dimer szint trombóztól és fibrinolízistől függetlenül számos állapotban és kórképben nő. Ide tartozik többek között: fertőzés, gyulladás, rosszindulatú daganat, műtét, trauma, kiterjedt égési sérülés, véraláfutás, ischaemiás szívbetegség, stroke, perifériás verőérszűkület, terhesség. Időseknél és nőknél az egészségeseknél is magasabb a referenciatartomány felső határa. Ezért a magas D-dimer szint NEM kórjelző DVT/PE-re. (Egyes vélemények szerint a rutin belgyógyászati osztályokon kezelt betegek túlnyomó részénél olyan állapot van jelen, ami DVT-től függetlenül a D-dimer szint emelkedésével jár. Ezért sokan nem is javasolják a D-dimer szint mérését ebben a populációban.)

A jelenlegi ajánlások szerint a D-dimer szintet a DVT/PE kizárása érdekében azoknál a betegeknél kell meghatározni, akiknél felmerül ugyan a DVT/PE lehetősége, de náluk a DVT/PE valószínűsége viszonylag alacsony. Bizonyított, hogy ezekben az esetekben negatív (azaz a tesztek többségénél $500 \mu\text{g/l}$ alatti) D-dimer szint alapján a DVT/PE biztonsággal kizárható. Ha egy beteg a magas valószínűségű csoportba tartozik, a D-dimer szint mérése helyett azonnal képalkotó vizsgálatot kell végezni a DVT/PE kizárására.

Azt, hogy egy betegnél a DVT/PE általános valószínűsége mekkora, a speciális kritériumrendszerek alapján lehet megmondani (erre mutat példát (Wells' score) a 2. táblázat).

PE esetében is csak alacsony valószínűségű esetekben javasolt a betegség kizárására a D-dimerszint mérése: alacsony valószínűségű betegnél mért magas D-dimer esetén vagy az

önmagában nagy kockázatú betegnél első lépésként a megfelelő radiológiai vizsgálat (pl. multidetektoros CT) végzendő.

Bár az irodalom nem egységes, egyes klinikai vizsgálatok alapján a D-dimer szint monitorozásával a DVT/PE kiújulásának a kockázata is becsülhető. Egy több mint 1000, egyszeri DVT-n áteső beteg bevonásával végzett felmérés során antikoaguláns kezelés mellett három havonként mérték a D-dimer szintet ([Blood: 2014;124 \(2\):196-203](#)). Azoknál a betegeknél, akiket az alacsony D-dimer szint miatt alacsony kockázatúként azonosítottak, felfüggesztették az antikoaguláns kezelést. Esetükben a DVT kiújulási arány az antikoaguláns kezelés abbahagyása után is alacsony volt, azaz a D-dimer segített a szükségtelenül antikoagulált betegek azonosításában. Egyelőre azonban nincs egységes szakmai ajánlás arra, hogy az antikoaguláns kezelés monitorozásában milyen gyakorisággal, milyen teszttel és milyen vágóértékek mellett érdemes a D-dimer szintet meghatározni.

1. táblázat

Disszeminált intravaszkuláris koaguláció (DIC)-panel: főbb labortesztek

Vizsgált paraméter	Jellegzetes eltérés
D-dimer	DIC-ben nagymértékben nő; normális szint esetén a DIC nem valószínű
Fibrinogén	DIC esetében alacsony
Parciális tromboplastin idő (PTI)	az alvadási faktorok szintjének csökkenésével nőhet
Protrombin idő (PI)	az alvadási faktorok szintjének csökkenésével általában megnyúlt
Teljes vérkép	DIC-ben thrombocytaszám gyakran alacsony

2. táblázat

A betegek mélyvénás tromبózis (DVT) és tüdőembólia (PE) szerinti veszélyeztetettségének a besorolását segítő kritériumok

Mélyvénás tromбózis valószínűségi besorolásához kritériumok:

aktív rák (6 hónapon belüli kezelés vagy palliatív terápia)	1 pont
lábszárduzzanat, ≥ 3 cm a tünetmentes lábszárhoz (10 cm-re a tuber tibiae alatt)	1 pont
Unilateralisan tágult superficialis vénák (nem vénás varikozitás)	1 pont
Unilateralisan ödémia (a tünetes lábszáron)	1

	pont
Korábban dokumentált DVT	1 pont
Teljes lábszár duzzanata	1 pont
Mélyvénás rendszer felett körülírt érzékenység	1 pont
Alsó végtag bénulása, parézise, gipsz-rögzítés	1 pont
≥ 3 napot meghaladó ágyhoz kötöttség, nagyobb műtét vagy altatás az elmúlt 12 hét alatt	1 pont
Egyéb lehetséges diagnózis	-2 pont

Tüdőembólia valószínűségi besorolásához kritériumok (Wells pontszám)

Mélyvénás trombózis klinikai jelei	3 pont
Tüdőembóliától től eltérő egyéb diagnózis esélye kicsi	3 pont
tachycardia (pulzusszám > 100/perc)	1,5 pont
immobilizálás (≥ 3 nap)/korábbi négy hétben műtét	1,5 pont
anamnézisben mélyvénás trombózis vagy tüdőembólia	1,5 pont
hemoptízis	1,0 pont
aktív rák (6 hónapon belüli kezelés vagy palliatív terápia)	1,0 pont

Összes pontszám:

≤4; alacsony – közepes DVT vagy PE valószínűség: D-dimer teszt végzendő

>4: nagy DVT vagy PE valószínűség: radiológiai vizsgálat végzendő

D-dimerszint mérés helye a mélyvénás trombózis (DVT) diagnosztikájában (rövidítés: UH = ultrahang). Forrás: Am Fam Physician. 2012;86(10):913-919